

[Chem. Pharm. Bull.]  
[28(7)1981—1985(1980)]

**Recherches Toxicologiques sur les Substances Toxiques de *Fusarium*  
*nivale*; Une Autre Voie de Synthèse de  
l'époxy-12,13 Trichothécène-9**

YUKO NAKAHARA et TAKASHI TATSUNO

*L'Institut de Recherche Physique et Chimique<sup>1)</sup>*

(Recu le 28 Novembre 1979)

An alternative synthesis of a fungal metabolite, 12,13-epoxy-trichothec-9-ene is described. Diels-Alder reaction of methyl coumalate and 2-methoxy-1,3-butadiene or 2-methyl-3-methoxy-1,3-butadiene is represented.

**Keywords**—mycotoxin; trichothecene; Diels-Alder reaction; sesquiterpene; *Fusarium toxicosis*

Le trichothécène, la substance métabolique principale de *Fusaria*,<sup>2)</sup> nous intéresse beaucoup par deux caractéristiques: d'une part son activité biologique et l'autre sa structure chimique qui ne se conforme pas aux règles des isoprènes.

Notre équipe a déjà publié la synthèse totale de l'époxy-12,13 trichothécène-9, qui a le noyau même du trichothécène.<sup>3)</sup> Dans cette étude, nous avons réussi à obtenir la substance intermédiaire de la synthèse du trichothécène, l'éthoxycarbonyl-6 diméthyl-5,9 oxa-2 bicyclo [4, 4, 0] décadiène-3,9, présentant une jonction des deux cycles *cis*. En considérant la stéréochimie *cis* à la jonction des cycles du trichothécène, nous voulons synthétiser cette substance par la réaction de Diels-Alder. En effet, nous avons pu synthétiser le trichothécène à partir du méthoxy-2 butadiène-1,3 et du coumalate de méthyle ou d'éthyle.

Nous allons décrire quelques points de la réaction de Diels-Alder entre les dérivés du butadiène et des dérivés de l'acide coumalique, ensuite le procédé de la synthèse du trichothécène.

**1) Réaction de Diels-Alder du méthyl-2 méthoxy-3 butadiène-1,3<sup>4)</sup> et du coumalate de méthyle<sup>5)</sup> ou d'éthyle**

Quand on chauffe le méthyl-2 méthoxy-3 butadiène-1,3 avec le coumalate de méthyle dans le toluène comme le solvant, on peut isoler seulement un produit. Comme on voit dans la Fig. 1, il y a deux voies de la réaction de Diels-Alder; la voie (a) et la voie (b).

Si la réaction ne se faisait pas exclusivement par la voie (a) ou la voie (b), nous devions isoler deux sortes de produits à la fin de la réaction. En fait, nous ne pouvons isoler qu'une substance; en vérifiant le spectre de RMN de ce produit, nous pouvons assigner les signaux de RMN que nous rassemblons dans le Table I.

Puisque nous ne pouvons pas déterminer la structure du produit par les résultats de RMN, nous avons transmis cette substance en (C) ou (D) par hydrolyse acide. En mesurant le spectre de RMN du produit d'hydrolyse, nous observons le signal de quartet divisé, respectivement 2 pics près de 3 ppm.

Si l'on fait l'irradiation au signal à 5.22 ppm due au proton de méthine qui se situe entre les deux cycles et le signal à 3 ppm convergent en signal quartet ponctuel.

1) Location: *Wako-shi, Saitama*.

2) Y. Fujimoto, Y. Morita, et T. Tatsuno, *Chem. Pharm. Bull.*, **20**, 1194 (1972).

3) Y. Fujimoto, S. Yokura, T. Nakamura, T. Morikawa, et T. Tatsuno, *Tetrahedron Lett.*, **1974**, 2523.

4) E.F. Landau et E.P. Irany, *J. Org. Chem.*, **12**, 422 (1947); D.J. Faulkner et M.R. Petersen, *J. Am. Chem. Soc.*, **95**, 553 (1973).

5) "Org. Syn.," Coll. Vol. IV, p. 201, 532.

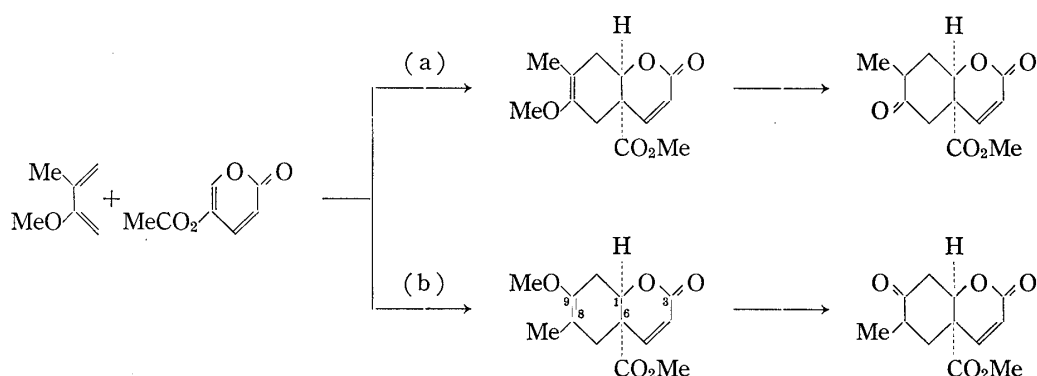


Fig. 1. Réaction de Diels-Alder du Méthyl-2- Méthoxy-3 Butadiène-1,3 et du Coumalate de Méthyle

TABLE I. Spectre de RMN  $\delta(\text{CDCl}_3, \text{ppm})$

1.65 (3H, s)	3.50 (3H, s)	3.75 (3H, s)
	-OCH <sub>3</sub>	
6.05 (1H, d)	6.90 (1H, d)	

Nous pouvons confirmer que la réaction de Diels-Alder, dans notre cas, a eu lieu par la voie (b), c'est-à-dire que nous isolons la substance (D). Nous appliquons le même procédé à la réaction du méthoxy-2 butadiène-1,3<sup>6)</sup> et du coumalate de méthyle.

Comme nous avons prévu, nous pouvons isoler la substance (III) que nous montrons dans la Fig. 2.

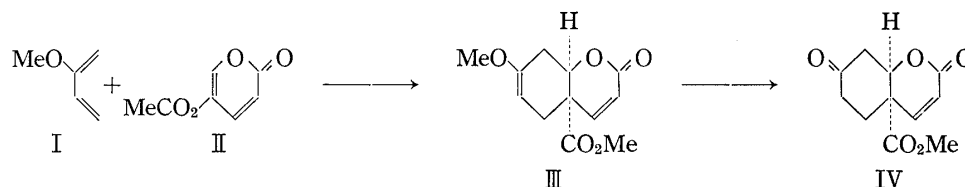


Fig. 2. Réaction de Diels-Alder du Méthoxy-2 Butadiène-1,3 et du Coumalate de Méthyle

En vérifiant le spectre de RMN de (IV) avec les expérimentation de découplage, nous obtenons le même résultat que nous avons déjà décrit. Nous synthétisons le trichothécène à partir de la substance (III).

## 2) Synthèse du Trichothécène

Nous montrons la route de la synthèse de l'époxy-12,13 trichothécène-9 (XIII) est résumée dans la Fig. 3.

Nous introduisons un groupe méthyle à la position 5 en employant  $(\text{CH}_3)_2\text{CuLi}$ . La vérification sur la stéréochimie du groupe méthyle n'est pas considérée parce que nous utilisons le procédé suivant. Nous réduisons seulement le carbonyle de la lactone par l'hydrure de diisobutylaluminium (DIBALH). Après avoir hydrolysé l'énolate de méthyle (VI) en substance carbonylée (VII) avec de l'acide chlorhydrique 1 N dans l'acétone, on la dérive en substance méthylée par le traitement avec Amberlyst-15 dans le mélange d'éther-méthanol.

Bien que nous puissions séparer la substance méthylée à deux isomères diastéréomérique en employant la chromatographie sur colonne du gel de silice, et que nous puissions distinguer

6) J.I. DeGraw, L. Goodman, et B.R. Baker, *J. Org. Chem.*, **26**, 1156 (1961).

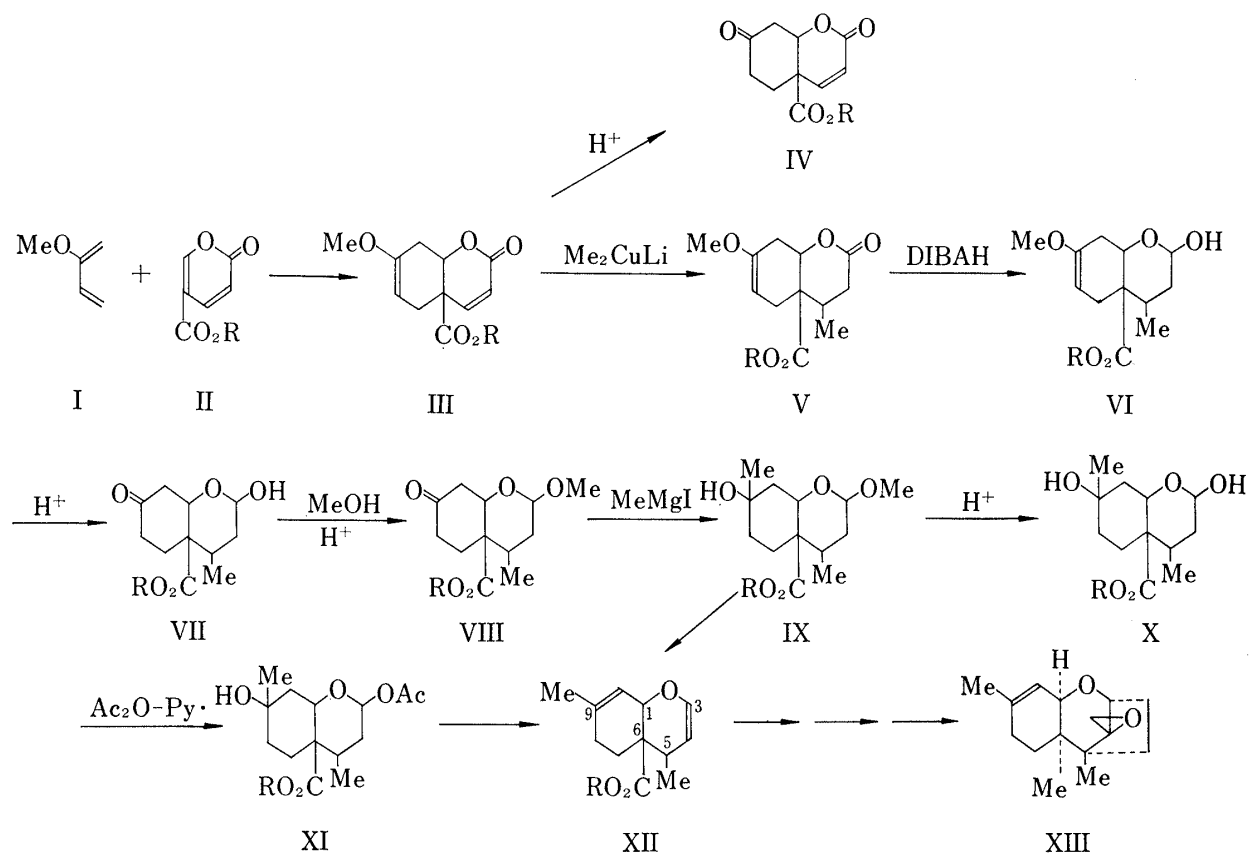


Fig. 3. Synthèse du Trichothécène

les signaux des protons de méthyle au groupe méthoxy, à 3.30 ppm et à 3.45 ppm, dans le spectre de RMN, nous avançons la réaction sans purification de ces isomères.

La réaction de Grignard sur le dérivé méthylé (VIII) nous offre le méthylcarbinol (IX). À partir de cette substance, nous voulions dériver la substance (XII) par l'élimination du méthanol et de l'eau, mais nous n'avons pas pu réussir ces réactions. Donc, après avoir hydrolysé la substance (IX), nous dérivons l'hémiacétale (X) en l'acétate (XI) par l'action de l'anhydride acétique et la pyridine.

Une autre voie pour dériver directement la substance (IX) en (XI) est possible; nous traitons le mélange de (IX) par l'acide acétique et Amberlyst-15 à température ambiante pour obtenir la substance (XI) avec un bon rendement.

Par thermolyse de cette substance (XI), nous obtenons la substance (XII) qui a été déjà conduit à l'époxy-12,13 trichothécène-9 par Fujimoto *et al.*<sup>3)</sup>

Nous pensons qu'il y a deux points avantageux à la nouvelle route de la synthèse de l'époxy-12,13 trichothécène-9. Premièrement, elle est plus stéréosélective que l'autre route car nous pouvons construire les deux cycles de jonction *cis* par la réaction de Diels-Alder. Deuxièmement, si on veut marquer le trichothécène avec le isotope-<sup>14</sup>C radioactif, on a deux possibilités, l'une est l'étape de la réaction de Grignard du dérivé carbonyle (VIII) avec <sup>14</sup>CH<sub>3</sub>-MgI, et l'autre est la dernière étape de la synthèse de l'époxy-12,13 trichothécène-9, l'étape de l'époxydation de position-12,13 du trichothécène.

#### Partie Experimentale

1) **Méthoxy-9 méthyl-8 méthoxycarbonyl-6 oxo-3 oxa-2 bicyclo[4,4,0]décadiène-4,8 (B)**—On chauffe à reflux 2.33 g de méthoxy-3 méthyl-2 butadiène-1,3 (0.023 mol) et 3.3 g de coumalate de méthyle (0.021 mol) dans 50 ml de toluène, pendant 3 heures. En vérifiant la réaction par le chromatographie en phase gazeuse,

elle s'accomplit en 3 heures. Après avoir évaporé le toluène, on recristallise le résidu avec l'acétate d'éthyle-hexane. On obtient 3.8 g (71%) de (B). F.129—131°.

RMN (CDCl<sub>3</sub>, 60 MHz)  $\delta$ : 1.62 (3H, s), 3.48 (3H, s), 3.75 (3H, s), 5.05 (1H, dd), 6.05, 6.91 (chaque 1H, d).

2) **Méthyl-8 méthoxycarbonyl-6 dioxo-3,9 oxa-2 bicyclo[4,4,0]décène-4 (D)**—On agite 100 mg de (B) (0.0004 mol) dans le mélange de 2 ml d'acétone et de 2 ml d'acide chlorhydrique à 10% pendant 3 heures à température ambiante.

Après avoir neutralisé avec la solution saturée de bicarbonate de sodium, on extrait le produit avec l'acétate d'éthyle. On sèche le solvant avec le sulfate de magnésium, et on évapore l'acétate d'éthyle. On recristallise le résidu avec l'acétate d'éthyle-hexane, et on obtient, 90 mg (95%) de la cétone (D). F.133—134°.

IR  $\nu_{\max}^{\text{KBr}}$  cm<sup>-1</sup>: 1715, 1380, 1280, 1250, 1150, 1010.

RMN (CDCl<sub>3</sub>, 100 MHz)  $\delta$ : 1.07 (3H, d), 2.77, 3.01 (chaque 1H, dd), 3.91 (3H, s), 5.22 (1H, m), 6.07 (1H, d), 6.98 (1H, d).

3) **Méthoxycarbonyl-6 méthoxy-9 oxo-3 oxa-2 bicyclo[4,4,0]décadiène-4,8 (III)**—On chauffe 33 g (0.39 mol) de méthoxy-2 butadiène-1,3 et 30 g (0.195 mol) de coumalate de méthyle dans 150 ml de toluène, sous l'atmosphère d'azote, pendant 3 heures. Après avoir évaporé le solvant, on recristallise le résidu avec de l'acétate d'éthyle, et on obtient 43.5 g (93.7%) du produit dérivé. F.96—98°.

Analyse élémentaire; valeurs théorétiques pour C<sub>12</sub>H<sub>14</sub>O<sub>5</sub>: C, 60.50; H, 5.92. valeurs obtenues: C, 60.37; H, 5.90.

MS  $m/e$ : 238 (M<sup>+</sup>).

IR  $\nu_{\max}^{\text{KBr}}$  cm<sup>-1</sup>: 1730, 1715, 1670, 1290, 1280, 1260, 1230, 1200, 1160, 1030.

RMN (CDCl<sub>3</sub>, 100 MHz)  $\delta$ : 3.53 (3H, s), 3.79 (3H, s), 4.67 (1H, m), 5.06 (1H, dd), 6.06, 6.95 (chaque 1H, d).

4) **Méthoxycarbonyl-6 dioxo-3,9 oxa-2 bicyclo[4,4,0]décène-4 (IV)**—On agite 11 g (0.046 mol) de (III) dans le mélange de 50 ml d'acétone et 2 ml de l'acide chlorhydrique à 10% pendant 1 heure à température ambiante. Après avoir neutralisé par une solution saturée de bicarbonate de sodium, on extrait la substance cétonique avec l'acétate d'éthyle. On sèche la solution d'acétate éthyle avec le sulfate de magnésium, et on évapore le solvant.

Le résidu obtenu est recristallisé dans l'acétate d'éthyle, on obtient 9.8 g de la substance cétonique. F.121—122°.

IR  $\nu_{\max}^{\text{KBr}}$  cm<sup>-1</sup>: 1720, 1280, 1255, 1150, 1125, 1020.

RMN (CDCl<sub>3</sub>, 100 MHz)  $\delta$ : 2.75 (1H, d), 3.00 (1H, d), 3.88 (3H, s), 5.21 (1H, dd), 6.10, 7.01 (chaque 1H, d).

5) **Alcoycarbonyl-6 méthoxy-9 méthyl-5 oxo-3 oxa-2 bicyclo[4,4,0]décène-8 (V)**—On agite 0.02 mol de CuI dans 100 ml d'éther sous atmosphère d'azote, à -10° et on y ajoute 48.8 ml d'éther contenant 0.82 mol de CH<sub>3</sub>Li a -10—-15°.

Dans la solution de (CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>CuLi-éther, on ajoute soigneusement 300 ml d'éther contenant 4.76 g (0.02 mol) de III, à 0°. On poursuit l'agitation 1 nuit. On y ajoute alors 200 ml de solution saturée de chlorure d'ammonium et puis on sépare la couche d'éther, et on extrait la couche aqueuse encore deux fois avec l'éther. Les phases organiques combinées sont séchées sur le sulfate de magnésium est évaporées donnant le résidu obtenu est recristallisé avec l'hexane. On obtient 3.1 g (61%) de la cétone saturée (V). F.84—85°.

Analyse élémentaire; valeurs théorétiques pour C<sub>13</sub>H<sub>18</sub>O<sub>5</sub>: C, 61.44; H, 7.09. valeurs obtenues: C, 61.41; H, 7.14.

MS  $m/e$ : 254 (M<sup>+</sup>).

IR  $\nu_{\max}^{\text{KBr}}$  cm<sup>-1</sup>: 1720, 1670, 1260, 1210, 1160.

RMN (CDCl<sub>3</sub>, 100 MHz)  $\delta$ : 1.04 (3H, d), 3.48 (3H, s), 3.72 (3H, s), 4.56 (1H, dd), 4.95 (1H, m).

6) **Alcoycarbonyl-6 hydroxy-3 méthoxy-9 méthyl-5 oxa-2 bicyclo[4,4,0]décène-8 (VI)**—On dissout 983 mg (0.0039 mol) de la lactone saturée dans le toluène, et on refroidit la solution à -75°. On y ajoute 5.5 ml de la solution de toluène contenant du diisobutylaluminium hydrid (DIBAH) (0.1488 g/ml) en veillant à ce que la température de la solution ne s'élève pas au dessus de -70°. On agite la solution encore 3 heures, et puis après avoir ajouté un peu de méthanol pour décomposer un l'excès du DIBAH en excédent, on élève lentement la température de la solution jusqu'à température ambiante. On lave la solution avec la solution de tartrate de sodium et de potassium et puis on la sèche sur le sulfate de magnésium.

On évapore l'éther et le résidu est recristallisé dans le méthanol, et on obtient 900 mg (90.8%) des cristaux. F.143.5—146°.

Analyse élémentaire; valeurs théorétiques pour C<sub>12</sub>H<sub>20</sub>O<sub>5</sub>: C, 60.97; H, 7.87. valeurs obtenues: C, 60.92; H, 7.87.

MS  $m/e$ : 256 (M<sup>+</sup>).

IR  $\nu_{\max}^{\text{KBr}}$  cm<sup>-1</sup>: 3340, 2930, 2900, 1720, 1670, 1230, 1210, 1155, 1050.

RMN (CDCl<sub>3</sub>+D<sub>2</sub>O, 100 MHz)  $\delta$ : 0.99 (3H, d), 3.48 (3H, s), 3.67 (3H, s).

RMN de l'isomère diastéréomérique: 1.14 (3H, d).

7) **Alcoycarbonyl-6 hydroxy-3 méthyl-5 oxo-9 oxa-2 bicyclo[4,4,0]décane (VII)**—On dissout 2 g de (VI) (0.0078 mol) dans 20 ml d'acétone et 1 ml de 1 N acide chlorhydrique et puis on agite à température ambiante pendant 30 minutes. Après avoir neutralisé avec la solution saturée de bicarbonate de sodium, on extrait le produit avec l'acétate d'éthyle, et on le sèche sur le sulfate de magnésium, et on évapore le

solvant. On recristallise le résidu avec l'acétate d'éthyle, et on obtient 1.7 g (90.7%) de la substance cétonique (VII). F.143—145°.

IR  $\nu_{\max}^{\text{KBr}}$   $\text{cm}^{-1}$ : 3300, 2950, 2870, 1705, 1430, 1230, 1165, 1110, 1080, 1025, 1010.

RMN ( $\text{CDCl}_3$ , 100 MHz)  $\delta$ : 1.03 (3H, d), 3.59 (1H, d), 3.76 (3H, s), 4.50 (1H, dd), 4.92 (1H, m).

8) **Acétoxy-3 alcoxycarbonyl-6 méthyl-5 oxo-9 oxa-2 bicyclo[4,4,0]décane**—On dissout 40 mg (0.00017 mol) de (VII) dans 2 ml de pyridine et on ajoute 0.5 ml d'anhydride acétique. On agite la solution à température ambiante pendant une nuit. Les réactifs sont éliminés de la manière habituelle. On purifie le produit par chromatographie préparative sur couche mince, on obtient 40 mg (85.1%) de l'acétate de (VII).

RMN ( $\text{CDCl}_3$ , 100 MHz)  $\delta$ : 1.09 (3H, d), 2.06 (3H, s), 3.87 (3H, s), 4.59 (1H, dd), 5.84 (1H, dd).

9) **Alcoxycarbonyl-6 méthoxy-3 méthyl-5 oxo-9 oxa-2 bicyclo[4,4,0]décane (VIII)**—On dissout 480 mg (0.002 mol) de la cétone (VII) dans 30 ml d'éther sèche, et on y ajoute 200 mg d'Amberlyst-15 et 0.5 ml de méthanol. On agite le mélange pendant 4 heures à température ambiante, et puis on sépare l'Amberlyst-15, et on distille le solvant.

Le résidu est recristallisé avec l'éther-hexane, on obtien 371.9 mg de mélange diastéréoisomérique de l'éther méthyle (VIII).

On vérifie le rendement de chaque isomère diastéréomérique par chromatographie sur couche mince sur la liquide de recristallisation, on obtient respectivement 56.2 mg et 15.2 mg de chaque isomère.

En tout, on obtient 443.3 mg (87.3%) de mélange diastéréomérique de (VIII).

a) F.92—93°.

IR  $\nu_{\max}^{\text{KBr}}$   $\text{cm}^{-1}$ : 2950, 2930, 2880, 1725, 1710, 1300, 1270, 1190, 1170, 1140, 1120, 1110, 1075, 1030, 1018.

RMN ( $\text{CDCl}_3$ , 60 MHz)  $\delta$ : 1.11 (3H, d), 3.30 (3H, s), 3.76 (3H, s), 4.67 (1H, d).

b) F.140—144°.

IR  $\nu_{\max}^{\text{KBr}}$   $\text{cm}^{-1}$ : 2950, 2930, 2880, 1720, 1300, 1265, 1225, 1150, 1115, 1085, 1040, 1025.

RMN ( $\text{CDCl}_3$ , 60 MHz)  $\delta$ : 1.04 (3H, d), 3.45 (3H, s), 3.76 (3H, s), 4.46 (1H, dd), 4.50 (1H, dd).

10) **Alcoxycarbonyl-6 hydroxy-9 méthoxy-3 diméthyl-5,9 oxa-2 bicyclo[4,4,0]décane (IX)**—On ajoute 200 ml de solution étherée contenant 520 mg de méthylate (VIII) dans 16 ml de la solution d'éther réfrigérée 0.19 M en  $\text{CH}_3\text{MgI}$  sous atmosphère d'azote.

Pendant une nuit, on l'agite à 0°, et puis on ajoute une solution saturée de chlorure d'ammonium pour déduire un l'excès du  $\text{CH}_3\text{MgI}$  excédentaire.

On sépare la couche d'éther, et puis on rassemble les solution d'éther avec lesquelles on extrait la couche aqueuse.

Après avoir séché la solution d'éther sur le sulfate de magnésium, on évapore l'éther, donnant le résidu qui est chromatographié sur colonne de gel de silice élué par: hexane: acétate d'éthyle=2:1. On obtient 365 mg (66.4%) du produit (IX).

IR  $\nu_{\max}^{\text{KBr}}$   $\text{cm}^{-1}$ : 3500, 2950, 1725, 1450, 1280, 1260, 1190, 1140, 1090, 1080, 1035.

RMN ( $\text{CDCl}_3$ , 60 MHz)  $\delta$ : 1.06 (3H, d), 1.17 (3H, s), 3.34 (3H, s), 3.70 (3H, s), 4.09 (1H, s), 4.49 (1H, dd), 4.75 (1H, dd).

11) **Acétoxy-3 alcoxycarbonyl-6 hydroxy-9 diméthyl-5,9 oxa-2 bicyclo[4,4,0]décane (XI)**—On dissout 60 mg (0.00023 mol) de (IX) dans l'anhydride acétique et on ajoute 20 mg d'Amberlyst-15 et on agite à température ambiante pendant 2 heures et demi.

On sépare l'Amberlyst-15 et on évapore l'anhydride acétique. On purifie le résidu par chromatographie sur couche mince donnant 40.6 mg (58.2%) de l'acétate (X). F.143—145°.

IR  $\nu_{\max}^{\text{KBr}}$   $\text{cm}^{-1}$ : 3500, 2950, 2920, 1720, 1275, 1250, 1230, 1215, 1200, 1085, 1025.

RMN ( $\text{CDCl}_3$ , 60 MHz)  $\delta$ : 1.05 (3H, d), 1.16 (3H, d), 2.10 (3H, s), 3.73 (3H, s), 4.47 (1H, d), 5.83 (1H, dd).

12) **Alcoxycarbonyl-6 diméthyl-5,9 oxa-2 bicyclo[4,4,0]décadiène-3,9 (XII)**—On thermolyse 400 mg (0.0012 mol) de la substance (XI) dans la sous 15 mmHg, à 220°. On purifie l'huile obtenue par chromatographie sur couche mince, et on obtient 73 mg (24.4%) du produit (XII).

En comparant le spectre de RMN, d'IR, et le chromatogramme sur couche mince de cette substance à ceux du témoin (XII) que Fujimoto *et al.*<sup>3)</sup> ont déjà synthétisé par l'autre procédé, toutes les valeurs sont indentiques.

IR  $\nu_{\max}^{\text{film}}$   $\text{cm}^{-1}$ : 2950, 2930, 1730, 1655, 1450, 1390, 1375, 1270, 1240, 1180, 1060.

RMN ( $\text{CDCl}_3$ , 60 MHz)  $\delta$ : 0.93 (3H, d), 1.20 (3H, d), 1.66 (3H, d), 3.97 (1H, d), 4.23 (1H, d), 4.36 (1H, d), 4.66 (1H, dd), 5.74 (1H, dd), 6.22 (1H, dd).

**Remerciement** Nous remercions le ministère des Sciences et de la Technologie du Japon qui a fourni une partie des fonds pour cette recherche.