

SUR LA FRACTION INSAPONIFIABLE DES SPORES DE FOUGÈRE *POLYSTICHUM FILIX MAS L.*

P. DUPERON, W. VETTER et M. BARBIER

Institut de Chimie des Substances Naturelles, Gif-sur-Yvette (Seine-et-Oise)

(Received 6 August 1963)

Résumé—La fraction insaponifiable des spores de la fougère *Polystichum filix mas L.* a été analysée par spectrométrie de masse. Elle contient une série d'alcools aliphatiques de C_{23} à C_{31} , ainsi que des C_{27} , C_{28} et C_{29} .

Abstract—The unsaponifiable fraction of the spores of the fern *Polystichum filix mas L.* has been analysed by mass spectrometry. It consists of a series of aliphatic alcohols ranging from C_{23} to C_{31} and of C_{27} , C_{28} and C_{29} sterols.

DANS une publication récente, Hügel, Vetter, Audier, Barbier et Lederer¹ ont décrit l'analyse des stérols de différents pollens par spectrométrie de masse. Cette étude a montré la présence, dans les pollens, d'une série de stérols ne différant entre eux que par leur chaîne latérale. En plus du 24-méthylène cholestérol identifié dans les pollens par Barbier, Hügel et Lederer en 1960,² les stérols suivants ont pu être détectés: un stérol mono-insaturé en C_{27} , un stérol mono-insaturé en C_{29} , un stérol di-insaturé en C_{27} et son homologue en C_{29} . Il est probable que ces stérols correspondent respectivement au cholestérol, β -sitostérol, desmostérol et fucostérol.

Nous décrivons maintenant les résultats d'une analyse par spectrométrie de masse* de la fraction insaponifiable des spores de la fougère *Polystichum filix mas L.* La chromatographie sur colonne d'acide silicique a tout d'abord permis la séparation de cet insaponifiable en deux fractions: une première fraction composée d'alcools aliphatiques et une seconde fraction composée de stérols.

La composition qualitative et quantitative des alcools aliphatiques a été déterminée par la spectrométrie de masse de leurs éthers triméthylsilyle³. Sharkey, Friedel et Langer⁴ ont montré que ces éthers fournissaient des pics importants de masse M-15 (par la perte d'un groupe méthyle). Cette méthode permet d'obtenir une analyse convenable d'un mélange d'alcools, car les chaînes carbonées ne sont pas fragmentées. Le tableau 1 ci-après résume les résultats obtenus. Il s'agit d'un mélange d'alcools pairs et impairs de C_{23} à C_{31} , le plus important en pourcentage étant l'hexacosanol. On peut supposer que la réaction entre l'hexaméthylsilazane et les différents alcools de ce mélange, s'est produite de façon identique et que par conséquent les pourcentages observés sont bien proportionnels.

* Ces mesures ont été effectuées avec un appareil Atlas CH₄; température de la source d'ions: 260°; tension d'ionisation: 70 eV, 10 eV pour les dosages; température d'injection: 220°.

¹ M. F. HÜGEL, W. VETTER, H. AUDIER, M. BARBIER et E. LEDERER, *Phytochemistry*, 1963, sous presse.

² M. BARBIER, M. F. HÜGEL et E. LEDERER, *Bull. Soc. Chim. Biol.* **42**, 91 (1960).

³ S. H. LANGER, S. CONNELL et I. WENDER, *J. Org. Chem.* **23**, 50 (1958).

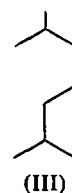
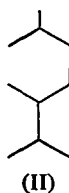
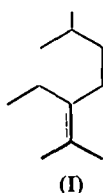
⁴ A. G. SHARKEY, R. A. FRIEDEL et S. H. LANGER, *Anal. Chem.* **29**, 770 (1957).

TABLEAU 1. RÉSULTATS DE L'ANALYSE DES ALCOOLS ALIPHATIQUES PAR SPECTROMÉTRIE DE MASSE DE LEURS ÉTHERS R-O-Si(CH₃)₃

Pics observés	Masse des éthers R-O-Si-(CH ₃) ₃	Masse des alcools ROH	Formule	%
397	412	340	C ₂₃ H ₄₈ O	13
411	426	354	C ₂₄ H ₅₀ O	17
425	440	368	C ₂₅ H ₅₂ O	11
439	454	382	C ₂₆ H ₅₄ O	32
453	468	396	C ₂₇ H ₅₆ O	2,5
467	482	410	C ₂₈ H ₅₈ O	19
481	496	424	C ₂₉ H ₆₀ O	1
495	510	438	C ₃₀ H ₆₂ O	4
529	534	452	C ₃₁ H ₆₄ O	0,5

Thomas et Taurins⁵ ont signalé la présence de docosanol et de tricosanol dans l'oléorésine extraite des rhizomes de la fougère *Dryopteris filix*. Ces auteurs ont également décrit la présence dans cette huile extractive de 5,11-stigmastadiénol.

La spectrométrie de masse a été effectuée avec 4 mg de substance, sur le mélange de stérols d'une part et sur leurs acétates, d'autre part.⁶⁻⁸ Elle a montré la présence d'au moins trois stérols de masses 414, 400 et 386. Elle indique en plus que la substance de masse 414 possède deux CH₂ de plus dans la chaîne latérale que le cholestérol (vraisemblablement le β -sitostérol (I)). Ce stérol est le plus abondant. Les deux composés de masse 400 et 386 sont présents en plus faibles proportions. Le composé de masse 400 possède un CH₂ de plus que le cholestérol dans la chaîne latérale (comme par exemple le campestérol (II)). La substance de masse 386 correspond au cholestérol (III). Un pic de faible intensité à 412 montre la présence d'un stérol possédant une double liaison de plus que le stérol de masse 414 (comme par exemple le fucostérol, ou le stigmastérol).



La répétition des analyses par spectrométrie de masse, sur les acétates, a confirmé ces résultats. La présence d'un stérol possédant soit deux méthyles, soit un éthyle dans la chaîne latérale (β -sitostérol) ressort du pic à 396 (M-60). Les pics suivants indiquent la présence d'un stérol possédant un groupe méthyle dans la chaîne latérale, tel le campestérol (M-60 = 382). Un pic à 368 (M-60) montre la présence du cholestérol. Le pic de faible intensité à 394 (M-60) correspond à un stérol possédant une double liaison de plus que le β -sitostérol.

Ces résultats sont en accord avec ceux obtenus avec les stérols des pollens,¹ qui sont constitués par le 24-méthylène cholestérol, ainsi que par une série de stérols en C₂₇, C₂₈,

⁵ T. L. THOMAS et A. TAURINS, *Canad. J. Chem.* **40**, 1302 (1962).

⁶ R. RYHAGE et E. STENHAGEN, *J. Lipid Research* **1**, 361 (1960).

⁷ S. S. FRIEDLAND, G. H. LANE, R. T. LONGMAN, K. E. TRAIN et M. J. O'NEAL, *Anal. Chem.* **31**, I (1959).

⁸ P. DE MAYO et R. I. REED, *Chem. Ind.* 1481 (1956).

C₂₉, et ils sont conformes à l'hypothèse de biosynthèse des phytostérols à partir du desmostérol, par une double méthylation en C₂₄ (voir à ce sujet la discussion dans¹). Johnson, Bennett et Heftmann⁹ ont démontré la présence de cholestérol dans les végétaux supérieurs. Il est vraisemblable que la série de stérols que nous décrivons soit présente dans tous les végétaux (à des concentrations variables).

PARTIE EXPÉRIMENTALE

10 g de spores de fougère ont été extraits deux fois par l'éthanol (215 mg d'extraits), puis deux fois par l'éther (202 mg d'extraits). Les extraits réunis ont été soumis à une saponification par la potasse méthanolique à 4 pour cent. On a ainsi obtenu 100 mg d'insaponifiable. Cet insaponifiable a été chromatographié sur colonne d'acide silicique Mallinckrodt (6 g); éluions par fractions de 5 ml; une première fraction est éluee par le benzène (43 mg) et une seconde par le mélange benzène-éther 98:2.

La première fraction est un mélange d'alcools aliphatiques. La cristallisation dans l'éther fournit 20 mg de cristaux incolores F.76–77,5°. Le spectre infra-rouge mesuré dans le nujol, ne montre pas d'autre groupe fonctionnel que celui de la fonction alcool. Nous avons préparé les éthers du triméthylsilyl par action de l'hexaméthylsilazane.³

Les fractions éluées par le mélange benzène-éther 98:2 donnent une réaction de Liebermann fortement positive. Après cristallisation dans le méthanol, on obtient 4 mg de cristaux incolores F.130–133°. Une acétylation a été effectuée sur 2 mg (anhydride acétique en présence de pyridine). L'acétate, cristallisé dans le méthanol, fond à 114–123°.

Lors d'un essai de chromatoplaques sur acide silicique dans le système benzène-acétate d'éthyle 9:1, le stérol donne une seule tache de R_f 0,36 (révélation par le chlorure d'antimoine) identique à celle fournie par le cholestérol.

Remerciement—Nous remercions Mr. le Professeur E. Lederer pour l'intérêt qu'il a porté à ce travail.

⁹ D. F. JOHNSON, R. D. BENNETT et E. HEFTMANN, *Science* **140**, 198 (1963).