

DETERMINATION DE LA CONFIGURATION ABSOLUE DE DIALKYL-1,2 *CIS* CYCLOPROPANES

APPLICATION À LA DÉTERMINATION DE LA CONFIGURATION ABSOLUE DE L'ACIDE LACTOBACILLIQUE*

J. F. TOCANNE†

Laboratoire de Chimie Biologique—Université Paul Sabatier—84, rue Saint-Michel
31-TOULOUSE (France)

(Received in France 5 July 1971; Received in the UK for publication 7 September 1971)

Résumé—Une méthode de détermination de la configuration absolue de dialkyl-1,2 *cis* cyclopropanes est décrite. La méthode repose sur l'oxydation chromique ménagée de ces composés en α -cyclopropylcétones susceptibles d'être reliées à des cétones du même type et de configurations absolues connues. Son application à l'acide lactobacillique permet de le considérer comme l'acide méthylène-11R, 12S octadécanoïque.

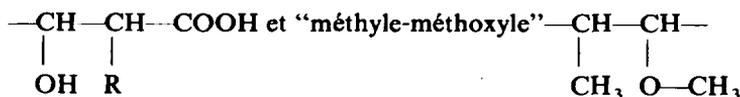
Abstract—A method for the determination of the absolute configuration of *cis*-1,2 dialkyl cyclopropanes is described. The method is based on a gentle chromic oxydation of these compounds into α -cyclopropylketones related to ketones of the same kind and of known configurations. Applying the method to lactobacillic acid gives it as 11R, 12S-methylene-octadecanoïque acid.

A CÔTÉ DES ACIDES gras saturés ou insaturés à chaîne normale, les lipides d'espèces bactériennes variées renferment des acides diversement ramifiés et en particulier des acides substitués par un ou plusieurs groupements cyclopropaniques: acide lactobacillique 1 (Tableau I) et ses homologues,^{2,3} acides mycobactériques,⁴ acides mycoliques du type 2, 3 et 4^{2,5,6,7} assimilables à des dialkyl-1,2 cyclopropanes dont la connaissance de la stéréochimie, au niveau du cycle, se limite actuellement à celle de leur configuration relative: *cis* pour tous les composés dont la structure chimique est bien déterminée. C'est le cas de l'acide lacto-bacillique 1³ et de quelques acides mycoliques.^{5,6}

Des acides du même type, mais de configuration *trans* n'ont pas encore été clairement identifiés.⁷

La configuration absolue de ces acides cyclopropaniques n'a pu être élucidée jusqu'à présent, faute en particulier d'une contribution mesurable des cycles à la rotation moléculaire de ces composés.

Ainsi, l'ester de méthyle de l'acide lactobacillique n'a pas de pouvoir rotatoire mesurable.^{2,3} De même, et bien que la situation soit plus complexe, nous avons pu montrer que dans les acides mycoliques, seuls les groupements "mycolique"



contribuent au pouvoir rotatoire de la molécule.⁶

* 26^{ème} communication sur la chimie des micro-organismes. 25^{ème} communication, voir¹

† Adresse actuelle: Biochemistry Laboratory, The State University of Utrecht, Vondellaan 26, Utrecht (The Netherlands)

Une telle situation interdit évidemment une corrélation de configuration du type classique par comparaison de pouvoirs rotatoires entre substances analogues.

Nous décrivons ici, les principes et les éléments d'une méthode de détermination de la configuration absolue de dialkyl-1,2 *cis* cyclopropanes, susceptible de conduire à la configuration absolue des acides gras cyclopropaniques mentionnés.

Son application à l'acide lactobacillique 1, extrait des lipides de *Brucella Melitensis*, nous permet de considérer cet acide comme l'acide méthylène-11 R, 12 S octa-décanoïque.

Principes de la méthode

Il est connu, et ceci est à la base de la méthode des différences de rotation moléculaire⁸ que dans une même molécule, les contributions à la rotation moléculaire de deux centres asymétriques peuvent être considérées comme indépendantes, pourvu que ces deux centres soient suffisamment distants et ne comportent pas de substituants capables d'interactions intra ou intermoléculaires du type liaison hydrogène. Les conséquences en série aliphatique normale que nous retiendrons pour cette étude sont les suivantes :

(a) Sur une chaîne aliphatique normale, les interactions entre deux centres ou deux groupes de centres d'asymétrie sont pratiquement nulles, si ils sont séparés par au moins cinq groupements méthylène.

(b) Pour un centre asymétrique donné (ou pour deux carbones asymétriques distincts) deux substituants alkyle peuvent être considérés comme équivalents, si les différences qui les affectent n'apparaissent, à partir du centre d'asymétrie concerné, qu'au delà d'un enchaînement de quatre à cinq unités méthyléniques.

(c) Enfin, les contributions à la rotation moléculaire de deux centres, ou de deux groupes de centres asymétriques situés sur deux chaînes aliphatiques distinctes sont égales, si l'identité de leur environnement concerne au moins quatre à cinq liaisons.

Les acides lactobacilliques 1 et mycoliques 2b (Tableau I) sont assimilables, comme nous l'avons signalé, à des cyclopropanes disubstitués en 1 et 2 par des radicaux alkyle de structures variées. Mais ces substituants, remarquons le, ne se distinguent les uns des autres, à partir des cycles, qu'au delà d'un enchaînement commun d'au moins cinq groupements méthyléniques.

Dans les limites des principes qui précèdent, la détermination de la configuration absolue de tels composés peut donc se réduire à l'étude de la stéréochimie de groupements cyclopropaniques, pris isolément et identifiables à des cyclopropanes disubstitués en 1,2 par des chaînes aliphatiques normales équivalentes.

La Fig. 1 résume cette proposition, les restes X et Y figurant à l'extrémité des chaînes polyméthyléniques rappelant simplement la disymétrie formelle des molécules plus complexes qui se trouvent à l'origine des structures réduites représentées.

Il faut remarquer que de telles structures, asymétriques si elles sont de configuration *trans*, peuvent être assimilées en revanche à des systèmes doués d'un plan de symétrie σ si elles sont de configuration *cis*, remarque justifiant, dans les limites des approximations effectuées, la non activité optique de ces cycles, dans les molécules d'acides gras étudiés.

Si, par une méthode chimique appropriée, il est possible de modifier l'un des substituants alkyle à proximité immédiate du cyclopropane, sans modifier l'autre substituant, la symétrie du système de configuration *cis* va disparaître et pour un

énantiomère donné, un pouvoir rotatoire sera alors induit et pourra être mesuré et comparé à celui d'un composé de structure analogue et de configuration absolue connue.

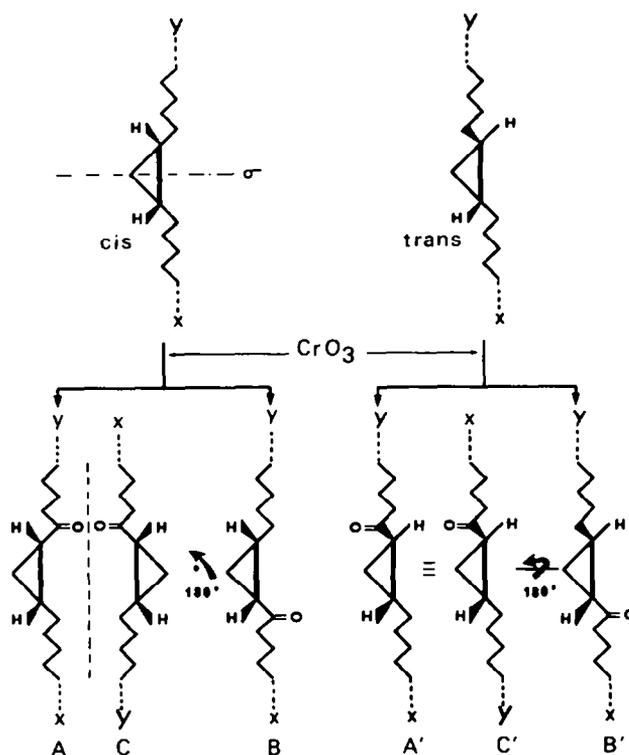


FIG. 1

Une méthode d'oxydation chromique ménagée mise au point au laboratoire⁹ qui, dans la série des hydrocarbures cyclopropaniques, permet de substituer un groupement méthylène en α du cyclopropane par un groupement carbonyle, fournit une solution élégante au problème posé.

D'une façon générale, à partir de dialkyl-1,2 cyclopropanes de configuration *cis* ou de configuration *trans*, l'oxydation qui s'effectue indifféremment sur l'un ou l'autre des méthylènes en α du cycle, sans affecter la stéréochimie de ce dernier,⁹ conduit à un mélange équimoléculaire de mono α -cyclopropylcétones de mêmes configurations relatives: cétones A et B de configuration *cis*, cétones A' et B' de configuration *trans*, telles qu'elles sont décrites dans la Fig. 1.

Avec le mode de projection utilisé dans cette figure—et dans les limites des structures réduites envisagées ci-dessus—it est clair, par l'intermédiaire de la projection C, produit d'un retournement de la projection B d'un angle de 180° dans le plan, que les cétones de configuration *cis* A et B sont images l'une de l'autre dans un miroir, tandis que, par l'intermédiaire de la projection C', issue d'un retournement de 180° , mais hors du plan, de la projection B', les cétones de configuration *trans* A' et B' sont superposables.

L'équivalence des cétones de configurations *trans* se traduit par l'identité de leur signe de pouvoir rotatoire et, en fonction de ce qui précède, par la quasi identité des amplitudes de ce dernier. Il est donc possible d'étudier la stéréochimie de tels composés, sans qu'il soit nécessaire de les séparer ni de les identifier par la position relative des groupements cyclopropyle et carbonyle sur la chaîne polyméthylénique.

En revanche, la relation antipodale qui apparaît entre les deux cétones de configuration *cis* A et B rend indispensable leur séparation et leur identification pour l'étude de leur stéréochimie.

Bien qu'équivalentes sur le plan stéréochimique, les cétones α -cyclopropaniques dérivées de composés d'origine naturelle présentent en général des disymétries de structure chimique suffisantes pour permettre leur séparation à l'aide des méthodes chromatographiques habituelles.

L'identification des cétones de configuration *cis* peut être réalisée soit par l'analyse de leur spectre de masse,¹⁰ soit en utilisant la propriété qu'ont ces cétones de se réarranger thermiquement en cétones γ,δ -éthyléniques,¹¹ dégradables par oxydation¹² en acide gras normaux aisément identifiables par chromatographie en phase vapeur.

La méthode qui se dégage ainsi et que nous proposons pour établir la configuration absolue de dialkyl-1,2 *cis* cyclopropanes naturellement non actifs mais énantiomériquement purs, repose donc dans son principe sur la transformation de ces composés, par oxydation chromique ménagée, en cétones α -cyclopropaniques optiquement actives, la corrélation de configuration pouvant être achevée par référence à une série de cétones analogues de configurations connues dont nous publions par ailleurs la synthèse et la corrélation de configuration.¹³

Application à la détermination de la configuration absolue de l'acide lactobacillique 1

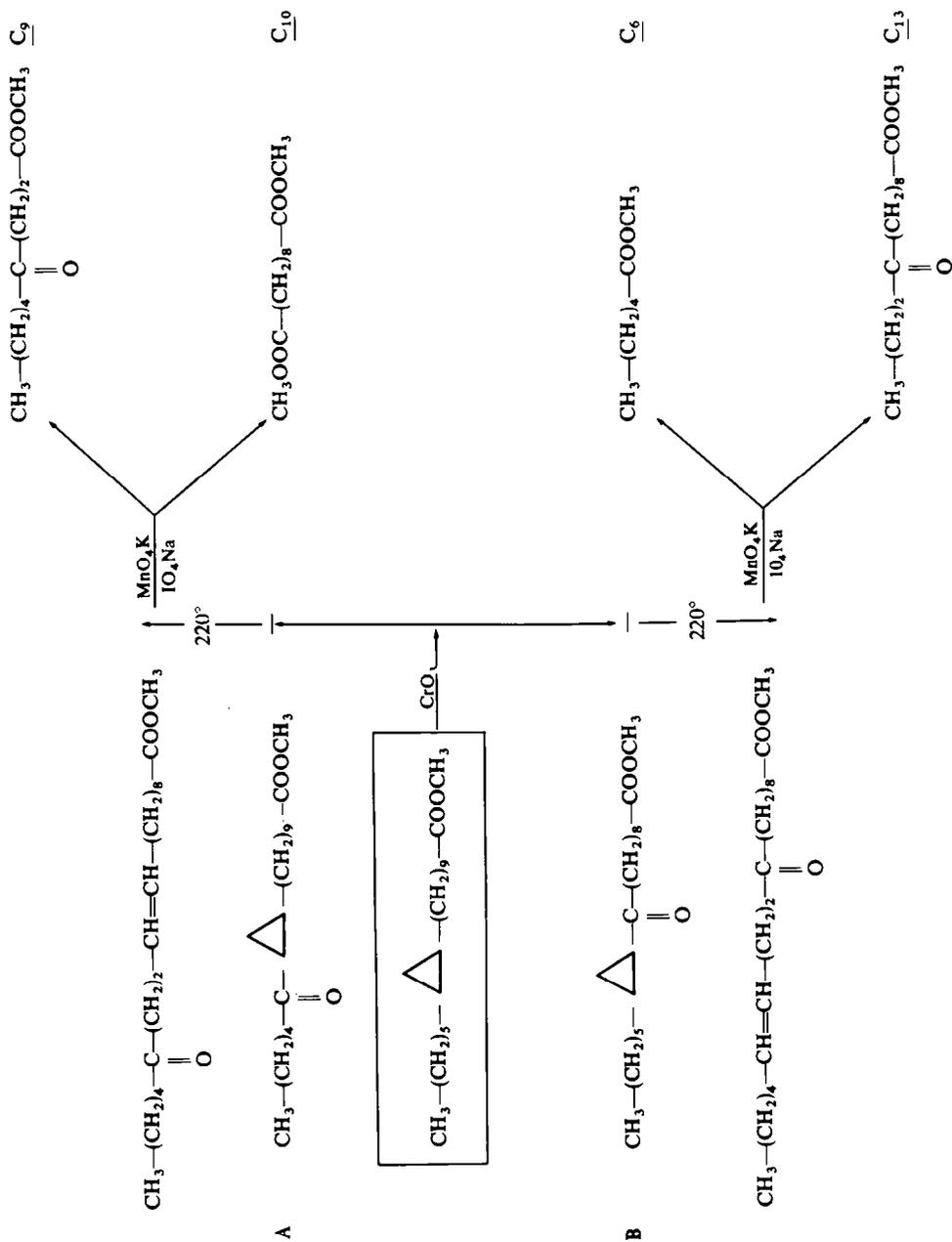
Matériel. L'échantillon d'acide lactobacillique que nous avons utilisé provient de la saponification des phospholipides de *Brucella Melitensis*.

Nous l'avons purifié (à l'état d'ester) par une première chromatographie sur alumine suivie d'un traitement au permanganate de potassium dans l'acétone bouillant afin d'éliminer l'acide vaccénique, acide insaturé correspondant à l'acide lactobacillique. Une inclusion dans l'urée, dans le solvant MeOH-EtOAc 1/1, permet de précipiter les esters gras normaux, la fraction extraite du surnageant fournissant, après une dernière purification sur couche mince préparative sur gel de silice permet d'isoler deux bandes correspondant aux cétones α -cyclopropaniques analytique sur couche mince de gel de silice et en chromatographie en phase vapeur, (pureté supérieure à 98%) dont les caractéristiques chromatographiques et spectroscopiques (en infrarouge) sont identiques à celles décrites pour un même ester extrait de la même souche bactérienne et dont la structure, correspondant à la formule 1 (Tableau I) a été déterminée au laboratoire.³

L'échantillon de lactobacillate de méthyle que nous avons ainsi isolé (0.125 g à partir de 0.4 g du produit brut de saponification des phospholipides de départ) n'a pas de pouvoir rotatoire mesurable ($[M]_D = 0^\circ$).

Ce composé, dans sa totalité, a été soumis à l'oxydation chromique selon la technique déjà décrite.^{9,13} Une chromatographie préparative sur couche mince de gel de silice permet d'isoler deux bandes correspondant aux cétons α -cyclopropaniques recherchés dont sont extraits:

TABLEAU II



de la première: 0.020 g de cétone A $[\alpha]_D = +23.4^\circ$ $[M]_D = +75^\circ$ ($c = 0.2$ éther) $\Delta\epsilon_{\max} = +0.51$ (iso-octane), homogène en chromatographie analytique sur couche mince de gel de silice et en chromatographie en phase gazeuse.

de la seconde: 0.030 g de cétone B $[\alpha]_D = -17^\circ$ $[M]_D = -55^\circ$ ($c = 0.3$ éther), homogène en chromatographie en phase vapeur mais accompagnée, comme le montre la chromatographie analytique sur couche mince de gel de silice, de 15% environ de la cétone A.

Le spectre IR de ces composés est conforme à la structure attendue: bandes cyclopropaniques à 3030 cm^{-1} et à 1020 cm^{-1} ; bandes carbonyle du groupement ester à 1735 cm^{-1} et de la fonction cétone en α du cyclopropane à 1700 cm^{-1} .

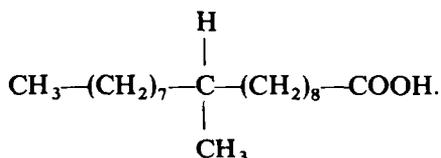
Ces cétones ont été identifiées au moyen du procédé chimique indiqué dans la première partie et résumé pour ces dernières dans le Tableau II, en utilisant une technique expérimentale dont les détails sont donnés par ailleurs.¹³ A la fraction A correspond deux pics voisins en chromatographie en phase gazeuse, identifiables à l'ester cétonique en C_9 et au diester en C_{10} du Tableau II. La fraction B est caractérisée par un pic très prépondérant correspondant au diester cétonique en C_{13} , accompagné d'un faible pourcentage (15% environ) de deux pics plus légers superposables aux pics des esters en C_9 et en C_{10} de la fraction A. Cette analyse permet donc d'attribuer sans ambiguïté la formule A, Tableaux II et III, au cétoester correspondant à la fraction $[M]_D = +75^\circ$ $\Delta\epsilon_{\max} = +0.51$.

TABLEAU III

	Rotations (éther) $[M]_D$	Dichroïsme circulaire (iso-octane) λ_{\max} (nm) $\Delta\epsilon$
$\begin{array}{c} \text{CrO}_3 \\ \text{CH}_3-(\text{CH}_2)_5-\overset{\overset{\text{H}}{\text{12}}}{\underset{\text{S}}{\text{C}}}-\overset{\overset{\text{H}}{\text{11}}}{\underset{\text{R}}{\text{C}}}-\text{CH}_2-\text{COOCH}_3 \end{array}$	~ 0	
$\begin{array}{c} \text{B} \\ \text{CH}_3-(\text{CH}_2)_5-\triangle-\overset{\overset{\text{R}}{\text{C}}}{\underset{\text{O}}{\parallel}}-\text{COOCH}_3 \\ \text{S} \end{array}$		
$\begin{array}{c} \text{A} \\ \text{CH}_3-(\text{CH}_2)_4-\overset{\overset{\text{O}}{\parallel}}{\text{C}}-\triangle-\text{COOCH}_3 \\ \text{S} \quad \text{R} \end{array}$	$+75^\circ$	288 $+0.51$
$\begin{array}{c} \text{CH}_3-(\text{CH}_2)_4-\overset{\overset{\text{O}}{\parallel}}{\text{C}}-\triangle-\text{COOCH}_3 \\ \text{S} \quad \text{R} \end{array}$	$+70^\circ$	287 $+0.34$

Résultats et discussion. Le Tableau III résume la corrélation de configuration qu'il est possible d'effectuer (en vertu des principes énoncés dans la première partie) en reliant la cétone A à la tétradécyl-2R cyclopropyl-1 S(pentyl) cétone,¹³ corrélation qui nous permet de considérer l'acide lactobacillique comme l'acide méthylène-11 R, 12 S octadécanoïque ou méthylène-11 D, 12 D octadécanoïque.

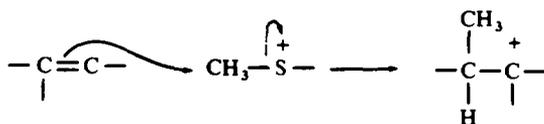
Sur le plan biogénétique, cet acide est à rapprocher de l'acide tuberculostéarique :



En effet, on a pu montrer que le groupement méthylène du cyclopropane de l'acide lactobacillique, comme le groupement méthyle en 10 de l'acide tuberculostéarique* proviennent de la S-adénosylméthionine par un mécanisme de C-méthylation ayant pour substrat les acides insaturés de configuration *cis* correspondants: respectivement les acides vaccéniques et oléiques.¹⁴

Il a été démontré par ailleurs que l'acide tuberculostéarique est de configuration D.²

L'identité des configurations absolues de ces deux acides que nous mettons ainsi en évidence, n'est pas contradictoire avec l'hypothèse qui a été avancée d'une voie biosynthétique commune jusqu'à un ion carbonium intermédiaire:¹⁴



Sur un plan plus général, les bactéries ne sont pas les seules à fournir des exemples de dérivés du cyclopropane. Citons le présqualène 5 (Tableau I) identifié comme intermédiaire dans la synthèse du squalène¹⁵ ou le gorgostérol 6, stérol d'origine marine¹⁶ ou bien encore le dictyoptérène B⁷ hydrocarbure cyclopropanique extrait d'algues du genre *Dictyopteris*,¹⁷ composés d'un intérêt biologique considérable, connus jusque dans leur configuration absolue et qui, remarquons le, diffèrent des acides gras d'origine bactérienne étudiés tant par le degré de substitution du cyclopropane, que par la configuration relative des substituants.

Le rôle que peut jouer le cyclopropane dans ces divers composés est encore mal compris.

Dans le cas plus particulier des acides gras cyclopropaniques qui nous intéressent, il a été suggéré, lors d'une étude de croissance à température variable de *Escherichia coli* (souche sauvage K₁₂) que ces bactéries stabiliseraient leurs acides insaturés en les convertissant en acides cyclopropaniques correspondants.¹⁸

* Précisons que dans ce composé, deux seulement des hydrogènes du groupement méthyle proviennent de la méthionine¹⁴

REFERENCES

- ¹ C. Lacave, J. C. Promé, J. Asselineau, J. Roux et A. Serre, *C.R. Acad. Sci. Paris*, **270**, Ser. D 2380 (1970)
- ² J. Asselineau, *The Bacterial Lipids*, Herman, Paris (1966)
- ³ O. W. Thiele, C. Lacave et J. Asselineau, *European J. Biochem.* **7**, 393 (1969)
- ⁴ J. C. Promé, C. Asselineau et J. Asselineau, *C.R. Acad. Sci. Paris* **263** Ser. C 448 (1966)
- ⁵ C. Asselineau, H. Montrozier et J. C. Promé, *Bull. Soc. Chim.* 592 (1969)
- ⁶ C. Asselineau, G. Tocanne et J. F. Tocanne, *Ibid.* 1455 (1970)
- ⁷ D. E. Minnikin et N. Polgar, *Chem. Comm.* 1172 (1967)
- ⁸ E. L. Eliel, *Stereochemistry of Carbon Compounds*. McGraw-Hill, New York (1962)
- ⁹ C. Asselineau, H. Montrozier et J. C. Promé, *Bull. Soc. Chim.* 1911 (1969)
- ¹⁰ J. C. Promé, *Ibid.* 655 (1968)
- ¹¹ R. M. Roberts et R. G. Landolt, *J. Am. Chem. Soc.* **87**, 2281 (1965)
- ¹² R. U. Lemieux et E. von Rudloff, *Can. J. Chem.* **33**, 1701 (1955)
- ¹³ J. F. Tocanne et R. G. Bergman, *Tetrahedron* **28**, 373 (1972)
- ¹⁴ E. Lederer, *Quart. Rev.* **23**, 453 (1969)
- ¹⁵ L. J. Altman, R. C. Kowerski et H. C. Rilling, *J. Am. Chem. Soc.* **93**, 1782 (1971)
- ¹⁶ N. C. Ling, R. L. Hale et C. Djerassi, *Ibid.* **92**, 5281 (1970)
- ¹⁷ J. A. Pettus et R. E. Moore, *Chem. Comm.* 1093 (1970)
- ¹⁸ C. W. M. Haest, J. De Gier et L. L. M. van Deenen, *Chem. Phys. Lipids* **3**, 413 (1969)