

## ISOLEMENT DE TROIS TRITERPENES DE *MILLETIA VERSICOLOR* BAKER

Alphonse EKOUYA\*, Pascal Robin ONGOKA, Bedel Gaston ITOUA, Antoine OUABONZI  
Jean-Maurille OUAMBA, Martin DIATEWA, Ange Antoine ABENA

Groupe d'Etudes et de Recherche sur la Pharmacopée et la Médecine  
Traditionnelles au Congo G.E.R.PHA.ME.TRA.C.  
Université Marien NGOUABI, B.P 69, BRAZZAVILLE, Congo ; alekouya@yahoo.fr

(Reçu le 22/02/2006 – Accepté après corrections le 12/05/2006)

**Summary:** *Milletia versicolor* Baker is one of the plants used by congolese pharmacopea for the treatment of many diseases, mainly for the intestinal parasites. Some aqueous and organic extracts biological analysis revealed an anthelmintical effect. The chemical analysis of these extracts yielded three monohydroxyde triterpenes. We have established their structures on the basis of GC/MS and spectral analyses.

Key-words: *Milletia versicolor*, intestinal parasites, triterpenes.

**Résumé:** *Milletia versicolor* Baker est une plante utilisée dans la pharmacopée congolaise pour le traitement de beaucoup de maladies dont les parasitoses intestinales. Quelques extraits aqueux et organiques de certains organes de cette plante ont révélé un effet anthelminthique et leur analyse chimique a permis l'isolement de trois triterpènes monohydroxylés. Leurs structures ont été établies par comparaison aux données de la littérature par CPG/SM et si nécessaire par analyse spectrale.

### I. INTRODUCTION

*Milletia versicolor* Baker appartient à la famille des Fabaceae<sup>[1]</sup>. La médecine traditionnelle l'utilise dans le traitement de nombreuses affections telles les douleurs, la toux, la stérilité, les rhumatismes, le paludisme et surtout aussi comme vermifuge<sup>[2,3,4]</sup>.

L'étude pharmacologique réalisée sur les divers extraits a mis en évidence leur effet vermicide respectivement sur le lombric *Lombricus terrestris*<sup>[5]</sup> et sur le ténia *Hymenolepis nana*<sup>[6]</sup>.

Dans nos travaux antérieurs, nous avons isolé d'un extrait à l'éther de pétrole de la poudre d'écorces de cette plante le lupéol, un triterpène pentacyclique monohydroxylé<sup>[7]</sup>.

Poursuivant l'étude de cette plante largement utilisée dans la pharmacopée traditionnelle congolaise, nous avons procédé à l'extraction au méthanol de la poudre des feuilles et avons isolé et

identifié trois (3) triterpénols, dont le lupéol précédemment isolé.

### II. MATERIEL ET METHODES

#### 2.1. Matériel végétal

Les feuilles et les écorces de *Milletia versicolor* Baker (Fabaceae), récoltées dans les environs de la localité de Mossaka dans la région de la cuvette congolaise ont été préalablement séchées à l'air libre, ensuite broyées pour la préparation des extraits.

La plante a été identifiée par les botanistes de la Faculté des Sciences de l'Université Marien NGOUABI et ceux du Centre d'Etudes et de Recherche sur les Ressources Végétales (C.E.R.VE.). Un échantillon a été récolté et comparé aux échantillons N<sup>os</sup> 587 de Néré, 456 de J. Kochlin et 9439 de J. Trochain déposés à

l'Herbarium National du Congo à BRAZZAVILLE.

## 2.2. Extraction et isolement

Une extraction au soxhlet de 70g de poudre de feuilles est réalisée de façon continue avec du méthanol. Après élimination du solvant à l'aide d'un évaporateur rotatif, on obtient 10g (14% de rendement) d'un résidu révélant une très efficace activité anthelminthique sur le lombric.

Le fractionnement de l'extrait brut par chromatographie sur colonne Séphadex HL20 et gel de silice, puis une chromatographie préparative sur plaque de silice (CCM) a permis l'isolement et la mise en évidence des trois triterpénols par comparaison de leurs chromatogrammes et spectres à ceux de la littérature, les trois composés étant connus.

L'analyse chromatographique GC/MS a été réalisée à l'aide d'un appareil GC TRACE Thermo Série 2000 dans les conditions opératoires suivantes :

- Solvant : chlorure de méthylène ;
- Colonne capillaire en silice de marque Supelco n° 28089-4 Equity TM-5 (30 m x 0,25 mm x 0,25 µm) ;
- Température : 160 °C (2mn) à 280 °C avec un gradient de 5 °C/min.
- Gaz vecteur : hélium à un débit de 2 ml/min.

Les temps de rétention des trois composés et les pics caractéristiques des spectres de masse sont donnés dans la partie Résultats et Discussion.

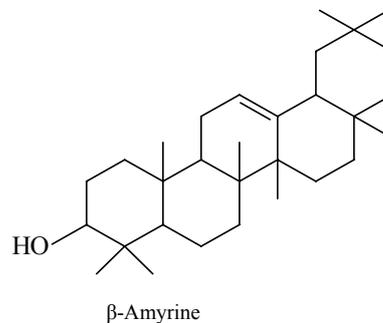
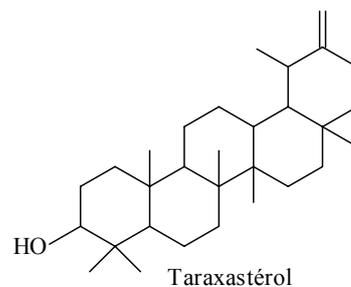
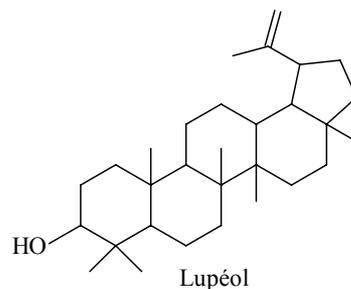
Le spectre RMN <sup>13</sup>C a permis de déterminer les pics caractéristiques qui ont été comparés à ceux de la littérature [8,9].

Rappelons que pour les écorces de tronc, l'extraction à l'éther de pétrole a été effectuée sur 1490g de poudre et a permis l'obtention de 9,69g (0,65%) d'extrait brut d'où l'on a pu isoler le lupéol [7] à l'aide

des chromatographies sur colonne de silice H60 et sur plaque de gel de silice.

## III. RESULTATS ET DISCUSSION

Trois triterpénols pentacycliques ont été obtenus et identifiés. Il s'agit du lupéol, du taraxastérol et du β-amyrine dont les structures sont données ci-après:



L'identification des trois triterpénols a été effectuée essentiellement par comparaison de leurs spectres de masse par la technique de couplage CPG/SM avec les spectres de ces composés, disponibles dans les banques de données.

### Lupéol :

GC : Temps de rétention : 37,00 min.

SM : m/e : 426 [M]<sup>+</sup>, 411, 393, 365, 315, 257, 207, 189, 135, 121, 107, 95, 81, 69.

Les premiers pics de m/e 67 à 207 sont intenses, avec m/e 95 comme pic parent

(100%). Le pic moléculaire m/e 426 a une abondance relative moyenne de 50%.

#### **Taraxastérol :**

GC : Temps de rétention : 40,43 min.

SM: m/e : 426 [M]<sup>+</sup>, 393, 365, 357, 315, 257, 207, 189, 175, 161, 147, 135, 121, 109, 95, 81, 67.

Les premiers pics de m/e 67 à 207 sont également intenses, avec m/e 189 comme pic parent. Le pic moléculaire m/e 426 a une abondance relative moyenne de 40%.

#### **β-Amyrine:**

GC : Temps de rétention : 35,31 min.

SM: Le spectre est caractérisé par quatre pics intenses (le pic moléculaire m/e avec une abondance relative de 46%, le pic de base m/e 218 (100%), le pic m/e 257 (25%) et le pic m/e 203 (44%). Tous les autres pics sont très peu intenses (intensité maximum inférieure à 15%).

Ces spectres sont superposables à ceux disponibles dans les banques de données.

#### **RMN <sup>13</sup>C :**

Concernant le lupéol que nous avons isolé auparavant de l'extrait à l'éther de pétrole de la poudre d'écorces de cette plante [7], les données GC/MS ont été complétées par celles du spectre RMN <sup>13</sup>C par comparaison avec le spectre RMN <sup>13</sup>C d'un lupéol isolé également d'une Fabacée, *Diploptropis ferrugenia* Benth. par Almeida J.R.G.S. et al. [8] qui avaient comparé leurs propres données spectrales à celles de Razdan T.K. et al. [9]. Les pics caractéristiques sont bien superposables à ceux de ces deux références.

Nous donnons ci-après les différents déplacements chimiques des pics (δppm ; 75,6 MHz ; CDCl<sub>3</sub>) de notre composé et entre parenthèses, les pics du lupéol isolé de *Diploptropis ferrugenia* Benth. par Almeida J.R.G.S. et al.

- a) **Carbones quaternaires :**  
C4 : 37,5 (38,7) ; C8 : 41,0 (40,8) ;  
C10 : 37,3 (37,2) ; C14 :  
43,0 (42,8) ; C17 : 42,9 (42,9).
- b) **Carbones tertiaires (CH) :** C3 :  
76,2 (79,0) ; C5 : 55,0 (55,3) ; C9 :  
50,2 (50,4) ; C13 : 38,0 (38,0) ;  
C18 : 48,3 (48,3) ; C19 :  
48,0 (47,9).
- c) **Carbones secondaires (- CH<sub>2</sub> -) :**  
C1 : 38,7 (38,8) ; C2 : 27,3 (27,4) ;  
C6 : 18,3 (18,3) ; C7 : 34,1 (34,3) ;  
C11 : 20,8 (20,9) ; C12 :  
25,1 (25,1) ; C15 : 27,4 (27,4) ;  
C16 : 35,6 (35,6) ; C21 : 29,8  
(29,8) ; C22 : 40,0 (40,0).
- d) **Carbones primaires (- CH<sub>3</sub>) :**  
C24 : 22,1 (15,4) ;  
C25 : 15,9 (16,1) ; C26 :  
15,9 (15,9) ; C27 : 14,5 (14,5) ;  
C28 : 18,0 (18,0) ; C30 :  
19,3 (19,3).
- e) **Carbones sp<sup>2</sup> (C=C) :** C20 :  
151,0 (151,0) ; C29 : 109,3 (109,3).

Les pics caractéristiques des deux spectres sont quasiment superposables, ce qui nous a permis de conclure, en plus des données du spectre de masse, que ce troisième composé isolé de *Milletia versicolor* Baker est bien le lupéol.

Signalons qu'un autre composé a été isolé de *Milletia versicolor* Baker par une autre équipe de chercheurs [10]. Il s'agit d'une furoquinone présentant une activité anti-inflammatoire.

#### **IV. CONCLUSION**

Cette étude a permis d'isoler trois triterpènes pentacycliques monohydroxylés des feuilles de *Milletia versicolor* Baker. L'un de ces triterpènes est le lupéol, précédemment isolé pour la première fois des écorces de la plante par notre équipe. L'investigation de leur activité biologique n'a pas fait l'objet, à notre connaissance, de travaux scientifiques. Les études ultérieures aborderont ces préoccupations

pour vérifier si l'activité anthelminthique de la plante, par ailleurs prouvée sur le lombric *Lombricus terrestris* et sur le ténia *Hymenolepis nana*, est liée à l'un ou l'autre des composés ici décrits.

#### **Remerciements**

Nous exprimons nos sincères remerciements à Madame Françoise KHUONG-HUU, Directeur de Recherche et à Madame Christiane POUPAT, Directeur de Recherche (Institut de Chimie des Substances Naturelles, ICSN/CNRS, Gif-sur-Yvette, France) pour la finalisation de ce travail, particulièrement pour l'analyse chromatographique et spectrale.

#### **BIBLIOGRAPHIE**

- [1] Flore d'Afrique Centrale (Congo Belge et Ruanda-Urundi), volume V, (1954) ; 35.
- [2] Bouquet A., Féticheurs et médecines traditionnelles du Congo, Mémoire ORSTOM, n°36, Brazzaville, (1969) ; 282 p.
- [3] Adjanohoun E.J., Ahyi A.M.R., Ake, Assi et al., Médecine traditionnelle et pharmacopée: contribution aux études ethnobotaniques et floristiques en République Populaire du Congo: Rapport présenté à l'ACCT, Paris, (1988) ; 605 p.
- [4] Mulkay P., Delaude C., Darimont E., Breyne H., Amyolytic capacity of african Fabaceae, Bulletin de la Société royale des Sciences de Liège, (1986) 55 ; 627-631.

- [5] Guissou I.P., Ouedraogo S., Sanfo A., Somé N., Lompo M., Mise au point d'un modèle biologique de test anti-parasitaire appliqué aux plantes médicinales, Pharm. Méd. Trad. Afr., (1998) 10, 105-113.
- [6] Sen B., Hawking F., Screening of pesticide compounds on *Hymenolepis nana* in vitro, Brit. J. Pharmacol., (1960) 15; 436-439.
- [7] Ekouya A., Tchissambou L., Onanga M., Ouabonzi A., Ongoka P., Bayitokou A., *Milletia versicolor*: etude chimique et pharmacologique, Discovery and Innovation, 2, (1999) ; 45-47.
- [8] Almeida J.R.G.S., Da-Cunha E.V.L., Silva M.S., Athayde-Filho P.F., Braz-Filho R., Barbosa-Filho J.M., Outros constituintesquimicos de *Diploptropis ferrugenia* Benth. (Fabaceae), Revista Brasileira de Farmacognosia, (2003) ; 44-46.
- [9] Razdan T.K., Harkar S., Qadri B., Qurishi M.A., Khuroo M.A., Lupene derivatives from *Skimmia laureola*, Phytochemistry, (1988) 27;1890-1892.
- [10] Tagatsind M., Yankep E., Najem D., Fomum T., Nyasse B., Bodo B., Reccio C., Giner R.M., Rios J., Identification of an anti-inflammatory principle from the stem bark of *Milletia versicolor*, Planta Med., (2003) 69; 767-770.