

Sur une Pipéracée de Guyane, le *Piper marginatum* Jacq.

Sieko FOUNGBE, Francois TILLEQUIN, Michel PARIS,
Henri JACQUEMIN et René-Raymond PARIS

Laboratoires de Matière médicale, 4, avenue de l'Observatoire, F 75270 Paris Cedex 06
et rue J.-B. Clément, F 92290 Chatenay-Malabry.

RÉSUMÉ. — Des essais physico-chimiques préliminaires portant sur les feuilles du *Piper marginatum* originaire de la Guyane française ont montré la présence de traces de substances alcaloïdiques, de flavonoïdes et d'une huile essentielle. Les flavonoïdes sont surtout des C-flavonoïdes dérivés de la vitexine ; l'huile essentielle contient en particulier de l'anéthole et du méthyleugénol.

Continuant les recherches effectuées par l'un de nous (R.P.) sur des plantes de Guyane française [3, 14, 15], et grâce à de nouveaux échantillons fournis par l'O.R.S.T.O.M. nous avons été amenés à examiner la composition chimique du *Piper marginatum* récolté par l'un de nous (H.J.) en 1974 aux environs de Cayenne.

La plante est dénommée « Ti Bombé » en créole, la décoction de feuilles est utilisée en bains et en frictions pour soigner les éruptions cutanées et pour calmer les démangeaisons dues aux piqûres d'insectes et, selon LEMÉE [9], cette plante en infusion est douée de propriétés stomachiques et cholagogues; les racines sont diurétiques et sudorifiques — le fruit aromatique peut remplacer celui du *Piper nigrum*.

Il s'agit d'un arbuste à rameaux noueux grêles ; les feuilles alternes, ovales, acuminées, ont une base largement cordée, le pétiole est court ; les inflorescences sont constituées par des épis, longs d'une dizaine de centimètres, larges de 2 à 4 mm, aux bractées peltées frangées — les fruits sont des baies serrées plus ou moins anguleuses. Cette espèce se rencontre en Amérique du Sud (Guyane, Venezuela) et aux Antilles.

Au point de vue chimique, il ne semble pas y avoir d'études approfondies en dehors de celle d'HOYO DE NUNEZ et JOHNSON [8] qui, en 1943, indiquent la présence d'une huile essentielle, d'une substance azotée cristalline, d'un peu de tanin et d'un stérol.

Mémoire présenté à l'Académie de Pharmacie, séance du 5 mai 1976.

Tirés à part : R. PARIS, Laboratoire de Matière Médicale, 4, avenue de l'Observatoire, F 75270 Paris.

MASSON et Cie, 120, Bd St-Germain, PARIS (6^e).
O. R. S. T. O. M.

29 AOÛT 1977
Collection de Références

n° M 8672 B.B.V.

TRAVAUX PERSONNELS : au cours d'essais préliminaires effectués sur les parties aériennes, en tube ou en chromatographie papier et sur couche mince, suivant les techniques habituelles du laboratoire [13], nous avons constaté l'absence de quinones, de cardénolides, d'iridoïdes, d'hétérosides cyanogénétiques, de saponines, de mucilages et la présence de substances donnant la réaction des alcaloïdes (en faible quantité) de polyphénols (acides-phénols et flavonoïdes) et d'une huile essentielle.

La faible quantité de matière première dont nous disposons n'a pas permis une étude approfondie des substances fournissant un léger précipité avec les réactifs de MAYER et de DRAGENDORFF — il s'agit vraisemblablement d'amides type pipérine assez fréquents chez les *Piper*.

Les acides-phénols ont été étudiés à partir de l'infusé à 10 % après extraction à l'éther en milieu sulfurique et purification par passage en solution de carbonate acide de sodium [12]. Ils ont été caractérisés en chromatographie sur couche mince de cellulose, en utilisant comme solvants l'acide acétique à 2 % et l'acide chlorhydrique 0,1 *N* et comme révélateur les vapeurs d'ammoniac et la *p*-nitraniline diazotée. La cochromatographie en présence de divers témoins a permis de caractériser les acides chlorogénique, caféique et *p*-coumarique de la série hydroxycinnamique et les acides *p*-hydroxybenzoïque et vanillique de la série benzoïque.

L'extraction des flavonoïdes a été faite suivant la technique type CHARAUX-PARIS [10] : épuisement par l'alcool bouillant, concentration à sec, reprise par l'eau bouillante; la solution aqueuse est traitée successivement par l'éther, l'acétate d'éthyle et le butanol — des essais en chromatographie sur couche mince suivant les méthodes classiques montrent qu'il existe surtout deux dérivés flavoniques, l'un (substance A) extraite en partie par l'acétate d'éthyle, l'autre (substance B), plus polaire, se trouvant dans les extraits butanoliques. Ces deux substances se comportent comme des flavones : coloration jaune-orangé avec le magnésium chlorhydrique et ne donnent pas les réactions des orthodiphénols (coloration jaune et non orangée avec l'acétate basique de plomb).

La purification de ces flavonoïdes a été entreprise d'abord par chromatographie préparative sur papier ou sur couche mince de cellulose, puis par chromatographie sur colonne de silice. La séparation en chromatographie sur papier Whatman a été réalisée à l'aide d'acide acétique à différents titres et dans le butanol acétique.

Les Rf suivant ont été obtenus :

	Solvant de PARTRIDGE	Acide acétique		
		5 %	15 %	30 %
Substance A.....	0,40	0,10	0,30	0,48
Substance B	0,54	0,42	0,60	0,70

Les rendements obtenus par élution des bandes à l'alcool à 96° sont très faibles et les produits ne sont pas encore suffisamment purs. On a alors procédé, à partir d'extraits acétate d'éthyle ou butanolique provenant de 250 g de feuilles, sur colonne de silice en éluant par de l'acétate d'éthyle additionné de proportions croissantes de méthanol (1 à 5 %); les différentes fractions (20 ml) sont analysées en chromatographie sur couche mince et on réunit les fractions identiques ne présentant que les taches A ou B (le produit B pur passe tardivement : au-delà de 200 fractions).

Sur chacun des deux produits, ont d'abord été déterminés les Rf dans différents solvants et les spectres ultraviolets dans différentes conditions. En CCM de cellulose, les Rf sont sensiblement identiques à ceux indiqués précédemment. Avec le solvant APEM (1) de CHOPIN [4] les Rf sont respectivement de 0,34 et 0,76; l'étude des spectres ultraviolets a abouti aux chiffres suivants :

λ_{\max} (méthanol)	332 nm	300	272	Interprétation	
+ AlCl ₃	380	344	304	276	Pas d'OH en 3
+ AlCl ₃ + HCl	380	344	304	276	OH en 5
+ Acétate de Na	384		312		OH en 7
+ Acétate Na + acide borique.	336		272		Un seul OH sur cycle B

(1) Acétate d'éthyle -pyridine-eau-méthanol (80-12-10-5 V/V).

Les spectres, sensiblement identiques pour A et B, se rapprochent de celui de l'apigénine (tri-hydroxy-5-7-4' flavone).

L'hydrolyse acide (acide sulfurique 2 N 2 h au BM bouillant) du produit A n'amène aucun changement; il n'y a pas libération de sucre; on serait en présence d'un C-hétéroside. D'après les Rf dans divers solvants (indiqués ci-dessus) et le spectre UV, il s'agit d'un mono C-glucoside de l'apigénol : la vitexine.

Quant au produit B, il donne, après hydrolyse acide et neutralisation du filtrat par le carbonate de baryum, un sucre se comportant comme le glucose en CCM de silice ou de cellulose (solvant butanol-isopropanol-eau (5-3-1), révélateur : phtalate d'aniline; le filtrat acide est épuisé successivement par l'éther, l'acétate d'éthyle et le butanol. Ces deux derniers solvants séparent une substance donnant les réactions colorées des flavones, ayant un Rf de 0,30 dans l'acide acétique à 15%, de 0,55 dans le mélange acétate d'éthyle-méthanol-eau (100-13,5-16,5), 0,30 dans le solvant d'EGGER [5] et serait donc identique à la substance A, la substance B étant un O-glucoside de vitexine. Des essais sont en cours afin de déterminer la structure détaillée de ce C-hétéroside. Au point de vue chimiotaxinomique la présence de C-flavonoïdes a été signalée chez un *Piper* en 1972 [2] mais leur identité était encore inconnue.

ETUDE PARTICULIÈRE DE L'HUILE ESSENTIELLE.

Déterminée par la méthode de la Pharmacopée française 1972 (tome II, p. 304) la teneur en essence des feuilles est d'environ 3 % (v/p). Cette essence a été préparée par entraînement à la vapeur d'eau. Déshydratée sur sulfate de sodium sec, elle se présente sous forme d'un liquide jaune clair, de densité voisine de 1, d'odeur agréable, de saveur piquante.

a) En C.C.M. (Kieselgel GF 254, solvant benzène-acétate d'éthyle (95-5) révélateurs : vanilline sulfurique, chlorure ferrique, examen en lumière U.V.) elle montre deux taches principales gris-violet, de Rf voisin de 0,10 et 0,77 indiquant la présence de composés phénoliques.

b) Chromatographie en phase gazeuse : appareil Varian 1400 — détecteur à ionisation de flamme, colonne en inox (3 m × 3 mm). Support chromosorb (80 × 100 mesh), phase stationnaire 5 % carbowax 20 M. Température programmée de 80 à 200° (4° par mn). On obtient une quarantaine de pics dont 5 importants.

IDENTIFICATION DES CONSTITUANTS.

a) *Hydrocarbures terpéniques* : Le test d'ATTAWAY basé sur la variation de la coloration par la vanilline sulfurique en fonction du temps a permis de caractériser : camphène, phellandrène, *p*-cymène, α et β pinène ; d'autres essais sur support Kieselgel GF 254 - solvant : hexane pur ; examen en U.V. puis révélation par les vapeurs de brome et l'acide sulfurique suggèrent la présence de : limonène, pinène et *p*-cymène [6, 11].

b) *Composés oxygénés* : Ceux-ci sont identifiés en C.C.M. (Kieselgel) solvant : hexane-acétate d'éthyle (96-4), en utilisant comme révélateurs le chlorure ferrique, la 2-4 dinitrophénylhydrazine, la vanilline sulfurique en présence de témoins

externes et internes. On a pu ainsi caractériser le cinéol, l'anéthole et divers composés carbonylés [11].

Enfin l'isolement par chromatographie sur colonne des principaux constituants a été tenté afin de confirmer l'identité des substances caractérisées en chromatographie. On a utilisé 40 g d'acide silicique Mallinckrodt 100 mesh par gramme d'essence ; une élution par l'hexane redistillé entraîne les composés peu polaires (hydrocarbures). 42 fractions de 200 ml ont été nécessaires — la polarité de l'éluant est augmenté par addition d'éther (de 1 à 50 %). On a ainsi fractionné des composés oxygénés qui ont été étudiés en spectrométrie de masse couplée avec la chromatographie en phase gazeuse [6].

Les conditions opératoires ont été les suivantes : appareil Jeol J.M.S. 07 — colonne en inox — phase stationnaire 5 % de Carbowax sur chromosorb-gaz vecteur hélium — débit 25 ml/mn. Température programmée 80° à 200° — injecteur 250°, détecteur 255°, détecteur à ionisation de flamme. Energie électronique 70 e.V. Résultats :

N° de spectres	Intensité des principaux faisceaux d'ions <i>m/e</i>										Interprétation
1	136 (M)	(6)	93 (P)	(100)	92 (35)	91 (31)	43 (33)				α -pinène
3	136 (M)	(6)	93 (P)	(100)	69 (40)	41 (65)	39 (27)				β -pinène
18	149 (11)	148 (M)	(P)	(100)	147 (45)	133 (29)					Anéthole
	117 (25)	77 (27)									
24	179 (12)	178 (M)	(P)	(100)	163 (18)	151 (18)					Méthylisoeugénol
	121 (47)										
27	179 (12)	178 (M)	(P)	(100)	163 (16)	151 (7)					Méthyleugénol
	121 (29)										
28	222 (M)	(1)	149 (42)	59 (P)	(100)	45 (40)					β -eudesmol
	41 (40)										

La présence d'anéthole et de méthyleugénol est assez fréquente dans les huiles essentielles des Pipéracées [7].

CONCLUSION

Des feuilles de *Piper marginatum* ont été isolées des C-flavonoïdes : l'un de ceux-ci a été identifié à la vitexine ou 8-C β D-glucopyranosylapigénol ; un deuxième serait un O-glucoside de vitexine.

D'autre part, cette plante renferme environ 3 % d'une huile essentielle, où ont été caractérisés : α et β pinène, limonène, *p*-cymène ainsi que cinéol et β -eudesmol ; des dérivés de l'eugénol : méthyleugénol et méthylisoeugénol et enfin de l'anéthole (environ 40 % de l'essence).

SUMMARY

On a Piperaceae from french Guiana : *Piper marginatum* Jacq.

by Sieko FOUNGBE, François TILLEQUIN, Michel PARIS, Henri JACQUEMIN and René-Raymond Paris (Paris).

After a physical-chemical screening of *Piper marginatum* leaves from french Guiana, alkaloids (traces), flavonoids and an essential oil were found. Flavonoids are C-glykosids (vitexin derivatives). The essential oil is specially rich in anethole and methyleugenol.

BIBLIOGRAPHIE

- [1] ATTAWAY (J. A.), LEONARD (J.), BARABAS (R.) et WOLFORD (W.). *Anal. Chem.*, 1965, 3, p. 1289.
- [2] BOUTARD (B.). Étude des flavonoïdes de *Potamogeton natans* et autres Fluviales. *Thèse Sciences biologiques*, 3^e cycle, Lyon, 1972.
- [3] CAVÉ (A.), BRUNETON (J.) et PARIS (R. R.). *Pl. méd. et Phyto.*, 1972, 6, p. 228.
- [4] CHOPIN (J.), WAGNER (H.) et HÖRHAMMER (L.). *Pharmacognosy and Phytochemistry*. Springer Verlag, Berlin, 1971.
- [5] EGGER (K.). *Planta medica*, 1964, 3, p. 271.
- [6] FOUNGBE (S.). Contribution à l'étude de deux plantes exotiques : *Piper marginatum* et *Stylosanthes erecta*, DEPS Chimie, substances naturelles.
- [7] HEGNAUER (R.). *Chemotaxonomie der Pflanzen*, Tome V, p. 313. Birkhauser Verlag, Bâle, 1969.
- [8] HOYO DE NUNEZ et JOHNSON (M. V.). *J. amer. pharm. Ass.*, 1943, 32, p. 234.
- [9] LEMEE (A.). *Flore de la Guyane française*, Tome I et IV, Paul Lechevalier édit., 1955, Paris.
- [10] PARIS (R.). *Bull. Soc. Bot.*, 1954, 101, p. 457.
- [11] PARIS (R.) et GODON (H.). *Annal. pharm. fr.*, 1961, 19, p. 86.
- [12] PARIS (R.) et MURGU (L.). *Pl. méd. et Phyto.*, 1970, 4, p. 138.
- [13] PARIS (R.) et NOTHIS (A.). *Pl. méd. et Phyto.*, 1969, 3, p. 274.
- [14] PARIS (R.) et POINTET (M.). *Annal. pharm. fr.*, 1954, 12, p. 547.
- [15] POINTET (M.). *Plantes médicinales des Antilles et de la Guyane française*, Prix Menier, 1952, Fac. Pharmacie de Paris.