

METHYL-2 METHYLENE-6 OCTADIENE-2,7 OL ISOLE DE *THYMUS VULGARIS*

R. GRANGER, J. PASSET et J. P. GIRARD

Laboratoire de Chimie organique pharmaceutique, Faculté de Pharmacie et Institut Européen de Pharmacie Industrielle, Montpellier, France

(Reçu le 6 janvier 1972)

Key Word Index—*Thymus vulgaris*; Labiatae; 2-methyl-6-methylene-2,7-octadienol; monoterpene alcohol.

Résumé—Le méthyl-2 méthylène-6 octadiène-2,7 ol (Z), qui n'avait jamais été signalé dans le règne végétal, a été découvert dans l'essence de certaines races chimiques de *Thymus vulgaris* L., dans laquelle il est accompagné par son ester acétique. La structure de l'alcool et l'isomérisie éthylénique C₂-C₃ ont été établies par des méthodes spectrométriques. La biogénèse du composé est discutée.

Abstract—2-Methyl-6-methylene-2,7-octadienol (Z) has been discovered for the first time in the essential oil of certain chemical races of *Thymus vulgaris* L., where it was found together with its acetic ester. Its structure and its C₂-C₃ isomerism were established by spectrometric methods; its biogenesis is also considered.

INTRODUCTION

Thymus vulgaris L. est une Labiée qui croît à l'état spontané dans le Sud de la France, en Italie et en Catalogne espagnole. Son huile essentielle est réputée riche en composés phénoliques: thymol et carvacrol, qui lui confèrent une nette action antiparasitaire et antimicrobienne. Les Pharmacopées européennes et américaines ont donc défini pour cette essence des normes qui reposent en fait sur un taux minimum de phénols.

Or, nous avons montré qu'il existe chez cette espèce morphologiquement homogène, six chémotypes parfaitement stables dans leur milieu naturel comme en culture expérimentale de longue durée, et capables de transmettre héréditairement leurs caractères spécifiques.^{1,2} Plusieurs de ces chémotypes ne contiennent pratiquement pas de composés phénoliques, et c'est chez l'un d'eux que nous avons découvert, à côté du myrcène, un alcool monoterpénique, encore inconnu dans le monde végétal, le méthyl-2 méthylène-6 octadiène-2,7 ol (Z) (II), pour lequel nous proposons le nom de *cis* mycénol-8 en raison de son étroite parenté avec le myrcène (I).

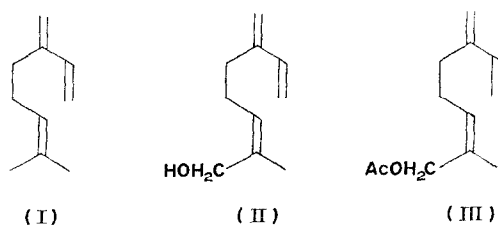
Ce composé a été isolé des essences obtenues par entraînement à la vapeur de deux lots de rameaux récoltés respectivement sur le rebord des Causses du Larzac (Col d'Arboras, 38 km O-NO de Montpellier, altitude 600 m) et dans les premiers contreforts des Pyrénées espagnoles (La Mata, 35 km N.O. de Barcelone, altitude 1000 m). Les chromatogrammes de ces essences, ainsi que celui obtenu par l'analyse directe d'une feuille, mettaient en évidence deux pics assez importants qui n'avaient pu être identifiés. Le fractionnement par chromatographie en phase gazeuse préparative a permis d'isoler à l'état rigoureusement pur l'alcool (II) et son ester acétique (III).

¹ R. GRANGER et J. PASSET, *Compt. Rend.* **273D**, 2350 (1971).

² J. PASSET, Thèse Doct. Pharmacie Univ. Montpellier (1971).

³ Y. R. NAVES et P. TULLEN, *Bull. Soc. Chim. Fr.* **11**, 2123 (1960).

⁴ R. E. WROLSTAD et W. G. JENNINGS, *Agric. Food Chem.* **12**, 6 (1964).



Les deux composés se présentent sous la forme de liquides de forte viscosité, incolores au moment de la condensation dans le piège mais prenant rapidement une teinte ambrée, et se polymérisant facilement à température ambiante en flacon bouché. L'acétate (III) a été relié à l'alcool par action de LiAlH_4 en milieu étheré et ce dernier identifié avec le composé naturel à la fois par le temps de rétention en C.P.V. et par les spectres IR et RMN.

STRUCTURE

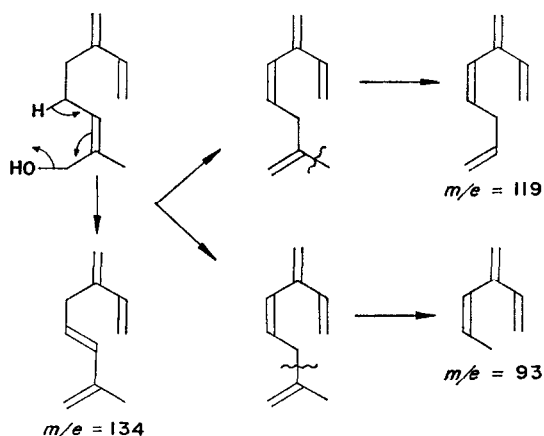
L'analyse élémentaire et la spectrométrie de masse (pic moléculaire $M = 152$) permettent d'attribuer à l'alcool la formule moléculaire $\text{C}_{10}\text{H}_{16}\text{O}$. Ce composé est totalement inactif sur la lumière polarisée, ce qui permet d'envisager *a priori* l'absence de carbone asymétrique. Le spectre UV indique la présence d'un système diénique conjugué. Le maximum d'absorption à 222 nm ($\epsilon = 17\,500$) est très proche de celui observé dans le spectre du myrcène.

L'étude détaillée du spectre IR montre une étroite analogie avec celui du myrcène. Dans le domaine des vibrations de valence $\nu(\text{C—H})$ éthyléniques, on observe la présence de deux bandes d'intensité différente à 3096 et 3012 cm^{-1} , attribuables respectivement aux vibrations $\nu(\text{C—H})$ symétriques et antisymétriques des composés de type $(\text{R}_1)(\text{R}_2)\text{—C=CH}_2$ et R—CH=CH_2 . Dans le domaine des vibrations de valence $\nu(\text{C=C})$ situé entre 1640 et 1675 cm^{-1} le composé (II) présente une bande faible à 1639 cm^{-1} et une bande forte à 1597 cm^{-1} , ce qui dénote l'existence d'une conjugaison multiple. Ce composé comporte un groupement vinylique terminal —CH=CH_2 qui se caractérise par une double absorption forte à 992 et 894 cm^{-1} . Enfin, le spectre du composé (II) se différencie essentiellement de celui du myrcène (I) par la présence de deux bandes fortes, l'une à 3333 cm^{-1} attribuable aux vibrations $\nu(\text{OH})$, l'autre à 1003 cm^{-1} correspondant à des vibrations $\nu(\text{C—O})$ caractéristiques d'un alcool primaire.

Le spectre RMN apporte assez d'informations pour déduire la structure complète de cet alcool. Un singulet centré à 4,07 δ correspond aux deux protons portés par C_1 . Le proton de l'hydroxyle se situant à 2,75 δ s'atténue par agitation avec D_2O . Le groupe alcool primaire est caractérisé par les modifications spectrales observées en solution dans le DMSO: les deux protons C_1 sont alors dédoublés, et un triplet apparaît pour OH. Par ailleurs, le doublet indique l'absence de proton sur le carbone 2 adjacent. Un singulet centré à 1,77 δ est attribué au méthyle fixé sur C_2 . L'emploi d'une largeur de balayage de 100 Hz (au lieu de 500 Hz) permet de montrer un dédoublement du signal ($J = 1,3$ Hz) et indique une structure du type $\text{CH}_3\text{—C=CH—}$. Une expérience de double résonance confirme cette structure: quand on irradie le proton oléfinique situé à 5,3 δ , le doublet se résout en un singulet. Le multiplet centré à 5,3 δ correspond donc à H_3 . Le doublet centré à 2,28 δ (4H) indique la présence du groupe $\text{—CH}_2\text{—CH}_2\text{—}$ encadré par deux doubles liaisons. Le quartet centré à 6,36 δ est dû au proton H_7 ($J_{\text{trans}}: 18\text{Hz}$; $J_{\text{cis}} = 10,5$ Hz). Un octet apparaît pour une largeur de balayage de 100 Hz (couplage avec H_7'): une partie du quartet

$H_{8\alpha}$ est alors à 5,31 δ , l'autre à 5,13 δ ($J_{gem} = 1$ Hz), de même une partie du quartet $H_{8\beta}$ est à 5,10 δ et l'autre à 4,98 δ . Ces valeurs correspondent à une structure du type $-\text{CH}=\text{CH}_2$. Enfin un multiplet centré à 5 δ est attribué aux deux protons $H_{\gamma'}$ et H_{γ} couplés respectivement avec H_7 et H_5 . Ces résultats, déduits d'une analyse du premier ordre sont en accord avec la structure II proposée.

Dans le spectre de masse, le pic moléculaire est de faible intensité, ce qui est le cas général des alcools monoterpéniques qui se deshydratent facilement dans les conditions de l'expérience. L'ion m/e 150 peut provenir de la déshydrogénation en C_4 et C_5 de l'ion moléculaire 152, conduisant à un système tétraéthylénique conjugué, stabilisé par résonance. L'ion m/e 134 (M-18) répondrait à la déshydratation de l'alcool selon un mécanisme circulaire tandis que le départ du groupe CH_2-OH serait à l'origine de l'ion m/e 121 (M-31). L'ion m/e 134 se fragmenterait à son tour à deux niveaux différents, conduisant respectivement aux ions m/e 119 (M-18-15) et m/e 93 (M-18-43).



Les ions m/e 84 et m/e 67 s'expliqueraient par une rupture de la molécule au niveau de la liaison C_4-C_5 .

ISOMERIE ETHYLENIQUE C_2-C_3

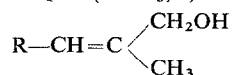
Delaby et Dupin⁵ avaient décrit en 1938 un composé répondant à la même structure, obtenu par l'action de l'anhydride sélénieux sur le myrcène. Par la suite, la configuration *trans* de cet alcool était déduite par Buechi et Wuest⁶ de l'étude RMN du proton vinylique en position β dans l'acide correspondant.

Ce composé diffère du myrcénol-8 naturel par le temps de rétention en CPV. L'étude comparative des deux substances démontre qu'il s'agit d'isomères géométriques. Les spectres IR sont très voisins comme le montre leur entregistrement superposé. En RMN, un déplacement vers les champs forts est constaté pour le groupe CH_2OH du composé synthétique par rapport au même groupe du composé naturel. Il en est de même pour le groupe méthyle des deux substances. Ces résultats sont à rapprocher des observations faites sur les *cis* et *trans* lancéols⁷ qui possèdent un enchainement terminal identique (Tableau 1).

⁵ R. DELABY et E. DUPIN, *Bull. Soc. Chim. Fr.* **5**, 931 (1938).

⁶ G. BUECHI et H. WUEST, *Helv. Chim. Acta* **50**, 2440 (1967).

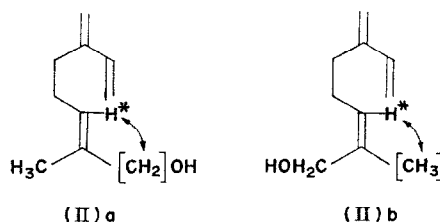
⁷ R. RUEGG, A. PFIFFNER et M. MONTAVON, *Recherches* **15**, 3 (1966).

TABLEAU I. GLISSEMENTS CHIMIQUES (CDCl_3 , δ) DES PROTONS CH_2OH ET CH_3 DANS

Composés	CH_2OH	$\Delta\delta$	CH_3	$\Delta\delta$
Méthyl-2 méthylène-6 octadiène-2,7 ol				
Naturel	3,99		1,77	
Synthétique	3,87	0,12	1,63	0,14
<i>cis</i> -Lancéol	4,10		1,79	
<i>trans</i> -Lancéol	3,98	0,12	1,66	0,13

On peut alors penser que dans la substance naturelle, le proton éthylénique est *cis* par rapport au groupe méthyle.

L'étude de l'effet Overhauser nucléaire confirme ces remarques et permet d'attribuer sans équivoque les configurations respectives. Sous l'effet de la double irradiation, l'augmentation de l'intensité intégrée du proton vinylique (*) est de 12 % lorsque le groupement CH_2 de IIa est irradié tandis qu'elle est de 15 % quand l'irradiation porte sur le groupement CH_3 de IIb. L'irradiation du groupement CH_3 dans IIa et du groupement CH_2 dans IIb ne produit pas d'effet Overhauser nucléaire. Ces résultats vérifient les attributions *trans* pour le composé synthétique et *cis* pour l'alcool naturel.



BIOGENESE

Il semble raisonnable de penser que le *cis*-myrcénol-8 trouve son origine dans l'hydroxylation allylique du myrcène, terpène assez répandu dans les essences végétales, et qui est présent dans celle de *Thymus vulgaris*. L'hydroxylation en α d'une liaison éthylénique est fréquemment observée chez les végétaux et expliquerait en particulier la formation du lyratol,⁸ à partir de l'hydrocarbure correspondant également isolé d'une essence végétale.⁹

Il est intéressant de noter que l'oxydation *in vitro* du myrcène conduit exclusivement à l'alcool *trans*, ainsi que Buechi et Wuest l'avaient déjà remarqué, alors que l'hydroxylation *in vivo* ne produit que l'isomère *cis*. Ces deux réactions sont donc spécifiques et inversement orientées. Dans le premier cas l'explication peut être trouvée dans l'encombrement stérique tandis que dans le second, il faut envisager un mécanisme enzymatique.

⁸ O. N. DEVGAN, M. M. BOKADIA, A. K. BOSE, M. S. TIBBETTS, G. K. TRIVEDI et K. K. CHAKRAVARTI, *Tetrahedron Letters* 5337 (1967).

⁹ A. F. THOMAS et B. WILLHAM, *Tetrahedron Letters* 1453 (1965).

Le myrcène qui est à l'origine de l'alcool doit vraisemblablement provenir du pyrophosphate de géranyle, en raison de l'orientation préférentielle imposée par l'isomérisation *trans* du précurseur comme le suggère le travail de Halley *et al.*¹⁰

Il semble que la biogénèse monoterpénique, au moins chez *Thymus vulgaris*, procède par compétition entre voies enzymatiques parallèles, partant toutes d'un précurseur commun, le pyrophosphate de géranyle.² Il est alors permis de penser que la rareté de certains composés terpéniques tel que le myrcénol, résulte du fait que les séquences enzymatiques dont ils sont issus peuvent être fortement dominées par les séquences concurrentes.

EXPERIMENTAL

Les analyses en CPV ont été effectuées sur appareils Aerograph 600 et 1200 munis de détecteurs à ionisation de flamme d'H₂, sur des colonnes de 300 × 0,24 cm chargées à 5% de Carbowax 20 M sur chromosorb W 80-100 mesh gaz vecteur: N₂ 20 ml/min. Température colonne: isotherme initial 20 min, programmation jusqu'à 180° à 2°/min. Température injecteur, détecteur 270°, volume d'injection 0,1 µl. L'analyse directe de l'essence est effectuée grâce au dispositif 'In Ductor' (Aerograph) adapté sur l'injecteur. Une feuille de thym déposée dans une cavité du piston est introduite dans le bloc chauffant porté à 300°. Les substances volatiles sont vaporisées et entraînées par le gaz vecteur. On retire la feuille au bout de 60 sec pour éviter la pyrolyse des substances non volatiles. Les fractionnements ont été obtenus sur appareil Aerograph A 700 équipé d'un détecteur à conductivité thermique, sur colonne préparative de 300 × 0,95 cm chargé à 30% de Carbowax 20 M sur chromosorb W 45-60 mesh. gaz vecteur H₂, 250 ml/min. Température colonne: programmation balistique de 120 à 200° en 60 min environ. Température injecteur, détecteur: 280°. Volume d'injection: 300 µl. Le spectre UV a été enregistré sur une solution de 0,005 g/l. dans l'éthanol absolu et les spectres IR sur les substances pures en film capillaire. Les spectres de RMN ont été effectués sur les substances en solution dans le CDCl₃ en utilisant comme référence interne le tétraméthylsilane. Les spectres de masse ont été mesurés sur spectromètre MS 9 (AEI) avec comme référence interne l'heptacosafuorotributylamine.

Méthyl-2 méthylène-6 octadiène-2,7 ol (Z). Anal. C₁₀H₁₆O: Calc. %: C 78,94; H 10,52; O 10,52; Tr.: 78,55; 11,05; 10,21; masse: M = 152; UV λ_{max}: 222 nm; ε = 17 000 (EtOH abs.); IR: ν(OH) 3333; ν(C—O) 1003; ν(C=C) 1639, 1597; ν(CH) 3096; γ(CH) 992, 894.

Acetoxy-1 méthyl-2 méthylène-6 octadiène-2,7. Anal. C₁₂H₁₈O₂: Calc. %: C 74,22; H 9,27; O 16,49; Tr.: 74,71; 9,22; 15,96; masse: M = 194; IR: ν(C=O) 1739; ν(C—O) 1232.

Méthyl-2 méthylène-6 octadiène-2,7 ol (E). A 14 g (0,1 mol) de myrcène en solution dans 100 ml d'EtOH 95, on ajoute progressivement 6 g (0,05 mol) de SeO₂, puis on chauffe à reflux pendant 1 hr. Le milieu est soumis à un entraînement à la vapeur d'eau. On extrait le distillat à l'éther, sèche sur Na₂SO₄ anhydre et évapore le solvant. Le myrcène n'ayant pas réagi est éliminé par distillation sous pression réduite; et le résidu est soumis au fractionnement par CPV préparative. On obtient 1,2 g de méthyl-2 méthylène-6 octadiène-2,7 ol (E). IR On observe les mêmes bandes que dans le spectre du méthyl-2 méthylène-6 octadiène-2,7 ol (Z).

Remerciements—Les auteurs remercient vivement M. le Professeur T. Adzot, Faculté de Pharmacie, Barcelone, pour les récoltes de matériel végétal; M. J. Bricout, I.R.A.B., Montreuil, pour l'étude du spectre de masse; et M. G. Gauffier, Faculté des Sciences, Montpellier, qui a effectué les expériences de double irradiation en RMN.

¹⁰ R. C. HALLEY, J. A. MILLER et H. C. WOOD, *J. Chem. Soc. C*, 264 (1969).