

# STEROLS ET ACIDES GRAS DE *PHYSALIS PUBESCENS* (SOLANACEES)

ASSI Kouamé Mathias\* et DJAKOURE Atoutou Léon

Université de Cocody : UFR - SSMT  
Laboratoire de Chimie Organique Biologique ; 22 B.P. 582 Abidjan 22 ;  
COTE D'IVOIRE

(Reçu le 28/08/2000 – Révisé le 04/09/2001)

---

**Summary :** An investigation of the stems and roots of *Physalis pubescens* afforded tree sterols and several saturated fatty acids.

The structures of these compounds were elucidated on the basis of structural data essentially as ergosterol ; stigmasterol,  $\beta$ -sitosterol and nine fatty acids situated from C<sub>16</sub> (palmitic acid) to C<sub>24</sub> (lignoceric acid).

**Key words :** *Physalis pubescens* ; Solanacea ; Sterols ; Ergosterol ; Fatty acid ; Stigmasterol ;  $\gamma$ -Sitosterol.

---

## I - INTRODUCTION

*Physalis pubescens* (solanacées) est une plante herbeuse spontanée, mais elle est cultivée dans certains pays comme plante médicinale [1]. *Physalis pubescens* utilisé dans la pharmacopée de plusieurs régions du monde et particulièrement en Afrique, est très intéressant pour les diverses propriétés pharmacologiques qu'on lui attribue et dont les usages diffèrent parfois selon les régions [2].

De l'extrait chloroformique de la plante, plusieurs composés ont été isolés, certains étant des produits nouveaux, notamment des whitanolides et un alcaloïde, la phygrine [1] [3] [4].

Le présent travail réalisé sur les tiges et racines a permis d'isoler et d'identifier trois stérols de l'extrait hexanique : l'ergostérol, le stigmas-

térol, le  $\gamma$ -sitostérol et neuf acides gras saturés allant du C<sub>16</sub> au C<sub>24</sub>. Il est à noter que les acides palmitique, arachidique et le sitostérol ont été précédemment isolés de l'extrait chloroformique aussi bien par T. M. ZENNIES et al. [5] que par J. KOŁODZIEDKI et al. [6]. La présence de ces composés de structure stérolique antérieurement isolés, et ceux qui ont été identifiés au cours du présent travail, pourrait justifier l'utilisation traditionnelle de *Physalis pubescens* pour des problèmes de santé liés aux fonctions sexuelles, les stérols étant considérés comme précurseurs des hormones sexuelles, et des corticoïdes [1] [3] [7] [8] [9].

## II - PARTIE EXPERIMENTALE

### 2.1 - Isolement des composés

Les tiges et les racines sont séchées pendant 10 jours dans un local aéré et à l'abri des rayons solaires avant d'être pulvérisées. 2kg de poudre sont traités par trois lavages successifs à l'hexane (24 heures de contact sans agitation dans un lixiviateur).

L'extrait brut hexanique (11,5g) concentré par évaporation au rotavapor et tiré sous vide permet d'obtenir 9,2 g de produit séché, soit un rendement d'extraction de 0,46 %. Notons que des rendements de l'ordre de 3 % ont été obtenus dans les mêmes conditions d'extraction sur la plante récoltée sur un site différent [2].

4g d'extrait ont été chromatographiés sur colonne de silicagel S. L'éluant utilisé a été l'hexane puis un mélange d'hexane et de chlorure de méthylène. À partir du mélange à 40 % de CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>, il a été isolé un produit séché sous vide (2.9 g) faisant apparaître, à l'analyse sur CCM, essentiellement deux taches.

Cet échantillon qui représente 72 % de l'extrait brut et qui contient donc les composés majoritaires de cet extrait a été recristallisé dans le chloroforme.

Le premier jet donne 90 mg de cristaux en aiguille (A). Ensuite, 160 mg de cristaux granuleux (B) sont obtenus lorsqu'un nouvel essai de recristallisation est effectué sur les eaux-mères.

Les cristaux en aiguille (A), ont été caractérisés comme étant des stérols.

Les cristaux granuleux (B), les plus abondant, dont la fusion est obtenue entre 53-54°C ont été identifiées à des acides gras saturés.

## **2.2 Mesures physiques**

Les points de fusion des échantillons cristallisés sont pris en tubes capillaires avec un appareil BUCHI 510.

## **2.3 Analyse chimique**

Afin d'orienter les études structurales, des tests et analyses chimiques préliminaires ont été effectués. Ainsi, la réaction de caractérisation des stérols (test de Libermann Burchard) a été effectuée et s'est révélée positive. En effet : 10 ml de soluté extractif méthanolique sont évaporés dans une capsule de porcelaine au bain-marie. On a ajouté au résidu 0,5 ml de chloroforme et 0,5 ml d'anhydride acétique. La solution obtenue a été transvasée dans un tube à essai sec. À l'aide d'une pipette, on a fait couler au fond du tube, 2 ml d'acide sulfurique concentré. Il est apparu au niveau de la séparation des deux solutions, un anneau rouge-brun après 5 mn de repos.

## **2.4 Analyse structurale**

La difficulté à obtenir des molécules pures par les méthodes de purification classiques (chromatographie sur colonne et recristallisation) nous a conduit à procéder à l'analyse par chromatographie couplée à la spectrométrie de masse haute résolution (GC-MC).

Les appareils utilisés sont le chromatographe en phase gazeuse de type Hewlett Packard 5890 couplé à un spectromètre de masse quadripolaire type Hewlett Packard 5989 pour les analyses fines. Pour l'ana-

lyse préliminaire, nous avons utilisé un spectromètre Varian MAT 311 avec couplage CPG.

### III - RESULTATS

#### 3.1 Fusion des cristaux (A)

Les échantillons ayant rigoureusement les caractéristiques des cristaux A et obtenus de différentes récoltes de plante sur le même site ont donné des points de fusion allant de 135° à 141°C. Mais tous ces échantillons qui se sont révélés être des mélanges sont constitués des mêmes stérols.

L'abondance d'un composé dans une plante est liée à l'âge, la période de la récolte et au temps de séchage <sup>[10]</sup> (facteurs non pris en compte dans cette étude). La non uniformité de la température de fusion peut s'interpréter comme une variation de l'abondance de chaque constituant dépendante des facteurs précités.

#### 3.2 Analyse élémentaire

L'échantillon cristallisé (A), homogène en CCM, supposé pur, a fait l'objet d'une analyse élémentaire qui a révélé la présence du carbone, de l'hydrogène et de l'oxygène dans les proportions respectives 81,76 % ; 11,86 % et 6,38 %.

Considéré comme une molécule pure, cet échantillon donne la formule théorique moyenne  $n \times (C_{6,81}H_{11,86}O_{0,398})$ ,  $n$  étant le rapport de la masse moléculaire réelle sur cent ( $n=M/100$ ).

### 3.3 Structures des constituants des échantillons

#### 3.3-1 *Interprétation des résultats des analyses spectrométriques et chimiques.*

Les premières analyses spectrométriques de masse haute résolution (spectromètre VARIAN MAT 311) avec couplage CPG ont révélé la présence de trois ions moléculaires à 400, 412 et 414 dans l'échantillon A. Les formules brutes susceptibles de correspondre à ces différentes masses après étude des fragmentations, sont respectivement  $C_{28}H_{48}O$ ,  $C_{29}H_{48}O$ ,  $C_{29}H_{50}O$ . La méthode n'a pas permis l'accès aux formules développées ; la nature des constituants étant à ce stade, inconnue.

La formule théorique déterminée donne pour ces masses, des formules déduites proches de celles qui sont attribuées précédemment (exemple  $M = 400$ ,  $n = 4$  Formule déduite :  $C_{27,24}H_{47,44}O_{1,59}$ , Formule attribuée :  $C_{28}H_{48}O$ ).

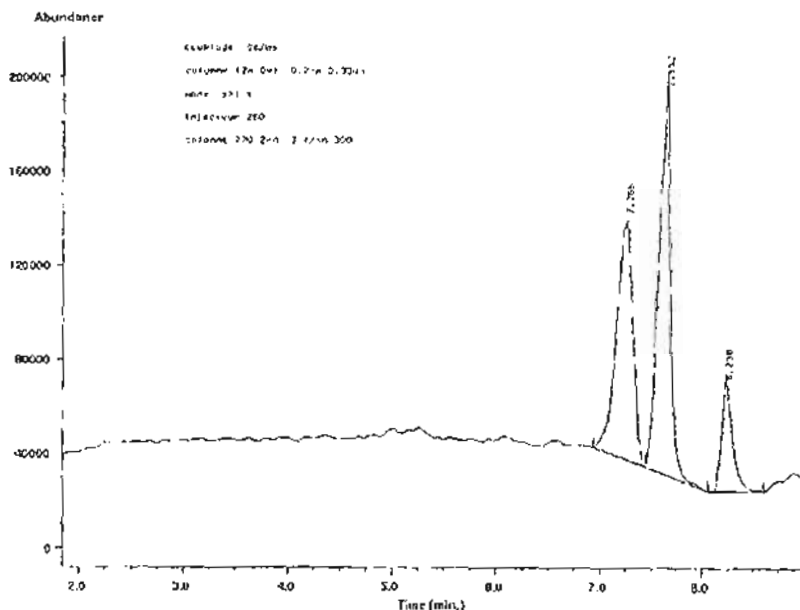
Avant de réaliser une analyse fine, des tests et analyses préliminaires ont été effectués et ont permis de caractériser l'échantillon comme étant de nature stéroïde (test de Libermann Burchard).

L'hypothèse de la structure stéroïde pour chaque constituant de l'échantillon a amené à envisager une nouvelle analyse par GC-MS, cette fois, à l'aide d'un chromatographe en phase gazeuse de type HP 5890 couplé à un spectromètre de masse quadripolaire type HP 5989A après protection de la fonction alcool de chaque stérol par dérivaison (TMS). Les phénomènes d'adsorption et les réactions de dénaturation par la chaleur sont ainsi réduites. Les stérols protégés pendant leurs passages dans le chromatographe gardent leurs structures d'origine et sont donc plus facilement caractérisés.

#### 3.3-2 *Interprétation des signaux*

Le chromatogramme d'ions obtenu (figure 1) montre la présence de trois principaux composés dont les temps de rétention respectifs 7,266mn, 7,652mn, 8,238mn, relativement voisins, n'ont pas permis

l'obtention de chacun des composés à l'état pur. Les ions moléculaires sont observés respectivement à  $m/z = 400, 412, 414$ .



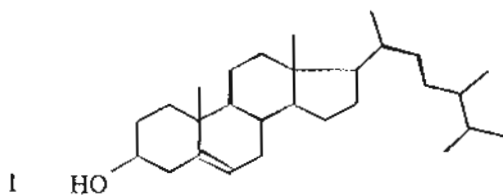
**FIGURE 1** : Chronogramme d'ions obtenu par couplage Masse-CPG après dérivation TMS du mélange de stérols

### **3-3 Identification des constituants du mélange de stérols**

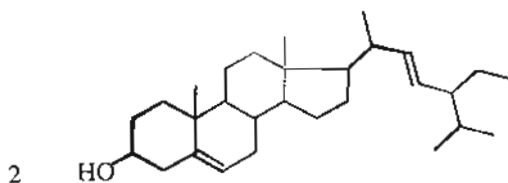
L'analyse structurale fine a permis l'obtention des spectres des constituants purs. L'étude de la fragmentation de chacun ainsi que les résultats des analyses préliminaires nous ont conduit à attribuer, pour ces constituants, les structures des stérols connus dont les standards commerciaux donnent des spectres superposables dans les mêmes conditions analytiques.

Il s'agit de l'Ergostérol, du Stigmastérol et du  $\gamma$ -Sitostérol (figure 2).

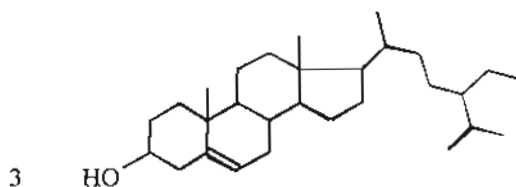
**Figure 2** : Structures des stérols isolés et identifiés dans les tiges et racines de *Physalis pubescens*.



Ergostérol  
 $C_{28}H_{48}O$   
M = 400



Stigmastérol  
 $C_{29}H_{48}O$   
M: 412



$\gamma$ -Sitostérol  
 $C_{29}H_{50}O$   
M: 414

### **3.4 - Identification des constituants du mélange d'acides gras.**

Le mélange inséparable (par la recristallisation et par les méthodes chromatographiques) a été analysé par spectrométrie de masse en introduction directe (ID). Les constituants ont été identifiés aux acides gras du tableau I.

MASSE	FORMULE BRUTE	NOMS DES ACIDES
256	$C_{16}H_{32}O_2$	palmitique ou hexadécanoïque
270	$C_{17}H_{34}O_2$	margarique ou heptadécanoïque
284	$C_{18}H_{36}O_2$	stéarique ou octadécanoïque
298	$C_{19}H_{38}O_2$	nonadécylique ou nonadécanoïque
312	$C_{20}H_{40}O_2$	arachidique ou eicosanoïque
326	$C_{21}H_{42}O_2$	uncosanoïque
340	$C_{22}H_{44}O_2$	béhénique ou docosanoïque
354	$C_{23}H_{46}O_2$	tricosanique
368	$C_{24}H_{48}O_2$	lignocérique ou tétracosanoïque

*TABLEAU I : Constituants du mélange d'acides gras*



#### IV – CONCLUSION

Par la méthode de spectrométrie de masse essentiellement, nous avons pu caractériser dans deux échantillons obtenus de l'extrait à l'hexane des tiges et racines de *Physalis pubescens* trois stérols (Ergostérol, Stigmastérol, et  $\gamma$ -Sitostérol). De même neuf acides gras ont été identifiés dans le même extrait.

L'activité biologique reconnue des composés majoritaires isolés peut expliquer l'usage traditionnel de cette plante.

#### REMERCIEMENTS

*Nous tenons à remercier monsieur le Professeur J. P. PRADERE et son équipe du Laboratoire de Synthèse Organique (LSO) de l'Université de Nantes (France) pour leur contribution, déterminante, à la réalisation des spectres et à la caractérisation des structures.*

#### BIBLIOGRAPHIE

[1] - L. R. ROW ; K. S. REDDY ; K. DHAVEJI ; T. MUTSUURA *Phytochemistry*, (1984), 23(2) 427-30.

[2] - M. K. ASSI ; Thèse de Doctorat 3è Cycle, UFR SSMT, Université de COCODY, (1995), Cote d'Ivoire

[3] - K. S. REDDY ; L. R. ROW ; T. MUTSUURA *J. Chem. Soc., Perkin Trans.* (1985), 1, (3), 419-20

[4] - K. BASEY ; B. A. Mc GRAW ; J. G. WOOLEY *Phytochemistry*, (1992), 31(12), 4173-6

[5] - T. M. ZENNIE ; C. D. OGZEWALLA *Econ. Bot.* (1977), 31 (1), 76-9

[6] - J. KOLODZIEJSKI ; A. MRUK-LUCZKIEWICZ ; H. MIONSKOWSKI *Acta Pol. Pharm.* (1969), 26(3), 259-64

[7] - E. GLOTTER ; M. SAHAI ; I. KIRSON ; H. E. GOTTLIEB *J. Chem. Soc. Perkin Trans.* (1985), 1(11), 2241-5

[8] - M. SAHAI *J. Nat. Prod.* (1985), 48(3), 474-6

[9] - I. KIRSON ; H. E. GOTTLIEB ; E. GLOTTER *J. Chem. Res. Synop.* (1980), 4, 125.

[10] - Z. F. TONZIBO, Y. BONZI-CULIBALY, J. C. CHACHAT, Y. T. N'GUESSAN, Sié SIB. *J. Soc. Ouest Afr. Chim.* (2000), 010, 1-12.