

UTILISATION DES METHODES BIOLOGIQUES POUR LA PREPARATION DE SYNTHONS CHIRAUX :
 I-REDUCTION DE β -DICETONES ACYCLIQUES PAR SACCHAROMYCES CEREVISIAE (LEVURE DE BOULANGER)

Jean Bolte, Jean-Gabriel Gourcy et Henri Veschambre*

Laboratoire de Chimie Organique Biologique, U.A. 485 du C.N.R.S., Université de
 Clermont-II, B.P. 45, 63170 Aubière, France.

Summary : The reduction of acyclic β -diketones by baker's yeast gave ketols, in many cases with high optical purity. The reaction is easy to carry out and provides chiral molecules of high synthetic interest.

La réduction microbiologique des cétones est un procédé déjà ancien qui a permis d'obtenir de nombreux alcools chiraux avec une grande pureté optique¹. La réduction d' α -chloro et d' α -hydroxycétones a ensuite été étudiée et a conduit à des composés bifonctionnels chiraux². Enfin, la réduction de β céto-esters a fait l'objet récemment de nombreux travaux, tant pour son application à la synthèse de produits naturels³ que pour l'étude de la stéréochimie de la réaction⁴.

Dans la série des β -dicétones, seule la réduction microbiologique de β -dicétones cycliques non énolisables a été observée^{1,5}. Nous avons donc entrepris l'étude de la réduction microbiologique des β -dicétones acycliques énolisables. Nous décrivons dans cet article les résultats obtenus avec la levure de boulanger (*Saccharomyces cerevisiae*) ; la réaction conduit à des cétools, suivant le schéma ci-dessous :



- a - $\text{R}_1 = \text{R}_3 = \text{CH}_3$ $\text{R}_2 = \text{H}$
- b - $\text{R}_1 = \text{CH}_3$ $\text{R}_2 = \text{H}$ $\text{R}_3 = \text{C}_2\text{H}_5$
- c - $\text{R}_1 = \text{CH}_3$ $\text{R}_2 = \text{H}$ $\text{R}_3 = -(\text{CH}_2)_3\text{-CH} = \text{CH}_2$
- d - $\text{R}_1 = \text{R}_2 = \text{R}_3 = \text{CH}_3$
- e - $\text{R}_1 = \text{R}_3 = \text{C}_2\text{H}_5$ $\text{R}_2 = \text{H}$

Le protocole expérimental est le suivant : 200 g de levure de boulanger (marque Hiron-delle) sont mis en suspension dans 4 l d'une solution aqueuse de saccharose (30 g par litre). Le mélange est maintenu à 35°C et agité pendant toute la durée de la réaction. Après 30 mn, on ajoute 4 g de dicétone. Toutes les 24 heures, on ajoute 50 g de saccharose. Lorsque la réaction est terminée on filtre, le filtrat est saturé avec $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ et extrait à l'éther. Après séchage et évaporation du solvant, le résidu est étudié en chromatographie en phase gazeuse et le cétoï purifié par distillation ou par chromatographie sur colonne de gel de silice.

Les résultats obtenus sont rassemblés dans le tableau ci-dessous :

β -dicétones	Rdt ^a % $\underline{\underline{z}}$	$(\alpha)_J^{25}(\text{c}) \text{CHCl}_3$	e.e. %	configuration absolue
<u>1a</u>	90 ^b	+ 55° (0,05)	> 99	S (10)
<u>1b</u> (7)	100 ^c	+ 73° (0,09)	> 99	S
<u>1c</u> (7)	100 ^c	+ 58,5° (0,06)	> 99	S
<u>1d</u> (6)	30 ^b	+ 39,5° (0,06)	95	S
<u>1e</u> (8)	100 ^c	- 13,5° (0,08)	30	R

^aCalculé d'après l'analyse en chromatographie en phase gazeuse avant purification. ^bAprès 6 jours de réaction. ^cAprès 3 jours de réaction.

On constate dans tous les cas que la réaction a lieu avec un excellent rendement sauf pour 1d. On obtient un cétoï, nous n'avons jamais pu mettre en évidence la formation de diol.

La pureté optique a été déterminée pour chaque cétoï par chromatographie en phase gazeuse de la manière suivante : le cétoï obtenu est réduit en diol par NaBH_4 ⁹. Le mélange des diols est traité par l'isocyanate d'isopropyle en solution dans CH_2Cl_2 . Après évaporation de l'excès de réactif, le mélange des uréthanes est injecté sans purification sur une colonne capillaire chirale "Chrompak chirosil-L valine" de 25 m. Un essai témoin est réalisé avec le mélange des diols obtenus par réduction par NaBH_4 de la dicétone correspondante.

L'acétylacétone 1a est transformée en (+)(2S)-hydroxy-2-pentanone-4 2a déjà décrite¹⁰. 2a est obtenu avec une très grande pureté optique, l'analyse en CPV du pentanedioï obtenu par réduction chimique de 1a fait apparaître 3 pics dans les proportions 25/25/50. Les deux premiers sont attribués aux énantiomères, le troisième au dérivé *meso*. Pour l'analyse de 2a, si ce cétoï est optiquement pur, la réduction par NaBH_4 doit conduire à un mélange de 2 diols : un énantiomère (2S,4S) et le *meso* (2S,4R). C'est ce que l'on observe, l'isomère (2S,4S) étant celui des deux énantiomères qui a le plus long temps de rétention.

Dans le cas des dicétones 1b et 1c, la réaction est plus rapide: l'augmentation du caractère lipophile du substrat favorise la vitesse de réduction. Nous avons obtenu dans chaque cas le cétoï ayant la fonction alcool en position 2, c'est-à-dire l'hydroxy-2 hexanone-4 2b et l'hydroxy-2 oxo-4 nonène-8 2c. Aucune trace d'hydroxy-4 n'a été observée comme le montrent les spectres de RMN^{11,12}. Nous avons attribué la configuration S à ces deux cétoï pour les raisons suivantes : le pouvoir rotatoire de 2b et 2c est du même signe que celui de 2a ; l'analyse en CPV des diols obtenus par réduction chimique de 2b et 2c montre que nous n'obtenons qu'un seul pic dans la région des énantiomères RR et SS et que, comme pour 2a, il correspond à celui

des deux qui a le temps de rétention le plus long, c'est-à-dire SS. Il n'y a aucune trace de RR ce qui prouve la très grande pureté optique de 2b et 2c.

La méthyl-3 pentanedione-2,4 1d est réduite très difficilement : après 6 jours de réaction, on retrouve 70 % du produit de départ. On obtient un mélange de deux cétoles diastéréoisomères non séparables. L'analyse en CPV sur colonne chirale après réduction chimique en diols montre sans ambiguïté que la réduction par la levure a été stéréospécifique à plus de 95 %. Nous attribuons la configuration S au carbone portant la fonction hydroxyle pour les mêmes raisons que pour 2b et 2c. L'analyse du spectre de RMN de 2d¹³ nous a permis d'attribuer la configuration (2S,3R) au composé majoritaire (80 %) et (2S,3S) au minoritaire (20 %), les composés racémiques correspondants étant connus¹⁴. Le fait que nous obtenons les deux diastéréoisomères indique bien que la réduction est effectuée par une alcool déshydrogénase agissant sur le carbonyle et non par une énoate réductase réduisant la double liaison de la forme énoil¹⁵.

La dernière dicétone étudiée est l'heptanedione-3,5 1e. Elle est totalement transformée en trois jours en hydroxy-3 heptanone-5 2e comme le montre l'étude de son spectre de RMN¹⁶. Nous avons attribué la configuration R au carbone asymétrique pour les raisons suivantes : le signe du pouvoir rotatoire de 2e est inversé par rapport à celui des cétoles précédents ; l'application de la méthode de Horeau indique que l'alcool a la configuration R¹⁷ ; la réduction de 2e par NaBH₄ donne deux diols (dont un *meso*) présentant un pouvoir rotatoire négatif, or l'heptanediol-3,5 optiquement actif a été préparé, et les auteurs attribuent la configuration (3R,5R) au diol de pouvoir rotatoire négatif¹⁸. L'analyse chromatographique de ce diol sur colonne chirale permet de déterminer la pureté optique de 2e ; nous obtenons deux pics dans la région des énantiomères RR et SS, le pic le plus abondant est celui présentant le plus faible temps de rétention contrairement aux cétoles précédents. On observe une faible spécificité dans cette réduction : 30 % d'excès énantiomérique. Une telle inversion dans la stéréochimie de la réduction par les levures n'est pas inattendue et a déjà été observée dans le cas de la réduction des β-céto-esters du type R₁CO-CH₂-COOR₂ lorsqu'on fait varier R₁ et R₂¹⁹. En particulier, le propionylacétate d'éthyle conduit à l'alcool de configuration R alors que l'acétylacétate d'éthyle donne l'alcool S.

Ces résultats montrent que la réduction de dicétones acycliques permet de préparer très facilement des cétoles avec généralement une très grande pureté optique ; ces cétoles sont des synthons intéressants. En particulier, ils peuvent être réduits en diols optiquement purs en utilisant la méthode de Narasaka et coll.²⁰ ; ceux-ci sont les produits de départ de synthèse de composés naturels²¹ et en particulier de phéromones⁸.

Nous poursuivons actuellement nos recherches à la fois sur de nouvelles β-dicétones pour déterminer le champ d'application et la stéréochimie de la réaction et sur d'autres microorganismes (*Geotrichum candidum*, *Thermocanaerobium brockii*, *Clostridium spec. la 1*) afin d'obtenir les cétoles de la chiralité inverse ou directement des diols optiquement purs.

REFERENCES ET NOTES

1. Pour une revue récente voir : A. Kergomard, *Biotechnology*, Vol. 6a, Chap. 5, p. 127, Verlag Chemie, Weinheim, 1984.
2. V.E. Althouse, D.M. Feigl, W.A. Sanderson et H.S. Mosher, *J. Amer. Chem. Soc.*, 88, 3595, (1966)

- N. Spassky et J.P. Guette, Bull. Soc. Chim. Fr., 4217 (1972).
3. G. Frater, Helv. Chim. Acta, 62, 2825 (1979) ; Ibid, 62, 2829 (1979) ; K. Mori, Tetrahedron, 37, 1341 (1981) ; R.W. Hoffman, W. Helbig et W. Ladner, Tetrahedron Lett., 23, 3479 (1982) ; H. Anita, A. Furnichi, H. Koshiji, K. Korikoshi et T. Oishi, Ibid, 23, 4051 (1982) ; B. Zhou, A.S. Gopalan, F. van Middelsworth et W. Shich, J. Amer. Chem. Soc., 105, 5925 (1983).
 4. M. Hirama, M. Shimidzu et M. Iwashita, J. Chem. Soc. Chem. Comm., 599 (1983) ; K. Nakamura, K. Ushio, S. Oka et A. Ohuo, Tetrahedron Lett., 25, 3979 (1984) ; T. Fujisawa, T. Itoh et T. Sato, Ibid, 25, 5083 (1984) ; D.W. Brooks, N. Casto de Lee et R. Peeney, Ibid, 25, 4623 (1984) ; C. Fuganti, P. Grasselli, Ibid, 26, 101 (1985).
 5. D.W. Brooks, M. Mazdiyasmí et S. Chakrabarii, Tetrahedron Lett., 25, 1241 (1984).
 6. A.W. Johnson, E. Markham et R. Price, Org. Synth. Coll., Vol. V, J. Wiley and Sons, New-York p. 785, 1973.
 7. J.T. Adams et C.R. Hauser, J. Amer. Chem. Soc., 66, 1220 (1944).
 8. B. Kongkathip et N. Kongkathip, Tetrahedron Lett., 25, 2175 (1984).
 9. H. Gerlach et P. Kungler, Helv. Chim. Acta, 60, 638 (1977).
 10. T. Tanabe, Bull. Soc. Chem. Jap., 46, 2233 (1973).
 11. 2b, RMN ^1H (60 MHz, CDCl_3) δ ppm : 4,1 (s, 1H échangeable avec D_2O) ; 4,6 à 4 (m, 1H) ; 2,6 (d, 2H, J = 6 Hz) ; 2,6 à 2,2 (m, 2H) ; 1,20 (d, 3H, J = 6 Hz) ; 1,05 (t, 3H, J = 7 Hz).
 12. 2c, RMN ^1H (60 MHz, CDCl_3) δ ppm : 6,1 à 5,5 (m, 1H) ; 5,3 à 4,8 (m, 2H) ; 4,5 à 4,1 (m, 1H) ; 3,15 (s, 1H échangeable avec D_2O) ; 2,60 à 1,40 (m, 8H) ; 1,20 (d, 3H, J = 7 Hz).
 13. 2d, RMN ^1H (200 MHz, CDCl_3) δ ppm : 4,05 à 4,20 et 3,80 à 4 (m, 0,8 H et 0,2 H) ; 3,14 (s, échangeable avec D_2O) ; 2,45 à 2,60 (m, 1H) ; 2,21 (s, 3H) ; 1,08 à 1,24 (m, 6H).
 14. M. Santelli et J. Viala, Tetrahedron, 34, 2327 (1978).
 15. Des réductions de doubles liaisons de ce type ont été observées avec la levure de boulanger voir : H.G. Leuenberger, Helv. Chim. Acta, 59, 1832 (1976) ; C. Protiva, A. Cajek, T.O. Titek, B. Karac et M. Tadra, Colle. Czech. Chem. Comm., 30, 2236 (1961).
 16. 2e, RMN ^1H (60 MHz, CDCl_3) δ ppm : 4 (s, 1H échangeable avec D_2O) ; 4,1 à 3,7 (m, 1H) ; 2,7 à 2,2 (m, 4H) ; 1,6 à 1,2 (m, 2H) ; 1,1 à 0,9 (m, 6H).
 17. Cependant, la méthode de Horeau doit être utilisée avec prudence dans le cas, qui nous concerne, d'alcools du type $-\text{CH}_2-\text{CHOH}-\text{CH}_2-$. A. Horeau, Tetrahedron Lett., 21, 965 (1962).
 18. K. Ito, T. Harada et A. Tai, Bull. Soc. Chem. Jap., 53, 3367 (1980).
 19. C.J. Sih et C.S. Chen, Ang. Chem. Int. Ed., 23, 530 (1984) ; K. Mori, H. Mori et T. Sugai, Tetrahedron, 41, 919 (1985).
 20. K. Narasaka et F.C. Pai, Tetrahedron, 40, 2238 (1984).
 21. H. Gerlach et H. Wetter, Helv. Chim. Acta, 57, 2306 (1974).

(Received in France 14 May 1985)