

RECHERCHES SUR L'ESSENCE SOUFRÉE DE LA DENTAIRE (*DENTARIA PINNATA LMK.*) CRUCIFÈRES

P. G. DELAVEAU et F. FROMAGEOT

Laboratoire de Matière médicale, Faculté de Pharmacie, Université de Paris

(Received 20 August 1962)

Abstract—Roots and rhizomes of *Dentaria pinnata* Lmk. contain two sulphur containing glycosides, one of which produces isopropyl isothiocyanate by enzymic hydrolysis. This product has already been isolated from the genera *Lunaria*, *Cochlearia*, and *Matthiola*. A solvent for the chromatography of phenylthioureas is suggested.

DANS la série de recherches entreprises par l'un de nous sur les Crucifères, le genre *Dentaria* a été examiné. Par chromatographie sur papier, Schultz et Wagner¹ avaient observé la présence d'hétérosides soufrés dans les organes aériens du *D. digitata* Lmk. et du *D. enneaphylla* L.

Le *D. pinnata* Lmk. fut autrefois considéré comme plante médicinale: selon l'ancienne théorie des "signatures", il était indiqué dans les affections dentaires.

Cette plante de montagne a été étudiée à partir d'échantillons de Haute-Savoie² et du Jura. Les divers organes du *D. pinnata* dégagent après broyage une odeur caractéristique de sénévol. Comme chez les autres Crucifères, l'essence soufrée n'est pas préformée, mais résulte de l'hydrolyse enzymatique d'hétérosides. A défaut d'une quantité suffisante de graines, organe le plus favorable pour l'extraction des hétérosides, nous avons utilisé les rhizomes et préparé l'essence.

L'essence de Dentaire est un liquide mobile, plus léger que l'eau, incolore, mais présentant une légère fluorescence bleue en lumière ultra violette, d'odeur forte caractéristique, n_{D}^{27} 1, 4887 \pm 0,0003 (réfractomètre d'Abbe).

L'ammoniaque réagit avec les constituants de l'essence pour former une combinaison cristallisée (thiouées monosubstituées de type R-NH-CS-NH₂) qui est soumise à la chromatographie de partage sur papier (cf. Tableau 1). Deux taches A et B sont observées,

TABLEAU 1. RF DES THIOURÉES EN CHROMATOGRAPHIE SUR PAPIER

Solvant	Thiouées de la Dentaire		Isopropyle thiourée	n-propylthiouée
	A	B		
I	Th	0,90	0,46	0,47
II	Th	0,74	0,27	0,33
		A'	B'	
III	PhTh	0,78	0,63	0,61

Th : Thiourées non substituées

PhTh : Thiourées substituées: Phénylthiouées

Solvants : I : Chloroforme saturé d'eau (Chloroforme-eau 1-1) méthode ascendante, 4 hr¹⁰

II : Benzène-éthanol à 95°-eau 5-2-4, méthode descendante, 3 hr¹¹

III : Benzène-hexane-éthanol à 95°-eau 1-9-3-2, méthode descendante, 2 hr

¹ O. E. SCHULTZ et W. WAGNER, *Z. Naturforsch.* **11b**, 73 (1956).

² P. DELAVEAU, *Bull. Soc. Botan. France*. Session extraordinaire, Savoie **108**, 111 (1961).

¹⁰ A. KJAER et K. RUBINSTEIN, *Acta Chem. Scand.* **7**, 528 (1953).

¹¹ P. DELAVEAU, *Ann. pharm. franç.* **14**, 770 (1956).

correspondant à deux isothiocyanates et à deux hétérosides soufrés inégalement abondants. De même l'aniline se combine à ces isothiocyanates en donnant deux phénylthiouées A' et B' (de type R-NH-CS-NH-C₆H₅). Nous proposons à cette occasion un solvant original pour la chromatographie de ces phénylthiouées (cf. Tableau 1) donnant les R_f suivants : allyl- : 0,49, butényl- : 0,65, parahydroxybenzyl- : 0,06.

Le faible quantité d'essence dont nous disposions ne permettait pas l'isolement des deux isothiocyanates volatils à l'état pur. Nous avons soumis le mélange de thiourées à une chromatographie sur colonne de cellulose. Une fraction de tête comporte la thiourée A peu abondante et impure; son étude n'a pu être poursuivie*. La thiourée B est ensuite préparée aisément à l'état pur. Après recristallisation dans un mélange éthanol-hexane, elle forme des lamelles incolores.

Le spectre d'absorption en lumière ultra-violette dans le méthanol à un seul maximum (243 m μ), les résultats de l'analyse centésimale montrent qu'il s'agit de la n-propyl ou de l'isopropyl-thiourée. Les arguments en faveur de cette dernière sont le point de fusion (166°–168°), non modifié lorsqu'on mélange thiourée B et isopropylthiourée de référence et le spectre infra-rouge. Le spectre de la n-propylthiourée est nettement différent. D'autre part, une chromatographie gazeuse effectuée sur l'essence brute de Dentaire présente trois pics, dont l'un à la hauteur de celui de l'isothiocyanate d'isopropyle (cf. Tableau 2). Le premier pic est dû probablement à la présence d'un peu de nitrile isopropylique, le troisième pic correspond au second isothiocyanate non identifié.

TABLEAU 2. TEMPS DE RETENTION RELATIFS EN CHROMATOGRAPHIE GAZEUSE

	Aerograph	Prolabo
Isooctane	1	1
Essence de Dentaire	(0,47) 1,65	(0,35) 4,55 18,35
Isothiocyanate d'isopropyle	1,65	4,55
Isothiocyanate de n-propyle	2,22	7,10

En conclusion, les organes souterrains de la Dentaire contiennent deux hétérosides soufrés dont l'un fournit par hydrolyse de l'isothiocyanate d'isopropyle. Cet isothiocyanate a déjà été isolé de l'essence de graines du *Putranjiva Roxburghii* Wall. (Euphorbiacées),³ du *Matthiola tristis* (L.) R.Br.,⁴ du *Lunaria biennis* Mnch. et des organes aériens du *Cochlearia anglica* (L.) Asch. et Grb.⁵ Le glucoside générateur d'isothiocyanate d'isopropyle a été isolé sous forme de dérivé tétraacétylé par Kjaer.⁶

D'après des résultats de chromatographie sur papier, l'isothiocyanate d'isopropyle a été également signalé dans l'essence des graines du *Tropaeolum peregrinum* (L.) et de diverses espèces de Crucifères.^{5,7,8} Chez ces dernières, la présence du glucoside générateur d'isothiocyanate d'isopropyle est un caractère insuffisant pour un rapprochement chimiotaxonomique. On notera que chez les espèces étudiées antérieurement, l'isothiocyanate d'isopropyle est généralement accompagné d'isothiocyanate de butyle secondaire. D'après les chromatographies pratiquées à l'aide des deux solvants cités, le second constituant de la Dentaire serait différent.

* Au cours de nouvelles recherches le second isothiocyanate a été isolé et semble être une substance nouvelle.

³ S. V. PUNTAMBEKAR, *Proc. Indian. Acad. Sci.* **32a**, 114 (1950).

⁴ L. C. MATAS, *Farmacognosia (Madrid)* **20**, 307, (1960).

⁵ A. KJAER et J. CONTI, *Acta Chem. Scand.* **7**, 1011 (1953).

⁶ A. KJAER, *Acta Chem. Scand.* **13**, 851 (1959).

⁷ A. KJAER, J. CONTI et I. LARSEN, *Acta Chem. Scand.* **7**, 1276 (1953).

⁸ A. KJAER, *Fortschr. Chem. Naturstoffe* **18**, 122, (1960).

En effet dans les conditions de chromatographie indiquées, la thiourée correspondant à l'isothiocyanate de butyle secondaire a un R_f de 0,72 avec le solvant I et de 0,50 avec le solvant II (Tableau 1). Cependant à partir de certains échantillons de Dentaire, on peut observer une troisième tache de très faible intensité située à ce même niveau.

PARTIE EXPERIMENTALE

Préparation de l'Essence

450 g de rhizomes additionnés d'un litre d'eau, sont réduits en pulpe dans un broyeur Turmix, en présence de silicone antimousse. Par distillation on recueille 500 ml de distillat dont l'essence est extraite par trois fois 100 ml d'éther éthylique. Les solutions éthérrées réunies sont laissées 16 hr au contact de 30 g de sulfate de sodium anhydre, puis filtrées; l'éther est éliminé par distillation. Le résidu (0,82 g) constitue l'essence de Dentaire.

Préparation des Thiourées Brutes

(1) L'essence (0,55 g) est additionnée d'éthanol (10 ml) et d'ammoniaque (10 ml), le mélange est laissé plusieurs heures à 20°. Le solvant est éliminé par distillation sous pression réduite. Les thiourées cristallisent en lamelles blanches.

(2) De même, le mélange d'essence (0,15 g), d'éthanol (5 ml) et d'aniline (1 ml) permet d'obtenir les phénylthiourées brutes, après deux jours de contact à 20° et élimination du solvant sous pression réduite.

Préparation des Isothiocyanates de Référence

Méthode d'Hofmann modifiée par Delépine.⁹

Chromatographies sur Papier des Thiourées

Feuilles de 40 cm × 30 cm, papier Arches 302, température 20° ± 1°, révélateurs: nitrate d'argent ammoniacal (11) ou réactif de Grote, solvants: cf. tableau 1.

Fractionnement des Thiourées

De la poudre de cellulose (20 g) est imprégnée de la phase aqueuse (30 ml) du mélange chloroforme-hexane-eau 1-1-1 (en volume) puis introduite dans une colonne de 30 cm sur 1,5 cm de diamètre. 0,65 g de thiourées brutes sont intimement mêlées à 1 g de poudre de cellulose et placées à la partie supérieure de la colonne. L'élution est réalisée par la phase inférieure du solvant chloroforme-hexane-eau 1-1-1 (220 ml) qui entraîne la thiourée A, puis par le méthanol (85 ml) qui déplace la thiourée B. Par distillation des solvants, on obtient les thiourées A impure (0,10 g), B cristallisée (0,40 g). Après recristallisation, B eut un point de fusion 166°-168° (Trouvé: C, 40, 9; H, 8,5; N, 23,3; S, 27,3. Calc. pour $C_4H_{10}N_5S_2$: C, 40,6; H, 8,5; N, 23,7; S, 27,1%).

Spectre Infra Rouge

Suspension dans le nujol, appareil de Baird à double faisceau dont les bandes (pour B) à 665, 695, 865, 950, 1130, 1180, 1298, 1550, 1600, 2700, 3200, 3350 cm^{-1} .

⁹ M. DELEPINE, *Compt. rend.* 144, 1125 (1907).

Chromatographie Gazeuse: effectuée sur Deux Appareils

Aerograph: colonne aux silicones, température 145°, débit de l'azote 1,8 l. par hr, détecteur 130 mA.

Prolabo: colonne au dinonylphthalate, température 156°, débit de l'hélium 1,7 l. par hr, détecteur 7 V.

Remerciements—Nous remercions M. J. Poinsot, Directeur du Conservatoire des Sciences naturelles de Dijon et M. H. de Leiris qui nous ont procuré des échantillons de Dentaire.