

SUR LA PRESENCE DE SAPONINES ANTIFONGIQUES DANS LES

TISSUS FOLIAIRES D'UNE LILIACEE

Marcel MEIFFREN et Madeleine HARDY

A partir des feuilles et de tiges aériennes de Polygonatum multiflorum All. (liliacée), a été isolée une saponine présentant des propriétés fongistatiques.

La recherche de substances antifongiques dans la série végétale (1) a permis de constater qu'un extrait de plantes appartenant à la famille des liliacées présentait une action fongistatique remarquable.

METHODES.

Des extractions successives ont été faites avec divers solvants, à partir de feuilles et de tiges aériennes de Polygonatum multiflorum All. séchées à l'air, à température ambiante, puis réduites en poudre.

Le pouvoir inhibiteur est vérifié à chaque stade de purification sur la croissance d'une Mélanconniée, le Pestalozzia coffeicola Av. Sacca, soit en milieu liquide soit en milieu solide.

Dans le premier cas, le milieu nutritif est versé dans le tube après évaporation sous vide du solvant. Dans le second cas, l'évaporation s'effectue en présence de poudre de cellulose pour faciliter la répartition dans le milieu gélosé maintenu à 50° C.

Des extraits obtenus avec l'eau, le méthanol, l'éthanol 70°, l'éthanol 95° et le trichloréthylène ont présenté une action antifongique. Les extraits préparés à partir d'éther de pétrole, d'éther éthylique, d'acétone et d'acétate d'éthyle ont été sans action sur la croissance du champignon.

D'autre part, des extractions directes et la comparaison des concentrations minimales d'inhibition nous ont conduit à choisir le méthanol et à préciser une méthode d'extraction. L'extrait méthanolique, concentré à sec, est repris par du méthanol 50 % et lavé avec de l'éther de pétrole. Après une nouvelle concentration sous vide, l'extrait est repris, soit par le méthanol, soit par l'eau pour effectuer les contrôles chromatographiques et biologiques.

#### DETERMINATION ET CARACTERISATION DE LA SUBSTANCE ACTIVE.

Par chromatographie ascendante sur papier, à une dimension, neuf bandes ont été séparées en utilisant comme solvant la phase supérieure du mélange butanol, acide acétique/eau, 4/1/5. Les bandes ont été délimitées en lumière ultra-violette.

Le contrôle biologique a mis en évidence une action fongistatique pour l'éluat méthanolique de la bande n° 3, dont le Rf est voisin de 0,20.

Des chromatographies à deux dimensions ont été réalisées sur cet extrait, dans le but de caractériser la substance active. Le même type de papier a été utilisé ainsi que le même solvant pour la première dimension et l'acide acétique 10 % pour la seconde.

Les chromatogrammes examinés en lumière ultra violette présentaient des taches dont la fluorescence pouvait laisser supposer la présence de composés phénoliques. Les réactifs suivants ont alors été utilisés : chlorure d'aluminium, borohydrure de sodium, "fast blue salt BB" (sels diazotés), carbonate de sodium, trichlorure d'antimoine dans le chloroforme.

Le chlorure d'aluminium a révélé la présence de trois taches, dont deux, de coloration jaune visible et jaune-vert en lumière ultra-violette, correspondent à des flavonoides, dont la rutine ; et une tache brun jaune ayant un Rf voisin de 0,20 dans le sens du solvant butanol/acide acétique/eau, et de 0,91 dans le sens acide acétique.

Ces trois taches ont été éluées par du méthanol. Un contrôle biologique a montré que la substance active correspondait à la troisième tache, les flavonoides étant sans action.

Après les composés phénoliques, notre attention s'est portée sur les saponines, substances qui se rencontrent fréquemment chez les liliacées.

Effectivement l'extrait actif a réagi positivement avec la p-diméthylaminobenzaldéhyde : coloration rose dans le visible et en lumière ultra-violette. Elle réagit aussi avec l'anisaldéhyde, l'aldéhyde cinnamique, la vanilline chlorhydrique et le trichlorure d'antimoine (2).

Cette saponine se caractérise en outre par le p-aminoéthyl-diphényl-borate, appelé aussi "réactif A pour produits naturels" (3), et borohydrure de sodium. Elle n'est pas hémolytique ; son indice de mousse est de 200.

#### CONCENTRATION MINIMALE INHIBITRICE.

La croissance du champignon témoin Pestalozzia coffeicola Av. Sacca est inhibée à la dose de 25 milligrammes de poids sec de matériel végétal de départ par millilitre de milieu pour l'extrait méthanolique et à la dose de 15 mg/ml pour la substance obtenue par élution.

Précisons que cette substance purifiée est fongistatique et non fongicide.

- (1) M. MEIFFREN, J. TANGUY, M. HARDY, Conf. Intern. Rech. Agron. Cacaoyères, Abidjan, 15-20 Nov. 1965, PARIS (1967), p. 184-194.
- (2) C. SANNIE, H. LAPIN, Bull. Soc. Chim. Fr., 1952, p. 1080-1085.
- (3) K. RANDEKATH, Chromatographie sur couches minces, Gauthier-Villars, Paris, 214 p.