

7. Budzikiewicz, H., Djerassi, C. and Williams, D. H. (1964) in *Interpretation of Mass Spectra of Organic Compounds* (Budzikiewicz, H., Djerassi, C. and Williams, D. H., eds.), Holden-Day, San Francisco.
8. Broadhurst, M. G. (1962) *J. Res. Natl. Bur. Stand. Sect. A* **66**, 241.

Phytochemistry, 1979, Vol. 18, pp. 1396-1397. © Pergamon Press Ltd. Printed in England.

0031-9422/79/0801-1396\$02.00/0

L'ACIDE DIMÉTHYLSULFONIUM-5 PENTANOÏQUE DE *DIPLLOTAXIS TENUIFOLIA*

F. LARHER et J. HAMELIN

Laboratoire de Biologie végétale, U.E.R. Sciences Biologiques, Groupe de Recherche de Physicochimie structurale, U.E.R. Structure et Propriétés de la Matière, Université de Rennes, Campus de Beaulieu, 35042 Rennes Cédex, France

(Reçu le 23 juin 1978)

Key Word Index—*Diplotaxis tenuifolia*; Cruciferae; coastal dune plant; dimethylated sulfonium compounds; thetin; 5-dimethylsulfonium pentanoic acid; water stress resistance.

INTRODUCTION

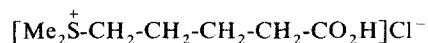
Récemment, l'un de nous a mis en évidence, pour de nombreuses plantes des dunes, des falaises et des grèves littorales, une accumulation de composés à groupement onium méthylé et en particulier de glycine bêtaïne [1]. Parmi ces plantes, *Diplotaxis tenuifolia* (L.) DC. a retenu notre attention; en effet, ses fleurs présentent une teneur relative, en composés oniums méthylés, de 280 μmol par g de matière sèche. Parmi ces composés seules la glycine-bêtaïne et la choline sont facilement caractérisées. Plusieurs autres substances, révélables au réactif de Dragendorff, sont séparées par électrophorèse en haute tension mais ne peuvent être identifiées par les méthodes habituelles de coélectrophorèse. L'une d'elles a été isolée et purifiée, sa structure a été déterminée par spectroscopie et confirmée par synthèse univoque; il s'agit d'une thétine, l'acide diméthylsulfonium-5 pentanoïque.

RÉSULTATS ET DISCUSSION

Le composé extrait des fleurs de *D. tenuifolia*, sous forme de chlorhydrate, est lyophilisé. Dans ces conditions, il est stable à la température du laboratoire. Comme de nombreux composés oniums extraits des végétaux, il est très soluble dans l'eau, l'alcool et les acides dilués, et insoluble dans les solvants non polaires comme le chloroforme ou l'éther de pétrole. Il est stable, aussi bien en milieu chlorhydrique concentré (HCl 6 N, 105°, 16 hr) qu'en milieu alcalin (NaOH 6 N, 40°, 1 hr). Il donne, avec le réactif de Dragendorff, une coloration orange caractéristique. Il forme, en milieu acide, en présence du sel de Reinecke, un reineckate insoluble dans l'eau à 4° et soluble dans l'acétone à 70%.

Le spectre IR du produit lyophilisé, mis en suspension dans le nujol, présente vers 3400 cm^{-1} la bande large caractéristique du groupement-OH d'acide carboxylique et vers 1705 cm^{-1} une vibration de valence $\nu\text{C}=\text{O}$ d'acide. Le spectre de RMN du composé solubilisé dans l'eau lourde, effectué à 100 MHz, révèle les signaux suivants (δ par rapport au TMPS): δ 3.23 ppm (s, 6H); 3.66 (m, 2H); 2.78 (m, 2H); 2.15 (m, 4H). Le SM permet d'établir la formule brute des ions fragments les plus abondants:

$\text{Me}_2\text{S}^+(\text{CH}_2)_4\text{-CO}_2\text{H}$ $m/e = 163$; $\text{MeS-(CH}_2)_4\text{-CO}_2\text{H}^{++}$ $m/e = 148$; $^+\text{CH}_2\text{-(CH}_2)_3\text{-CO}_2\text{H}$ $m/e = 101$; $\text{CH}_2=\text{CH-(CH}_2)_2\text{-CO}_2\text{H}^{++}$ $m/e = 100$; Me_2S^{++} $m/e = 62$; MeCl $m/e = 52$ et 50. Tous ces résultats suggèrent la structure du chlorhydrate de l'acide diméthylsulfonium-5 pentanoïque:



Cette thétine a été synthétisée sous forme de bromure, à partir de l'acide δ -bromovalérique et de diméthyle sulfure selon la méthode décrite par Challenger et Simpson [2]. Ses propriétés spectroscopiques, chromatographiques et électrophorétiques, superposables à celles du produit isolé de *D. tenuifolia*, confirment l'identification proposée.

Cet acide diméthylsulfonium-5 pentanoïque est identifié pour la première fois chez les végétaux. Il s'agit d'une thétine, rappelant par sa structure l'acide diméthylsulfonium-3 propanoïque, connu chez les algues marines [2] et retrouvé chez *Spartina anglica* [3], *Sp. maritima*, *Sp. gracilis* et *Sp. alterniflora*. Il pourrait provenir, par désamination et *S*-méthylation, de l'analogue supérieur de la méthionine, acide aminé qu'il reste à mettre en évidence chez *D. tenuifolia*.

Comme les bêtaïnes des Plombaginaceae halophytes [4], l'acide diméthylsulfonium-5 pentanoïque ne se trouve qu'à l'état conjugué. Sa fonction acide est, selon toute vraisemblance, engagée dans une liaison ester dont nous ne connaissons pas, pour le moment, la composante alcoolique. Toutefois, le comportement électrophorétique de l'ester fait déjà apparaître un caractère acide nettement marqué.

L'acide diméthylsulfonium-5 pentanoïque prend, chez *D. tenuifolia* une telle importance quantitative qu'il doit participer, sous forme combinée, à l'adaptation biochimique de la plante à son milieu. Il pourrait apporter une contribution à l'ajustement osmotique de la plante se développant dans les sables littoraux pauvres en eau. L'étude de l'évolution de sa teneur relative parallèlement aux variations du potentiel hydrique du milieu et la mise en évidence de son action éventuelle sur la modulation

des activités enzymatiques devraient permettre de vérifier cette hypothèse.

PARTIE EXPÉRIMENTALE

Extraction et purification. La fraction soluble totale est obtenue en EtOH (80%) à 0° à partir de matériel végétal fixé à l'azote liquide, lyophilisé et réduit en poudre au broyeur à billes Danguomeau. Elle est concentrée sous vide à 35°. Le résidu est solubilisé dans HCl 6 N et soumis à une hydrolyse (HCl 6 N, 105°, 16 hr). L'hydrolysate, évaporé à sec, est repris dans de l'eau puis soumis à une électrophorèse préparative à haute tension sur papier Whatman 3 MM à pH 2.0 (HCOOH 0.75 N—40 V/cm—1 hr). Après séchage des électrophorogrammes au four ventilé (40°, 16 hr), les bandes contenant la thétine, repérées à l'aide du réactif de Dragendorff, sont éluées par HCl 0.001 N. L'éluat, concentré sous vide, est additionné d'une solution saturée de reineckate d'ammonium ajustée à pH 1.0 avec HCl et maintenue à 4° jusqu'à précipitation complète du reineckate de la thétine. Le précipité, recueilli par centrifugation à 4°, est lavé $\times 3$ à l'eau distillée à 4° puis solubilisé dans Me₂CO 70%. La solution acétonique est alors soumise à une chromatographie préparative sur papier Whatman 3 MM dans le solvant EtOH-NH₄OH-H₂O (20:1:4) ce qui permet la dissociation du sel et la séparation de la thétine du reineckate. La thétine est éluée, concentrée et enfin soumise à une électrophorèse en haute tension à pH 2.0 (HCOOH 0.75 N—40 V/cm—90 min) couplée à une chromatographie de 20 hr dans le solvant *n*-BuOH-HOAc-H₂O (12:3:5). Les solvants de chromatographie sont éliminés par un chauffage à 40° pendant 24 hr au four ventilé. La thétine est éluée par HCl 0.001 N, concentrée sous vide et lyophilisée. La masse de produit recueillie est de l'ordre de 80 mg pour 10 g de matériel végétal sec.

Propriétés électrophorétiques. Les mobilités électrophorétiques (ME) du produit, exprimées par rapport à celle de la choline, sont déterminées à différents pH sur papier Whatman 3 MM; pH 2.0 (HCOOH 0.75 N), ME = 0.75; pH 3.4 (C₅H₅N-HOAc-H₂O; 0.6:10:989.4), ME = 0.59; pH 5.3 (C₅H₅N-HOAc-H₂O; 10:4:986), ME = 0.16; pH 6.0 (C₅H₅N-HOAc-H₂O; 10:1:989), ME = 0.13; pH 8.0 (CO₃(NH₄)₂ 0.1 M), ME = 0.18; pH 11.3 (NH₄OH 0.2 N), ME = 0.13.

Propriétés chromatographiques. Le rapport R_c, distance parcourue par le composé/distance parcourue par la choline, est calculé, après développement des chromatogrammes dans divers solvants (papier Whatman 3 MM, 20°); *n*-BuOH-HOAc-H₂O (12:3:5), R_c = 0.83; *n*-BuOH-HCOOH-H₂O (3:1:1), R_c = 0.82; 2 BuOH-HCOOH-H₂O (15:3:2), R_c = 0.84; *n*-BuOH-C₅H₅N-HOAc-H₂O (4:1:1:2), R_c = 0.79; EtOH-NH₄OH-H₂O (20:1:4), R_c = 0.70; Ph-EtOH-NH₄OH (15:4:1), R_c = 1.

Remerciements—Nous remercions M. P. Guénot, Ingénieur au Centre de Mesures Physiques de l'Ouest, pour l'enregistrement des spectres de masse (Varian MAT 311) et Mme C. Neveu, Ingénieur au C.N.R.S., pour la synthèse de l'acide diméthylsulfonium-5 pentanoïque.

BIBLIOGRAPHIE

1. Larher, F. et Stewart, G. R. (1979) *New Phytol.* soumis.
2. Challenger, F. et Simpson, M. I. (1948) *J. Chem. Soc. II* 1591.
3. Larher, F., Hamelin, J. et Stewart, G. R. (1977) *Phytochemistry* 16, 2019.
4. Larher, F. (1976) Thèse Doct. Sc. Nat. Rennes.

3,5-DIETHYL-1,2,4-TRITHIOLANE FROM *ALLIUM CEPA*

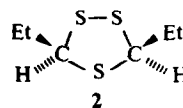
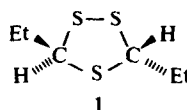
HIROMU KAMEOKA and YOSHIYUKI DEMIZU

Department of Applied Chemistry, Faculty of Science and Engineering,
Kinki University, Kowakae, Higashiosaka-shi, Osaka, Japan

(Revised received 28 November 1978)

Key Word Index—*Allium cepa*; Liliaceae; onion; steam volatile oil; 3,5-diethyl-1,2,4-trithiolane.

Many volatile flavor compounds of the onion have been previously identified [1-5]. In recent years a number of 1,2,4-trithiolanes [6-10] have been described. We now report the new cyclic sulphur compounds, *cis*- and *trans*-3,5-diethyl-1,2,4-trithiolane. These compounds constitute ca 8% of the steam volatile oil from flowers and leaves, and were isolated by preparative GLC (*t_R* 15 min -1 and 16 min -2), using Celite 545 as the stationary phase. The two stereoisomers, both analysed for C₆H₁₂S₃, [α]_D²⁵ 0° and had similar mass spectra (*m/e* 182, 180, 116, 106, 74, 59, 45 and 41), from which it was assumed that they were either unsaturated or cyclic compounds. While the IR spectra were also similar, there



were small differences in the relative intensities and slight shifts in the absorption bands between the two isomers. The ¹H NMR spectra of compound 1 gave peaks at 4.56, 1.98 and 1.13 ppm, while in compound 2 the peaks were at 4.61, 1.88 and 1.06 ppm, respectively. From this data, the only possible structure for both compounds was 3,5-diethyl-1,2,4-trithiolane and we confirmed compounds 1 and 2 as the *trans*- and *cis*-isomers, respectively.