

ETUDE PAR SPECTROMETRIE DE MASSE D'UN CAROTENOIDE ISOLE D'UN DISCOMYCETE, *PLECTANIA COCCINEA*

M. J. VACHERON et G. MICHEL

Laboratoire de Chimie Biologique, Faculté des Sciences de Lyon, 43 boulevard du 11 novembre 1918,
69-Villeurbanne

R. GUILLUY

Laboratoire de Chimie Analytique, Service de Spectrométrie de masse,
Faculté de Médecine et Pharmacie de Lyon

N. ARPIN

Laboratoire de Mycologie associé au CNRS, Service de Phytochimie,
Faculté des Sciences de Lyon

(Received 3 December 1968)

Abstract—Mass spectral studies have shown that the carotenoid of *Plectania coccinea* is dehydro-2'-plectanixanthin linoleate (I). On saponification, (I) gave the free xanthin and linoleic acid, identified by TLC, gas chromatography and mass spectroscopy of the diepoxy derivative.

INTRODUCTION

LES CAROTÉNOÏDES de *Plectania coccinea* (Scop. ex Fr.) Fuck ont été isolés et étudiés par N. Arpin et S. Liaaen Jensen,¹ ils comprennent plusieurs esters de la plectanixanthine et de la déhydro-2'-plectanixanthine. La nature des alcools a été déterminée par voie chimique et par l'étude des spectres u.v. et i.r. Des esters de la déhydro-2'-plectanixanthine ont été également isolés d'autres Discomycètes, en particulier *Aleuria aurantia* (Pers. ex Fr.) Fuck et *Phillipsia carminea* (Pat.) Le Gal.² Une étude comparative des deux principaux esters de *A. aurantia* et de *Plectania coccinea* par chromatographie gaz-liquide et sur couches minces ayant révélé l'identité de ces deux composés,* il devenait alors intéressant de préciser leur nature. La spectrométrie de masse de l'ester de la déhydro-2'-plectanixanthine et de dérivés de l'alcool et de l'acide nous a permis de confirmer la structure du caroténoïde et de déterminer la nature de l'acide gras.

RESULTATS

Etude de l'Acide Gras

L'acide gras isolé après saponification est méthylé et étudié par chromatographie gaz-liquide sur colonne de DEGS et de silicium SE 30. Les chromatogrammes font apparaître

* Travaux effectués à l'Ecole Technique de Norvège, Laboratoire de Chimie organique, Trondheim, Norvège, résultats inédits.

¹ N. ARPIN ET S. LIAAEN JENSEN, *Phytochem.* **6**, 995 (1967).

² N. ARPIN ET S. LIAAEN JENSEN, *Bull. Soc. Chim. Biol.* **49**, 527 (1967).

un seul pic dont le volume de rétention correspond à celui de l'ester d'un acide en C₁₈ diéthylénique. Ce résultat est confirmé par chromatographie en couches minces sur gel de silice imprégné de nitrate d'argent: le R_f est identique à celui du linoléate de méthyle témoin. Le spectre i.r. ne donne pas la bande caractéristique des double liaisons *trans* à 10,3 μ . Le spectre de masse de l'ester méthylique présente un pic moléculaire intense à $m/e=294$ correspondant à la formule C₁₉H₃₄O₂ mais il ne permet pas de préciser la position des doubles liaisons.

La structure complète de l'acide a été démontrée par spectrométrie de masse du diépoxy-ester méthylique. La présence de groupements époxydes sur une chaîne carbonée oriente en effet la fragmentation au niveau de ces groupements et permet de déterminer leur position.^{3, 4}

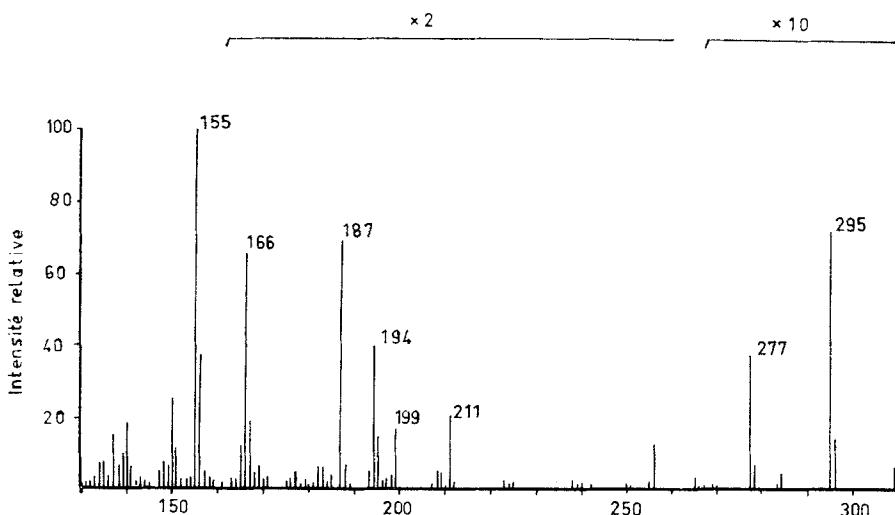
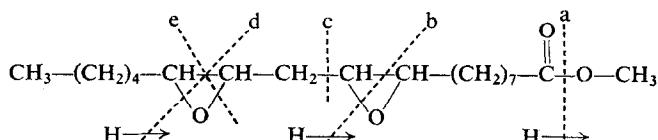


FIG. 1. SPECTRE DE MASSE DU DIÉPOXYESTER MÉTHYLIQUE, DÉRIVÉ DE L'ACIDE DU CAROTÉNOÏDE.

Le spectre (Fig. 1) est analogue à celui du diépoxy-9,10-12,13-stéarate de méthyle préparé à partir du linoléate de méthyle authentique.³ Les fragmentations qui permettent la localisation des groupements époxydes sont indiquées sur le schéma 1.



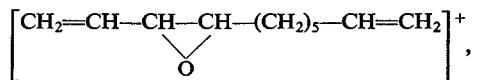
La position du groupement époxyde en 9,10 est caractérisée par les pics à $m/e=199$, coupure en c, $m/e=187$, coupure en b avec migration de H sur l'oxygène de l'époxyde, $m/e=155$, départ de CH₃OH à partir du fragment précédent.

La position du deuxième groupement époxyde en 12,13 est déterminée par les pics à $m/e=211$, coupure en a avec départ de CH₃OH et en d avec migration de H, $m/e=194$,

³ M. J. VACHERON, G. MICHEL et R. GUILLUY, *Bull. Soc. Chim. Biol.*, sous presse.

⁴ R. T. APLIN et L. COLES, *Chem. Commun.* 858 (1967).

coupure en a avec départ de CH_3OH et en e avec migration de H, et $m/e = 166$. La nature de ce dernier fragment est assez difficile à déterminer. La mesure de masse³ correspond à $\text{C}_{11}\text{H}_{18}\text{O}$ et on peut proposer la formule



cependant le mécanisme de formation reste indéterminé.

Dans la région des masses élevées, le pic moléculaire à $m/e = 326$ est absent, on observe les pics à $m/e = 295$: M-31 et $m/e = 277$: M-(31+18).

Le spectre de masse du diépoxyester permet donc de déterminer la position des doubles liaisons dans l'acide initial et de l'identifier à l'acide linoléique.

Etude du Dérivé triméthylsilylé de l'Alcool

Le dérivé triméthylsilylé est purifié par chromatographie en couches minces préparative puis étudié par spectrométrie de masse (Fig. 2). On observe un pic moléculaire intense à

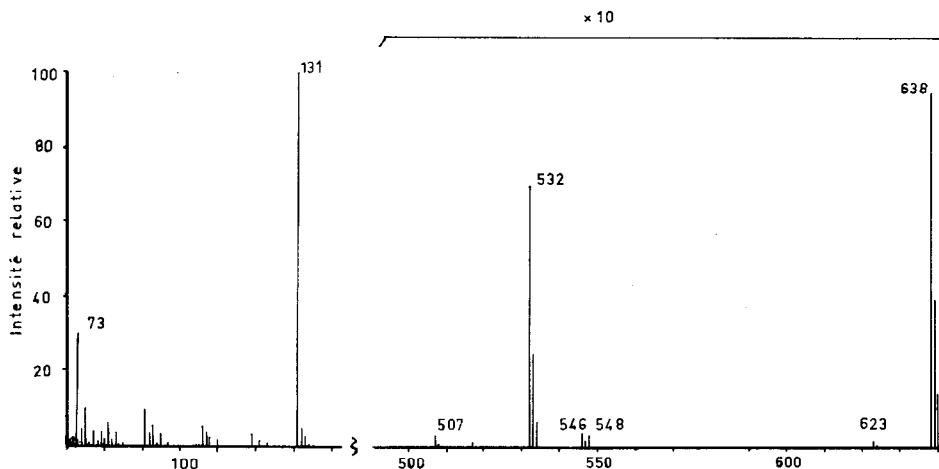
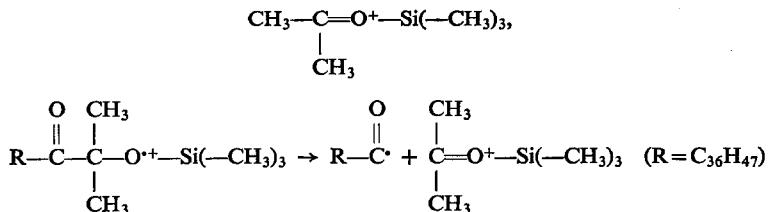


FIG. 2. SPECTRE DE MASSE DU DÉRIVÉ TRIMÉTHYLSILYLÉ DE L'ALCOOL DU CAROTÉNOÏDE.

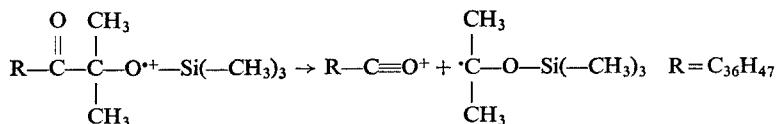
$m/e = 638$. Le pic de base est à $m/e = 131$, il provient du fragment



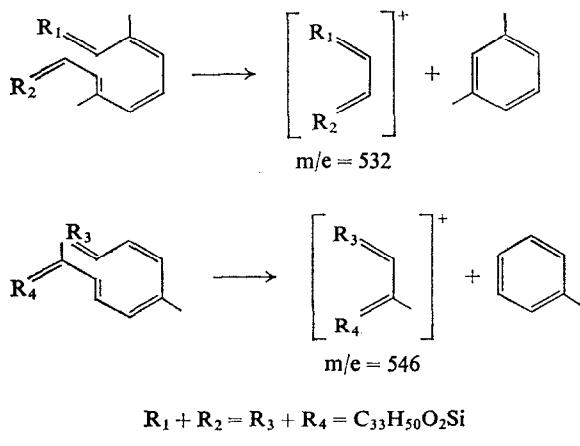
Ce type de fragmentation est caractéristique des éthers triméthylsilylés.⁵ Le pic à $m/e = 73$: $+\text{Si}(-\text{CH}_3)_3$ provient du pic précédent comme l'indique le pic métastable à $m/e = 40,7$ (calculé $m^* = 73^2/131 = 40,67$) en accord avec les résultats de Diekman et coll.⁵

⁵ J. DIEKMAN, J. B. THOMSON et C. DJERASSI, *J. Org. Chem.* 32, 3904 (1967).

Le départ de HO—Si(—CH₃)₃ donne le pic à $m/e = 548$: M-90 et le départ d'un méthyle du groupement triméthylsilyl donne $m/e = 623$: M-15. Le pic à $m/e = 507$ provient de la fragmentation en α de la fonction cétone:



On observe d'autre part les pics caractéristiques des chaînes insaturées des caroténoïdes avec départ de toluène et de xylène suivant le mécanisme indiqué par Von V. Schwieter et coll.⁶ Ces deux éliminations donnent respectivement les pics à $m/e = 532$: M-106 et à $m/e = 546$: M-92 (schéma 2).



Le spectre du dérivé silylé permet encore d'apporter une précision sur la position de la double liaison dans le cycle par comparaison avec la fragmentation de l' α ionone.⁷ Ce composé présente un pic à $m/e = M-56$ après rétroréaction de Diels et Alder et départ de CH₂=C—CH₃. L'absence d'un pic à $m/e = 582$: M-56 dans le spectre du dérivé silylé élimine



l'éventualité d'une structure de type α ionone.

Etude de l'Ester Naturel, le Linoléate de Déhydro-2'-Plectaniaxanthine

Le pigment naturel est étudié par spectrométrie de masse (Fig. 3). Le pic moléculaire est présent à $m/e = 828$ correspondant à l'ester C₅₈H₈₄O₃. Dans la région des masses moléculaires moyennes on observe les pics à $m/e = 263$ correspondant au fragment acylé [C₁₇H₃₁—C=O]⁺, à $m/e = 280$ pour la molécule d'acide [C₁₇H₃₁—COOH]⁺ et à $m/e = 281$ pour l'ion C₁₇H₃₁—C=O⁺H.⁸



⁶ VON V. SCHWIETER, H. R. BOLLINGER, L. H. CHOPARD-DIT-JEAN, G. ENGLERT, M. KOFLER, A. KONIG, C. V. PLANTA, R. RUEGG, W. VETTER ET O. ISLER, *Chimia* **19**, 294 (1965).

⁷ K. BIEMANN, *Mass Spectrometry, Organic Chemical Applications*, p. 103, McGraw-Hill, New York (1962).

⁸ R. RYHAGE ET E. STENHAGEN, *J. Lipid Res.* **1**, 361 (1960).

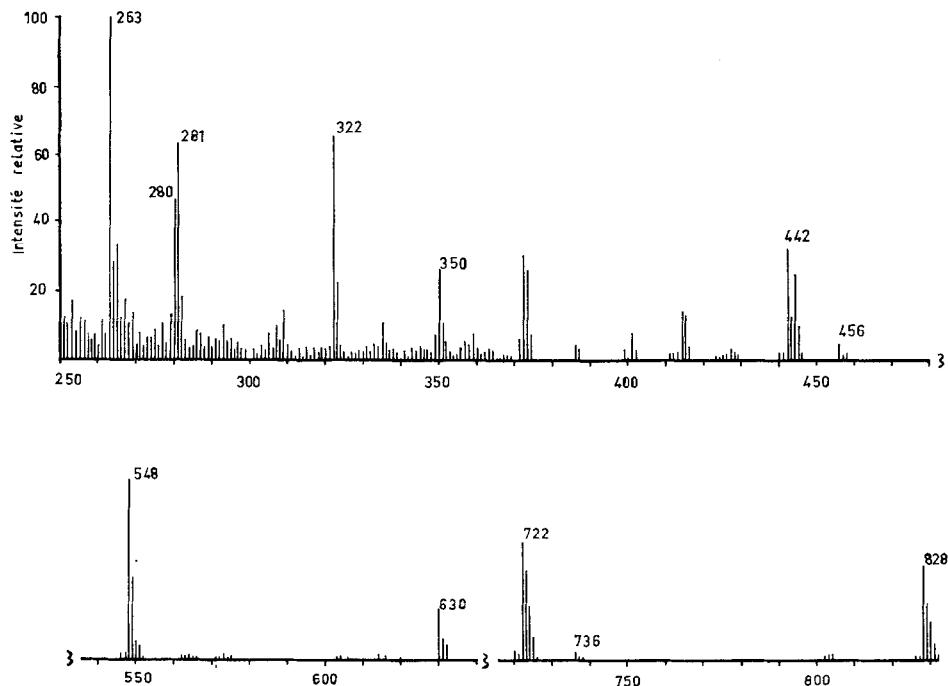
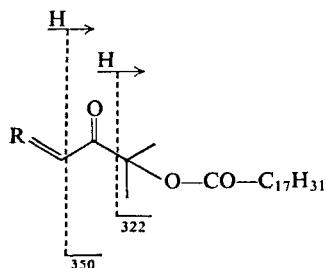


FIG. 3. SPECTRE DE MASSE DU CAROTÉNOÏDE.

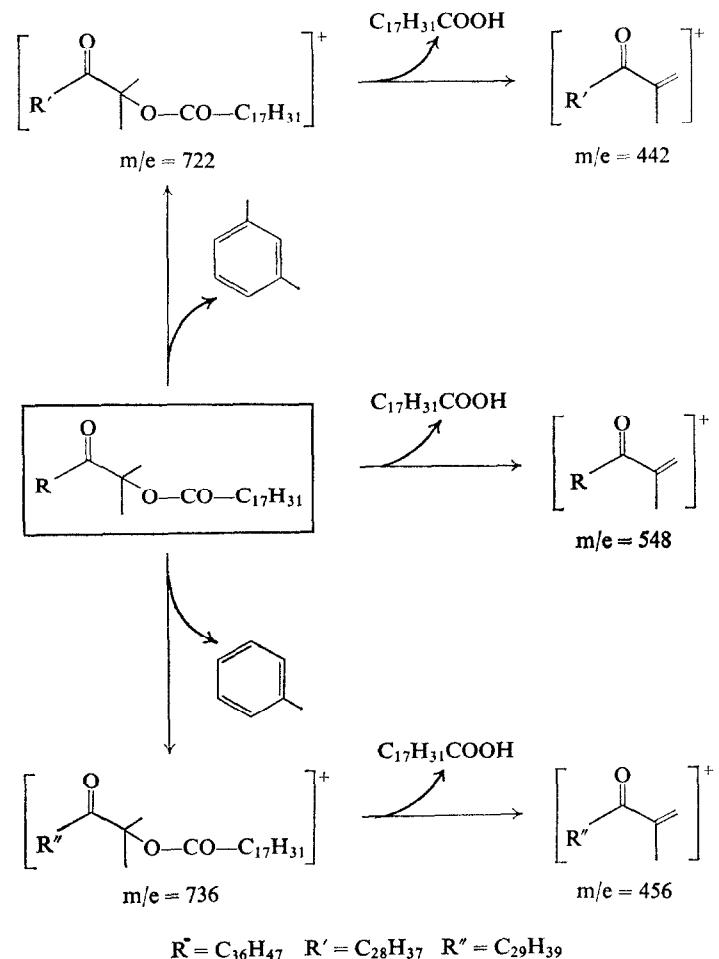
Un pic intense à $m/e = 322$ et un pic plus faible à $m/e = 350$ proviennent vraisemblablement d'une coupure en α de part et d'autre de la fonction cétone avec migration d'un atome d'hydrogène (schéma 3).



Dans la région des masses plus élevées, on observe plusieurs pics dont certains ont une forte intensité à $m/e = 442, 456, 548, 722, 736$. Ils proviennent de départs simultanés ou non de la molécule d'acide linoléique et de toluène ou de xylène. Ces fragmentations sont indiquées dans le schéma 4.

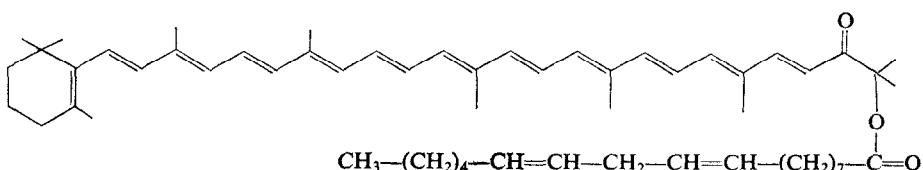
Il faut noter que le départ de toluène et de xylène sur le même fragment⁹ conduit au pic à $m/e = 630: M-(106+92)$.

⁹ S. HERTZBERG et S. LIAAEN JENSEN, *Acta Chem. Scand.* **21**, 15 (1967).



CONCLUSIONS

L'étude par spectrométrie de masse d'un ester caroténoïde isolé de *Plectania coccinea* et du dérivé silylé de l'alcool a permis de confirmer la structure proposée pour cet alcool par Arpin et Liaaen Jensen après étude par voie chimique et par spectrométrie u.v. et i.r.¹. La nature de l'acide gras a été déterminée par spectrométrie de masse du dérivé diépoxydé de l'ester méthylique. Le spectre de masse est identique à celui du diépoxy-9,10-12,13-stéarate de méthyle étudié précédemment.³ L'acide correspondant est donc l'acide linoléique. La structure complète de l'ester caroténoïde naturel se trouve ainsi déterminée, il s'agit du linoléate de la déhydro-2'-plectanixanthine possédant la formule (I).



MATERIEL ET TECHNIQUES

L'isolement et la purification de l'ester de la déhydro-2'-plectanixanthine ont déjà été décrits.^{1,2} La saponification est effectuée par une solution à 5 % de KOH dans le mélange méthanol-éther sous atmosphère d'azote à l'obscurité.¹⁰ La silylation de l'alcool est réalisée avec un mélange de triméthylchlorosilane et d'hexaméthyldisilazane dans la pyridine anhydre.¹¹ L'acide est estérifié par le diazométhane et l'ester méthylique est purifié par chromatographie en couches minces sur gel de silice imprégné de nitrate d'argent.¹²

L'époxydation de l'ester méthylique en solution dans l'éther est effectuée par l'acide monoperphthalique et les époxydes sont purifiés par chromatographie en couches minces.³

La chromatographie gaz-liquide de l'ester méthylique est réalisée sur appareil "Profit" CG2 à ionisation de flamme.

Les spectres de masse sont effectués sur un appareil MS 902 (AEI) par introduction directe de l'échantillon.

¹⁰ S. LIAAEN JENSEN, *Kgl. Norske Videnskab. Selskab Skrifter* 1962, No. 8.

¹¹ A. McCORMICK et S. LIAAEN JENSEN, *Acta Chem. Scand.* **20**, 1989 (1966).

¹² L. J. MORRIS, *Chem. Ind.* 1238 (1962).