

Réduction microbiologique de 3,4-dicétones et d' α -cétouthioacétals. Application à une synthèse chimioenzymatique des énantiomères des *exo*- et *endo*-brévicomines

Rachid Bel-Rhlid, Michel F Renard, Henri Veschambre*

*Synthèse et étude de systèmes à intérêt biologique, URA 485 du CNRS,
Université Blaise-Pascal, 24, avenue des Landais, 63177 Aubière cedex, France*

(Reçu le 27 mars 1996; accepté le 23 septembre 1996)

Summary — Microbial reduction of 3,4-diketones and α -ketothioacetals. Application to a chemoenzymatic synthesis of the *exo*- and *endo*-brevicomin enantiomers. The microbiological reduction of 3,4-diketones has been studied and some optically pure 3-hydroxy-4-ketones and 3,4-diols have been isolated with good yields. The chiral products of the reduction, which could not be obtained by direct action of microorganisms, were prepared by chemoenzymatic synthesis based on the microbiological reduction of α -ketothioacetals. The stereoisomers of non-8-ene-3,4-diols obtained by these methods were used for synthesizing the enantiomers of two pheromones: *exo*-brevicomin and *endo*-brevicomin.

microbiological reduction / chiral 3-hydroxy-4-ketone / chiral 3,4-diol / chemoenzymatic synthesis / chiral α -hydroxythioacetal / *exo*-brevicomin / *endo*-brevicomin

Résumé — Nous avons étudié la réduction microbiologique de 3,4-dicétones et préparé des 3-hydroxy-4-cétones et des 3,4-diols optiquement purs avec de bons rendements. Les produits chiraux de réduction, qui n'ont pu être obtenus par action directe de microorganismes, ont été préparés par une voie chimio-enzymatique basée sur la réduction microbiologique d' α -cétouthioacétals. Tous les non-8-ène-3,4-diols stéréoisomères obtenus par ces deux méthodes nous ont servi pour préparer les énantiomères de deux phéromones : l'*exo*-brévicomine et l'*endo*-brévicomine.

réduction microbiologique / 3-hydroxy-4-cétone chirale / 3,4-diol chiral / synthèse chimioenzymatique / α -hydroxythioacétal chiral / *exo*-brévicomine / *endo*-brévicomine

L'activité biologique des substances naturelles chirales est très souvent liée à la stéréochimie du ou des carbones asymétriques présents dans la molécule. Il s'en suit que leurs énantiomères ou leurs stéréoisomères peuvent présenter des activités différentes, voire antagonistes, comme par exemple dans le cas de certaines phéromones [1].

On assiste donc depuis plusieurs années à des efforts de recherche importants pour mettre au point des méthodes de synthèse asymétrique. Parmi les nombreuses stratégies envisagées, l'une consiste à utiliser comme synthon de départ des composés chiraux optiquement purs. Ceux-ci proviennent soit de composés naturels chiraux (« *chiral pool* »), soit de l'utilisation de catalyseurs chimiques ou biologiques. Le problème majeur consiste à mettre au point des méthodes permettant d'accéder le plus facilement possible à tous les énantiomères du synthon souhaité. L'utilisation des catalyseurs biologiques, en jouant sur la nature du micro-organisme ou de l'enzyme, est une méthode de choix pour préparer tous les stéréoisomères d'un synthon. Les composés hydroxylés chiraux représentent une classe de produits de départ particulièrement utilisée car, par réduction microbiologique d'une cétone, on peut faci-

lement accéder aux énantiomères de l'alcool correspondant.

Au cours de travaux précédents [2], nous avons largement utilisé cette possibilité pour préparer des composés hydroxylés chiraux, soit par action directe des catalyseurs biologiques, soit par un procédé chimio-enzymatique. Nous avons ensuite utilisé les produits hydroxylés chiraux ainsi formés, pour réaliser la synthèse de composés naturels à activité biologique [3]. Nous avons ainsi montré [4] que la réduction microbiologique de plusieurs 2,3-dicétones conduisait, selon les conditions de bioconversion, soit à des α -hydroxycétones presque exclusivement de configuration (*S*), soit à tous les stéréoisomères des diols correspondants, avec d'excellents excès énantiomériques. Dans cet article nous décrivons la réduction microbiologique de 3,4-dicétones ainsi que la préparation des énantiomères de phéromones cycliques à partir de 3,4-diols chiraux. La réduction directe des α -diones ne permettant pas d'accéder à tous les stéréoisomères des α -hydroxycétones attendues, nous avons donc cherché à mettre au point une méthode chimioenzymatique permettant de préparer les stéréoisomères manquants.

* Correspondance et tirés à part

Tableau I. Réduction microbiologique de l'hexane-3,4-dione **1**.

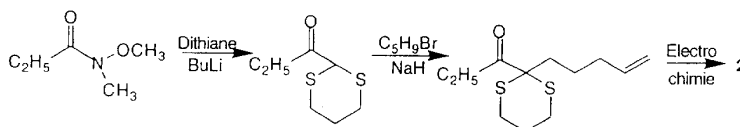
Microorganisme	$[\alpha]_D^{25}$ $CHCl_3$ c (g/100 mL)	ee (%)	Configuration absolue de la 3-hydroxyhexan-4-one	Rendement (%)
<i>B. sulfurescens</i>	+95 (c = 5)	≥ 98	(S)	70
<i>A. niger</i>	+95 (c = 7)	≥ 98	(S)	70
Levure de boulangerie	+96 (c = 10)	≥ 98	(S)	75
<i>G. candidum</i>	+95 (c = 10)	≥ 98	(S)	70

Temps d'incubation : 1 heure.

Tableau II. Réduction microbiologique de la non-8-ène-3,4-dione **2**.

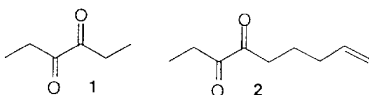
Microorganisme	$[\alpha]_D^{25}$ $CHCl_3$ c (g/100 mL)	ee (%)	Configuration absolue de la 3-hydroxy-non-8-èn-4-one	Rendement (%)
<i>B. sulfurescens</i>	+76 (c = 3)	≥ 98	(S)	75
<i>A. niger</i>	-75 (c = 5)	≥ 98	(R)	60
Levure de boulangerie	+75 (c = 4)	≥ 98	(S)	65
<i>G. candidum</i>	+75 (c = 6)	≥ 98	(S)	70
<i>M. isabellina</i>	+75 (c = 4)	≥ 98	(S)	70

Temps d'incubation : 3 heures.

**Fig 2**

Réduction microbiologique de 3,4-dicétones

Nous avons étudié la réduction microbiologique de l'hexane-3,4-dione **1** et de la non-8-ène-3,4-dione **2** (fig 1).

**Fig 1**

Cette dernière dione a été synthétisée en 3 stades, avec un rendement global de 45 %, selon le schéma réactionnel (fig 2).

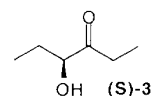
Nous avons d'abord réalisé une étude cinétique de la réduction microbiologique des deux α -dicétones en utilisant les microorganismes ayant donné les meilleurs résultats lors de la réduction microbiologique des 2,3-dicétones [4]. Ces microorganismes sont la levure de boulangerie et les champignons *Aspergillus niger*, *Beauveria sulfurescens*, *Geotrichum candidum* et *Mortierella isabellina*. Ils sont utilisés sous forme de cellules lavées en phase de repos métabolique, sauf la levure de boulangerie qui est placée dans des conditions de fermentation (en présence de saccharose).

On constate que, pour tous les microorganismes utilisés, les deux diones ont totalement disparu après 1 à 3 heures d'incubation avec formation d' α -hydroxycétones. Pour des temps de réaction plus longs (24 à 48 heures), les 3,4-diols sont présents dans le mélange

réactionnel. À partir de ces résultats, nous avons réalisé des essais quantitatifs avec chaque 3,4-dione et chaque microorganisme, et pour deux temps d'incubation, afin de caractériser tous les produits de réduction formés.

Résultats pour des temps d'incubation courts (1 ou 3 heures)

Les résultats observés avec l'hexane-3,4-dione sont rassemblés dans le tableau I. Avec tous les microorganismes un seul produit est obtenu, avec de bons rendements et d'excellents excès énantiomériques, il s'agit de la (+)-(S)-3-hydroxyhexan-4-one (*S*)-3 (fig 3).

**Fig 3**

La structure et la configuration absolue de l' α -hydroxycétone (*S*)-3 ont été déterminées par comparaison de son spectre de RMN 1H et du signe de son pouvoir rotatoire avec les données de la littérature pour l'énantiomère (*R*) [5]. Les excès énantiomériques sont déterminés, comme décrit précédemment pour les produits de réduction des 2,3-diones [4], par réduction de (*S*)-3 en diol et analyse du diol par CPG sur une colonne chirale, après dérivatisation (voir *Partie expérimentale*).

Dans le cas de la non-8-ène-3,4-dione, les résultats sont rassemblés dans le tableau II.

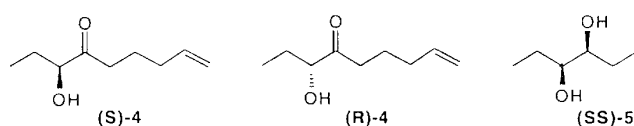


Fig 4

Tableau III. Réduction microbiologique de l'hexane-3,4-dione 1.

Microorganisme et temps d'incubation	Configuration absolue de l'hexane-3,4-diol	$[\alpha]_D^{25}$ $CHCl_3$ c (g/100 mL)	ee (%)	Rendement (%)
<i>B. sulfurescens</i> (48 h)	(3 <i>S</i> , 4 <i>S</i>) 30 %	-17 (c = 2)	≥ 98	20
<i>A. niger</i> (24 h)	(3 <i>S</i> , 4 <i>S</i>) 40 % <i>meso</i> 56 %	-17 (c = 3)	≥ 98	33
Levure de boulangerie (24 h)	(3 <i>S</i> , 4 <i>S</i>) 5 % <i>meso</i> 73 %			50
<i>G. candidum</i> (24 h)	(3 <i>S</i> , 4 <i>S</i>) 80 % <i>meso</i> 5 %	-17 (c = 4)	≥ 98	60

Dans tous les cas le même composé est isolé, ses constantes physiques (RMN 1H et IR) montrent qu'il s'agit d'une α -hydroxycétone. Aucune α -hydroxycétone correspondant à la réduction d'une fonction cétone de la non-8-ène-3,4-dione n'est décrite dans la littérature, nous avons donc d'abord déterminé la position de la fonction alcool. Pour cela, sur l' α -hydroxycétone provenant de la réduction par *B. sulfurescens*, nous avons réalisé deux expériences d'irradiation, en RMN 1H , d'une part sur le massif correspondant au proton du groupement CH-OH (4,05-4,15 ppm) et d'autre part sur le triplet du groupement CH_3 (0,9 ppm). Nous avons constaté que dans les deux cas ce sont les mêmes massifs qui ont été modifiés, ceux à 1,50-1,65 ppm et 1,85-1,95 ppm, intégrant chacun pour un proton. Ce résultat ne peut s'expliquer que par la présence du groupement CHOH en position 3, les deux massifs touchés correspondant aux deux protons en position 2. La structure de l' α -hydroxycétone a été confirmée par une RMN 2D $^1H^1H$ qui montre deux ensembles de protons couplés entre eux, d'une part le groupement $-CH(OH)CH_2CH_3$ et d'autre part l'ensemble $CH_2=CHCH_2CH_2CH_2-$. Avec *B. sulfurescens*, pour un temps d'incubation de 24 heures, le seul produit isolé est un isomère du non-8-ène-3,4-diol. En comparant son spectre de RMN 1H et le signe de son pouvoir rotatoire, avec les données de la littérature [6], nous avons montré que le diol formé est un diastéréoisomère *erythro* de configuration absolue (3*S*,4*S*) correspondant à la structure (SS)-6. Nous en avons déduit que l' α -hydroxycétone (S)-4 (fig 4), de pouvoir rotatoire positif, obtenue avec *B. sulfurescens*, a la configuration absolue (S).

Ce même composé est isolé avec la levure de boulangerie, *G. candidum* et *M. isabellina*. Avec *A. niger*, l' α -hydroxycétone (R)-4 (fig 4) présente le même spectre de RMN 1H que le composé (S)-4. Le signe du pouvoir rotatoire de (R)-4 étant négatif, nous lui avons donc attribué la configuration (R). Les excès énantiomériques sont déterminés selon la même méthode que celle utilisée pour les 3-hydroxyhexan-4-ones.

Résultats de la réduction microbiologique des 3,4-dicétones pour un temps d'incubation de 24 ou 48 heures

Pour des temps d'incubation supérieurs à ceux utilisés précédemment (24 ou 48 heures), on observe la disparition plus ou moins totale de l' α -hydroxycétone et la formation des 3,4-diols correspondants, et ceci pour les deux séries étudiées.

Les résultats pour l'hexane-3,4-dione sont rassemblés dans le tableau III.

Il se forme généralement un mélange d'hexanediols diastéréoisomères qui sont facilement séparés par chromatographie. L'isomère *meso* étant inactif par nature, le diol optiquement actif formé est donc un composé *threo*. Les deux énantiomères *threo* optiquement actifs sont décrits dans la littérature [7, 8]; par comparaison des pouvoirs rotatoires nous avons attribué à l'hexane-3,4-diol isolé la structure (SS)-5 du (-)-(3*S*,4*S*)-hexane-3,4-diol. Les excès énantiomériques sont déterminés par passage des diols sur une colonne chirale après dérivation par l'isocyanate d'isopropyle.

Les résultats de la réduction de la non-8-ène-3,4-dione sont rassemblés dans le tableau IV.

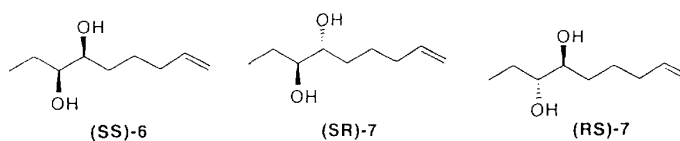
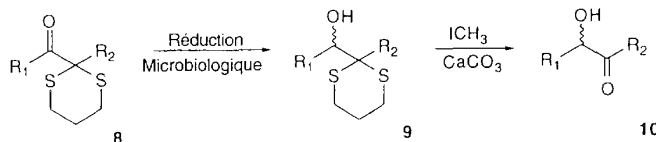
Les structures et les configurations absolues ont été facilement attribuées, à partir des spectres de RMN et du signe du pouvoir rotatoire, tous les non-8-ène-3,4-diols chiraux étant décrits dans la littérature [6, 9]. Les excès énantiomériques sont déterminés comme dans le cas des hexane-3,4-diols. Le (-)-(3*S*,4*S*)-non-8-ène-3,4-diol (SS)-6 (fig 5) est obtenu avec un bon rendement et un excellent excès énantiomérique avec *B. sulfurescens*. Les diols *threo* énantiomères (SR)-7 et (RS)-7 (fig 5) de configuration absolue (3*S*,4*R*) et (3*R*,4*S*) proviennent respectivement de l'action de la levure de boulangerie et d'*A. niger*.

Tous les résultats décrits confirment ceux observés avec les 2,3 dicétones. La réduction des 3,4-diones est une bonne méthode pour accéder directement aux α -diols chiraux correspondants, (SS)-5, (SS)-6, (SR)-7

Tableau IV. Réduction microbologique de la non-8-ène-3,4-dione **2**.

Microorganisme	Configuration absolue du non-8-ène-3,4-diol	$[\alpha]_D^{25}$ CHCl ₃ c (g/100 mL)	ee (%)	Rendement (%)
<i>B sulfurescens</i>	(3 <i>S</i> , 4 <i>S</i>)	-22 (c = 4)	≥ 98	70
<i>A niger</i>	(3 <i>R</i> , 4 <i>S</i>)	-14 (c = 6)	≥ 98	70
Levure de boulangerie	(3 <i>S</i> , 4 <i>R</i>)	+14 (c = 4)	≥ 98	65
<i>G candidum</i>	(3 <i>S</i> , 4 <i>R</i>)	+14 (c = 6)	≥ 98	67
<i>M isabellina</i>	(3 <i>S</i> , 4 <i>S</i>)	-22 (c = 4)	≥ 98	34
	(3 <i>S</i> , 4 <i>R</i>)	+14 (c = 3)	≥ 98	26

Temps d'incubation : 24 heures.

**Fig 5****Fig 6**

et (*RS*)-**7**, la majorité des stéréoisomères pouvant ainsi être facilement obtenus. Cependant, par action directe des microorganismes, nous n'avons pas pu isoler tous les produits chiraux de réduction attendus. En particulier nous n'avons pas obtenu les énantiomères de la 4-hydroxynon-8-én-3-one et les diols (*R,R*) dans les deux séries étudiées. Nous avons donc cherché à mettre au point une méthode chimioenzymatique permettant de préparer ces différents types de composés.

Synthèse chimioenzymatique d' α -hydroxycétones chirales

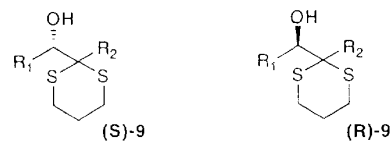
À la suite des travaux de Fujisawa et al [10], nous avons envisagé la synthèse chimio-enzymatique d' α -hydroxycétones chirales selon le schéma (fig 6).

En effet, ces auteurs ont montré que la réduction, par la levure de boulangerie, d' α -cétothioacétals de type **8** ($R_1 = \text{CH}_3$ à C_4H_9 ; $R_2 = \text{H}$ ou $R_1 = R_2 = \text{CH}_3$) conduit aux α -hydroxythioacétals correspondants **9** de configuration absolue (*S*) avec d'excellents excès énantiomériques. Ces hydroxythioacétals conduisent à des α -hydroxycétones si $R_2 \neq \text{H}$. En jouant sur la nature des groupements R_1 et R_2 , on peut donc faire varier la position de la fonction alcool. Les α -cétothioacétals **8** sont préparés selon la méthode utilisée précédemment lors de la synthèse de la dione **2**. La réduction microbologique décrite par Fujisawa nécessite un long temps de réaction (60 heures) et le rendement n'est que de 50 %. Nous avons donc recherché des microorganismes permettant de préparer les énantiomères des α -hydroxythioacétals **9** avec un bon rendement, un excellent excès énantiomérique et pour un temps d'incubation plus court.

Nous avons étudié la réduction des α -cétothioacétals suivants :

- 8a** $R_1 = R_2 = \text{CH}_3$
- 8b** $R_1 = \text{CH}_3$, $R_2 = \text{C}_2\text{H}_5$
- 8c** $R_1 = \text{C}_2\text{H}_5$, $R_2 = \text{CH}_3$

Les meilleurs résultats sont obtenus avec *M isabellina* et *A niger*. Avec ces deux microorganismes, la réduction est complète en 24 heures. Nous obtenons les α -hydroxythioacétals (*S*)-**9** avec *M isabellina* et (*R*)-**9** avec *A niger* (fig 7). Les rendements chimiques et les excès énantiomériques sont excellents, comme le montrent les résultats rassemblés dans le tableau V.

**Fig 7**

La configuration absolue de l' α -hydroxythioacetal (*S*)-**9a** a été déterminée par comparaison avec les résultats de Fujisawa [10] ($[\alpha]_D^{23} = -5.77$). Nous avons donc attribué la configuration (*R*) à l' α -hydroxythioacetal (*R*)-**9a** de pouvoir rotatoire positif, provenant de l'action d'*A niger*. Les configurations absolues des α -hydroxythioacétals issus de la réduction microbologique de **8b** et de **8c** ont été déterminées à partir des configurations absolues des α -hydroxycétones **10** obtenues après déblocage de la fonction carbonyle, ces cétoles étant déjà tous décrits [4].

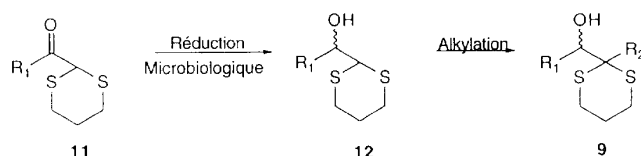
Tableau V. Réduction microbiologique des α -cétiothioacétals **8**.

Microorganisme	Configuration absolue des α -hydroxythioacétals 9	$[\alpha]_D^{25}$ $CHCl_3$ c (g/100 mL)	ee (%)	Rendement (%)
<i>M. isabellina</i>	(S)- 9a $R_1 = R_2 = CH_3$	-6 (c = 9)	≥ 98	76
<i>A. niger</i>	(R)- 9a $R_1 = R_2 = CH_3$	+6 (c = 8)	≥ 98	72
<i>M. isabellina</i>	(S)- 9b $R_1 = CH_3, R_2 = C_2H_5$	-7 (c = 6)	≥ 98	80
<i>A. niger</i>	(R)- 9b $R_1 = CH_3, R_2 = C_2H_5$	+7 (c = 7)	≥ 98	82
<i>M. isabellina</i>	(S)- 9c $R_1 = C_2H_5, R_2 = CH_3$	-9 (c = 10)	≥ 98	70
<i>A. niger</i>	(R)- 9c $R_1 = C_2H_5, R_2 = CH_3$	+9 (c = 8)	≥ 98	68

Temps d'incubation : 24 heures.

Tableau VI. Préparation des α -hydroxycétones **10**.

α -Hydroxythioacétal	α -Hydroxycétone	$[\alpha]_D^{25}$ $CHCl_3$ c (g/100 mL)	ee (%)	Rendement (%)
(S)- 9a $R_1 = R_2 = CH_3$	(S)- 10a	+96 (c = 5)	≥ 98	60
(R)- 9a $R_1 = R_2 = CH_3$	(R)- 10a	-95 (c = 3)	≥ 98	60
(S)- 9b $R_1 = CH_3, R_2 = C_2H_5$	(S)- 10b	+47 (c = 9)	≥ 98	63
(R)- 9b $R_1 = CH_3, R_2 = C_2H_5$	(R)- 10b	-48 (c = 8)	≥ 98	65
(S)- 9c $R_1 = C_2H_5, R_2 = CH_3$	(S)- 10c	+52 (c = 7)	≥ 98	60
(R)- 9c $R_1 = C_2H_5, R_2 = CH_3$	(R)- 10c	-51 (c = 4)	≥ 98	62

**Fig 8**

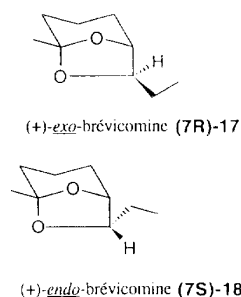
Les excès énantiomériques des hydroxythioacétals **9** sont déduits de ceux déterminées sur les α -hydroxycétones **10** selon les méthodes décrites précédemment.

Afin d'accéder aux α -hydroxycétones **10**, il faut réaliser sur chaque composé **9** un déblocage de la fonction cétone. Les meilleurs résultats ont été obtenus en utilisant la méthode de Fetizon et al [11]. Les résultats sont rassemblés dans le tableau VI. Les configurations absolues sont attribuées par comparaison des signes des pouvoirs rotatoires avec ceux des stéréoisomères déjà publiés [4].

Mais cette méthode ne s'applique pas si les substituants R_1 et R_2 sont plus gros que C_2H_5 . Nous avons donc envisagé une autre stratégie pour préparer des α -hydroxycétones comportant plus de 6 carbones. Elle consiste à réaliser la réduction microbiologique d' α -cétiothioacétals **11** (a : $R_1 = CH_3$ ou b : $R_1 = C_2H_5$) par *M. isabellina* et *A. niger*. Les α -hydroxythioacétals correspondants (**S**)-**12** ou (**R**)-**12** sont ensuite alkylés par la méthode de Noda et Kikuchi [12] (fig 8). Le déblocage de la fonction cétone des composés **9** est réalisé selon le procédé utilisé précédemment. Ainsi, en quatre stades, on peut préparer facilement des α -hydroxycétones de configuration (*S*) ou (*R*), en plaçant la fonction OH ou le groupement carbonyle à la position souhaitée, avec un rendement global de 30 à 40 %.

Synthèse des énantiomères des *exo*- et *endo*-brévicomines

Nous avons cherché à utiliser les résultats obtenus au cours des deux études précédentes pour réaliser des synthèses stéréospécifiques de substances naturelles ayant une activité biologique. Nous avons envisagé de préparer les énantiomères des *exo*- et *endo*-brévicomines dont deux stéréoisomères (**7R**)-**17** et (**7S**)-**18** (fig 9) sont des phéromones d'insectes (*Dendroctonus brevicomis* et *Dryocoetes autographus*) parasites de pins.

**Fig 9**

Mori et Seu [9] ont montré qu'en traitant un non-8-ène-3,4-diol par le chlorure de palladium en présence de chlorure cuivrique on accède aux brévicomines. À

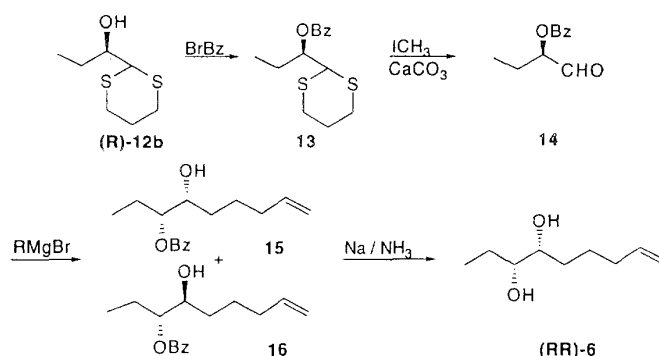


Fig 10

partir des stéréoisomères des non-8-ène-3,4-diols, nous pouvons donc préparer tous les énantiomères des *exo*- et des *endo*-brévicomines.

Au cours de la réduction microbiologique de la non-8-ène-3,4-dione, nous n'avons pas pu préparer le diol (3*R*, 4*R*) par action directe d'un microorganisme. Afin d'avoir tous les stéréoisomères des non-8-ène-3,4-diols nous avons utilisé les résultats obtenus lors de la réduction microbiologique des α -cétothioacétals pour mettre au point une synthèse chimioenzymatique du (3*R*, 4*R*)-non-8-ène-3,4-diol (**RR**)-6 (fig 10).

L' α -hydroxythioacétal (**R**)-12b est transformé en mélange des benzoates **15** et **16** (rapport 9:1). On isole l'isomère **15** dont la fonction alcool est débloquée selon Reist et al [13] et on obtient ainsi le (+)-(3*R*,4*R*)-non-8-ène-3,4-diol (**RR**)-6 (fig 10). Sa structure et sa configuration absolue sont déterminées par comparaison avec les données de la littérature [6]. Ayant en notre possession les quatre stéréoisomères des non-8-ène-3,4-diols, nous avons entrepris la synthèse des brévicomines.

Synthèse de la phéromone de *D* brevicomis

Cet insecte est le plus important parasite des pins de l'ouest américain. La phéromone naturelle a été isolée et identifiée par Mori [14]. Il s'agit d'une phéromone d'agrégation secrétée par la femelle et ayant la structure suivante : (1*R*,5*S*,7*R*)-(+)-*exo*-7-éthyl-5-méthyl-6,8-dioxabicyclo[3.2.1]octane (**7R**)-17. L'énantiomère (1*S*,5*R*,7*S*), la (-)-*exo*-brévicomine (**7S**)-17, est un puissant inhibiteur de l'activité biologique de la phéromone naturelle [1b]. L'*exo*-brévicomine a fait l'objet de nombreux travaux de synthèse qui ont conduit soit au racémique [15], soit à l'un ou l'autre des énantiomères [16]. Nous avons synthétisé les deux énantiomères de l'*exo*-brévicomine par cyclisation de non-8-ène-3,4-diols énantiomères. La phéromone naturelle (**7R**)-17 est obtenue à partir du diol (3*R*, 4*R*) (**RR**)-6 obtenu ci-dessus. Son énantiomère (**7S**)-17 est préparé selon la même réaction à partir du diol (3*S*, 4*S*) (**SS**)-6 provenant de la réduction par *B. sulfurescens*. Les structures et les configurations absolues des *exo*-brévicomines (**7R**)-17 et (**7S**)-17 ont été déterminées par comparaison avec les données de la littérature [14].

Synthèse de la phéromone de *D* autographus

La phéromone naturelle de *D. autographus*, parasite du pin, a été isolée et synthétisée sous forme racémique par Silverstein et al [15a] en 1968. En 1984, Kohnle et al [17] ont montré que sa configuration absolue était la suivante : (1*R*,5*S*,7*S*)-(+)-*endo*-7-éthyl-5-méthyl-6,8-dioxabicyclo[3.2.1]octane (**7S**)-18 : c'est une phéromone d'agrégation des mâles et des femelles de *D. autographus*. Ramaswamy et al [1a] ont montré que cette (+)-*endo*-brévicomine augmente considérablement l'agrégation d'un insecte, parasite des pins de l'ouest américain, *Dendroctonus frontalis*. L'énantiomère (-)-*endo*-brévicomine (**7R**)-18 est biologiquement inactif. La préparation de cette phéromone a fait l'objet de plusieurs synthèses qui ont abouti soit au composé racémique [18], soit à chacun des énantiomères [1a, 9, 12, 19]. Comme précédemment, nous avons préparé les deux énantiomères de l'*endo*-brévicomine par cyclisation des non-8-ène-3,4-diols. La phéromone naturelle est obtenue à partir de l'isomère (3*S*, 4*R*) (**SR**)-7 provenant de la réduction directe de la dione par la levure de boulangerie. La (-)-*endo*-brévicomine provient de la cyclisation du diol (3*R*, 4*S*) (**RS**)-7 obtenu après réduction microbiologique par *A. niger*. Les structures et les configurations absolues sont attribuées comme dans le cas des *exo*-brévicomines par comparaison avec les synthèses déjà publiées [9]. Les puretés optiques des phéromones ont été déterminées par comparaison des pouvoirs rotatoires avec les valeurs de la littérature; toutes les brévicomines formées sont optiquement pures.

Conclusion

En conclusion, nous constatons que les résultats observés pour la réduction microbiologique des 3,4-dicétones confirment ceux décrits dans le cas de la réduction des 2,3-dicétones. La réduction directe des α -dicétones permet de préparer la plupart des stéréoisomères des α -diols correspondants. En ce qui concerne les α -hydroxycétones, on isole généralement les composés de configuration (*S*) correspondant à la réduction de la première fonction carbonylée sur la chaîne. Cependant, les stéréoisomères des α -hydroxycétones et des

α -diols, qui ne sont pas obtenus par l'action des micro-organismes, peuvent l'être par des synthèses chimio-enzymatiques. Les deux méthodes se complètent parfaitement, permettant ainsi d'accéder à tous les produits chiraux de la réduction des α -dicétones. Nous avons utilisé cette possibilité pour mettre au point une synthèse efficace en quatre stades des énantiomères des *exo*- et *endo*-brévicomines.

Partie expérimentale

Méthodes générales

• Méthodes chromatographiques

Les analyses par chromatographie en phase gazeuse (CPG) sont réalisées sur un appareil équipé d'un détecteur à ionisation de flamme et sur une colonne capillaire de 25 m \times 0,32 mm de Carbowax 20 M. Le gaz vecteur est l'hélium à 120 kPa. La température du four varie selon les composés analysés et sera donnée dans chaque cas.

Les excès énantiomériques sont calculés après analyse en CPG sur une colonne capillaire chirale Chirasil-Valine de 25 m \times 0,25 mm. Les α -hydroxycétones ne sont pas analysées directement, elles sont d'abord réduites en diols par action de NaBH₄. Le mélange de diols est traité par l'isocyanate d'isopropyle. Après évaporation du solvant, le mélange brut est analysé sans purification et comparé au mélange de diols racémiques (réduction des α -diones par NaBH₄) traité par l'isocyanate d'isopropyle.

• Méthodes analytiques et spectroscopiques

Après les expériences de bioconversion, les résidus bruts sont analysés par CPG et les temps de rétention des produits de réduction sont comparés avec ceux des composés racémiques correspondants. Les points de fusion sont déterminés avec un microscope équipé d'une platine chauffante et sont donnés non corrigés. Les pouvoirs rotatoires des composés purifiés sont déterminés à 25 °C pour la raie *J* du mercure ($\lambda = 578$ nm), la concentration est donnée en g/100 mL.

Les spectres de RMN sont réalisés sur les composés purifiés en solution dans CDCl₃ à 300 MHz pour les spectres ¹H et à 75 MHz pour les spectres ¹³C. Les déplacements chimiques sont donnés en prenant le pic du chloroforme comme référence.

• Méthodes microbiologiques et de bioconversion

Les conditions de culture des microorganismes *A niger* ATCC 9142, *B sulfurescens* ATCC 7159, *G candidum* CBS 233-76 et *M isabellina* NRRL 1757 ont déjà été décrites [20].

■ Méthodes de bioconversion

Cas général. Après culture des microorganismes, ceux-ci sont filtrés ou centrifugés et lavés quatre fois avec une solution de NaCl (8 g/L). On place 5 g de mycélium humide dans une fiole conique de 500 mL avec 50 mL d'eau et 50 μ L de substrat. Après agitation à 200 rpm et 27 °C on filtre ou centrifuge. La phase aqueuse est extraite en continu avec de l'éther. La phase étherée est séchée sur MgSO₄.

La levure de boulangerie fraîche est un produit commercial (Hirondelle, Société Lefranc, Paris). Elle est utilisée en fermentation. Dans des fioles coniques de 500 mL on place 10 g de levure, 12,5 g de saccharose, 250 mL d'eau distillée et 200 μ L de substrat. Après agitation en secoueuse à 200 rpm et 27 °C, on opère comme dans le cas général.

Le rendement global des réactions de bioconversion est calculé à partir des quantités de produits obtenues après purification.

Substrats

L'hexane-3,4-dione **1** est un produit commercial.

• Synthèse de la non-8-ène-3,4-dione **2**

■ **Préparation de l'hydroxamate C₂H₅C(O)N(CH₃)OCH₃**
Chlorure de propanoyle (30 mmol) et chlorhydrate de N,O-diméthylhydroxylamine (33 mmol) sont dissous dans 100 mL de chloroforme exempt d'éthanol. La solution est refroidie à 0 °C et agitée. On ajoute goutte à goutte 66 mmol de pyridine. La solution est agitée à température ambiante pendant 30 minutes, puis le solvant est évaporé sous vide. Le résidu est repris par une solution saturée de NaCl et la phase aqueuse est extraite plusieurs fois par un mélange 50:50 en volume d'éther et de chlorure de méthylène. Après séchage de la solution organique, le solvant est évaporé. On obtient l'hydroxamate avec un rendement de 78 %. Il est utilisé brut pour la réaction suivante.

CPG : 70–200 °C, 5 min à 70 °C puis 4 °C/min. Temps de rétention : 9,8 min.

RMN ¹H 300 MHz, δ : 1,20 (t, *J* = 7,5 Hz, 3H); 2,50 (q, *J* = 7,5 Hz, 2H); 3,15 (s, 3H); 3,70 (s, 3H).

■ 1-(1,3-Dithian-2-yl)propan-1-one **11b** [21]

1,3-Dithiane (2,4 g) est dissous dans 50 mL de THF anhydre. Au mélange agité sous argon et refroidi à –40 °C, on ajoute 8,5 mL de *n*-butyllithium (2,5 M dans l'hexane). Après quelques minutes d'agitation, la température est ramenée à –20 °C pendant 90 min. La solution est alors refroidie à –78 °C et on ajoute une solution de 2,3 g d'hydroxamate dans 5 mL de THF. La température est ramenée lentement à 0 °C et la réaction stoppée par addition d'une solution saturée de NaCl. Le mélange est extrait quatre fois à l'éther et la solution étherée séchée sur MgSO₄. Le solvant est évaporé sous vide et le résidu est purifié par chromatographie sur gel de silice, éluant hexane/acétate d'éthyle 90:10 en volume. On obtient 2,8 g d' α -cétiothioacétal (rdt 80 %).

CPG : 200 °C. Temps de rétention : 9,8 min.

RMN ¹H 300 MHz, δ : 1,20 (t, *J* = 7,5 Hz, 3H); 2,30–3,40 (m, 6H); 2,80 (q, *J* = 7,5 Hz, 2H); 4,40 (s, 1H).

■ 1-[2-(Pent-4-ényl)-1,3-dithian-2-yl]propan-1-one [22]

À une suspension de NaH (0,8 g, 50 % dans l'huile) dans 20 mL de 1,2-diméthoxyéthane anhydre (DME), sous argon et agitée, on ajoute goutte à goutte, à température ambiante, une solution de 2,9 g de 1-(1,3-dithian-2-yl)propan-1-one **11b** dans 15 mL de DME. Après quelques minutes d'agitation, le mélange réactionnel est refroidi dans un bain de glace et on ajoute 2,5 g de 5-bromopent-1-ène en solution dans 10 mL de DME. Le mélange est porté à ébullition pendant 3 h. Après refroidissement, il est repris par une solution saturée de NaCl et extrait plusieurs fois à l'éther. Après séchage de la phase étherée sur MgSO₄ et évaporation du solvant, l' α -cétiothioacétal est purifié par chromatographie colonne, éluant pentane/éther 90:10. Rdt 75 %.

CPG : 200 °C. Temps de rétention : 23,5 min.

RMN ¹H 300 MHz, δ : 1,20 (t, *J* = 7,5 Hz, 3H); 1,40–1,50 (m, 2H); 1,70–1,85 (m, 2H); 1,90–2,10 (m, 4H); 2,50–2,70 (m, 4H); 2,90–3,05 (m, 2H); 4,90–5,05 (m, 2H); 5,60–5,70 (m, 1H).

RMN ¹³C 75 MHz, δ : 204,6; 137,2; 115,4; 61,2; 37,5; 33,5; 29,0; 27,6; 24,8; 23,5; 9,1.

Analyse : calc pour C₁₂H₂₀OS₂ : C % 58,96, H % 8,20, S % 26,24; tr : C % 58,82, H % 8,17, S % 26,28.

■ Non-8-ène-3,4-dione **2**

α -cétiothioacétal (1 g) est oxydé électrochimiquement selon un mode opératoire décrit précédemment [23]. On obtient 0,75 g de non-8-ène-3,4-dione **2** (70 %).

CPG : 70-200 °C, 5 min à 70 °C puis 4 °C/min. Temps de rétention : 18 min.

RMN ¹H 400 MHz, δ : 1,05 (t, *J* = 7 Hz, 3H); 1,15-1,25 (m, 1H); 1,65-1,80 (m, 2H); 2,10-2,15 (m, 2H); 2,70-2,80 (m, 3H); 4,90-5,10 (m, 2H); 5,70-5,80 (m, 1H).

Analyse : calc pour C₉H₁₄O₂ : C % 70,10, H % 9,10; tr : C % 69,90, H % 9,20.

• *Synthèse de l'α-cétothioacétal 11a*

■ *Préparation de l'hydroxamate CH₃C(O)N(CH₃)OCH₃*
Cet hydroxamate est préparé, à partir de chlorure d'acétyle, selon la méthode utilisée précédemment.

CPG : 70-200 °C, 5 min à 70 °C puis 4 °C/min. Temps de rétention : 8 min.

RMN ¹H 300 MHz, δ : 2,10 (s, 3H); 3,15 (s, 3H); 3,70 (s, 3H).

■ *1-(1,3-Dithian-2-yl)éthanone 11a*

Cet α-cétothioacétal est préparé, à partir de l'hydroxamate ci-dessus et du 1,3-dithiane, selon le procédé utilisé dans le cas du composé **11b**.

CPG : 200 °C. Temps de rétention : 9 min.

RMN ¹H 300 MHz, δ : 2,30 (s, 3H); 2,20-3,40 (m, 6H); 4,25 (s, 1H).

• *Synthèse des α-cétothioacétals 8*

Mode préparatoire identique à celui utilisé pour la préparation de la 1-[2-(pent-4-ényl)-1,3-dithian-2-yl]propan-1-one, le produit de départ étant la 1-(1,3-dithian-2-yl)éthanone **11a** ou propan-1-one **11b**, l'agent d'alkylation étant l'iode de méthyle ou l'iode d'éthyle. Rdt 80 %.

■ *1-(2-Méthyl-1,3-dithian-2-yl)éthanone 8a*

R₁ = R₂ = CH₃

CPG : 200 °C. Temps de rétention : 7,5 min.

RMN ¹H 300 MHz, δ : 2,40 (s, 3H); 1,80 (s, 3H); 2,40-3,20 (m, 6H).

■ *1-(2-Ethyl-1,3-dithian-2-yl)éthanone 8b*

R₁ = CH₃, R₂ = C₂H₅

CPG : 200 °C. Temps de rétention : 9,1 min.

RMN ¹H 300 MHz, δ : 1,10 (t, *J* = 7,5 Hz, 3H); 1,65 (s, 3H); 1,70-2,60 (m, 6H); 2,80 (q, *J* = 7,5 Hz, 2H).

■ *1-(2-Méthyl-1,3-dithian-2-yl)propan-1-one 8c*

R₁ = C₂H₅, R₂ = CH₃

CPG : 200 °C. Temps de rétention : 8,6 min.

RMN ¹H 300 MHz, δ : 1,20 (t, *J* = 7,5 Hz, 3H); 1,75 (s, 3H); 1,80-2,30 (m, 6H); 2,70 (q, *J* = 7,5 Hz, 2H).

Réductions microbiologiques des 3,4-dicétones

• *Réductions microbiologiques de l'hexane-3,4-dione 1*

Les essais quantitatifs ont été réalisés sur 0,4 g d'hexane-3,4-dione. Les mélanges bruts sont purifiés sur colonne de silicagel, éluant pentane/éther 85:15.

■ *B sulfurescens*

Après 1 h d'incubation, le résidu est formé uniquement de (+)-(S)-4-hydroxyhexan-3-one. Rdt 70 %.

(+)-(S)-4-Hydroxyhexan-3-one (**S**)-**3** (0,280 g)

CPG : 90-200 °C, 5 min à 90 °C puis 4 °C/min. Temps de rétention : 9,2 min.

RMN ¹H 300 MHz, δ : 1,05 (t, *J* = 6 Hz, 3H); 1,10 (t, *J* = 7,5 Hz, 3H); 1,80 (m, 2H); 2,50 (q, *J* = 7,5 Hz, 2H); 4,20 (m, 1H); 4,70 (s, 1H échangeable avec D₂O).

[α]_D²⁵ = +95 (*c* = 5, CHCl₃) ee ≥ 98 %. Litt [5] (3*R*).

[α]_D²² = -97,5 (*c* = 1, CHCl₃).

Après 48 h d'incubation, on trouve 70 % de (+)-(S)-4-hydroxyhexan-3-one et 30 % de (-)-(3*S*, 4*S*)-hexane-3,4-diol.

(-)-(3*S*, 4*S*)-Hexane-3,4-diol (**SS**)-**5** (0,08 g).

CPG : 90-200 °C. Temps de rétention : 18,4 min.

RMN ¹H 300 MHz, δ : 0,98 (t, *J* = 6,5 Hz, 6H); 1,50 (m, 4H); 3,00 (s, 2H échangeables avec D₂O); 3,40 (m, 2H).

[α]_D²⁵ = -17 (*c* = 2, CHCl₃); [α]_D²⁵ = -22 (*c* = 3,5, H₂O) ee ≥ 98 %. Litt [7a] (3*S*, 4*S*) [α]_D²² = -20,4 (H₂O).

■ *A niger*

Après 1 h d'incubation, le mélange obtenu est constitué de 90 % de (+)-(S)-4-hydroxyhexan-3-one, de 4 % d'hexane-3,4-diol *erythro* et de 6 % d'hexane-3,4-diol *meso*. Rdt : 70 %.

(+)-(S)-4-Hydroxyhexan-3-one (**S**)-**3** (0,280 g)

[α]_D²⁵ = +95 (*c* = 7, CHCl₃) ee ≥ 98 %.

Après 24 h d'incubation, le résidu est constitué de 4 % de 4-hydroxyhexan-3-one, de 40 % de (-)-(3*S*, 4*S*)-hexane-3,4-diol et de 56 % de *meso*-hexane-3,4-diol. Rdt : 75 %.

(-)-(3*S*, 4*S*)-Hexane-3,4-diol (**SS**)-**5** (0,130 g)

[α]_D²⁵ = -17 (*c* = 3, CHCl₃); ee ≥ 98 %.

meso-Hexane-3,4-diol (0,170 g)

F = 90-91 °C. Litt [8] F = 89 °C.

CPG : 90-200 °C, 5 min à 90 °C puis 4 °C/min. Temps de rétention : 18,6 min.

RMN ¹H 300 MHz, δ : 1,10 (t, *J* = 6,5 Hz, 6H); 1,45 (m, 4H); 3,50 (m, 2H); 4,30 (s, 2H échangeables avec D₂O).

• *Réductions microbiologiques de la non-8-ène-3,4-dione 2*

Les essais quantitatifs ont été réalisés sur 0,4 g de non-8-ène-3,4-dione. Les mélanges bruts sont purifiés sur colonne de silicagel, éluant pentane/éther 90:10 pour les α-hydroxycétones et 50:50 pour les α-diols.

■ *B sulfurescens*

Après 3 h de réaction, le résidu contient seulement la (+)-(S)-3-hydroxynon-8-èn-4-one. Rdt 75 %.

(+)-(S)-3-Hydroxynon-8-èn-4-one (**S**)-**4** (0,300 g)

CPG : 70-200 °C, 5 min à 70 °C puis 4 °C/min. Temps de rétention : 16,7 min.

RMN ¹H 400 MHz, δ : 0,95 (t, *J* = 6,5 Hz, 3H); 1,50-1,65 (m, 1H); 1,70-1,80 (m, 2H); 1,85-1,95 (m, 1H); 2,05-2,15 (m, 2H); 2,40-2,60 (m, 2H); 3,50 (s, 1H, échangeable avec D₂O); 4,10-4,20 (m, 1H); 5,00-5,10 (m, 2H); 5,70-5,80 (m, 1H).

[α]_D²⁵ = +76 (*c* = 3, CHCl₃) ee ≥ 98 %.

Analyse : calc pour C₉H₁₆O₂ : C % 69,19, H % 10,32; tr : C % 69,40, H % 10,10.

Après 24 h d'incubation, seul le (-)-(3*S*, 4*S*)-non-8-ène-3,4-diol est isolé. Rdt 70 %.

(-)-(3*S*, 4*S*)-Non-8-ène-3,4-diol (**SS**)-**6** (0,275 g)

CPG : 70-200 °C, 5 min à 70 °C puis 4 °C/min. Temps de rétention : 21,2 min.

RMN ¹H 300 MHz, δ : 0,95 (t, *J* = 6 Hz, 3H); 1,30-1,70 (m, 6H); 1,90-2,20 (m, 2H); 2,40 (s, 2H échangeables avec D₂O); 3,00-3,50 (m, 2H); 4,80-5,20 (m, 2H); 5,75-5,85 (m, 1H).

[α]_D²⁵ = -22 (*c* = 4, CHCl₃) ee ≥ 98 %. Litt [6] [α]_D^{21,5} = -25 (*c* = 0,98, CHCl₃).

■ *A niger*

Après 3 h d'incubation, on obtient le (-)-(R)-3-hydroxynon-8-èn-4-one avec un rendement de 60 %.

(-)-(R)-3-Hydroxy-non-8-ène-4-one (**R**)-4 (0,240 g)
CPG et RMN ¹H, identiques à celle de l'énantiomère (3S).
[α]_D²⁵ = -75 (c = 5, CHCl₃) ee ≥ 98 %.

Pour un temps de réaction de 24 h, on isole le (-)-(3R, 4S)-non-8-ène-3,4-diol.

(-)-(3R, 4S)-Non-8-ène-3,4-diol (**RS**)-7 (0,230 g)
CPG : 70–200 °C, 5 min à 70 °C puis 4 °C/min. Temps de rétention : 20,5 min.
F = 82–83 °C, Litt [16a] F = 81–82 °C.

RMN ¹H 300 MHz, δ : 0,96 (t, J = 6 Hz, 3H); 1,20–1,80 (m, 6H); 1,90–2,20 (m, 2H); 2,6 (s, 2H échangeables avec D₂O); 3,20–3,80 (m, 2H); 4,90–5,20 (m, 2H); 5,70–6,05 (m, 1H).

[α]_D²⁵ = -14 (c = 6, CHCl₃) ee ≥ 98 %. Litt [9] [α]_D²¹ = -12 (c = 0,9, CHCl₃).

■ Levure de boulangerie

Après 3 h d'incubation, le milieu réactionnel ne contient que la (+)-(S)-3-hydroxy-non-8-ène-4-one. Rdt 65 %.

(+)-(S)-3-Hydroxy-non-8-ène-4-one (**S**)-4 (0,250 g)

[α]_D²⁵ = +75 (c = 6, CHCl₃) ee ≥ 98 %.

Après 24 h de réaction, on obtient un mélange de diols : 5 % d'erythro non-8-ène-3,4-diol et 95 % de (+)-(3S, 4R)-non-8-ène-3,4-diol.

(+)-(3S, 4R)-Non-8-ène-3,4-diol (**SR**)-7 (0,220 g)

Même temps de rétention et même RMN ¹H que l'énantiomère (3R, 4S) isolé avec *A niger*.

[α]_D²⁵ = +14 (c = 4, CHCl₃) ee ≥ 98 %. Litt [17] [α]_D²¹ = +12 (c = 1, CHCl₃).

Synthèse chimioenzymatique d'α-hydroxycétone chirales

• Réductions microbiologiques des α-cétothioacétals **8**

Les essais quantitatifs sont réalisés sur 0,5 g des α-cétothioacétals **8**. Après 24 h de réaction, la cétone est totalement réduite et l'α-hydroxythioacétal formé est purifié par chromatographie colonne, éluant hexane/acétate d'éthyle 90:10.

■ Réduction de la 1-(2-méthyl-1,3-dithian-2-yl)éthanone **8a** : R₁ = R₂ = CH₃

M isabellina : (-)-(S)-1-(2-méthyl-1,3-dithian-2-yl)éthanol (**S**)-9a

Rdt 76 % (0,380 g).

CPG : 200 °C. Temps de rétention : 8,5 min.

RMN ¹H 300 MHz δ : 1,30 (d, J = 6 Hz, 3H); 1,40 (s, 3H); 2,10–3,20 (m, 6H); 3,10 (s, 1H échangeable avec D₂O); 4,20 (q, J = 6 Hz, 1H).

[α]_D²⁵ = -6 (c = 9, CHCl₃), ee ≥ 98 %. Litt [10] : [α]_D²³ = -5,77 (CHCl₃).

A niger : (+)-(R)-1-(2-méthyl-1,3-dithian-2-yl)éthanol (**R**)-9a

Rdt 72 % (0,350 g).

RMN et temps de rétention identiques à l'énantiomère (**S**)-9a.

[α]_D²⁵ = +6 (c = 8, CHCl₃) ee ≥ 98 %.

■ Réduction de la 1-(2-éthyl-1,3-dithian-2-yl)éthanone **8b** R₁ = CH₃, R₂ = C₂H₅

M isabellina : (-)-(S)-1-(2-éthyl-1,3-dithian-2-yl)éthanol (**S**)-9b

Rdt 80 % (0,400 g).

CPG : 200 °C. Temps de rétention : 9,8 min.

RMN ¹H 300 MHz δ : 1,10 (t, J = 7,5 Hz, 3H); 1,30 (d, J = 6,2 Hz, 3H); 2,10–3,10 (m, 6H); 2,80 (q, J = 7,5 Hz, 2H); 3,40 (s, 1H échangeable avec D₂O); 4,10 (q, J = 6,2 Hz, 1H).

[α]_D²⁵ = -7 (c = 6, CHCl₃) ee ≥ 98 %.

A niger : (+)-(R)-1-(2-éthyl-1,3-dithian-2-yl)éthanol (**R**)-9b

Rdt 82 % (0,410 g).

RMN et temps de rétention identiques à l'énantiomère (**S**)-9b.

[α]_D²⁵ = +7 (c = 7, CHCl₃) ee ≥ 98 %.

■ Réduction de la 1-(2-méthyl-1,3-dithian-2-yl)propan-1-one **8c** R₁ = C₂H₅, R₂ = CH₃

M isabellina : (-)-(S)-1-(2-méthyl-1,3-dithian-2-yl)propan-1-ol (**S**)-9c

Rdt 70 % (0,350 g).

CPG : 200 °C. Temps de rétention : 11,6 min.

RMN ¹H 300 MHz δ : 1,10 (t, J = 7,5 Hz, 3H); 1,30 (s, 3H); 1,50–2,80 (m, 6H); 2,90 (m, 2H); 3,20 (s, 1H échangeable avec D₂O); 3,90 (t, J = 6,5 Hz, 1H).

[α]_D²⁵ = -9 (c = 10, CHCl₃) ee ≥ 98 %.

A niger : (+)-(R)-1-(2-méthyl-1,3-dithian-2-yl)propan-1-ol (**R**)-9c

Rdt 68 % (0,340 g).

RMN et temps de rétention identiques à l'énantiomère (**S**)-9c.

[α]_D²⁵ = +9 (c = 8, CHCl₃) ee ≥ 98 %.

• Synthèse des α-hydroxycétone

La méthode générale de déblocage des α-hydroxythioacétals **9** est la suivante :

À une solution de 0,42 mmol d'α-hydroxythioacétal dans 10 mL d'acétone, on ajoute 25 mmol de ICH₃ et 1 mmol de CaCO₃. On chauffe le mélange à reflux sous argon pendant 24 h. Le mélange est ensuite dilué par de l'éther puis lavé avec une solution saturée de NaCl et de l'eau. Après séchage de la phase organique, le solvant est évaporé au bain-marie. Purification par chromatographie colonne, éluant : pentane/éther, 95:5. Rdt 60–65 %.

■ (+)-(S)-2-Hydroxybutan-2-one (**S**)-10a

À partir du (-)-(S)-1-(2-méthyl-1,3-dithian-2-yl)éthanol (**S**)-9a.

CPG : 80 °C. Temps de rétention : 7,2 min.

RMN ¹H 300 MHz δ : 1,40 (d, J = 7 Hz, 3H), 2,20 (s, 3H), 3,55 (s, 1H échangeable avec D₂O), 4,26 (q, J = 7 Hz, 1H).

[α]_D²⁵ = +96 (c = 5, CHCl₃) ee ≥ 98 %. Litt [4] : [α]_D²⁵ = +96 (c = 6, CHCl₃).

■ (-)-(R)-2-Hydroxybutan-3-one (**R**)-10a

À partir du (+)-(R)-1-(2-méthyl-1,3-dithian-2-yl)éthanol (**R**)-9a.

Temps de rétention et RMN identiques à ceux de l'énantiomère (**S**)-10a.

[α]_D²⁵ = -95 (c = 3, CHCl₃), ee ≥ 98 %.

■ (+)-(S)-2-Hydroxypentan-3-one (**S**)-10b

À partir du (-)-(S)-1-(2-éthyl-1,3-dithian-2-yl)éthanol (**S**)-9b.

CPG : 80 °C. Temps de rétention : 8,6 min.

RMN ¹H 300 MHz δ : 1,15 (t, J = 7 Hz, 3H), 1,4 (d, J = 6,5 Hz, 3H), 2,55 (q, J = 7 Hz, 2H), 3,70 (s, 1H échangeable avec D₂O), 4,20 (q, J = 6,5 Hz, 1H).

[α]_D²⁵ = +47 (c = 9, CHCl₃) ee ≥ 98 %.

■ (-)-(R)-2-Hydroxypentan-3-one (**R**)-10b

À partir du (+)-(R)-1-(2-éthyl-1,3-dithian-2-yl)éthanol (**R**)-9b.

Temps de rétention et RMN identiques à ceux de l'énantiomère (**S**)-10b.

$[\alpha]_D^{25} = -48$ ($c = 8$, CHCl_3) $ee \geq 98$ %.

■ (+)-(S)-3-Hydroxypentan-2-one (**S**)-10c

À partir du (-)-(S)-1-(2-méthyl-1,3-dithian-2-yl)propan-1-ol (**S**)-9c.

CPG : 80 °C, Temps de rétention : 8,6 min.

RMN ¹H 300 MHz δ : 0,95 (t, $J = 6,5$ Hz, 3H), 1,60–2,10 (m, 2H), 2,20 (s, 3H), 3,70 (s, 1H échangeable avec D₂O), 3,90 (m, 1H).

$[\alpha]_D^{25} = +52$ ($c = 7$, CHCl_3) $ee \geq 98$ %.

■ (-)-(R)-3-Hydroxypentan-2-one (**R**)-10c

À partir du (+)-(R)-1-(2-méthyl-1,3-dithian-2-yl)propan-1-ol (**R**)-9c.

Temps de rétention et RMN identiques à ceux de l'énantiomère (**S**)-10c.

$[\alpha]_D^{25} = -51$ ($c = 4$, CHCl_3) $ee \geq 98$ %.

Réductions microbiologiques des α -cétiothioacétals 11

Les essais quantitatifs sont réalisés sur 0,5 g de substrat. Après 24 h d'incubation, l' α -hydroxythioacétal est purifié par chromatographie colonne, éluant, cyclohexane/acétate d'éthyle 90:10.

• Réduction de la 1-(1,3-dithian-2-yl)éthanone 11a

■ M isabellina : (-) (S)-1-(1,3-dithian-2-yl)éthanol (**S**)-12a

Rdt 90 % (0,450 g).

CPG : 200 °C. Temps de rétention : 11,2 min.

RMN ¹H 300 MHz δ : 1,40 (d, $J = 6$ Hz, 3H); 1,90–3,10 (m, 6H); 3,50 (s, 1H échangeable avec D₂O); 3,95–4,10 (m, 2H).

$[\alpha]_D^{25} = -6$ ($c = 9$, MeOH) $ee \geq 98$ %. Litt [10] $[\alpha]_D^{23} = -5,79$ (MeOH).

■ A niger : (+)-(R)-1-(1,3-dithian-2-yl)éthanol (**R**)-12a

Rdt 87 % (0,435 g).

RMN ¹H et pouvoir rotatoire identiques à ceux déterminés pour l'énantiomère (**S**)-12a.

$[\alpha]_D^{25} = +6$ ($c = 8$, MeOH) $ee \geq 98$ %. Litt [24] $[\alpha]_D^{23} = +5,8$ (MeOH).

• Réduction de la 1-(1,3-dithian-2-yl)propan-1-one 11b

■ M isabellina : (-)-(S)-1-(1,3-dithian-2-yl)propan-1-ol (**S**)-12b

Rdt 90 % (0,450 g).

CPG : 200 °C. Temps de rétention : 12,2 min.

RMN ¹H 300 MHz δ : 0,90 (t, $J = 7,5$ Hz, 3H); 1,70–2,90 (m, 6H); 2,60 (s, 1H échangeable avec D₂O); 2,70–2,80 (m, 2H); 3,80 (m, 1H); 3,85 (d, $J = 6$ Hz, 1H).

$[\alpha]_D^{25} = -17$ ($c = 9$, CHCl_3) $ee \geq 98$ %. Litt [10] : $[\alpha]_D^{23} = -15,5$ (CHCl_3).

■ A niger : (+)-(R)-1-(1,3-dithian-2-yl)propan-1-ol (**R**)-12b

Rdt 85 % (0,425 g).

RMN ¹H et temps de rétention identiques à ceux de (**S**)-12b.

$[\alpha]_D^{25} = +17$ ($c = 10$, CHCl_3) $ee \geq 98$ %.

Synthèse des énantiomères des exo- et endo-brévico-mines

• Synthèse du (+)-(3R,4R)-non-8-ène-3,4-diol (**RR**)-6

■ (+)-(R)-1-(1,3-Dithian-2-yl)-1-(benzyloxy)propane 13

À une solution de (+)-(1R)-1-(1,3-dithian-2-yl)propan-1-ol (**R**)-12b (2,6 mmol) dans 20 mL de THF anhydre, agitée et placée sous argon, on ajoute 2,6 mmol d'hydruure de sodium. Après quelques minutes d'agitation, on ajoute successivement 2,6 mmol d'iodure de tétrabutylammonium et une solution de 0,31 mL de bromure de benzyle dans 2 mL de THF. Après 2 h d'agitation, le mélange est repris par une solution saturée de NaCl et extrait plusieurs fois à l'éther. Après séchage sur sulfate de magnésium et évaporation du solvant, le résidu est purifié par chromatographie colonne, éluant : hexane/acétate d'éthyle 90:10. On obtient le composé **13** avec un rendement de 60 %.

CCM, R_f : 0,5 (hexane/acétate d'éthyle 90:10).

RMN ¹H, 300 MHz, δ : 1,05 (t, $J = 7,5$ Hz, 3H), 1,50–2,70 (m, 6H), 2,80 (m, 2H), 3,50 (m, 1H), 4,30 (d, $J = 4,5$ Hz, 1H), 4,70 (spectre AB, $J = 10,5$ Hz, 2H), 7,40 (m, 5H).

$[\alpha]_D^{25} = +15$ ($c = 3$, CHCl_3).

■ (+)-(R)-2-(Benzyloxy)butanal 14

Mode opératoire identique à celui décrit pour le déblocage des α -hydroxythioacétals **9**.

CCM, R_f : 0,8 (hexane/acétate d'éthyle 90:10).

CPG : 200 °C. Temps de rétention : 5,5 min.

RMN ¹H 300 MHz, δ : 1,10 (t, $J = 6,5$ Hz, 3H), 1,80 (m, 2H), 3,50 (m, 1H), 4,7 (spectre AB, $J = 10,5$ Hz, 2H), 7,40 (m, 5H), 9,80 (m, 1H).

$[\alpha]_D^{25} = +42$ ($c = 4$, CHCl_3).

■ (-)-(3R,4R)-3-(Benzyloxy)-4-hydroxynon-8-ène 15

On prépare une solution étherée du magnésien du 5-bromopentène à partir de 0,1 g de magnésium et 0,4 g de 5-bromopentène. Lorsque l'addition du bromopentène est terminée, le mélange est chauffé à reflux pendant 1 h. Après refroidissement à température ambiante, on ajoute goutte à goutte une solution de 0,2 g de (R)-2-(benzyloxy)butanal **14** dans 5 mL d'éther anhydre. On chauffe ensuite 1 h à reflux. Après refroidissement on hydrolyse en ajoutant très lentement une solution diluée de H₂SO₄. La phase étherée est séchée sur MgSO₄. Après évaporation du solvant, le résidu est purifié par chromatographie colonne, éluant : hexane/acétate d'éthyle 90:10 puis 70:30. On isole le (-)-(3R,4R)-3-(benzyloxy)-4-hydroxynon-8-ène **15**. Rdt 75 %.

CPG : 200 °C. Temps de rétention : 14,7 min.

RMN ¹H, 300 MHz, δ : 0,95 (t, $J = 7$ Hz, 3H), 1,10–1,80 (m, 6H), 2,10 (m, 2H), 2,50 (s, 1H échangeable avec D₂O), 3,10–3,70 (m, 2H), 4,60 (spectre AB, $J = 10,5$ Hz, 2H), 5,00 (m, 2H), 5,70 (m, 1H), 7,40 (m, 5H).

$[\alpha]_D^{25} = -4$ ($c = 5$, CHCl_3).

■ (+)-(3R,4R)-Non-8-ène-3,4-diol (**RR**)-6

Dans un ballon sous agitation magnétique, on place 0,170 g de (3R,4R)-3-(benzyloxy)-4-hydroxynon-8-ène **15** et 25 mL d'ammoniac liquide. On ajoute par petites portions 0,1 g de sodium en 15 min. Le mélange se colore en bleu. Cette coloration disparaît par addition de chlorure d'ammonium. L'ammoniac est ensuite évaporé sous un léger courant d'argon et le résidu est repris par de l'eau. La phase aqueuse

est extraite plusieurs fois à l'éther. Après séchage et évaporation du solvant le résidu est purifié par chromatographie colonne, éluant : pentane/éther 70:30.

Temps de rétention et spectre de RMN identiques à ceux observés pour l'énantiomère (3*S*,4*S*).

$[\alpha]_D^{25} = +25$ ($c = 5$, CHCl₃) ee ≥ 98 %. Litt [6] : $[\alpha]_D^{20} = +27$ ($c = 1$, CHCl₃).

• *Synthèse des exo- et endo-brévicomines*

Un mélange de CuCl₂ (4,74 mmol) et de PdCl₂ (0,85 mmol), en suspension dans 5 mL de diméthoxyéthane (DME), est agité à température ambiante pendant 1 h. On ajoute ensuite le non-8-ène-3,4-diol (4,74 mmol) dans 4 mL de DME. L'agitation est maintenue pendant 6 h, puis on dilue avec de l'eau et la phase aqueuse est extraite plusieurs fois avec de l'éther. Les phases étherées sont lavées avec une solution saturée de NaCl et séchées sur MgSO₄. Après évaporation du solvant, le résidu est purifié par chromatographie colonne, l'éluant étant un mélange pentane/éther 90:10. Rdt 60 %.

■ (+)-(1*R*,5*S*,7*R*)-7-Ethyl-5-méthyl-6,8-dioxabicyclo[3.2.1]octane (**7R**)-17. (+)-exo-brévicomine

La phéromone naturelle de *D brevicomis* a été préparée par cyclisation du (+)-(3*R*,4*R*)-non-8-ène-3,4-diol (**RR**)-6 obtenu par synthèse chimioenzymatique.

CPG : 70–150 °C, 5 min à 70 °C puis 4 °C/min. Temps de rétention : 8,4 min.

RMN ¹H 300 MHz δ : 0,90 (t, $J = 7$ Hz, 3H); 1,30 (s, 3H); 1,55–2,30 (m, 8H); 3,79 (t, $J = 7$ Hz, 1H); 4,00 (s, 1H).

$[\alpha]_D^{25} = +86$ ($c = 7$, Et₂O). Litt [14] : $[\alpha]_D^{26} = +84,1$ ($c = 2$, Et₂O).

■ (-)-(1*S*,5*R*,7*S*)-7-Ethyl-5-méthyl-6,8-dioxabicyclo[3.2.1]octane (**7S**)-17. (-)-exo-brévicomine

Obtenu par cyclisation de (-)-(3*S*,4*S*)-non-8-ène-3,4-diol (**SS**)-6 provenant de la réduction de la dione par *B sulfureus*. Même temps de rétention et spectres RMN ¹H que l'énantiomère (**7R**)-17.

$[\alpha]_D^{25} = -85$ ($c = 8$, Et₂O). Litt [14] : $[\alpha]_D^{24} = -80$ ($c = 1,6$, Et₂O).

■ (+)-(1*R*,5*S*,7*S*)-7-Ethyl-5-méthyl-6,8-dioxabicyclo[3.2.1]octane (**7S**)-18. (+)-endo-brévicomine

Il s'agit de la phéromone naturelle de *D autographus*, elle est préparée par cyclisation du (+)-(3*S*,4*R*)-non-8-ène-3,4-diol (**SR**)-7 provenant de la réduction de la dione par la levure de boulangerie.

CPG : 70–150 °C, 5 min à 70 °C puis 4 °C/min. Temps de rétention : 9,4 min.

RMN ¹H 300 MHz δ : 1,00 (t, $J = 7,5$ Hz, 3H); 1,45 (s, 3H); 1,50–2,20 (m, 8H); 4,00 (td, $J = 4$ Hz et $J = 7,5$ Hz, 1H); 4,20–4,30 (m, 1H).

$[\alpha]_D^{25} = +84$ ($c = 10$, Et₂O). Litt [9] : $[\alpha]_D^{21} = -78,8$ ($c = 0,5$, Et₂O).

■ (-)-(1*S*,5*R*,7*R*)-7-Ethyl-5-méthyl-6,8-dioxabicyclo[3.2.1]octane (**7R**)-18. (-)-endo-brévicomine

Obtenu par cyclisation du (-)-(3*R*,4*S*)-non-8-ène-3,4-diol (**RS**)-7 provenant de la réduction de la dione par *A niger*.

Spectre de RMN et temps de rétention identiques à ceux déterminés pour l'énantiomère (**7S**)-18.

$[\alpha]_D^{25} = -83$ ($c = 8$, Et₂O). Litt [9] : $[\alpha]_D^{21} = -75,9$ ($c = 0,7$, Et₂O).

References

- 1 a) Ramaswamy S, Oehlschlager AC. *J Org Chem* (1989) 54, 255
b) Wood DL, Browne LE, Ewing B, Lindhal K, Bedard WD, Tilden PE, Mori K, Pitman GB, Hughes PR. *Science* (1976) 192, 896
- 2 a) Fauve A, Veschambre H. *Biocatalysis* (1990) 3, 95
b) Besse P, Veschambre H, Chênevert R, Dickman M. *Tetrahedron: Asymmetry* (1994) 5, 1727
- 3 a) Treilhou M, Fauve A, Pougny JR, Prome JC, Veschambre H. *J Org Chem* (1992) 57, 3203
b) Besse P, Veschambre H, Dickman M, Chênevert R. *J Org Chem* (1994) 59, 8288
- 4 Bel-Rhlid R, Fauve A, Renard MF, Veschambre H. *Biocatalysis* (1992) 6, 319
- 5 Lohray BB, Enders D. *Helv Chim Acta* (1989) 72, 980
- 6 Mori K, Seu YB. *Justus Liebigs Ann Chem* (1986) 205
- 7 a) Tomioka K, Nakajima M, Koga K. *J Am Chem Soc* (1987) 109, 6213
b) Lohray BB, Bhushan V. *Tetrahedron Lett* (1992) 33, 5113
- 8 Balsells RE, Frasca AR. *Tetrahedron* (1982) 38, 245
- 9 Mori K, Seu YB. *Tetrahedron* (1985) 41, 3429
- 10 Fujisawa T, Kojima E, Itoh T, Sato T. *Chem Lett* (1985), 1751
- 11 Fetizon M, Jurion M. *J Chem Soc, Chem Commun* (1972) 382
- 12 Noda Y, Kikuchi M. *Chem Lett* (1989) 1755
- 13 Reist EJ, Bartuska VJ, Goodman L. *J Org Chem* (1964) 29, 3725
- 14 Mori K. *Tetrahedron* (1974) 30, 4223
- 15 a) Silverstein RM, Brownlee RG, Bellas TE, Wood DL, Browne LE. *Science* (1968) 159, 889
b) Wasserman HH, Barber EH. *J Am Chem Soc* (1969) 91, 3674
c) Hoffmann RW, Kenper B. *Tetrahedron Lett* (1982) 23, 845
d) Yamamoto Y, Saito Y, Maruyama K. *Tetrahedron Lett* (1982) 23, 4959
e) Wuts PGM, Bigelow SS. *Synth Commun* (1982) 12, 779
- 16 a) Sherker AE, Fraser-Reid B. *J Org Chem* (1982) 47, 932
b) Johnston BD, Oehlschlager AC. *J Org Chem* (1982) 47, 5384
c) Masaki Y, Nagata K, Serizawa Y, Kaji K. *Tetrahedron Lett* (1982) 23, 5553
d) Wuts PGM, Bigelow SS. *J Chem Soc, Chem Commun* (1984) 736
- 17 Kohnle U, Vite JP. *Naturwissenschaften* (1984) 71, 47
- 18 a) Sato F, Takahashi O, Kato T, Kobayashi Y. *J Chem Soc, Chem Commun* (1985) 1638
b) Hatakeyama S, Sakurai K, Takano S. *J Chem Soc, Chem Commun* (1985) 1759
- 19 Yusufoglu A, Antons S, Scharf HD. *J Org Chem* (1986) 51, 3485
- 20 Besse P, Renard MF, Veschambre H. *Tetrahedron: Asymmetry* (1994) 5, 1249
- 21 Guanti G, Banfi L, Narisano E. *Tetrahedron Lett* (1986) 27, 3547
- 22 Colombo L, Gennari C, Scolastico C, Beretta MG. *J Chem Soc Perkin I* (1978) 1036
- 23 Martre AM, Mousset G, Bel-Rhlid R, Veschambre H. *Tetrahedron Lett* (1990) 31, 2599
- 24 Redlich H, Schneider B. *Justus Liebig Ann Chem* (1983) 412