

UNIVERSITÉ DE NEUCHÂTEL
FACULTÉ DES SCIENCES

Contribution
à l'étude de la composition chimique de la mousse de chêne
(Lichen *Evernia prunastri* (L.) Ach.)

THÈSE

Présentée à la Faculté de Sciences de l'Université de Neuchâtel
pour obtenir le grade de Docteur ès sciences

par

JOSÉ - ADRIAN GAVIN

chimiste-diplômé de l'Université de Saragosse (Esp.)

Imprimerie Birkhäuser S. A., Bâle

1978

IMPRIMATUR POUR LA THÈSE

Contribution à l'étude de la composition chimique de la «mousse de chêne» (Lichen *Evernia prunastri* (L.) Ach.) de Monsieur José Gavin.

UNIVERSITÉ DE NEUCHÂTEL
FACULTÉ DES SCIENCES

La Faculté des sciences de l'Université de Neuchâtel, sur le rapport des membres du jury, Messieurs R. Tabacchi, A. Jacot-Guillarmod et J. Garnero (Grasse), autorise l'impression de la présente thèse sans exprimer d'opinion sur les propositions qui y sont contenues.

Neuchâtel, le 19 janvier 1978

Le doyen:
J.-P. SCHAEER

Tiré à part des Helvetica Chimica Acta,
Volumen 58, fasciculus primus (1975), p. 190-194;
Volumen 61, fasciculus primus (1978), p. 352-357

24. Isolement et identification de composés phénoliques et monoterpéniques de la mousse de chêne (*Evernia prunastri* (L.) Ach.)

1ère Communication

par José Gavin et Raffaele Tabacchi

Institut de Chimie de l'Université de Neuchâtel, Avenue Bellevaux 51, CH-2000 Neuchâtel

(19. XII. 74)

Summary. The composition of different oakmoss extracts was investigated by combined gas chromatography/mass spectrometry. A series of 38 compounds – especially phenol derivatives and monoterpenes – was identified, 22 of which have not yet been reported as constituents of oakmoss.

Introduction. – La composition chimique des extraits de lichens récoltés sur le chêne et appelés «Mousses de chêne» (principalement *Evernia prunastri* (L.) Ach.) a fait l'objet de quelques travaux [1-3]. Les constituants signalés dans la littérature ne donnent cependant qu'une image très partielle de la complexité de ce produit odorant. En effet, si du point de vue quantitatif, les constituants de la fraction acide, depsides et phénols surtout, représentent un très fort pourcentage, du point de vue qualitatif, le nombre de composés identifiés, en particulier dans la fraction neutre, est très faible. La difficulté principale pour tous les auteurs qui ont entrepris l'étude de la concrète de la mousse de chêne, avant l'avènement des méthodes chromatographiques, a été la séparation des différentes classes de composés. Les depsides, phénols et éthers-phénols sont très difficilement extractibles sélectivement par les méthodes classiques. A cause de leur abondance, ces composés gênent et faussent systématiquement une analyse complète [2].

Notre travail a consisté, dans le stade préliminaire que nous décrivons ici, à identifier, après séparation sélective par les voies classiques suivie de chromatographie sur colonne et en phase gazeuse, les principaux composés phénoliques, éther-phénoliques et monoterpéniques.

Comme matériel de départ, nous avons utilisé de la mousse de chêne sèche de Yougoslavie (A) ainsi qu'un extrait industriel (B) pour l'obtention des composés phénoliques et enfin une concrète du commerce (C) de laquelle nous avons extrait les monoterpènes.

Identification des substances. – 38 substances, dont 22 n'étaient pas encore connues comme constituants de la mousse de chêne, ont été identifiées par chromatographie gaz-liquide/spectrométrie de masse couplées (GC./MS.).

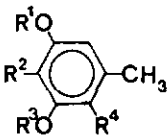
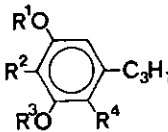
Nos résultats ont été confirmés par comparaison avec les indices de rétention relatifs et les spectre de masse des produits purs de référence (pour les terpènes) ou de synthèse (pour les phénols) ainsi que les spectres IR. pour les composés les plus abondants isolés par chromatographie gazeuse préparative.

Dans les tableaux ci-après, nous mentionnons les composés identifiés ainsi que la méthode utilisée.

Outre les composés phénoliques, l'extrait *B* nous a fourni une série d'esters éthyliques des acides suivants: caproïque, heptanoïque, octanoïque, pentadécanoïque, hexadécanoïque [2], linoléique, linoléinique, oléique [2], stéarique [2] et phtalique. Ces esters ont tous été identifiés par GC./MS.

Dans tous les groupes de substances étudiées, nous nous sommes limités à l'identification des composés les plus abondants. En effet, d'après les chromatogrammes plusieurs dizaines de composés restent à identifier. D'autre part, dans les fractions provenant de la chromatographie sur colonne et éluées à l'éther de pétrole, en plus des composés terpéniques décrits au tableau 2, nous avons obtenu une dizaine de sesquiterpènes (probablement caryophyllène, valencène, longifolène, guaiène, élémène etc.) et des hydrocarbures saturés et non saturés à longue chaîne. En particulier un composé de masse moléculaire 236 vient d'être identifié par *Corbier & Tesseire* [5]

Tableau 1. Composés phénoliques et éther-phénoliques extraits de A et B

Formule					Méthode d'identification ^{a)}	Réf.
	R ¹	R ²	R ³	R ⁴		[1] [2]
1	H	H	H	H	MS., GC.	[1] [2]
2 (sy) ^{b)}	H	H	CH ₃	H	MS., GC.	[1] [2]
3	H	CH ₃	H	H	MS., GC.	[1] [2]
4 (sy) ^{b)}	CH ₃	H	CH ₃	H	MS., GC.	-
5 (sy) ^{b)}	H	CHO	H	H	MS., GC.	[1] [2]
6 (sy) ^{b)}	H	CH ₃	H	COOCH ₃	MS., GC.	[1] [2]
7 (sy) ^{b)}	CH ₃	H	H	COOC ₂ H ₅	MS., GC.	[1]
8 (sy) ^{b)}	H	CH ₃	H	COOC ₂ H ₆	MS.	-
9	CH ₃	CH ₃	H	H	MS.	[1]
10	H	CHO	H	Cl	MS.	[1]
						
11	H	H	H	H	MS	-
12	CH ₃	H	H	H	MS	-

^{a)} MS. = spectre de masse obtenu par GC./MS.

GC. = temps de rétentions relatifs et spectre de masse du composé pur.

^{b)} Sy = composé synthétisé.

comme étant l'heptadecadiène 1,8 (*cis*). Dans les fractions éluées avec l'éther éthylique, nous avons observé la présence de plusieurs substances qui sont probablement des aldéhydes, cétones et esters. Dans un travail très récent, *Heide et al.* [6] ont identifié, dans des fractions obtenues par une méthode similaire, environ 50 composés qui, à l'exception de quelques acides carboxyliques, sont différents de ceux que nous venons

Tableau 2. Composés monoterpéniques extraits de C

Substance	Méthodes d'identification ^{a)}	Réf.
13 α -Pinène	MS., GC., IR.	
14 β -Pinène	MS., GC., IR.	
15 Camphène	MS., GC.	
16 Myrcène	MS., GC.	
17 Limonène	MS., GC., IR.	
18 1,8-Cinéol	MS., GC., IR.	[2]
19 <i>p</i> -Cymène	MS., GC., IR.	
20 α -Thuyone	MS., GC. ^{b)} , IR.	[2]
21 β -Thuyone	MS., GC. ^{b)} , IR.	
22 Camphre	MS., GC., IR.	[2]
23 Linalol	MS., GC., IR.	
24 Alcool fenchylique	MS., GC., IR.	
25 Terpinène-4-ol	MS., GC., IR.	
26 Bornéol	MS., GC.	[2]
27 α -Terpinéol	MS., GC., IR.	

a) Voir ^{a)} tableau 1. Les spectres de masse ont été comparés à ceux des produits purs ainsi qu'aux données de la littérature [4].

IR. = spectre IR. effectué sur le composé obtenu par chromatographie gazeuse préparative.

b) 20 et 21 ont été isolés et identifiés en la même opération.

de décrire. Corbier *et al.* [5] ont aussi isolé et identifié un composé abondant qui est la diméthyl-4,6-décène-4-one-3. Relevons enfin qu'une extraction de mousse de chêne fraîche par le tétrahydrofurane nous a permis de constater que le contenu en produits phénoliques (composés 1, 2, 5, 6 et produits mineurs non identifiés) est qualitativement le même que celui obtenu à partir de la mousse sèche; par contre du point de vue quantitatif, il semble que les différences soient plus importantes. Ce fait confirme l'hypothèse que ces composés sont toujours présents dans la mousse et ne proviennent pas uniquement de l'hydrolyse ou de l'alkoolyse des ponts depsidiques lors de l'extraction.

Nous remercions Monsieur le Professeur A. Jacot-Guillarmod de tout l'intérêt qu'il a porté à ce travail, Monsieur J. Garnero (*P. Robertet & Cie*) des discussions fructueuses et de ses conseils et la maison *P. Robertet & Cie* (Grasse) de la fourniture du matériel de départ.

Conditions expérimentales. — *Extraction des composés phénoliques et éther-phénoliques.* 150 g de mousse de chêne sèche de Yougoslavie (A), finement pulvérisée, sont extraits à chaud par un solvant organique (350-400 ml), pendant 8 jours. A titre de comparaison, nous avons utilisé successivement: éthanol, di-*n*-butyl éther, chloroforme, nitropropane, acétate d'éthyle, tétrahydrofurane, *n*-heptane. Une extraction à l'éther diéthylique à froid a permis d'éliminer une grande partie des depsides (acide évernique et atranorine surtout). L'entraînement à la vapeur suivi d'une nouvelle extraction à l'éther a fourni un extrait comparable, qualitativement aux précédents. Avec le meilleur solvant (tétrahydrofurane), nous avons extrait la mousse de chêne de Grasse (France) fraîchement récoltée. La comparaison des chromatogrammes de cet extrait avec ceux de mousse sèche yougoslave ne montre que des différences quantitatives. L'extrait industriel (B) fourni par *Robertet & Cie*, Grasse, a été obtenu par extraction à l'hexane d'une mousse de chêne de Yougoslavie. L'extraction est suivie d'une purification par solubilisation dans l'éthanol à 95° avec séparation des cires par glaçage. L'absolue obtenue est entraînée dans un courant de vapeur d'eau à 110-115°/40 Torr. Le distillat obtenu est séparé en deux fractions, l'une contenant surtout

du β -orcine-carboxylate de méthyle et l'autre quelques terpènes et esters d'acides carboxyliques. L'extraction du résidu fournit surtout les composés phénoliques et les esters d'acides gras.

Extraction des composés terpéniques. Les deux méthodes précédentes ne permettant pas d'obtenir les terpènes en quantité suffisante, nous avons extrait ces composés d'une concrète hexanique de mousse de chêne de Yougoslavie (C) (produit *Robertet & Cie*). 200 g de concrète sont extraits à l'éther éthylique. Après essorage à froid des depsides insolubles (acide evernique et atranorine en particulier), le mélange restant est séparé par les méthodes classiques en 4 fractions: acides forts, acides faibles, bases et produits neutres. Cette dernière partie, après élimination de l'éther, est traitée à l'éthanol. Cette opération permet l'élimination des cires. Après évaporation du solvant le résidu est distillé. Les 5 fractions obtenues sont analysées d'abord par GC., et enfin chromatographiées sur colonne de gel de silice en effectuant un gradient d'éluion avec éther de pétrole et éther diéthylique. Les fractions obtenues sont analysées par GC./MS. Les premières fractions contiennent les hydrocarbures mono- et sesquiterpéniques, le mélange des solvants d'éluion fournit les terpènes oxygénés et enfin une série de composés plus polaires.

Dans le cas où les quantités obtenues étaient suffisantes, on a séparé les composés purs par GC. préparative.

Analyse par GC./MS. Les analyses sont effectuées à l'aide d'appareils *Perkin-Elmer* modèles 900 et 990, équipés de détecteurs à ionisation de flamme. Les séparations sont réalisées avec des colonnes garnies (L = 2 m \varnothing int. 2 mm) ou des colonnes S.C.O.T. (L = 15 m \varnothing int. 0,5 mm) renfermant des phases de polarité différente: Carbowax 20M et huile de silicone SE 30 (pour les colonnes garnies: respectivement 5% et 4% de phase sur Chromosorb G). Les séparations à l'échelle préparative sont effectuées avec un appareil *Perkin-Elmer* F21 avec des colonnes de 8 mm de diamètre (L = 2, 7 ou 4,5 m).

Le système GC./MS. comprend un chromatographe en phase gazeuse *Perkin-Elmer* mod. 990 et un spectrographe de masse *Hitachi-Perkin-Elmer* mod. RMU-6L, muni d'un séparateur de *Biemann*. Les spectres de masse sont enregistrés à 75 eV.

L'identification des substances est effectuée d'une part par comparaison des SM. des produits isolés de la mousse de chêne avec les spectres des produits purs enregistrés dans les mêmes conditions et les spectres de la littérature [4] [7]. Par GC. effectuée dans des conditions standards, nous avons vérifié les temps de rétentions relatifs en utilisant comme témoin le limonène et le camphre (pour les monoterpènes) et l'éther monométhyle de l'orcinol (pour les composés phénoliques).

Une comparaison des spectres IR. a été effectuée pour tous les produits qui ont été isolés par GC. préparative. Les composés de référence sont des produits du commerce (*Fluka, Givaudan, Robertet*) ou des produits de synthèse de nos laboratoires. Spectres de masse des composés phénoliques et monoterpéniques nouvellement identifiés: *m/e* (I%).

4: 152 (M^+ 100), 123 (53), 109 (24), 77 (21), 91 (21), 122 (18), 79 (16), 39 (15), 121 (14), 153 (14).

8: 136 (100), 164 (94), 210 (M^+ , 42), 165 (37), 79 (25), 77 (23,5), 53 (21), 107 (19), 135 (17), 108 (13).

11: 151 (100), 152 (M^+ , 95), 55 (13), 150 (12), 43 (11), 123 (10,6), 41 (10,5), 124 (10,5), 153 (11).

12: 138 (100), 166 (M^+ , 87), 137 (68), 151 (40), 107 (30), 41 (28), 77 (25), 43 (24), 109 (23), 55 (22), 39 (22).

13: 93 (100), 92 (78), 91 (74,5), 77 (70), 79 (57), 121 (52), 41 (49,5), 39 (45), 43 (43), 80 (39), 136 (M^+ , 33).

14: 93 (100), 91 (84), 69 (78), 41 (77), 79 (53,5), 77 (49), 53 (40), 106 (40), 94 (40), 92 (37), 136 (M^+ , 32).

15: 93 (100), 121 (94), 41 (60), 79 (56), 107 (44), 67 (38), 136 (M^+ , 31), 95 (31), 68 (30), 91 (27).

16: 93 (100), 41 (77,5), 69 (73), 39 (18,5), 57 (17), 79 (15), 43 (15), 55 (14), 77 (12), 29 (15), 136 (M^+ , 8).

17: 68 (100), 93 (91), 67 (82), 136 (M^+ , 77,5), 91 (67), 94 (67), 121 (65), 79 (61), 41 (53,5), 107 (50,5).

19: 119 (100), 134 (M^+ , 73), 120 (52), 91 (51), 105 (46,5), 41 (37), 117 (29), 77 (18), 65 (15), 105 (15).

23: 71 (100), 93 (77), 41 (70), 69 (65), 55 (57,5), 80 (34), 83 (31), 121 (27), 67 (25,5), 68 (24), 154 (M^+ , 2).

24: 81 (100), 80 (86), 43 (64), 41 (52), 69 (47), 95 (44), 71 (39), 93 (38), 121 (32), 82 (32), 154 (M^+ , 7).

25: 71 (100), 93 (67), 111 (62), 55 (44), 41 (38), 69 (34), 83 (33), 86 (32), 154 (M^+ , 30), 58 (28).

27: 59 (100), 43 (49,5), 93 (49), 95 (43,5), 121 (43), 136 (42), 81 (32,5), 41 (23), 68 (19), 67 (18), 154 (M^+ , 1).

BIBLIOGRAPHIE

- [1] Bericht der *Schimmel & Co.* 1925, 21; 1939, 19; *Y. R. Naves & G. Mazuyer*, Les parfums naturels, Gauthier-Villars (1939); *Y. R. Naves*, Technologie et chimie des parfums naturels, Masson & Cie (1974), 262; *A. St. Pfau*, *Helv.* 9, 650 (1926); 11, 864 (1928); 16, 282 (1933); 17, 1319 (1934).
- [2] *M. Stoll & W. Scherrer*, *Chimie et Industrie*, Communication au XVIIème Congrès de Chimie Industrielle, Paris 1937 n° 29.
- [3] *A. St. Pfau*, *Ber. deutsch. chem. Ges.* 57, 470 (1924).
- [4] *R. Ryhage & E. von Sydow*, *Acta chem. scand.* 17, 2025 (1963); *E. von Sydow*, *Acta chem. scand.* 17, 2504 (1963); *A. F. Thomas & B. Willhalm*, *Helv.* 47, 475 (1964).
- [5] *B. Corbier & P. Tesseire*, *Recherches* 19, 291 (1974).
- [6] *R. Heide, N. Provatoroff, P. C. Traas, P. J. de Valois, H. J. Wobben, & R. Timmer*, Communication au VIème Congrès des Huiles Essentielles, San Francisco (1974).
- [7] *S. Huneck, C. Djerassi, D. Becher, M. Barber, M. von Ardenne, K. Steinfeldler & R. Tümmler*, *Tetrahedron* 24, 2707 (1968).
-

28. Composants volatils de la «mousse de chêne» (*Evernia Prunastri* (L.) ACH.) 3^e communication¹⁾

par José Gavin, Gilles Nicollier et Raffaele Tabacchi

Institut de Chimie de l'Université, Avenue de Bellevaux 51,
2000 Neuchâtel (Suisse)

Dédié au Prof. Y. R. Naves à l'occasion de son 75^e anniversaire

(9.XI.77)

Volatiles constituents of "Oakmoss" (*Evernia Prunastri* (L.) ACH.)

Summary

The chemical constitution of different fractions of two oakmoss oleoresines were investigated by GC/MS, using SCOT, and capillary columns. Besides many known compounds, over 52 (sesquiterpenes, aliphatic and aromatic hydrocarbons) have not yet been reported as constituents of oakmoss.

Introduction. - Les études sur la composition chimique des lichens se limitent généralement à la mise en évidence de composés polyphénoliques lourds (depsides, depsidones, xanthones, dibenzofurannes). Divers auteurs [1] estiment en effet que l'une des caractéristiques des lichens, association symbiotique d'algues et de champignons, par rapport aux plantes supérieures, est d'être constitués par un nombre restreint de substances très spécifiques en grande quantité. Pour *Evernia Prunastri* (L.) Ach nous avons aussi constaté l'abondance des depsides (atranorine, chloratranorine, acide évernique) et de l'acide usnique, mais nous avons observé la présence de nombreux constituants volatils retrouvés dans les plantes supérieures. Nous avons déjà signalé [2] la présence, à côté de nombreux phénols et éther phénoliques, de monoterpènes et sesquiterpènes. Une étude sur des plus grandes quantités de matière nous a permis l'isolement et l'identification de ces derniers ainsi que ceux d'autres constituants volatils (hydrocarbures essentiellement), présents en faible quantité mais qui contribuent d'une manière importante à l'odeur typique de la mousse de chêne.

Isolement et identification des substances. - Les substances identifiées au cours de ce travail ont été obtenues par deux méthodes de séparation à partir d'une concrète hexanique et d'une benzénique. Au total plus de 80 composés neutres volatils, dont 52 n'étaient pas encore connus comme constituants de la mousse de chêne, séparés sur colonne SCOT, et capillaire, ont été identifiés par couplage

¹⁾ Une partie de ce travail a été présentée au VII^e Congrès International des Huiles Essentielles Kyoto, 6-11 octobre 1977.

GC/MS. et par comparaison avec les spectres des composés purs et avec ceux de la littérature [3]. Nous avons de plus comparé les indices chromatographiques de rétention relatifs [4].

A titre d'exemple, les chromatogrammes ci-après (Fig. 1 et 2) représentent la composition d'une fraction légère et d'une fraction lourde de distillation (avant

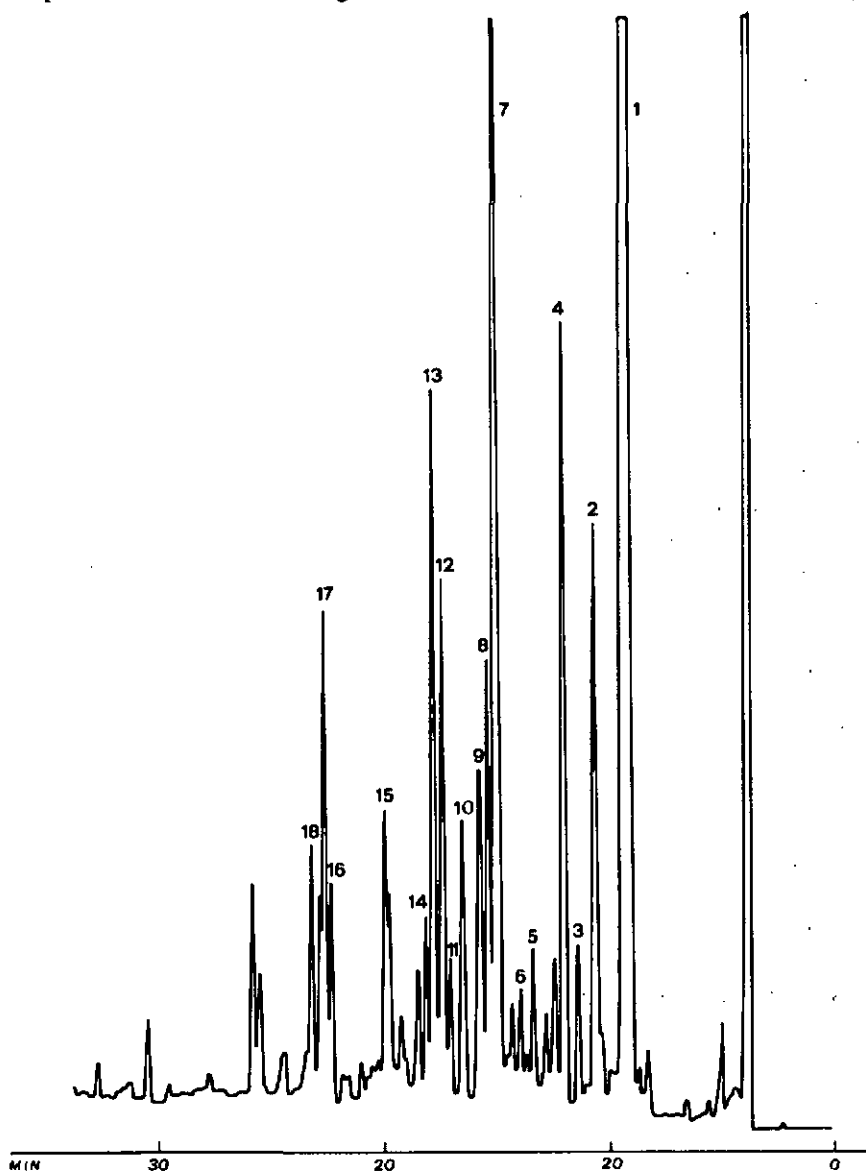


Fig. 1. Chromatogramme de la fraction légère (Eb. 27-30°/40 Torr). Colonne SCOT. Carbowax 20 M 60-200°, 4°/min.

1. α -pinène; 2. camphène; 3. undécane; 4. β -pinène; 5. myrcène; 6. dodécane; 7. limonène; 8. cinéole-1,8; 9. cumène; 10. γ -terpinène; 11. *m*-éthyltoluène; 12. *p*-cymène; 13. *o*-éthyltoluène; 14. tridécane; 15. bromobenzène; 16. fenchone; 17. α - et β -thuyones; 18. β -élémane.

Tableau 1. Composés identifiés dans l'extrait hexanique de mousse de chêne

<i>Hydrocarbures aliphatiques</i>		<i>Monoterpènes oxygénés</i>	
Nonane	Méthyl-2-pentadécane	Cinéole-1,8 [5]	<i>p</i> -Menthène-1-ol-4 [2]
Décane	Hexadécane	<i>a</i> -Thuyone [5]	Bornéol [5]
Undécane	Heptadécane	β -Thuyone [2]	<i>a</i> -Terpinéol [2]
Dodécane	Pentadécène-1	Camphre [5]	Thymol
Tridécane	(<i>Z</i>)-Heptadécadiène-1,8 [6]	Linalol [2]	<i>trans</i> -Pinocarvéol
Tetradécane	(<i>Z, Z</i>)-Heptadécatriène-1,8,11 [6]	Alcool	
Pentadécane	Décyne-1	fenchylique [2]	
<i>Hydrocarbures aromatiques</i>		<i>Sesquiterpènes</i>	
Benzène	Triméthyl-1,2,3-benzène	β -Elémène	β -Humulène
Toluène	Isobutylbenzène	<i>a</i> -Copaène	<i>a</i> -Muurooléne
Isopropylbenzène	Bromobenzène	β -Gurjunène	β -Sélinène
<i>m</i> -Éthyltoluène	Diméthyl-1,2-éthyl-3-benzène	β -Caryophyllène	Farnésane
<i>o</i> -Éthyltoluène	<i>a, p</i> -Diméthylstyrène	Longifolène	Thuyopsène
Mésitylène	Naphtalène [5]	<i>Dérivés monoaryliques</i> ^{a)}	
		Chloro-2-méthoxy-3-méthyl-5-phénol [5]	
		Chloro-1-diméthoxy-2,4-méthyl-6-benzène [6]	
<i>Cétones</i>			
Oxyde de mésityle	Diméthyl-4,6-décène-4-one-3 [6]		
<i>Monoterpènes</i>			
α -Pinène [2]	Limonène [2]		
β -Pinène	<i>p</i> -Cymène [2]		
Camphène [2]	γ -Terpinène		
Myrcène [2]			

^{a)} Les composés déjà décrits [1] ou figurant sur les chromatogrammes ci-dessus ont été omis.

séparation chromatographique sur colonne de gel de silice) de la fraction neutre de l'extrait hexanique de mousse de chêne. Les tableaux résument les résultats obtenus.

Discussion. - A l'exception des substances citées par *Stoll & Scherrer* [5], *Corbier & Tesseire* [6] et des monoterpènes que nous avons décrits précédemment [2], les composés identifiés n'étaient pas encore connus comme constituants de la mousse de chêne. Nous n'avons pas étudié les fractions élues avec des solvants polaires sur gel de silice. *Ter Heide et al.* [7] ont en effet identifié dans ces fractions plus de 60 substances. Malgré le nombre important de constituants identifiés,

Tableau 2. Composés identifiés dans l'extrait benzénique de mousse de chêne^{a)}

Cyclohexane	<i>a</i> -Cédrène
Octadécène-1	Salicylate de méthyle
Carvéol	Myristate de méthyle
Phénol [5]	Palmitate de méthyle
<i>bis(p-Tolyl)</i> 1,2-éthane	Hexadécanol
<i>N, N</i> -Diméthyl- <i>p</i> -toluènesulfonamide	Heptadécanol
<i>trans-β</i> -Farnésène	

^{a)} Les composés décrits précédemment (Tableau 1) et [2] ont été omis.

les chromatogrammes des fractions étudiées montrent encore des dizaines de pics correspondant surtout à des terpènes et à des hydrocarbures ramifiés saturés et insaturés, dont nous n'avons pas encore précisé la structure.

La présence d'hydrocarbures aliphatiques est sûrement liée à celle des acides gras. Par contre, il est plus difficile de se prononcer sur la présence de certains hydrocarbures aromatiques. Les terpènes identifiés sont décrits dans la littérature comme constituants de produits naturels. Bien que leur biosynthèse soit tout à fait

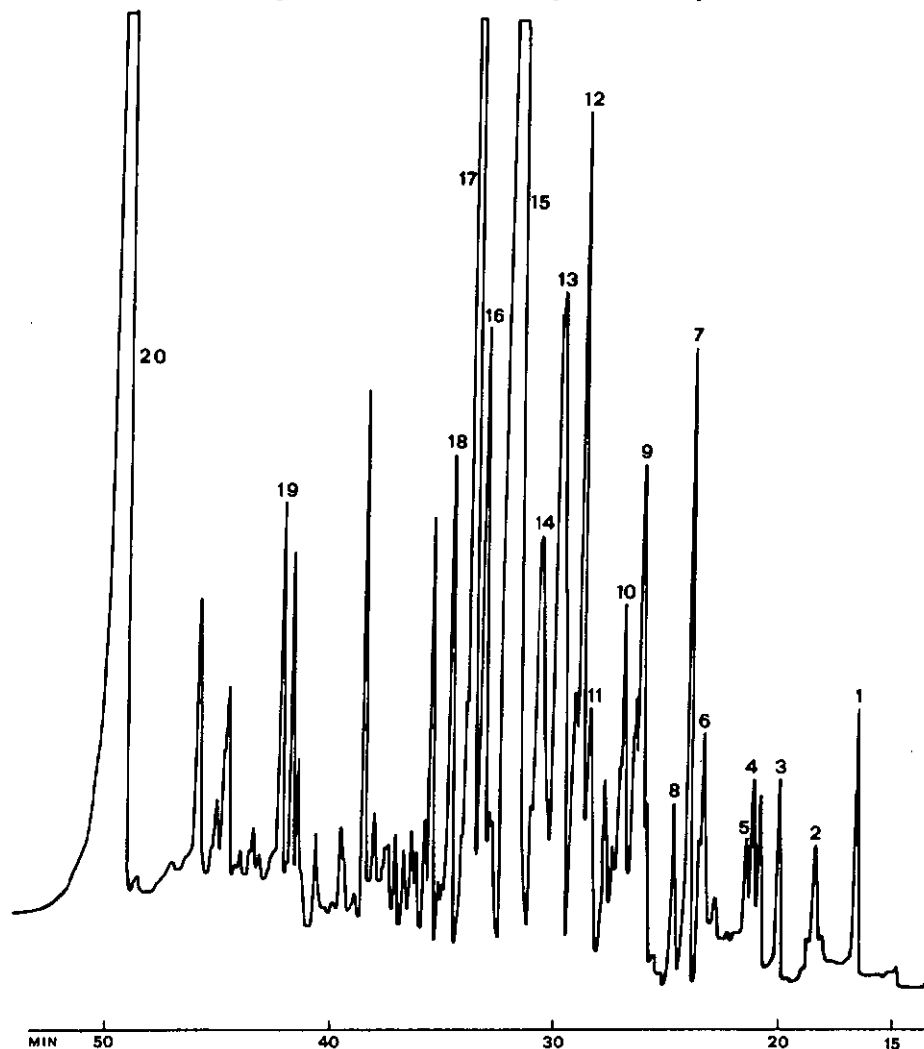


Fig. 2. Chromatogramme de la fraction lourde (Eb: 70-90°/0.6 Torr). Colonne SCOT. Carbowax 20 M, 60-230°, 4°/min.

1. tridécane; 2. farnésane; 3. tétradécane; 4. α - et β -thuyones; 5. méthyl-2-pentadécane; 6. α -copaène/pentadécane; 7. β -gurjunène/linalol; 8. pentadécène-1; 9. longifolène/menthène-1-ol-4; 10. caryophyllène/hexadécane; 11. thuyopsène; 12. α -terpinéol; 13. β -humulène; 14. β -sélinène/heptadécane; 15. éther diméthylque de l'orcinol; 16. chloro-2-diméthoxy-3,5-toluène; 17. heptadécadiène-1,6; 18. chloro-2-méthoxy-3-méthyl-5-phénol; 19. thymol; 20. éther méthylique de l'orcinol.

réalisable par le lichen, il faudrait, pour expliquer leur présence, connaître exactement la composition chimique du bois et des feuilles de chêne. L'influence directe de l'hôte parasite par le lichen sur l'odeur de ce dernier n'a jamais été expliquée, mais revêt certainement une grande importance.

La deuxième méthode de séparation utilisée pour la concrète benzénique nous a permis l'isolement de quatre nouveaux depsides [9], de dérivés monoaryliques typiques de la mousse de chêne et de nombreux composés neutres dont 16 n'avaient pas été rencontrés lors de l'analyse de la concrète hexanique. Ces composés ont été identifiés dans les fractions à l'éther de pétrole de la chromatographie sur colonne de terre à foulon et chromatographiées ensuite, sur polyamide en éluant avec un mélange de méthanol/eau 1:1. Parmi les composés identifiés qui figurent au *Tableau 2*, relevons la présence dans les premières fractions de quelques monoterpènes parmi lesquels le carvéol et ensuite de produits plus polaires tels que le phénol et la *N,N*-diméthyl-*p*-toluène sulfonamide. La présence de ce dernier composé est très surprenante. A notre connaissance, il n'a jamais été rencontré dans un produit naturel. Dans les fractions suivantes, notons la présence de quelques sesquiterpènes, *trans*- β -farnésène et α -cédrene, à côté des esters d'acide gras et d'alcools en C₁₆ et en C₁₇ provenant vraisemblablement de la saponification de cires. Il est important de relever que, bien que la concrète benzénique soit moins riche en composés neutres que l'hexanique, la méthode de séparation chromatographique ne permet pas d'obtenir la totalité des hydrocarbures, des mono- et des sesquiterpènes. Cette méthode semble donc peu indiquée pour l'isolement des composés volatils peu abondants.

Nous remercions le Prof. A. Jacot-Guillarmod et M. J. Garnerio de tout l'intérêt qu'ils ont porté à ce travail. MM. Ph. Maubert et A. Woupeyi pour leur précieuse collaboration et la maison Robertet & Cie. Grasse, pour son appui et la fourniture du matériau de départ.

Partie expérimentale

1^{re} méthode de séparation. 400 g de concrète hexanique préparés avec de la mousse de chêne triée de Yougoslavie (produit Robertet & Cie, Grasse), ont été traités suivant la méthode déjà décrite [2].

2^e méthode de séparation. 400 g de concrète benzénique de mousse de chêne triée de Yougoslavie sont traités comme précédemment pour éliminer les depsides les plus abondants. L'extrait est ensuite concentré, repris dans du méthanol, déposé sur une colonne de terre à foulon (L=75 cm, \varnothing =5 cm) et élué successivement par l'éther de pétrole, l'acétate d'éthyle, et le méthanol. Les fractions à l'éther de pétrole sont ensuite concentrées et passées sur une colonne de polyamide (L=1 m, \varnothing =5 cm) avec un mélange méthanol/eau 1:1. Les premières fractions sont analysées par GC./MS. Elles contiennent des hydrocarbures, des terpènes et des esters méthyliques d'acides gras.

Analyse par GC./MS. Les analyses sont effectuées à l'aide d'appareils Perkin-Elmer modèles 900 et 990, équipés de détecteurs à ionisation de flamme. Les séparations sont réalisées avec des colonnes SCOT. (L=15 m, \varnothing =0,5 mm) de Carbowax 20M ou capillaire en métal (L=50 m, \varnothing =0,2 mm) de polypropylène-glycol.

Le système GC./MS. comprend un chromatographe de gaz Perkin-Elmer mod. 990 et un spectrographe de masse Hitachi-Perkin-Elmer RMU-6L, muni d'un séparateur de Biemann. Les spectres de masse sont enregistrés à 75 eV.

L'identification des substances est effectuée d'une part par comparaison des SM. des produits isolés de la mousse de chêne avec les spectres des produits purs enregistrés dans les mêmes conditions et les spectres de la littérature [3]. Par GC. effectuée dans des conditions standard, nous avons vérifié les temps de rétentions relatifs en utilisant comme témoin le limonène et le camphre (pour les monoterpènes) et le oaphtalène (pour les sesquiterpènes et les hydrocarbures).

BIBLIOGRAPHIE

- [1] *J. Santesson* dans *A. Henssen & H. M. Jahns «Lichene» Thieme Verlag, Stuttgart 1974.*
- [2] *J. Gavin & R. Tabacchi, Helv. 58, 190 (1975).*
- [3] *R. Ryhage & E. von Sydow, Acta chem. Scand, 17, 2025 (1963); E. von Sydow, Acta chem. Scand 17, 2504 (1963).*
- [4] *I. C. Nigam & L. Levi, J. Chromatogr. 23, 217 (1966); N.H. Andersen & M.S. Falcone, J. Chromatogr. 44, 52 (1969).*
- [5] *M. Stoll & W. Scherrer, Chimie et Industrie, Communication au XVII^e Congrès de Chimie industrielle, Paris 1937.*
- [6] *B. Corbier & P. Tesseire, Recherches 19, 291 (1974).*
- [7] *R. ter Heide, N. Provatoroff, P.C. Traas, P.J. de Valois, N. van der Glasse, H.J. Wobben & R. Trimmer, J. Agric. Food Chemistry 23, 950 (1975).*
- [8] *M.G. Moshomes & E.D. Lund, The Flavour Industry, 1970, 375, Archives of Mass Spectral Data, Vol. I (Interscience).*
- [9] *G. Nicollier & R. Tabacchi, Helv. (à paraître).*