

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية  
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي  
Ministère de l'enseignement supérieur et de la recherche scientifique

UNIVERSITÉ BADJI MOKHTAR  
- ANNABA -



جامعة باجي مختار-عنابة  
Année / 2019

Faculté des sciences  
Département de chimie

## THÈSE

Présentée en vue de l'obtention du diplôme de Doctorat en sciences.

Option : Chimie Organique

## THÈME

*Nouvelles voies d'accès aux briques moléculaires chirales par la déraccémisation biocatalytique via des processus éco-compatibles.*

Présentée par : M<sup>me</sup> Nabila BRAIA

M <sup>me</sup> ARIBI-ZOUIOUECHE	Louisa	Directrice de thèse	Professeur	U.B.M. Annaba
----------------------------------	--------	---------------------	------------	---------------

Devant le jury :

M <sup>me</sup> ZEROR	Saoussen	Présidente	Professeur	U.B.M. Annaba
-----------------------	----------	------------	------------	---------------

M <sup>er</sup> TOFFANO	Martial	Examineur	Chargé de Recherche Habilitation (HDR)	U. de Paris-Sud XI
-------------------------	---------	-----------	---	--------------------

M <sup>me</sup> SAIDI-BESBES	Salima	Examinatrice	Professeur	U. Oran 1
------------------------------	--------	--------------	------------	-----------

M <sup>me</sup> ZAGHDOUDI-DJAZI	Rachida	Examinatrice	Professeur	U. Skikda.
---------------------------------	---------	--------------	------------	------------

Mme GUEZANE LAKOUD	Samia	Examinatrice	M.C. A	U.B.M. Annaba
--------------------	-------	--------------	--------	---------------

## ملخص

### العنوان : طرق جديدة للحصول على جزيئات كيرالية، بواسطة ضد-الراسيمية المحفزة بيولوجيا عن طريق عمليات ملائمة إيكولوجيا.

في العمل المقدم في هذه الأطروحة، اهتمنا بتطوير طرق محفزة ذات فعالية معتبرة باستعمال الفصل الحركي الأنزيمي لراسيمات من أجل الحصول على مركبات كيرالية.

في القسم الأول من هذا العمل، قمنا بتطبيق الطريقة مستحدثة للحلمة باستعمال  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  و لبياز الكانديدا أنتاركتيكا (CAL-B) على مركبات راسيمية ذات أهمية عالية في مجالات عدة باستعمال الفصل الحركي الأنزيمي. إن حلمة أسيتات 3- (1-هيدروكسي إيثيل) فينيل تمت في وسط عضوي تحت شروط ميسرة باستعمال  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  و CAL-B. المتماكبات الضوئية للمركب 3- (1-هيدروكسي إيثيل) فينول، التي تعتبر النواة الأساسية لاصطناع بعض الأدوية: (S)- ريفاستيغمين و-(R) فينيلفرين، تم الحصول عليهما على درجة عالية من النقاوة الضوئية. كما قمنا بدراسة طريقتين أخريين انزع الأسيل و ذلك بهدف المقارنة، الأولى باستعمال الميثانول والثانية باستعمال  $\text{NEt}_3$ . إضافة إلى ذلك قمنا بدراسة تفاعل الأسيلة للمركب. بعد ذلك، قمنا بتطبيق عملية ضد-الراسيمية على مجموعة من الأسيتات الحلقية المعطرة الغير متجانسة عن طريق تفاعل الحلمة القلوية مدموج مع عملية عكس البنية الفراغية باستعمال تفاعل متسونوبو. إن الفصل الحركي الأنزيمي باستعمال  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  و CAL-B في وسط عضوي تم بنجاح على درجة عالية من الإنتقائية ( $E > 200$ ). الكحولات الناتجة و الأسيتات المتبقية تم الحصول عليهم على درجة عالية من الإنتقائية الضوئية  $ee > 99\%$  بمعدل تحول  $C = 50\%$ . إن عملية ضد-الراسيمية لمختلف الأسيتات من الحصول عليهم على درجة عالية من الإنتقائية الضوئية  $92\% < ee < 88\%$  و بمردود كيميائي أكبر من 80%.

في القسم الثاني من هذا العمل، قمنا بتناول تطوير طريقة جديدة لإصطناع مركبات مستحدثة عن طريق الأسيلة المحفزة بواسطة الليبازات لأندريد الإتاكونيك، جزيئة متوافرة مستخلصة من البيوماس و ذلك باستعمال مجموعة من الكحولات. تم اصطناع وحدات مونومير جديدة بمردود معتبر عن طريق الأسيلة الرجيوإنتقائية لأندريد الإتاكونيك باستعمال لبياز البسودوموناس سيباسيا و مجموعة من الكحولات، الأولية و الثانوية تحت ظروف ملائمة إيكولوجيا. تحصلنا على ريجيوإيزومير غالب (90%-99%) مع كل الكحولات. في حالة الأندانول و الأستونفتول تم تسجيل إنتقائية عالية و معدل تحول ما بين 45% و 50%.

**الكلمات الدالة:** الفصل الحركي الأنزيمي - عملية ضد-الراسيمية- الحلمة القلوية- ديول - الأسيتات الحلقية المعطرة الغير متجانسة- أندريد الإتاكونيك-

## RÉSUMÉ

### **Titre : Nouvelles voies d'accès aux briques moléculaires chirales par la déracémisation biocatalytique via des processus éco-compatibles**

Dans ce travail de thèse, nous nous sommes intéressés au développement de systèmes catalytiques efficaces en utilisant le dédoublement cinétique enzymatique de racémiques pour accéder à des briques moléculaires chirales. Dans un *premier volet*, nous avons appliqué la nouvelle réaction d'hydrolyse alcaline avec  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  et la lipase de *Candida antarctica* (**CAL-B**) sur des molécules racémiques d'intérêt potentiel pour divers domaines. L'hydrolyse du **3-1-3-(hydroxy phényl) éthyle-acétate** est menée en milieu organique dans des conditions douces avec la **CAL-B** et  $\text{Na}_2\text{CO}_3$ . Les énantiomères (*S*) et (*R*) du 3-(1-hydroxyéthyl)phénol, intermédiaires clés respectifs pour la synthèse de médicaments: (*S*)-Rivastigmine et (*R*)-phényléphrine sont obtenus énantio-purs par cette nouvelle approche. D'autres modes de désacylation sont comparés: l'alcoolyse avec le MeOH et avec  $\text{NEt}_3$ . L'acylation de 3-(1-hydroxyéthyl) phénol avec de l'acétate de vinyle est également examinée. Ensuite, un processus de déracémisation est appliqué sur une série d'acétates hétéro aromatiques en utilisant la réaction d'hydrolyse alcaline enzymatique combinée à une stéréoinversion *via* la réaction de Mitsunobu. Le DC par hydrolyse avec la **CAL-B** et  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  en milieu organique est hautement sélectif ( $E > 200$ ), les alcools produits et les acétates résiduels sont obtenus avec des  $ee > 99\%$  à une conversion de  $C = 50\%$ . Après déracémisation les différents acétates sont obtenus avec des rendements supérieurs à  $88\%$  et des excès énantiomériques élevés ( $88\%-92\% ee$ ).

Le *second volet de ces travaux de thèse* aborde la mise en œuvre d'une nouvelle méthode de synthèse de molécules biosourcées fonctionnalisées par acylation enzymatique en utilisant l'anhydride itaconique, molécule est abondamment disponible à partir de la biomasse avec divers alcools. De nouveaux monomères bio-dérivés sont obtenus avec de bons rendements par acylation régiosélective de l'anhydride itaconique avec la lipase de *Pseudomonas cepacia* (**PCL**) en utilisant des alcools primaires et secondaires dans des conditions éco-compatibles. Un régioisomère majoritaire est obtenu pour tous les alcools étudiés. Dans le cas de l'*indan-1-ol* et de l'*acétophén-1-ol* de hautes sélectivités  $E > 200$  avec des conversions élevées  $45\% < C < 51\%$  sont obtenues.

**Mots clés** : Dédoublement cinétique enzymatique, Deracémisation, Hydrolyse alcaline, Diol; hétéro aromatique, anhydride itaconique.

## ABSTRACT

**Title :Novel pathways to chiral building blocks by means of biocatalytic deracemization via ecocompatible processes.**

In this thesis work, we were interested to the development of efficient catalytic systems enzymatic kinetic resolution of racemates to accede to chiral building blocks.

In a first part, we have applied the novel alkaline hydrolysis with  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  and the *candida antarctica lipase* (**CAL-B**) to a set of racemic molecules of potential interest in various area the hydrolysis of **1-3-(hydroxy phenyl) ethyl-acetate** was performed in organic media, under mild conditions with  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  and the **CAL-B**. The enantiomers of 3- (1-hydroxyethyl) phenol (*R*) and (*S*), key intermediates for the synthesis of drugs such as: the (*S*)-Rivastigmine and (*R*)-Phenylephrine were obtained enantiopures using the described new approach. Two other deacylation reactions are compared: alcoholysis with MeOH and in the presence of  $\text{NEt}_3$ . The acylation of 3- (1-hydroxyethyl) phenol with the vinyl acetate is, also, examined. Next, a deracemization procedure was applied to heteroaromatic acetates, exploiting the enzymatic-alkaline hydrolysis combined to a stereoinversion *via* the Mitsunobu protocol. The KR by means of the hydrolysis with  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  and the **CAL-B** in organic media was highly selective ( $E > 200$ ), the furnished alcohols and the remained acetates were recovered with  $ee > 99\%$  at  $C = 50\%$  conversion. After deracemization, the several acetates **are obtained** at high enantiomeric excesses ( $88\% < ee < 92\%$ ) with a good isolated yields (up to 80%).

In a second part, we have discussed the development of new methodology to accede to bio-sourced functionalized molecules *via* enzymatic acylation of itaconic anhydride, molecule available issue from the biomass using several alcohols. a new bio-derived monomers was obtained at high isolated chemical yields by the way of a regioselective acylation of the itaconic anhydride with the *Pseudomonas cepacia lipase* (**PCL**) under eco-compatible conditions. The major regioisomer was obtained (90-99%) with all the studied alcohols. In the cases of Indan-1-ol and acetophe-1-ol a high selectivities  $E > 200$  at a conversion varied between 45% and 50% was recorded.

**Keywords:** Enzymatic Kinetic resolution, Deracemization, Alkaline hydrolysis , Diol; , Hetero-aromatics, itaconic anhydride.

## *Dédicaces*

*A la mémoire de Mon père.*

*A Ma mère.*

*A Mon mari, Mes enfants,*

*A Mes frères, Mes sœurs.*

## Remerciements

L'ensemble de ces travaux a été effectué au sein du Laboratoire de Catalyse Asymétrique Eco-compatible (*L.C.A.E*), Université Badji Mokhtar d'Annaba entre **2013** et **2019** sous la direction de Madame la Professeure **Louisa ARIBI-ZOUIOUECHE**.

Mes premiers mots de remerciements vont vers la directrice de ma thèse de doctorat, la Professeure **Louisa ARIBI-ZOUIOUECHE**, pour m'avoir permis de travailler sur un thème de recherche riche et passionnant, pour sa disponibilité, ses conseils et sa patience. Madame, je tiens à vous exprimer ma profonde gratitude et toute ma sympathie. Je vous suis très reconnaissante de me faire découvrir la biocatalyse. Merci de votre investissement constant, pour les discussions scientifiques que nous avons pu avoir et enfin la confiance que vous m'avez accordée.

Je tiens à exprimer également, ma profonde gratitude à Mr. le Chargé de Recherche **Martial TOFFANO** pour son accueil chaleureux et son aide durant mes stages à « *l'institut de Chimie Moléculaire et des Matériaux d'Orsay Catalyse Moléculaire Université Paris-Sud* », que m'ont été accordés par l'Université Badji Mokhtar-Annaba.

Je remercie madame **Saoussen ZEROR**, Professeure de l'enseignement supérieur de l'Université Badji Mokhtar- Annaba, d'avoir accepté de présider le jury de cette thèse.

Je tiens aussi à exprimer mes remerciements aux membres du jury : Madame **Rachida ZAGHDOUDI-DJAZI**, Professeur de l'enseignement supérieur de l'université 20 Août 1955 Skikda, Madame, **Salima SAIDI-BESBES**, Professeur de l'enseignement supérieur de l'université des sciences et de la technologie- Mohamed Boudiaf- Oran et madame **Samia GUEZANE LAKOUD**, Maître de conférences classe A de l'Université Badji Mokhtar-Annaba, d'avoir accepté de juger ce travail de thèse, et pour leurs remarques et leurs suggestions intéressantes. Veuillez accepter mes plus vifs remerciements pour votre participation à ce jury et soyez assurés de tout mon respect.

J'ai le plaisir de remercier également ma collègue et ma sœur Professeur **M<sup>me</sup> Mounia MERABET-KHELASSI** pour son amitié et sa gentillesse, ainsi que tous les membres du

laboratoire (*L.C.A.E*), leur grand soutien et tous les passionnants moments que nous avons partagés.

Un grand merci à **Emilie Kolodziej** pour la formation en HPLC et pour toute son aide.

Merci à tous ceux qui m'ont soutenue durant toutes ces longues années d'études et de recherches.

<b>Tableau</b>	<b>Titre</b>	<b>Page</b>
<i>1</i>	Effet de solvant dans l'hydrolyse alcaline du diacétate 1 catalysée par la <i>CAL-B</i> .	<b>86</b>
<i>2</i>	Influence du carbonate de sodium sur l'hydrolyse enzymatique du <b>diacétate 1</b>	<b>87</b>
<i>3</i>	Influence de la quantité de la <i>CAL-B</i> sur l'hydrolyse enzymatique du <b>diacétate 1</b>	<b>88</b>
<i>4</i>	<i>Rendements chimique des alcools et acétates racémiques</i>	<b>104</b>
<i>5</i>	<i>Hydrolyse enzymatique des acétates racémique 4a-10a.</i>	<b>106</b>
<i>6</i>	Déracémisation chimioenzymatique des acétates racémique <b>4a-10a</b>	<b>110</b>
<i>7</i>	les substrats de l'étude.	<b>123</b>
<i>8</i>	Acylation de l'Alt avec l'alcool iso-amylique avec des lipases.	<b>126</b>
<i>9</i>	L'acylation de l'anhydride itaconique par différents alcools primaires avec la lipase <i>PCL</i> .	<b>128</b>
<i>10</i>	Acylation de l'Alt par des alcools secondaires avec la lipase <i>PCL</i> .	<b>134</b>
<i>11</i>	<i>Dédoublment cinétique par la PCL d'alcools secondaires avec l'Alt.</i>	<b>136</b>

<b>Figure</b>	<b>Titre</b>	<b>Page</b>
1	Schématisation de la "chiralité".	1
2	Dépendance activité biologique/ stéréochimie d'une molécule médicamenteuse.	2
3	Taux de croissance des molécules chirales durant la période 2005-2020.	4
4	Modification du profil énergétique d'une réaction par la catalyse	10
5	Structure des enzymes	18
6	Fréquence de l'utilisation des enzymes hydrolytique dans les biotransformations	21
7	Variation des excès énantiomériques (ees et eep) en fonction de la conversion.	30
8	Règle de Kazlauskas.	31
9	Principe de désymétrisation.	50
10	Rendements chimiques théoriques lors d'un processus de dédoublements répétés.	60
11	Rendements chimiques théoriques lors d'une racémisation par oxydoréduction cyclique.	69
12	Intérêt des énantiomères du 3- (1-hydroxyéthyl) phénol	79
13	Structure tridimensionnelle de la CAL-B	83
14	Différentes routes de résolution cinétique enzymatique du rac-1.	84
15	Chromatogrammes des approches acylation/déacylation	92
16	flavanoïdes et chromanoïdes d'activité biologique.	96
17	Molécules d'intérêt à base de furane et de thiofurane	97
18	Chromatogrammes des énantiomères produits en hydrolyse enzymatique du rac-4a et rac-5a	108
19	chromatogrammes après Déracémisation chimioenzymatique des acétates racémiques 4a, 5a, 6a.	112
20	Intérêt de l'acide itaconique	116
21	Spectre RMN <sup>1</sup> H du mono-isoamylitconate	127
22	Rayons X des esters acides 11a, 16a et 19a	131
23	Spectre RMN <sup>1</sup> H du Mono 4-indanyl Itaconate.	133

Schéma	Titre	Page
1	<i>Production de la (L)-DOPA, procédé de Monsanto</i>	12
2	<i>Production de méthyl-carbapénèmes</i>	12
3	<i>Hydroformylation énantiosélective catalysée par le Rhodium</i>	13
4	<i>Production de la vitamine D</i>	14
5	<i>Production de la Saviaspéranol</i>	14
6	<i>Des molécules biologiquement actives synthétisées par la cyclo- isomérisation</i>	15
7	<i>Procédé technique de la synthèse du tétrahydrolipostatine</i>	16
8	<i>Réduction énantiosélective dans l'eau de cétones aromatiques</i>	16
9	<i>Etapas de la réaction enzymatique.</i>	19
10	<i>Mécanisme réactionnel de la triade catalytique</i>	22
11	<i>DC lipasique de Ketorolac</i>	23
12	<i>DC enzymatique par hydrolyse d'acétate de FOP.</i>	23
13	<i>Synthèse du(S)-1-(2,6-dichloro-3-fluorophényl) éthanol via un DCE.</i>	24
14	<i>Synthèse de la (S)-Rivastigmine en passant par un DCE</i>	24
15	<i>Procédure de dédoublement par diastéréoisomères</i>	27
16	<i>Principe de dédoublement cinétique.</i>	28
17	<i>Etapas de la réaction enzymatique..</i>	28
18	<i>Acylation énantiosélective du 1(-5nitro-1H-indol-1-yl)propan-2-ol.</i>	32
19	<i>hydrolyse enzymatique de Morita-Baylis-Hillman acétates.</i>	33
20	<i>Transestérification enzymatique de 1-hétéroaryléthanol racémique</i>	33
21	<i>Acylation lipasique d'alcools alléniques.</i>	34
22	<i>Hydrolyse enzymatique des acétates secondaires avec la lipase Burholderia Cepacia</i>	34
23	<i>Acylation lipasique d'un alcool ferrocényl primaire à chiralité planaire.</i>	35
24	<i>Hydrolyse lipasique d'un acétate hétérocyclique : Effet du co-solvant.</i>	36
25	<i>Transestérification enzymatique de (+/-) 3-hydroxy-3-(2- thienyl)propanenitrile</i>	37
26	<i>Transestérification enzymatique d'alcools secondaire par l'anhydride ionique 2.</i>	37
27	<i>Aminolyse enzymatique d'ester mandelique</i>	38
28	<i>Influence de la température sur la réaction de transestérification enzymatique</i>	38
29	<i>Réaction de transestérification avec les esters d'enol.</i>	39
30	<i>Réaction de transestérification avec les anhydrides d'acide</i>	40
31	<i>Influence de la partie acyle sur l'acylation du 2-phényl-1-propanol</i>	41

32	. Acylation enzymatique avec les esters d'énol	41
33	. Résolution cinétique enzymatique des alcools hétérocycliques allyliques.	42
34	Transestérification enzymatique de (+/-)-1-(benzofuran-2-yl) éthanol.	42
35	Estérification lipasique du 3-(tertiobutylcyclobutylidène) éthanol.	43
36	Acylation lipasique d'alcools secondaires avec des anhydrides acides.	43
37	Acylation enzymatique du 1-(thiophèn-2-yl) éthanol.	44
38	Copolymérisation enzymatique des oxiranes et des anhydrides dicarboxyliques.	45
39	Synthèse de poly( (S)propylène succinate).	45
40	Polycondensation d'isosorbide/ anhydride succinique et glycérol.	46
41	Réactions catalysées par des enzymes.	47
42	Réaction d'hydrolyse enzymatique.	47
43	Hydrolyse enzymatique du $\beta$ -acétoxybutyronitrile dans l'eau	48
44	Hydrolyse enzymatique du 2-phénylpropyl benzoate	48
45	Synthèse de Thallusin.	49
46	Hydrolyse enzymatique d'acétate du flavan-4-ol.	49
47	Hydrolyse enzymatique dans une solution tampon.	50
48	Désymétrisation de nouveaux dérivés d'acide carboxylique par la lipase AK.	51
49	Désymétrisation d'un diol dérivé de Méthylèncyclopropane.	51
50	Désymétrisation d'un diol méso précurseur de l'acide homotartrique.	52
51	Désymétrisation lipasique d'un anhydride cyclique.	52
52	Hydrolyse enzymatique en présence du carbonate de sodium.	53
53	Procédure de l'hydrolyse dans un milieu non-conventionnel.	53
54	Hydrolyse enzymatique de substrats d'intérêt en milieu alcalin avec la CAL-B.	55
55	Déacylation par alcoololyse et aminolyse avec la CAL-B.	56
56	Hydrolyse enzymatique du 1-Hydroxyméthyl-7-oxabicyclo[2.2.1]hept-2-ène.	56
57	Principes de déraccémisation	58
58	Processus de dédoublement cinétique répété	59
59	Principe du dédoublement cinétique classique et dynamique.	60
60	DCD via une racémisation spontanée.	61

61	<i>DCD enzymatique de (±)-cis-N-(Alkoxy-carbonyl) cyclopentane-1,2diamines. basé sur une racémisation spontanée</i>	62
62	<i>DCD via une racémisation biocatalysée</i>	62
63	<i>Méthodes générales de racémisation métallique lors d'un DCD.</i>	63
64	<i>Mécanisme de racémisation en utilisant le complexe de Schvo.</i>	64
65	<i>DCD d'une série d'alcools secondaires.</i>	64
66	<i>DCD catalysé par un système Ruthenium/ enzyme.</i>	65
67	<i>DCD catalysé par un système Ruthenium/ enzyme à température ambiante.</i>	65
68	<i>DCD des alcools allyliques via d'une racémisation catalysée par un oxovanadium.</i>	66
69	<i>DCD de l'acétate de 2-phénylcyclohex-2-enyle.</i>	66
70	<i>DCD de 1-Phényl-éthylamine.</i>	67
71	<i>Principe de la transformation par énantioconvergence.</i>	67
72	<i>Déracémisation 2-octyl sulfate racémique par transformation énantioconvergente</i>	68
73	<i>Déracémisation par oxydoréduction cyclique.</i>	69
74	<i>Déracémisation microbienne du phényl-éthanol par oxydoréduction cyclique.</i>	70
75	<i>Déracémisation via une combinaison d'un catalyseur biologique et une méthode chimique.</i>	70
76	<i>Principe de la transformation énantioconvergence.</i>	71
77	<i>Déracémisation via une stéréoinversion par par une oxydoréduction</i>	72
78	<i>Déracémisation d'hydroxy acides par oxydo-réduction.</i>	72
79	<i>Mécanisme de la réaction de Mitsunobu</i>	73
80	<i>Déracémisation par combinaison d'une hydrolyse enzymatique et une Stéréo-inversion « in situ »</i>	74
81	<i>Accès au (S)-dictyoprolène via une transestérification enzymatique suivie du protocole de Mitsunobu.</i>	75
82	<i>Synthèse des (S)-γ-Lactones par déracémisation via mitsunobu.</i>	75
83	<i>Synthèse du mèsylate de Rasagiline par déracémisation via mitsunobu.</i>	76
84	<i>Synthèse de la (S)-(-)-Rivastigmine via une hydrogénation asymétrique.</i>	81
85	<i>Synthèse de la (S)-(-)-Rivastigmine via une hydrogénation asymétrique en présence de Ir-(S)-spiroPAP.</i>	81
86	<i>Déracémisation du rac-3-(1-hydroxy-éthyl) phénol par oxydoréduction cyclique.</i>	82
87	<i>Synthèse énantiosélective du (R)-Phényléphrine..</i>	82

88	<i>Synthèse chimique du rac-3 et rac-1.</i>	85
89	<i>Hydrolyse enzymatique du rac-1a avec le Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>.</i>	86
90	<i>Déacylation de 1 par alcoolyse /avec la triéthylamine comme additif.</i>	90
91	<i>. Acylation enzymatique du 3-(1-hydroxyéthyl)phénol via CAL-B.</i>	90
92	<i>. Comparaison des approches acylation/déacylation</i>	91
93	<i>Déracémisation du rac-1 par hydrolyse enzymatique combinée à la réaction de Mitsunobu</i>	93
94	<i>Hydrogénation de chromones et de flavones pour accéder aux chromanols et flavanols optiquement actives..</i>	99
95	<i>Synthèse asymétrique de (R)-4-Chromanol</i>	100
96	<i>Hydrolyse de l'acétate du cis-2-phényl-4-chromanol avec la LPS.</i>	
97	<i>Hydrolyse enzymatique d'acétate du cis-phényl-2-chroman-4-ol avec la lipase AY</i>	101
98	<i>Hydrolyse enzymatique de 1-(furan-3-yl) allyl acétate</i>	101
99	<i>DC du 4-chromanol dans Conditions Conventionnel /Microondes/ultrasons</i>	102
100	<i>Substrats choisis</i>	103
101	<i>Synthèse des alcools racémiques [4-10] et les acétates [4a-10a].</i>	104
102	<i>Hydrolyse alcaline des acétates racémiques [4a-10a] avec la CAL-B et Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>.</i>	105
103	<i>Déracémisation chimioenzymatique des acétates racémiques 4a-10a.</i>	109
104	<i>Préparation de monomères fonctionnalisés.</i>	117
105	<i>Réaction lipasique du GPE et l'anhydride succinique.</i>	118
106	<i>Synthèse de la (-)paroxétine</i>	118
107	<i>Polycondensation directe d'itaconate et de diols aliphatiques</i>	119
108	<i>Préparation de monomère Diisoamyl Itaconate</i>	119
109	<i>Préparation de Monoesters-itaconates en présence de chlorure d'acide</i>	120
110	<i>. Préparation de Monoesters-itaconate n-alkyle.</i>	120
111	<i>Synthèse de la β-méthylène lactone</i>	121
112	<i>Ouverture enzymatique de l'anhydride itaconique par l'alcool méso-amylique.</i>	125
113	<i>Ouverture enzymatique de l'anhydride itaconique par les alcools primaires.</i>	127
114	<i>Synthèse chimique des alcools racémiques (30-35).</i>	132
115	<i>Estérification de l'anhydride itaconique par l'indan-1-ol avec la PCL.</i>	132
116	<i>Dédoublément cinétique par la PCL d'alcools secondaires avec l'AlI.</i>	135

# SOMMAIRE

	<b>Page</b>
<b>INTRODUCTION GENERALE</b>	<b>1</b>
<b>PARTIE 1. Revue bibliographique: Catalyse énantiosélective et déracémisation</b>	
<b>CHAPITRE I : La catalyse énantiosélective</b>	
<b>I-1. Introduction</b>	10
<b>I-2. La catalyse homogène</b>	11
<b>I-2-1. L'hydrogénation énantiosélective</b>	11
<b>I-2-2. Réaction d'hydroformylation</b>	13
<b>I-2-3. Réactions de cyclo-isomérisation</b>	13
<b>I-3. La catalyse hétérogène</b>	15
<b>I-4. La catalyse enzymatique</b>	17
<b>I-4-1. Généralités sur les enzymes</b>	17
<b>I-4-1-1. Structure des enzymes</b>	17
<b>I-4-1-2. Théorie de l'activité enzymatique</b>	18
<b>I-4-1-3. Classification des enzymes</b>	20
<b>I-4-1-4. Les hydrolases</b>	21
<b>I-5. Application des lipases dans l'industrie pharmaceutique.</b>	22
<b>I-6. Conclusion</b>	25
<b>CHAPITRE II. Le dédoublement cinétique enzymatique</b>	
<b>II-1. Introduction</b>	26
<b>II-2- Le dédoublement cinétique Enzymatique</b>	28
<b>II-2-1- Paramètres d'évaluation d'un DCL irréversible</b>	29
<b>II-2-2- Les modèles empiriques de prédiction</b>	31
<b>II-3- Paramètres influant sur la sélectivité de la réaction de DCE</b>	32
<b>II-3-1- Influence de la nature de la lipase</b>	32
<b>II-3-2- Influence de la structure du substrat</b>	33
<b>II-3-3- Influence du solvant/co-solvant et activité de l'eau</b>	35
<b>II-3-4- Influence de la température</b>	37
<b>II-3-5- Influence de la nature de l'agent acylant</b>	39

<b>II-4</b> -Les réactions catalysées par les lipases	46
<b>II-4-1</b> -Réaction d'hydrolyse enzymatique	47
<b>II-4-2</b> -Synthèse asymétrique « désymétrisation »	50
<b>II-5</b> -Travaux récents antérieurs du laboratoire	53
<b>II-6</b> -Conclusion	57
<b>Chapitre III - Généralités sur les méthodes de déracémisation</b>	
<b>III-1</b> -Introduction	58
<b>III-2</b> -Principe de déracémisation	58
<b>III-3</b> -Les différentes méthodes de déracémisation	59
<b>III-3-1</b> -Déracémisation par les dédoublements répétées	59
<b>III-3-2</b> -Déracémisation par le dédoublement cinétique dynamique	60
<b>III-3-3</b> -Déracémisation par oxydoréduction cyclique	68
<b>III-3-4</b> -Déracémisation par le processus de stéréo inversion	71
<b>III-5</b> -Conclusion	76
Conclusion de la première partie	77

## **PARTIE 2. Synthèse de briques moléculaires chirales *via* des processus éco-compatibles**

### **CHAPITRE IV. Hydrolyse alcaline enzymatique de 1-3-(hydroxy phényl) éthyle-acétate en milieu non conventionnel.**

<b>IV-1</b> - Introduction	78
<b>IV-2</b> -Mise au point bibliographique	80
<b>IV-3</b> -L'étude de la régio et de l'énantiosélectivité lors du DCE du 3- (1-hydroxy-éthyl) phénol par différentes voies acylation et de déacylation	83
<b>IV-3-1</b> -Synthèse du diol et l'acétate correspondant	85
<b>IV-3-2</b> -Etude de déacylation du 1,3-(hydroxy-phényl) éthyle-acétate 1 par hydrolyse en milieu non-conventionnel	86
<b>IV-3-3</b> -déacylation du 1,3-(hydroxy-phényl) éthyle-acétate 1 par alcoololyse /en présence de triéthylamine comme additif	90
<b>IV-3-4</b> -Acylation enzymatique du 3-(1-hydroxyethyl)phenol via CAL-B	90
<b>IV-4</b> -Déracémisation du 1,3-(hydroxy-phényl) éthyl acétate 1 via mitsunobu	93
<b>IV-5</b> -Conclusion	95

## **CHAPITRE V. Déracémisation d'acétates hétéroaromatiques *via* un processus de stéréoinversion**

<b>V-1-Introduction</b>	96
<b>V-2-Mise au point bibliographique</b>	98
<b>V-3-Objectifs du travail</b>	102
<b>V-4- Dédoublément cinétique par hydrolyse des acétates <b>4a-10a</b> catalysé en milieu non conventionnel</b>	105
<b>V-5- Déracémisation par hydrolyse enzymatique des acétates <b>4a-10a</b> dans un solvant organique avec Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> combinée à la réaction de Mitsunobu</b>	109
<b>V-6-Conclusion</b>	113

## **CHAPITRE VI : Acylation enzymatique par les anhydrides : cas de l'anhydride itaconique**

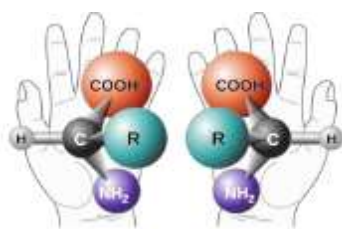
<b>VI-1-Introduction</b>	114
<b>VI-2- Mise au point bibliographique</b>	117
<b>VI-3- Etude de la sélectivité d'acylation enzymatique de l'anhydride itaconique avec les alcools primaires</b>	122
<b>VI-3-1-Choix des modèles de l'étude</b>	122
<b>VI-3-2-Choix des enzymes</b>	124
<b>VI-3-3-Application de l'acylation de l'AI<sub>t</sub> à une série d'alcools primaires :</b>	126
<b>VI-4- Etude de la sélectivité d'acylation enzymatique de l'anhydride itaconique avec les alcools secondaires</b>	130
<b>VI-4-1-Objectif et choix des alcools.</b>	130
<b>VI-4-2-Acylation sélective de l'anhydride itaconique avec alcools secondaires</b>	131
<b>VI-5-Conclusion</b>	137
<b>Conclusion générale</b>	139



## **INTRODUCTION GENERALE**

## INTRODUCTION GENERALE

La chiralité joue un rôle primordial dans le monde du vivant. Elle est tout particulièrement liée à toute forme de vie. Nos mains fournissent le meilleur exemple qui illustre cette notion, où la main droite est l'image de la main gauche dans un miroir (**Figure 1**). Dans la nature, les molécules chirales, lévogyres et dextrogyres, sont omniprésentes avec par exemple les acides aminés formant les protéines qui sont exclusivement lévogyres et tous les sucres de l'ADN qui sont exclusivement dextrogyres.

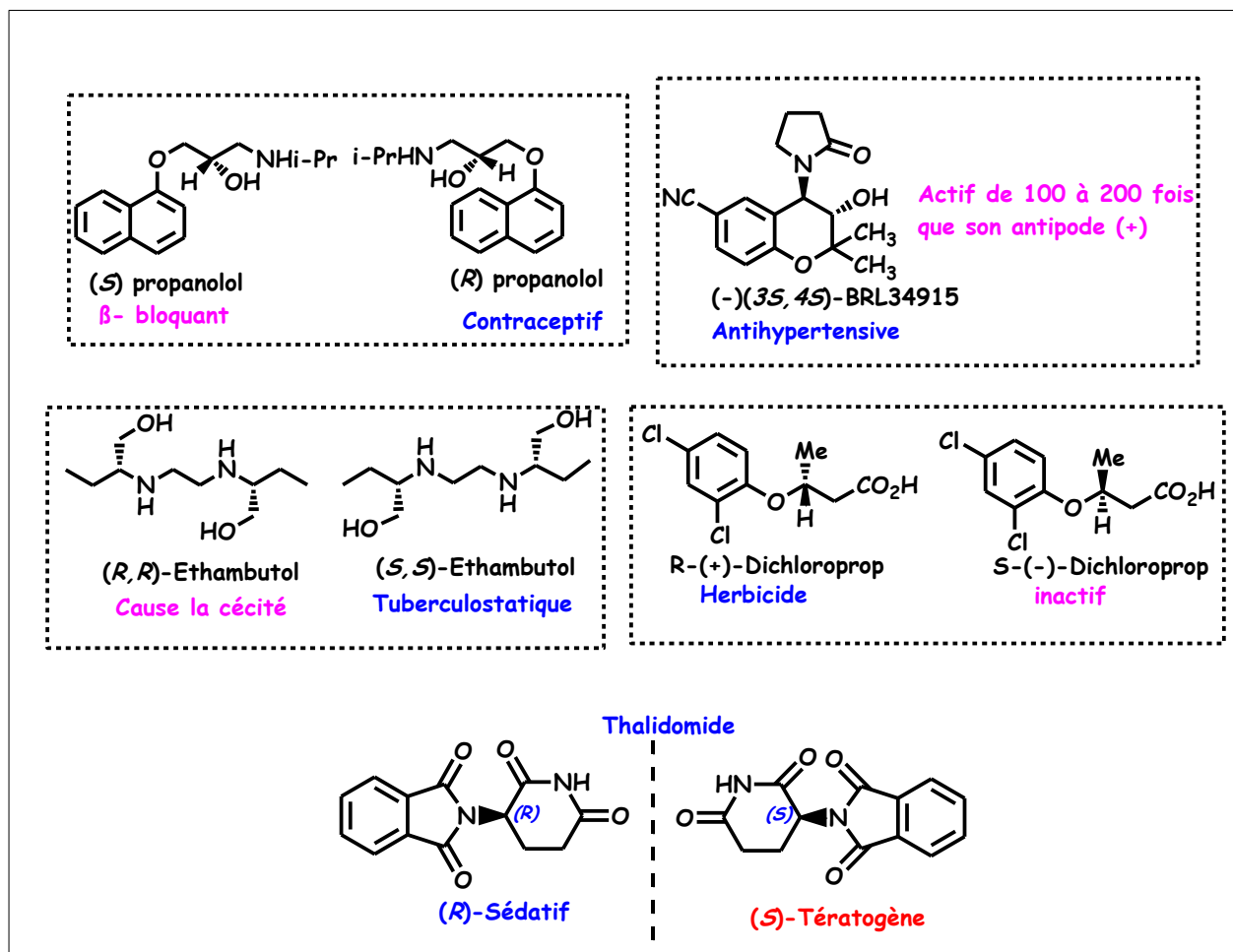


**Figure 1** : Schématisation de la "chiralité".

Les fonctions biologiques reposent sur la reconnaissance moléculaire générée par la chiralité, c'est ainsi que les deux énantiomères d'un composé chiral peuvent interagir différemment. Parfois, un énantiomère procure l'effet physiologique désiré tandis que l'autre énantiomère provoque un effet totalement différent. Les exemples de différence des propriétés biologiques des énantiomères sont nombreux: le (*S*) **propranolol** a été introduit dans les années 1960 comme un  $\beta$ - bloquant pour le traitement des maladies cardiaques,<sup>1</sup> il réduit les battements cardiaques ainsi que la force de la contraction musculaire. Son énantiomère (*R*) agit comme un contraceptif. Le (*S,S*)-(+)-**éthambutol** un antituberculeux, seul utilisé en thérapeutique en raison de la toxicité du (*R,R*)-(-)-**éthambutol**. D'autre part le Cromakalime (*3S,4S*)-(**BRL 34915**) un antihyper-tensioactive est 200 fois plus active que son antipode, cet effet antagoniste a été également détecté pour le *R*-(+)-**dichloropop** (**Figure 2**).<sup>2</sup>

<sup>1</sup> J. E Noroski, D.J Mayo, M. Moran., *J. Pham. Biomed. Anal.*, **1995**, 13, 45.

<sup>2</sup> (a) H. B. Kagan, *L'actualité chimique*, **2003**, 11, 10-14 ; (b) H. Kagan, M. Tabart, *L'Act. Chim.*, **2015**, 393-394, 31-38.



**Figure 2 :** Dépendance activité biologique/ stéréochimie d'une molécule médicamenteuse

L'exemple tragique de la Thalidomide<sup>3</sup> illustre l'importance de la chiralité. Ce composé a été largement utilisé dans les années 1960 afin de soulager les nausées matinales des femmes enceintes. Le médicament qui possède deux énantiomères a été vendu sous sa forme racémique comme anti nauséeux et il a été prescrit aux femmes enceintes. Deux ans après l'introduction du médicament, on a observé une augmentation dramatique du nombre de nouveau-nés possédant des membres (bras et jambes) malformés. Dès 1962, cette malformation a été attribuée à l'un des énantiomères de la Thalidomide qui présente une activité tératogène et le produit a été immédiatement retiré de la vente. Une étude pharmacologique sur les animaux a confirmé que l'activité tératogène néfaste était due à l'énantiomère (S). Des études plus récentes indiquent toutefois que la Thalidomide se

<sup>3</sup> (a) J. Seyden-Penne, Synthèse et Catalyse Asymétriques, **1994**, Inter Edition / CNRS; (b) H.U. Blaser, Fis. Rend. Acc. Lincei., **2013**,24, 213–216.

racémise aisément dans le sang, ce qui montre que même l'emploi thérapeutique de la (R)-Thalidomide était vouée à l'échec. Pourtant ce médicament est actuellement de retour sur le marché pour le traitement de certaines pathologies cutanées inflammatoires (érythème lépreux, lupus, aphtoses) ou en oncologie pour son action antiangiogène. La Food and Drug Administration et l'Agence Européenne des Médicaments, autorités sanitaires réglementaires américaine et européenne, ont mis en place des lignes directrices au début des années 1990 pour définir les conditions d'analyse des énantiomères [FDA, 1992] [EMA, 1993]. Dans le cas où l'étude des propriétés pharmacocinétiques, des activités pharmacologiques et des effets toxicologiques conduisent à des différences importantes, le développement de l'énantiomère est impératif. Cette législation incite les laboratoires pharmaceutiques à commercialiser les médicaments sous forme d'un énantiomère et donc à savoir préparer un principe actif sous forme d'un seul énantiomère.

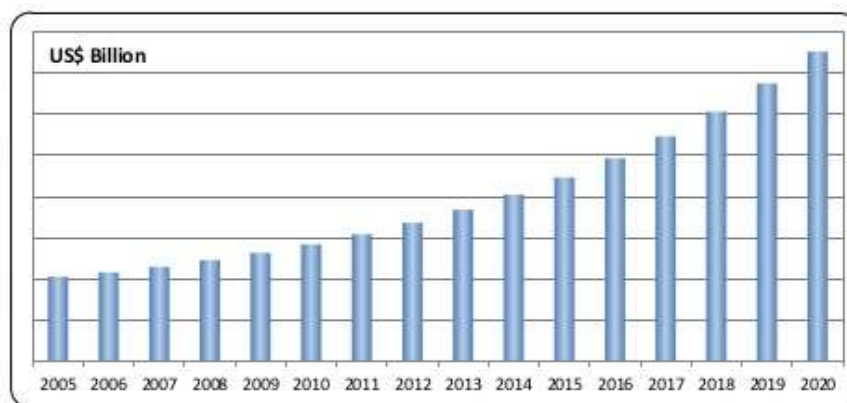
L'importance de disposer d'énantiomères purs a entraîné le développement de la catalyse énantiosélective qui est devenue un thème central de la chimie organique moderne. Le développement des méthodes alternatives aux réactions classiques est l'un des axes prioritaires pour une chimie plus respectueuse de l'environnement. La chimie du chiral est constituée d'un ensemble de méthodes impliquant des réactifs ou des catalyseurs chiraux qui induisent un contrôle sur la sélectivité réactionnelle afin d'éviter la production d'énantiomères indésirables et ainsi limiter la production de molécules indésirables. Cette approche de chimie fine intègre parfaitement le concept de la chimie verte « Green Chemistry », élaboré en 1998 par les chimistes américains **Anastas** et **Warner**,<sup>4</sup> avec l'application de 12 principes dont la catalyse est "Le pilier". L'utilisation de la catalyse enzymatique s'inscrit parfaitement dans le développement durable et a connu un essor considérable au cours de ces dernières années. La recherche fondamentale s'est orientée progressivement vers les processus de bioconversion pour respecter les nouvelles exigences environnementales et économiques.<sup>5</sup> Les firmes pharmaceutiques sont dans l'obligation de fournir aux patients des composés énantiomériquement purs et cela a entraîné, ces dernières années, une augmentation considérable de la commercialisation des médicaments chiraux. Ces dernières années la production de nouvelles molécules racémiques a quasiment disparu chez les industries pharmaceutiques. En 2012 le marché européen pesait 900 milliards de

---

<sup>4</sup> P.T. Anastas, J.C. Warner, *Green Chemistry: Theory and Practice*, Oxford University Press: New York, **1998**, p.30. By permission of Oxford University Press from ACS Green Chemistry Institute Webpage.

<sup>5</sup> (a) F. Hasan, A. Ali Shah, A. Hameed, *Enzyme and Microbial Technology*, **2006**, *39*, 235-251; (b) C. Wandrey, A. Liese, D. Kihumbu, *Organic Process Research & Development*, **2000**, *4*, 286-290; (c) A. Houde, A. Kademi, D. Leblanc, *Applied Biochemistry & Biotechnology*, **2004**, *118*, 155-170.

dollars et 90% des médicaments produits possédaient un principe actif chiral. La commercialisation des énantiopures correspond à 24 milliards d'euros dépensés en R&D dans l'industrie pharmaceutique européenne. Des études faites en 2012 ont estimé qu'en 2020, 95% des médicaments seraient chiraux. Une poussée économique spectaculaire a été observée au niveau de la commercialisation des molécules chirales dans différents domaines (Figure 3).



**Figure 3 :** Taux de croissance des molécules chirales durant la période 2005-2020.

Les entreprises pharmaceutiques remplacent ainsi progressivement un médicament racémique arrivant en fin de brevet par sa nouvelle version énantiomériquement pure. Cette nouvelle tendance est appelée « Chiral switching »<sup>6</sup> ou glissement chiral et cela consiste à développer les énantiomères purs de molécules chirales et à réévaluer les anciens médicaments racémiques afin d'estimer les éventuels bénéfices du passage du racémate à l'énantiomère pur. Cela permet d'éviter ou de minimiser la compétition avec les médicaments génériques.<sup>7</sup> De plus, la procédure d'enregistrement de l'énantiomère est simplifiée puisqu'une grande part des données du racémate est utilisée. L'énantiomère devient ainsi une nouvelle entité chimique, couverte par une protection de brevet plus importante. Un exemple bien connu de chiral switching est celui de l'oméprazole (Antra®), un anti-ulcéreux inhibiteur de la pompe à protons enregistré à la fin des années 1980. Alors qu'il était en tête des ventes des médicaments sur ordonnance dans les années 2000, ce qui le rendait idéal pour les firmes de génériques, AstraZeneca a introduit, avant expiration du brevet, l'ésoméprazole (Nexium®), l'énantiomère *S* de l'oméprazole.

<sup>6</sup> (a) S.C.Stinson, Chem. Engineering new **2001**, *79*, 79. (b) R. N. Patel; Biocatalysis in the pharmaceutical and Biotechnology Industry. CRC Press, **2007**.

<sup>7</sup> J. Desmeules *Pharma-Flash*, **2006**, *33*, 7-10.

Il existe trois méthodes d'accès aux molécules énantiomériquement pures:<sup>8</sup>

- ✚ **La transformation hautement stéréosélective de synthons chiraux** qui sont souvent des molécules d'origine naturelle (terpènes, acides aminés, monosaccharides...) qui subissent une succession de transformations hautement stéréosélectives pour obtenir l'énantiomère désiré.
- ✚ **La synthèse asymétrique** qui consiste en l'introduction d'un élément d'asymétrie au sein d'une espèce prochirale à l'aide d'un réactif chiral ou un catalyseur chiral.
- ✚ **le dédoublement d'un mélange racémique** qui peut être, soit spontané, soit cinétique avec un réactif chiral (stœchiométrique) ou un catalyseur chiral (enzyme), soit par séparation de diastéréoisomères formés grâce à un auxiliaire chiral optiquement pur.

Parmi les modes d'accès aux molécules chirales, le dédoublement cinétique enzymatique est le plus exploité à l'échelle industrielle pour la production d'énantiomères purs (pharmaceutique, agro-chimique, alimentaire, arômes et parfumerie) avec l'utilisation des lipases comme catalyseurs dans les réactions de dédoublement cinétique de racémique.<sup>9</sup> L'inconvénient majeur de cette méthodologie est la récupération de 50% d'énantiomère inutile (substrat ou produit) ce qui en terme d'économie d'atomes n'est pas très satisfaisant. Pour résoudre ce problème plusieurs méthodes de déracémisation ont été développées, elles permettent d'accéder à un énantiomère unique avec une excellente pureté optique et un rendement chimique de 100%.

C'est dans ce contexte que s'orientent les travaux de recherche développés au sein du **laboratoire de Catalyse Asymétrique Eco-Compatible L.C.A.E** en visant la préparation de molécules optiquement actives d'intérêt biologique par de nouvelles approches mettant en œuvre les principes de chimie verte. Ces travaux de thèse concernent la mise aux point de procédés propres pour accéder aux molécules bioactives énantiomériquement enrichies ou pures dans un cadre d'une approche éco-compatible par catalyse avec des lipases. La voie utilisée est le dédoublement cinétique des racémiques combiné dans certains cas à des méthodes de déracémisation et l'étude est axée sur le mode d'action des lipases pour atteindre une sélectivité optimale.

<sup>8</sup> (a) C. Rabiller, « stéréochimie et chiralité en chimie organique », De Boeck & Larcier, s.a, **1999**. (b) R. A. Sheldon, in *chirotechnology*, Marcel Dekker, New York, **1993**.

<sup>9</sup> (a) K. Joeger, T. Eggert, *Cun. Opin. Biotechnol.* **2002**, 13, 390; (b) A. Schmid, F. Hollman, J.B. Park, B. Bühler, *Curr. Opin. Biotechnol.* **2002**, 13, 359.

Nous avons étudié les différents éléments qui interfèrent sur la performance catalytique lipasique pour obtenir des molécules chirales d'un grand intérêt avec la mise en œuvre d'une nouvelle approche d'hydrolyse enzymatique en milieu organique alcaline nouvellement développée au laboratoire. Une série de molécules actives d'intérêt biologique ont été étudiées afin d'être obtenues énantiomériquement pures telles que :

- Le **3- (1-hydroxy-éthyl) phénol** par acylation/déacylation enzymatique, ce diol et ses dérivés ont un intérêt particulier dans le domaine pharmaceutique.
- Une série d'alcools hétéroaromatiques, synthons chiraux importants, obtenus par une hydrolyse enzymatique combinée à une déracémisation par stéréoinversion afin d'obtenir ces molécules optiquement pures et avec de bons rendements chimiques.

Par ailleurs, une nouvelle méthode de synthèse de molécules biosourcées fonctionnalisées a été mise en œuvre par acylation enzymatique en utilisant l'anhydride itaconique, molécule est abondamment disponible à partir de la biomasse avec divers alcools.

Ce manuscrit de thèse est reparti en deux parties :

**La première partie** est subdivisée en trois chapitres;

Le premier chapitre est constituée par une étude bibliographique sur les différents types de la catalyse, et plus en détails la catalyse enzymatique, il s'intitule : « *La catalyse énantiosélective* »

Le second chapitre intitulé « *Dédoublment cinétique enzymatique* » est consacré à la mise au point bibliographique sur le dédoublment cinétique lipasique, en illustrant son intérêt par des exemples de la littérature.

Le troisième chapitre développe les processus de déracémisation intégrés au dédoublment cinétique enzymatique.

Une conclusion finalise cette première partie.

**La deuxième partie** de cette thèse présente les résultats des travaux de recherche. Ils sont répartis sur les chapitres IV, V et VI qui incluent les études expérimentales et les résultats obtenus.

Le chapitre IV intitulé « *Hydrolyse alcaline enzymatique de 1-3-(hydroxy phényl) éthyle-acétate en milieu non conventionnel* » aborde une nouvelle méthode pour accéder aux énantiomères (*S*) et (*R*) du **3- (1-hydroxyéthyl) phénol**, intermédiaires clés pour la synthèse de médicaments. Les réactions d'acylation/déacylation sont appliquées avec un focus sur la réaction d'hydrolyse alcaline dans des milieux organiques dans des conditions douces avec la lipase **CAL-B**.

Le chapitre V intitulé « *Déracémisation d'acétates hétéroaromatiques via un processus de stéréoinversion* » concerne l'étude du DCE d'une série d'alcools benzyliques hétérocycliques par hydrolyse enzymatique avec  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  en milieu organique la réaction est combinée à la réaction de Mitsunobu pour une déracémisation via une stéréoinversion.

Le chapitre VI intitulé « *Acylation enzymatique par les anhydrides : cas de l'anhydride itaconique* » développe une voie de synthèse facile et verte de nouvelles molécules biosourcées fonctionnalisées par acylation enzymatique à partir de divers alcools et avec l'anhydride itaconique ressource abondamment disponible à partir de la biomasse.

La présentation des travaux de thèse est finalisée par la **Conclusion générale** et des perspectives. La description des protocoles opératoires détaillés et l'indentification spectroscopique des différentes structures synthétisées sont réunis dans **la partie expérimentale**. Les travaux publiés de ce manuscrit sont joints en annexe.

**PREMIERE PARTIE**

**REVUE BIBLIOGRAPHIQUE: CATALYSE  
ÉNANTIOSÉLECTIVE ET DÉRACÉMISATION**

## Introduction de la première partie

Depuis quelques années on assiste à une mutation de la chimie traditionnelle vers "*la chimie verte et durable*", cette évolution s'inscrit dans le cadre du développement durable soucieux de l'équilibre économique, social et environnemental du milieu où elle s'insère. Depuis 1998, la molécule énantiopure est une partie importante du marché pharmaceutique global suite aux directives imposées par les législations internationales que ce soit la FDA ou la commission européenne pour l'industrie pharmaceutique et agroalimentaire. L'objectif est de concevoir et de développer des produits et des procédés chimiques afin de réduire ou éliminer l'usage et la génération de substances dangereuses pour la santé et l'environnement. Ce code de déontologie a été présenté sous forme de 12 principes élaboré les chimistes américains *Anastas et Warner*<sup>10</sup> et dont la catalyse est le neuvième principe et le pilier de la chimie verte. La conception des molécules énantiopures a contribué au développement soutenu des voies de synthèses énantiosélectives. De nombreux procédés industriels deviennent plus rentables grâce à des nouveaux procédés catalytiques.<sup>11</sup> L'objectif étant d'augmenter la vitesse de réaction et de privilégier une réaction plutôt qu'une autre. Selon le type de catalyseur utilisé ; il existe trois catégories de catalyse:

La catalyse est qualifiée d'« *homogène* » (organocatalyse, catalyse organométallique...) lorsque les réactifs et le catalyseur se trouvent en solution dans la même phase, ce qui est souvent le cas en chimie organique. Son utilisation dans l'industrie constitue seulement 20% des réactions catalytiques pourtant ces catalyseurs présentent une grande sélectivité. C'est indéniablement dans le domaine de la chimie fine que le plus grand nombre d'applications industrielles de la catalyse homogène a vu le jour ces dix dernières années et l'isomérisation asymétrique des allylamines pour la synthèse du menthol (Takasago, 1985) est un exemple. Par ailleurs, l'explosion des secteurs des arômes, parfums, de la pharmacie et de l'agrochimie, avec la montée en puissance des principes actifs chiraux,<sup>12</sup> ont largement contribué aux développements tant académiques qu'industriels de la catalyse homogène.

<sup>10</sup> Réf 4: P.T. Anastas, J.C. Warner *Green Chemistry: Theory and Practice*, Oxford University Press: New York, 1998, p.30. By permission of Oxford University Press from ACS Green Chemistry Institute Webpage.

<sup>11</sup> Réf 2: (a) H. Kagan, M. Tabart, *L'Act. Chim.*, 2015, 393-394, 31-38 (b) A. M. Rouhi, *Chem. Eng. News*, 14 June 2004, 47-62 ; (c) K. Faber, *Biotransformations in Organic Chemistry*; Springer-Verlag: Berlin, 2011.

<sup>12</sup> (a) K. Joeger, T. Eggert, *Curr. Opin. Biotechnol.* 2002, 13, 390; (b) A. Schmid, F. Hollman, J.B. Park, B. Bühlner, *Curr. Opin. Biotechnol.* 2002, 13, 359.

En *catalyse hétérogène*, les réactifs et le catalyseur sont dans des phases différentes. Généralement, les catalyseurs, souvent sous forme inorganiques, sont solides et les réactifs sous forme gazeuse ou liquide. Cela constitue 70% des réactions catalytiques principalement en chimie lourde mais leur exploitation est restreinte en chimie fine à cause de leur faible sélectivité. Des développements sont enregistrés ces dernières années dans ce type de catalyse dans le domaine des catalyses biphasiques (aqueuse, fluorée, sels ioniques) et celui de l'hétérogénéisation contrôlée de catalyseurs « moléculaires » (organométalliques greffés, colloïdes) permettent de concilier les avantages intrinsèques de la catalyse homogène à la praticité des procédés hétérogènes.

*La catalyse enzymatique (Biocatalyse)* est l'alternative qui connaît le plus fort développement depuis 1960 avec les transformations catalysées par les enzymes qui s'effectuent dans des conditions expérimentales douces (température, pression, pH), qui sont autant de conditions garantissant des gains énergétiques et une grande éco compatibilité. C'est une voie propre efficace et sélective qui s'inscrit parfaitement dans le cadre de la chimie verte et du développement durable. Dans cette dernière catégorie de catalyse, une stratégie fine est majoritairement exploitée à l'échelle industrielle pour accéder aux molécules énantiopures: c'est le dédoublement cinétique enzymatique intégré généralement à des processus de déracémisation.

**Dans cette première partie**, une mise au point bibliographique sur le sujet est présentée elle est subdivisée en trois chapitres: **le premier** consacré à la « **La catalyse énantiosélective** » présente les différents types de catalyse et leurs applications à l'échelle industrielle avec un focus sur la catalyse enzymatique. **Le second chapitre** intitulé « **Le dédoublement cinétique enzymatique** » expose différentes approches réactionnelles de dédoublement cinétique enzymatique en montrant les différents paramètres influant sur l'activité et la sélectivité lipasique appuyé avec divers exemples de la littérature pour accéder aux molécules chirales. L'utilisation des lipases comme catalyseurs sont également présentés comme nouveaux outils en catalyse enzymatique dans un cadre de chimie verte. **Le troisième chapitre** intitulé « **Généralités sur les méthodes de déracémisation** » présente les principes et les différentes méthodes de déracémisation avec les différents paramètres influant sur l'activité et la sélectivité lipasique en faisant appel à quelques exemples de la littérature.

**PREMIERE PARTIE**

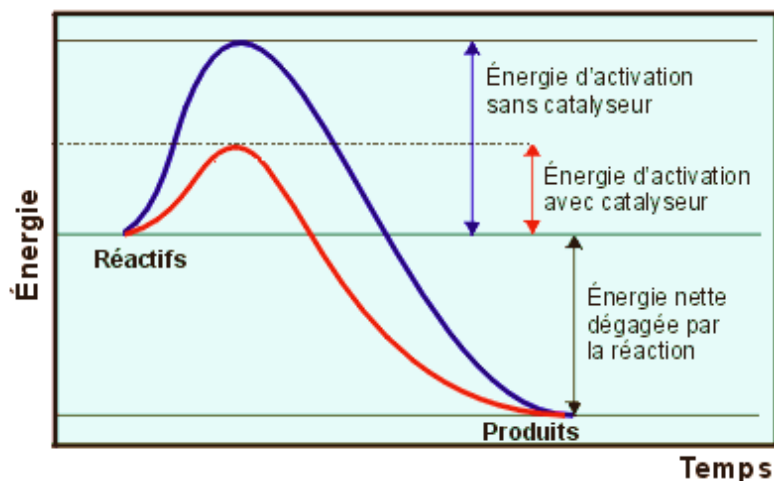
**CHAPITRE I**  
**LA CATALYSE ÉNANTIOSÉLECTIVE**

### I-1. La catalyse :

La catalyse fut connue depuis des siècles par les humains qui ignoraient alors tout au sujet des processus chimiques. La fabrication du savon, la fermentation du vin en vinaigre, ainsi que le levain du pain sont tous des procédés qui impliquent la catalyse. Le mot "**catalyse**" fut introduit par le chimiste suédois *J. J. Berzelius* en **1835** pour qualifier certains faits expérimentaux observés au cours de différentes réactions chimiques découvertes au début du XIX<sup>ème</sup> siècle. Ce mot étymologiquement est adapté du grec  $\tau\alpha\lambda\lambda\alpha\beta\upsilon\mu\iota$  qui signifie dissolution, décomposition.

### I-2. Définition de la catalyse :

La catalyse détermine tout processus qui permet d'accélérer une réaction chimique par le biais d'un catalyseur. Il est fréquemment sous forme liquide ou solide, il fournit des sites actifs dont l'interaction avec les réactifs et les produits à transformer permet d'abaisser les barrières d'énergie à franchir pour obtenir les produits de réaction. Le diagramme ci-dessous schématise l'avantage de recourir aux réactions catalytiques par le gain certain en énergie d'activation :



**Figure 4 :** Modification du profil énergétique d'une réaction par la catalyse.

Le principe central de la catalyse est la production d'une réaction ou l'accélération de son processus par le catalyseur qui ne subit pas de modification. Cette substance, peut être aussi bien un solide qu'un liquide ou un gaz, une espèce chimique simple ou composée ; il peut être moléculaire, ionique ou métallique.

La catalyse est également l'un des piliers de la «*Chimie Verte*». Elle permet l'utilisation de systèmes plus performants, rapides et économiques en énergie que des réactions organiques traditionnelles. L'utilisation de catalyseurs dans certaines réactions permet également de diminuer significativement les déchets, de minimiser les efforts de séparation avec une amélioration de la sélectivité des réactions, constituant un grand intérêt pour la chimie fine et pour l'environnement.

Les différents types de catalyse sont couramment identifiés selon deux types de classifications:

(a)- Le premier est basé sur la nature des sites actifs et selon le mécanisme réactionnel tels que : la catalyse acido-basique, la catalyse d'oxydo-réduction, la catalyse nucléophile ou encore la catalyse par transfert de phase.

(b)-La seconde classification se base sur la nature du catalyseur et selon les trois types de catalyse on observe: la catalyse "homogène", la catalyse "hétérogène" et la **catalyse "enzymatique"** ce dernier constitue l'axe principal de nos travaux.

### I-3. La catalyse homogène :

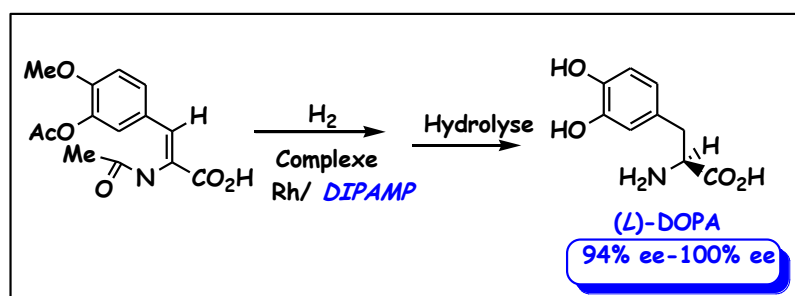
En catalyse homogène, les réactifs et le catalyseur sont présents dans la même phase avec lesquels il forme un mélange homogène. Le terme « catalyse homogène » sous-entend que le catalyseur est soluble dans le milieu réactionnel, le plus souvent en phase liquide. Dès 1814, *Kirchhoff* rapporte l'hydrolyse de l'amidon catalysée par les acides. Plus tard, la catalyse homogène a été appliquée industriellement en synthèse de produits en grand tonnage. Parmi les premiers exemples, l'on peut citer la synthèse du butyraldéhyde en 1938 (*O. Roelen, Ruhrchemie*), la polymérisation des oléfines dès 1953/1955 (*Ziegler et Natta*), et la production d'acétaldéhyde dès 1958 (*procédé Wacker*). Les premiers catalyseurs en phase homogène ont été utilisés essentiellement pour l'hydrogénation.

#### I-3-1. La réaction d'hydrogénation énantiosélective :

La première réaction d'hydrogénation énantiosélective a été décrite en 1971 par *Kagan et coll*<sup>13</sup> avec des excès énantiomériques > **80 %** en utilisant le système catalytique **DIOP-Rh(I)**. C'est le premier ligand chiral décrit, et depuis cette date, de nombreux ligands chiraux sont associés au rhodium ont permis d'obtenir des énantiosélectivités > **95 %**. Dans le domaine de

<sup>13</sup> T.P Dang., Kagan H.B., *J. Chem. Soc. Chem. Comm.*, **1971**, 481.

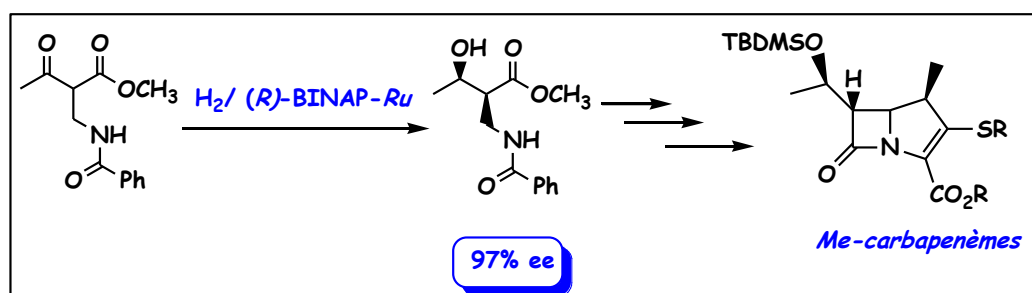
santé, le médicament anti-Parkinsonien *L-DOPA* a été produit grâce à une réaction d'hydrogénation asymétrique catalysée par un complexe de rhodium portant un ligand chiral diphosphoré (*Knowles, Monsanto, 1975*) (*Schéma 1*),<sup>14</sup> ces travaux ont permis à *Knowles* a d'obtenir le prix Nobel de chimie en 2001.



*Schéma 1* : Production de la (*L*)-DOPA, procédé de Monsanto.

L'avènement des complexes *BINAP-Ruthénium*, développés indépendamment par les groupes de *Noyori et Ikariya* ont contribué à lever un verrou technologique.<sup>15</sup> Ces réactions d'hydrogénation énantiosélective pouvant être conduites efficacement avec l'hydrogène ou avec des donneurs d'hydrogène (isopropanol/base). Actuellement, de nombreux systèmes catalytiques chiraux du ruthénium(II) autres que le *Ru-BINAP* peuvent être utilisés avec succès lors de l'hydrogénation d'oléfines et de cétones.

Lors de la synthèse d'un antibiotique de la famille  *$\beta$ -lactamines*, une étape clef du processus est l'hydrogénation asymétrique par le biais du *Ru-BINAP* développée par *Noyori et coll*<sup>16</sup> qui induit la stéréochimie finale de la molécule grâce au catalyseur employé lors de l'hydrogénation (*Schéma 2*).



*Schéma 2* : Production de méthyl-carbapénèmes.

<sup>14</sup>(a) W. S. Knowles, M. J. Sabacky, B. D. Vineyard, D. J. Weinkauff, *J. Am. Chem. Soc.*, **1975**, *97*, 2567. (b) H.-U. Blaser, F. Spindler, M. Studer, *Appl. Catal. A: General*, **2001**, *221*, 119-143. (c) H.-U. Blaser, A. Indolese, A. Schnyder, *Current Science*, **2000**, *78*, 1336-1344.

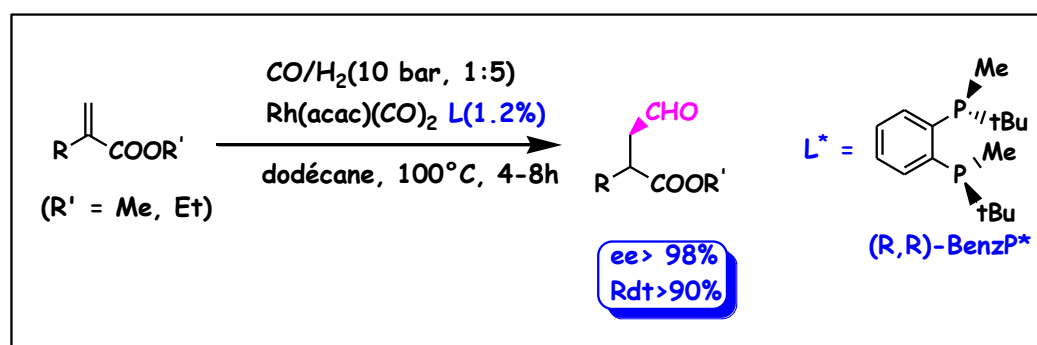
<sup>15</sup>(a) R. Noyori, H. Takaya, *Acc. Chem. Res.*, **1990**, *23*, 345 ; (b) T. Ohkuma, M. Kitamura, R. Noyori, *Catalytic Asymmetric Synthesis*, 2nd ed., I. Ojima, VCH, Weinheim, **2000**, Chapt. 1.4.

<sup>16</sup> R. Noyori; T. Ikeda, T. Ohkuma, M. Widhalm, M. Kitamura., *J. Am. Chem. Soc.* **1989**, *111*, 9134.

### I-3-2. La réaction d'hydroformylation :

La réaction entre une oléfine et un mélange d'hydrogène et d'oxyde de carbone conduit à un aldéhyde linéaire et substitué. Cette réaction découverte à l'aide du cobalt comme catalyseur par *Otto Roelen* en 1938.<sup>17</sup> Plus tard, cette réaction est développée dans des applications industrielles majeures. Plusieurs générations de catalyseurs métalliques ont été utilisées, le cobalt dans divers procédés industriels (BASF, ICI etc.), puis le rhodium (Hoechst, Celanese Corporation, Union Carbide, Ruhrchemie/Rhône Poulenc etc.).<sup>18</sup> Elle est aujourd'hui l'une des plus importantes réactions catalytiques industrielles.

*Wang, X., & Buchwald, S.*<sup>19</sup> ont effectué une hydroformylation énantiosélective d'une large gamme d'oléfines 1,1 disubstituées catalysée par le rhodium, en employant l'un des ligands phosphine P-chirogéniques BenzP\* (*Schéma 3*).



**Schéma 3 :** Hydroformylation énantiosélective catalysée par le Rhodium.

### I-3-3. Réactions de cyclo-isomérisation :

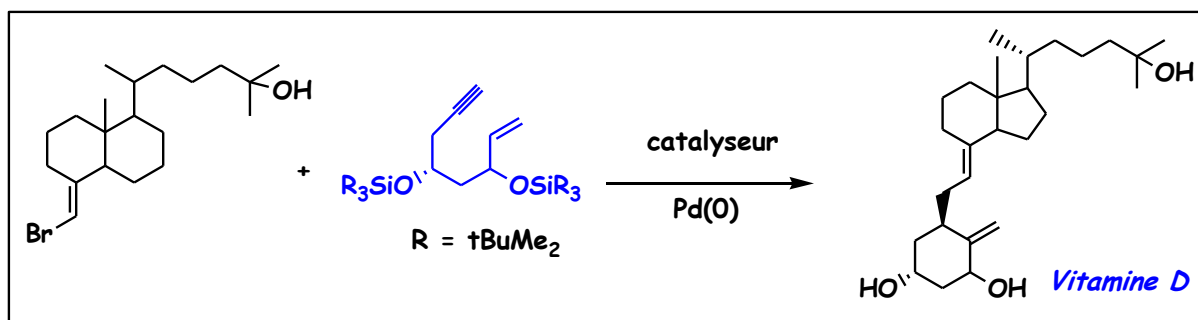
Les réactions de cyclo-isomérisation sont des réactions qui se sont développées à partir des années 1990, elles permettent de transformer des chaînes carboniques en cycles de manière parfaitement contrôlée. Ces réactions, catalysées par un métal, permettent souvent d'accéder en une seule étape à des squelettes complexes de molécules polycycliques. Les réactions de cyclo-isomérisation d'ène-yne catalysées au palladium ont permis de nouvelles synthèses extrêmement efficaces de métabolites de la vitamine D (*Schéma 4*).<sup>20</sup>

<sup>17</sup> Réf 2 : H. B. Kagan ; L'Actualité Chimique, novembre-décembre 2003, 10-14.

<sup>18</sup> B. Cornils, W.A. Herrmann, *Applied Homogeneous Catalysis with Organometallic Compounds*, 1996, 1, 29.

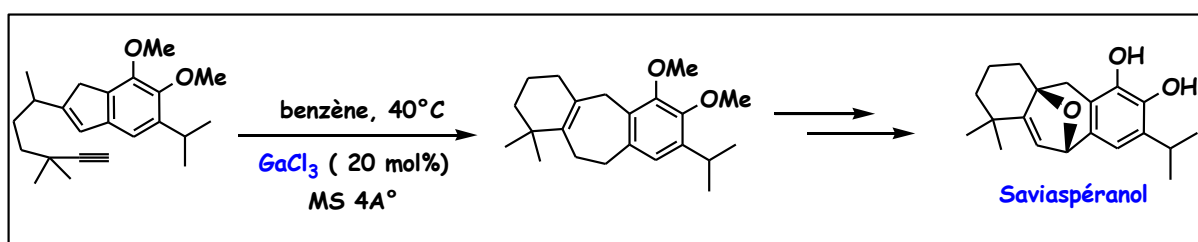
<sup>19</sup> X. Wang, & S. L. Buchwald. *Journal of the American Chemical Society*, 2011, 133(47), 19080-19083.

<sup>20</sup> B.M. Trost, J. Dumas, M. Villa, *J. Am. Chem. Soc.*, 1992, 114, 9836.



**Schéma 4** : Production de la vitamine D.

D'une façon générale, les réactions de cyclo-isomérisation d'ène-yne s'effectuent avec de nombreux métaux (Pd, Ni, Ru, Rh...), et offrent des opportunités remarquables pour la synthèse de molécules polycycliques.<sup>21</sup> La synthèse totale du (±)-salviaspéranol a été élaboré par le groupe de Sarpong.<sup>22</sup> L'étape clé de cette synthèse consiste en une réaction de cycloisomérisation d'ényne-1,6 catalysée par un complexe de gallium (III) s'effectuant avec un excellent rendement de 90% (**Schéma 5**).



**Schéma 5** : Production de la Salviaspéranol.

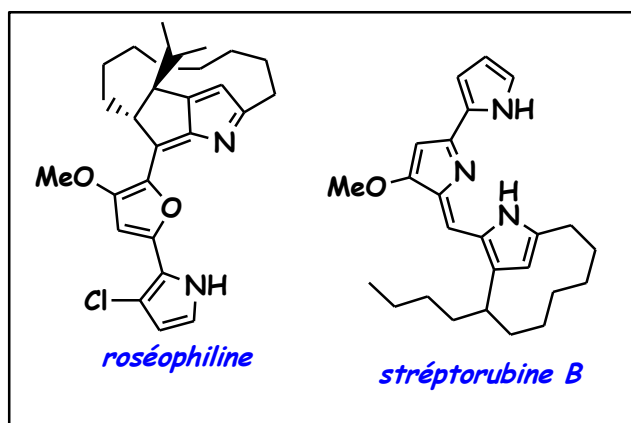
De nombreuses autres synthèses de molécules biologiquement actives ont été reportées dans la littérature notamment des antibiotiques de la famille des progidines comme la roséophiline,<sup>23</sup> la stréptorubine B<sup>24</sup> (**Schéma 6**).

<sup>21</sup> (a) C. Aubert, O. Buisine, M. Malacria, *Chem. Rev.*, **2002**, 102, 813 ;(b) E.I. Negishi, C. Copéret, S. Ma, S.Y. Liou, F. Liu, *Chem. Rev.*, **1996**, 96, 365.

<sup>22</sup> (a) E. M. Simmons, A. R. Hardin, X. Guo, R. Sarpong, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2006**, 47, 6650. (b) E. M. Simmons, R. Sarpong, *Org. Lett.*, **2006**, 8, 2883.

<sup>23</sup> B. M. Trost, G. A. Doherty, *J. Am. Chem. Soc.*, **2000**, 122, 3801.

<sup>24</sup> J. W. Dankwardt, *Tetrahedron Lett.*, **2001**, 42, 5809.



**Schéma 6 :** Des molécules biologiquement actives synthétisées par la cyclo-isomérisation.

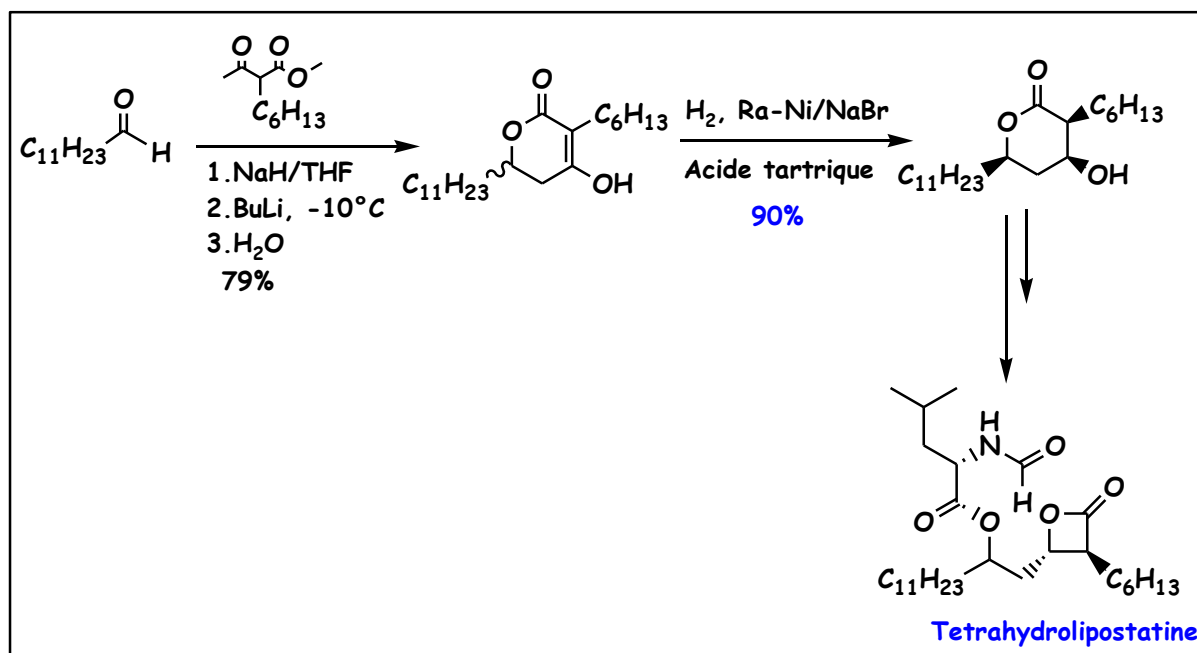
#### I-4. La catalyse hétérogène :

En catalyse hétérogène, le catalyseur est solide alors que les réactifs et produits sont liquides ou gazeux. Ce type de réaction est essentiellement réagi par la surface spécifique du catalyseur. Actuellement, la catalyse hétérogène représente environ 95% des procédés industriels, notamment pour la facilité de séparation des produits et du catalyseur. Les grands procédés industriels en catalyse hétérogène sont le craquage, la déhydrogénation et la déhydro-sulfurisation des coupes du pétrole, les hydrogénations, les oxydations et les polymérisations d'alcènes.

L'hydrogénation est une réaction chimique utilisée dans nombreuses applications industrielles, allant de l'agro-alimentaire, comme la fabrication de la margarine, à la pétrochimie, sans oublier l'industrie pharmaceutique. Le système nickel de Raney/acide tartrique/NaBr est le seul catalyseur hétérogène ayant fait l'objet d'applications industrielles en hydrogénation asymétrique.<sup>25</sup> Les énantiosélectivités obtenues dans l'hydrogénation des  $\beta$ -cétoesters et des  $\beta$ -dicétones sont bonnes ( $ee > 80\%$ ) et souvent excellentes ( $ee > 95\%$ ). Ce type de catalyseur serait disponible commercialement auprès de la firme Degussa. La société Hoffmann-La Roche a développé un procédé basé sur ce catalyseur, dans une étape de la fabrication de la tétrahydroliPOSTATINE, un principe actif dans le traitement de l'obésité (Schéma 7).<sup>26</sup>

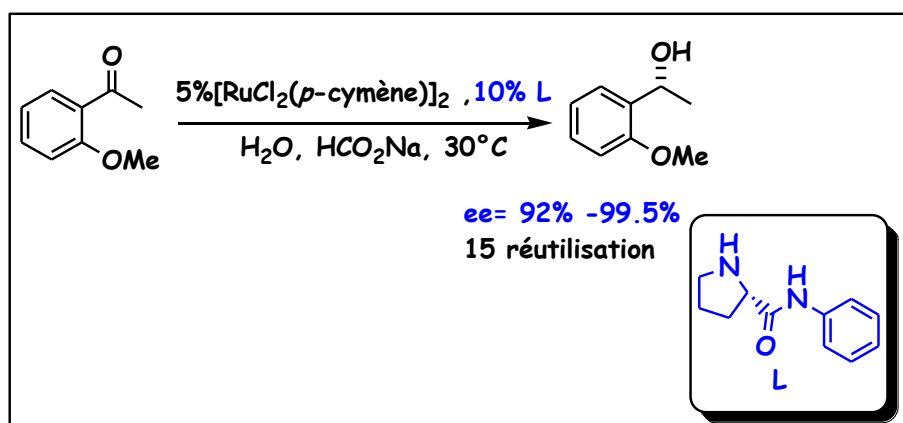
<sup>25</sup> R. Noyori, *Asymmetric catalysis in organic synthesis* Wiley, New York, 1994.

<sup>26</sup> M. Karpf., & U. Zutter, Production of oxetanones. Eur. Pat. Appl. EP, 1991, 443449(A2).



**Schéma 7** : Procédé technique de la synthèse du tétrahydrolipostatine.

La réduction énantiosélective des cétones aromatiques a été amplement étudiée au sein de notre laboratoire<sup>27</sup> par catalyse avec le système [RuCl<sub>2</sub>(*p*-cymène)]<sub>2</sub> coordonné à divers ligands chiraux dans l'eau. Ces systèmes catalytiques sont recyclables et permettent la réutilisation du catalyseur jusque plus de 15 cycles, sur une série de cétones avec de très hautes énantiosélectivités (**Schéma 8**).



**Schéma 8** : Réduction énantiosélective dans l'eau de cétones aromatiques.

<sup>27</sup> (a) S. Zeror, J. Collin, J-C. Fiaud, L. Aribi-Zouiouche, *J. Mol. Catal. A: Chemical.*, **2006**, 256, 85-89. (b) M. Boukachabia, L. Aribi-Zouiouche, O. Riant. *J. Organometal. Chem.*, **2018**, 868, 95-101.

### I-5. Catalyse enzymatique :

La catalyse enzymatique a connu un développement considérable à partir de 1986 quand *Klibanov*<sup>28</sup> montre que les enzymes sont actives en milieu organique. Ses travaux détaillent l'effet des modifications physico-chimiques de l'environnement des enzymes dans tous les milieux organiques ainsi que la réactivité enzymatique dans ces mêmes milieux en présence d'un minimum d'eau qui est le milieu naturel des enzymes. C'est actuellement la méthode de choix pour de nombreuses réactions impossibles à réaliser en milieux aqueux. Depuis cette date l'utilisation de ces biocatalyseurs a attiré l'attention des chercheurs dans le domaine de la recherche fondamentale et en particulier en chimie organique.

Les enzymes sont des biocatalyseurs doués d'une haute spécificité et cela constitue une véritable révolution pour la préparation de nouvelles molécules chirales d'intérêt potentiel. La facilité de mise en œuvre des enzymes sous forme libres ou immobilisée favorise leur récupération et leur réutilisation permet d'intégrer ce type de catalyse comme hétérogène même si elle peut être classée à part. La catalyse enzymatique est considérée comme complémentaire à la catalyse homogène par bien des aspects tels que : la reconnaissance d'un seul énantiomère, la grande stéréo-sélectivité des enzymes, leur double spécificité (de substrat et d'action) et un **TON** (*Number of turn over*) élevé.

#### I-5-1. Généralité sur les enzymes :

Les enzymes sont couramment utilisés en catalyse, que ce soit pour la recherche académique ou le développement industriel. Ce sont des macromolécules de nature protéique très efficaces qui permettent d'augmenter la vitesse d'une réaction d'un facteur allant jusqu'à  $10^{19}$  par rapport à la réaction non catalysée et ce dans des conditions douces.

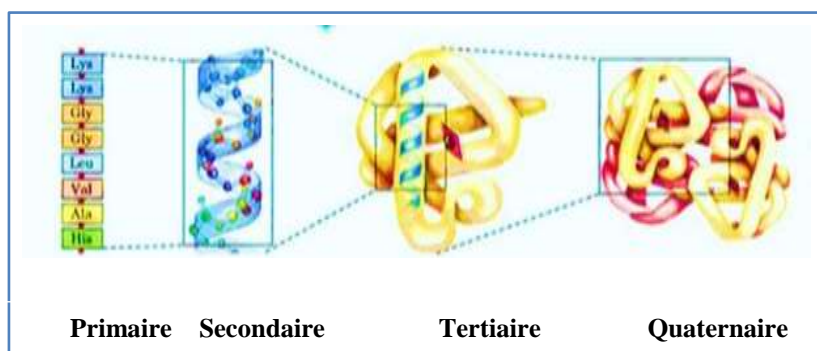
##### ➤ *Structure des enzymes :*

Les enzymes sont des protéines globulaires constituées d'enchaînements d'acides  $\alpha$ -aminés liés entre eux par des liaisons peptidiques covalentes. La disposition linéaire de ces unités de base dans la chaîne protéique détermine la **structure primaire** qui, en se courbant et en s'enroulant sur elle-même en forme d'hélices alpha et de feuillets bêta, adopte la **structure secondaire** qui conduit à son tour à la **structure tertiaire** par d'autres enroulements plus importants. L'association de deux (ou plus) de ces structures tridimensionnelles entraîne la

---

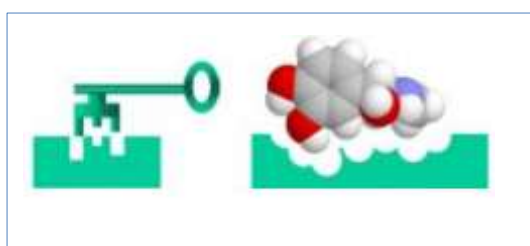
<sup>28</sup> (a) A. M. Klibanov, G. Küchner, Enzymatic production of 2-halopropionic acids, **1986**, US patent 4, 601, 987 in Massachusetts Institute of Technology. (b) A. M. Klibanov, *Trends Biochem. Sci.*, **1989**, 14, 141-144.

formation de la structure finale dite structure *quaternaire* qui dépend exclusivement de la séquence primaire des acides aminés et définit la fonction biologique de l'enzyme.<sup>29</sup> (Figure 5)

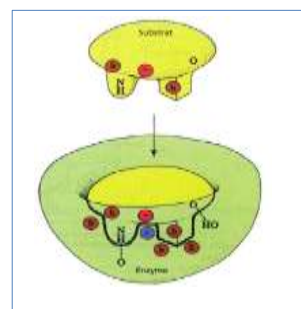


**Figure 5 :** Structure des enzymes.

Dans cette structure tridimensionnelle, il existe des niches réactionnelles où la réaction biocatalysée se produit : **les sites actifs**. Cette région particulière est constituée d'un petit nombre d'acides aminés où le substrat se lie, l'environnement chiral de ce site permet alors d'avoir une chimio, régio- est stéréosélectivité au cours de la catalyse. Pour expliquer le phénomène de la reconnaissance entre une enzyme et un substrat deux modèles ont été proposés : Le modèle clé-serrure (*Fisher 1890*) et le modèle de l'ajustement induit (*Koshland 1958*).<sup>30</sup>



**Modèle Clé-serrure**



**Modèle de l'ajustement induit**

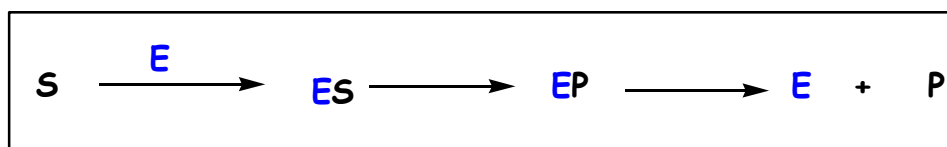
### ➤ Théories de l'activité enzymatique :

La fonction d'une enzyme (**E**) étant de catalyser une réaction chimique qui transforme un substrat (**S**) en un produit (**P**), l'activité enzymatique se manifeste, en présence de l'enzyme, par une accélération des vitesses de réaction comparativement à la réaction non-catalysée.

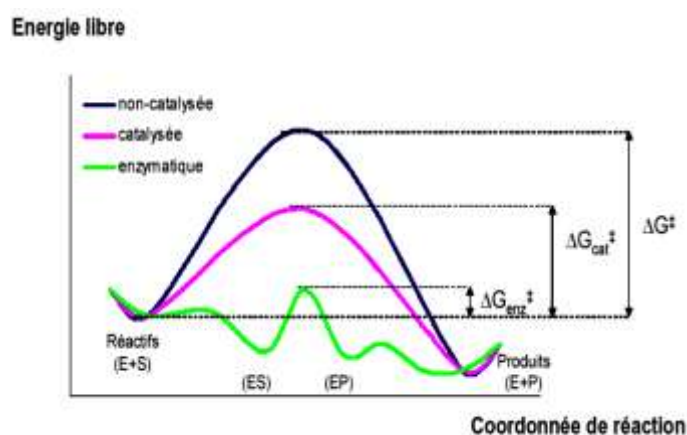
<sup>29</sup> C. Vollhardt, « Traité de Chimie organique », DeBoeck université, Traduit par P. Depovere, 2ème édition, Bruxelles, **1994**.

<sup>30</sup> R. A. Copeland; « Enzymes: A Practical introduction to structure, Mechanism, and Data Analysis ». 2<sup>ème</sup> édition., Wiley-VCH, Inc. **2000**, 62, 149, 175.

Une décomposition des étapes réactionnelles intégrant la formation du complexe "enzyme-substrat" donnerait l'équation suivante (**Schéma 9**) où certaines étapes sont tellement rapides qu'elles sont négligées ; il n'est considéré alors que la ou les étapes cinétiquement déterminantes qui peuvent changer d'un cas à un autre.



**Schéma 9 :** Réaction enzymatique.



Outre les avantages liés à l'enzyme, la synthèse en milieu organique permet d'améliorer les procédés réactionnels pour la mise en œuvre et pour la récupération de l'enzyme et du produit. Les nombreux avantages liés à la synthèse en milieu organique peuvent être résumés en quelques points :

1. Augmentation de la solubilité des substrats apolaires (exemple : acides gras).
2. Modification de la spécificité pour le substrat(s).
3. Récupération facilitée du produit par simple évaporation du solvant.
4. Récupération facilitée de l'enzyme par simple filtration ou centrifugation.
5. Possibilité de mettre en œuvre des réactions avec d'autres nucléophiles (réaction de transestérification), ce qui ne pourrait être possible en milieu aqueux.

➤ *Classification des enzymes*

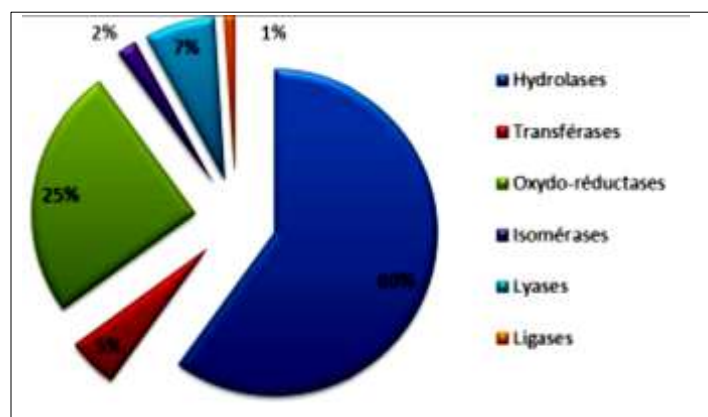
La classification des enzymes <sup>31</sup> a été établie par l'enzyme commission de **L'UIB** (*international union of biochemistry*) en collaboration avec l'**IUPAC**. Elle est effectuée en fonction de la spécificité d'une enzyme pour un seul type de la réaction et un substrat déterminée. On distingue six catégories qui sont les suivantes :

- ✚ **Les oxydo-réductases** : les enzymes de ce groupe catalysent les réactions d'oxydoréduction et englobent les réactions d'oxygénation, comme par exemple le passage de C-H à C-OH, ainsi que l'addition ou l'élimination d'atomes d'hydrogène, comme par exemple CH(OH) à C=O et CH-CH à C=C.
- ✚ **Les transférases** : ces enzymes transfèrent des radicaux (méthyle, éthyle,...) ou des groupements d'atomes (l'hydroxyméthyl, carbonyle et les groupements carbonés comportant des fonctions aldéhydes ou cétones,...) d'une molécule (substrat donneur) à une molécule (substrat accepteur).
- ✚ **Les hydrolases** : c'est de loin le groupe le plus important, car il ne nécessite pas de co-enzyme. Cette classe permet l'hydrolyse d'esters, d'anhydrides, de glycosides, d'amides et permet aussi la transestérification des alcools. **Cette classe d'enzyme est plus utilisée.**
- ✚ **Les lyases** : ce type de catalyseur favorise les additions de HX sur les doubles liaisons comme C=C, C=N, C=O et leur processus inverse.
- ✚ **Les isomérases** : elles catalysent aussi bien les migrations intramoléculaires des doubles liaisons C=C que l'isomérisation *cis* – *trans* et peuvent effectuer une racémisation désirée.
- ✚ **Les ligases (synthétases)** : elles permettent la formation de divers types de liaisons telles que C-O, C-C, C-S, C-N.

Les hydrolases sont les plus utilisées soit dans les laboratoires de recherche, soit dans l'industrie à cause de leur stabilité, disponibilité et facilité de manipulation. <sup>32</sup> Leurs coût est modéré et elles ne nécessitent pas de cofacteurs pour leur fonctionnement.

<sup>31</sup> S. H. Krishna, *Biotechnol. Adv.*, **2002**, 20, 239-267.

<sup>32</sup> (a) S. Piccicuto, C. Blecker, J. C. Brohée, A. Mbampara, G. Lognay, C. Deroanne, M. Paquot, M. Marlier, *Agron. Soc. Environ.*, **2001**, 5(4), 209-219 ; (b) A. J. J. Straathof., S. Panke., A. Schmid, *Current Opinion in biotechnology.*, **2002**, 13(6), 548-556.



**Figure 6:** Fréquence de l'utilisation des enzymes hydrolytiques dans les biotransformations

### ✚ Les hydrolases :

Les hydrolases sont une classe d'enzymes qui se subdivisent en plusieurs sous-groupes dont trois, les lipases, les estérases et les protéases, sont très utilisés en synthèse organique, ces enzymes permettent des réactions d'hydrolyse en milieu aqueux, mais aussi des réactions d'estérification, d'interestérification ou de transestérification dans les solvants organiques. Les réactions catalysées par les lipases les plus utilisées sont décrites comme suit :

#### ✓ L'hydrolyse:



#### ✓ L'estérification:



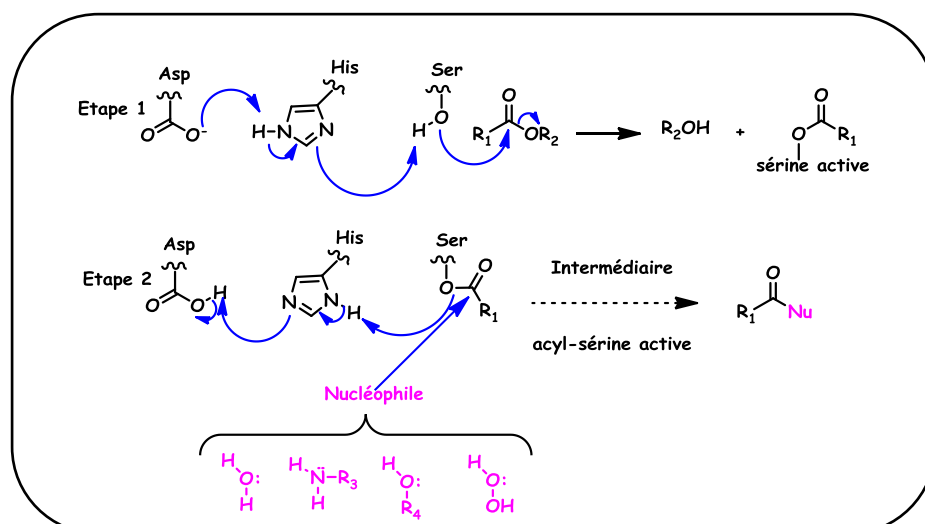
#### ✓ La transestérification :



#### ✓ L'interestérification :



La cavité de leur site actif contient habituellement une triade catalytique constituée de trois acides aminés, soient l'acide aspartique (Asp) ou glutamique (Glu), l'histidine (His) et la serine (Ser). Le mécanisme d'action des hydrolases à serine est présenté ci-dessous (**Schéma 10**):



**Schéma 10 :** Mécanisme réactionnel de la triade catalytique.

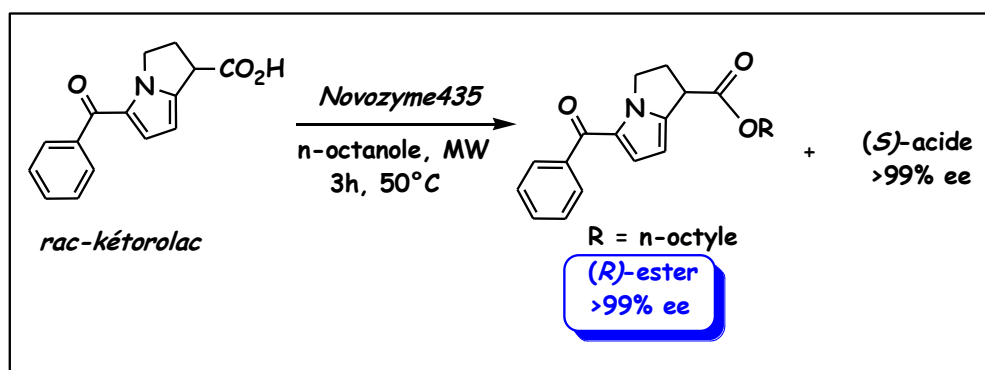
Le fonctionnement de ces trois opérateurs chimiques est élucidé dans le mécanisme réactionnel de l'hydrolyse d'un ester par la *sérine hydrolase*. L'arrangement de ces trois groupes cause une diminution de la valeur de pK du groupement hydroxyle de la sérine ce qui rend l'effet nucléophile plus prononcé, et qui mène à une attaque nucléophile sur le groupement carbonyle du substrat  $R^1COOR^2$  lors d'une première étape. Ainsi, le groupement acyle est lié d'une manière covalente à l'enzyme en formant le complexe acyl-enzyme avec libération d'alcool  $R^2OH$ . Dans une deuxième étape, le nucléophile, par exemple l'eau attaque le complexe acyl-enzyme en régénérant l'enzyme et libérant l'acide carboxylique  $R^1COOH$ .

### I-6. Application des lipases dans l'industrie pharmaceutique :

Les enzymes développées et produites pour les applications industrielles représentent un marché mondial dont la valeur est comprise entre \$5000 millions et \$5500 millions en 2016.<sup>33</sup> Les principales applications industrielles des enzymes comprennent les applications agroalimentaires (produits laitiers, boulangerie, jus de fruits, bière, vin) et l'industrie des détergents, la production de biocarburants, l'agroalimentaire (nutrition humaine et animale) ou encore les textiles, le cuir et l'industrie papetière. Des secteurs stratégiques se sont développés plus récemment comme la chimie fine, le secteur pharmaceutique et les domaines de l'analyse et des capteurs. Les lipases représentent moins de 10 % du marché mondial des enzymes industrielles et sont utilisées dans de très nombreux segments.

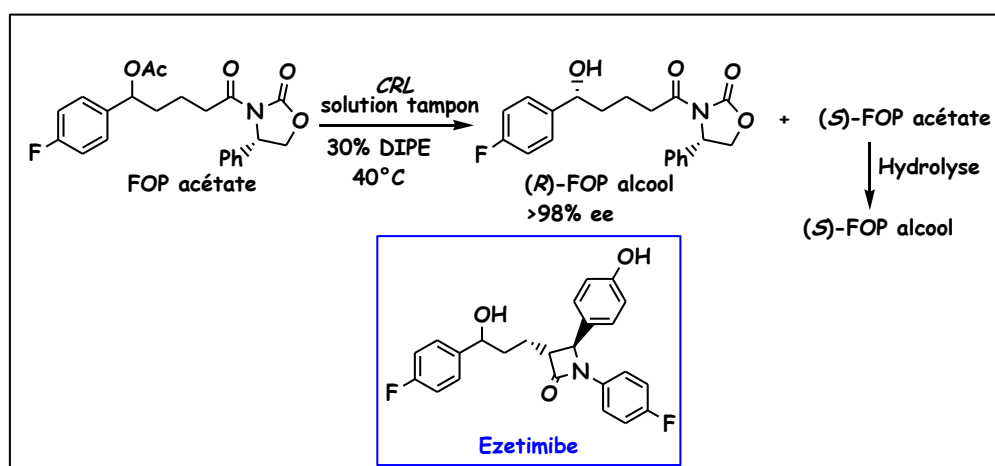
<sup>33</sup> Guerrand, David. "Lipases industrial applications: focus on food and agroindustries." (2017): D403.

**Kétorolac**, un puissant anti-inflammatoire non stéroïdien (*NSAI*), appartenant à la classe des dérivés de l'acide acétique hétérocyclique, et il est largement utilisé comme analgésique. La résolution cinétique assistée par micro-ondes (MW) de ce composé a été étudiée en utilisant différentes lipases immobilisées. Le meilleur résultat est obtenu avec la *Novozyme 435*. L'acylation énantiosélective de *rac*-Kétorolac en 3 h, à 50 ° C offre l'ester (*R*) avec un ee > 99%. (*Schéma 11*).<sup>34</sup>



*Schéma 11*: DC lipasique de Kétorolac.

**L'ézétimibe** est un médicament utilisé dans la réduction du cholestérol et des lipides sanguins. La synthèse de ce médicament nécessite l'alcool « 3-[5-(4-fluorophényl)-5-(*S*)-hydroxypentanoyl]-4-(*S*)-4-phényl-1,3-oxazolidin-2-one » (*FOP*) énantio pure, ce dernier est obtenu énantiomériquement enrichi ee>98% par un dédoublement cinétique par hydrolyse lipasique de son acétate racémique correspondant (*Schéma 12*).<sup>35</sup>

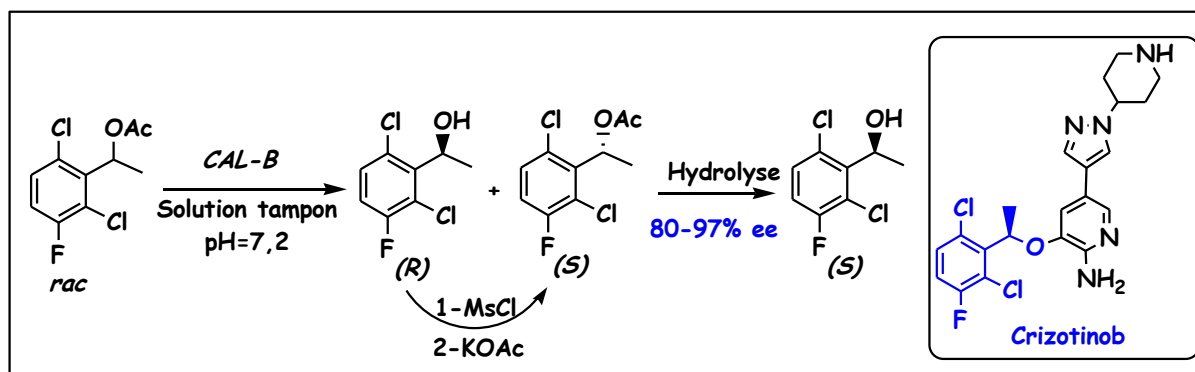


*Schéma 12* : DC enzymatique par hydrolyse d'acétate de FOP.

<sup>34</sup> S.D. Shinde, G.D. Yadav, *Process Biochem.* **2015**, 50, 230–236.

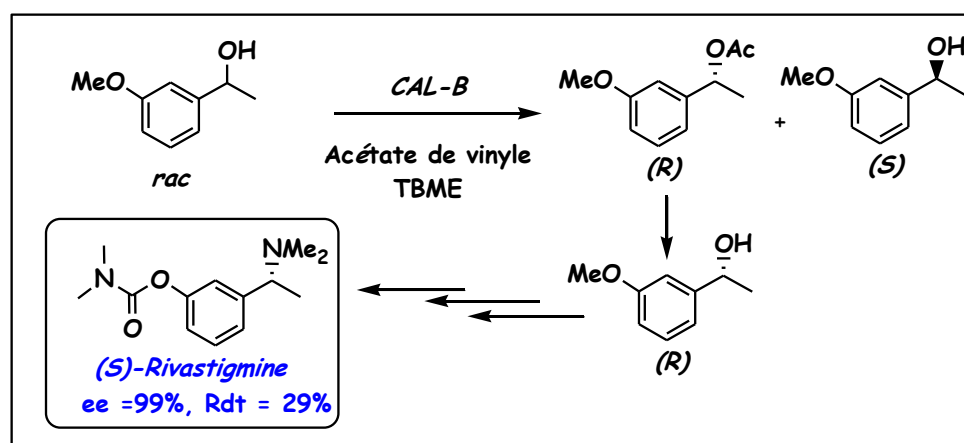
<sup>35</sup> A. Singh, Y. Goel, A.K Rai, U.C. Banerjee, *J. Mol. Catal. B.* **2013**, 86, 99–104.

Le **Crizotinob** est un agent antitumoral.<sup>36</sup> Un de ses intermédiaires est le (*S*)-1-(2,6-dichloro-3-fluorophényl) éthanol, qui est aisément obtenu énantiomériquement enrichi (ee=80-97%) par un dédoublement cinétique par hydrolyse lipasique de son acétate racémique correspondant.<sup>37</sup> (*Schéma 13*).



**Schéma13:** Synthèse du (*S*)-1-(2,6-dichloro-3-fluorophényl)éthanol via un DCE.

La Rivastigmine, (**Exelon**®) médicament utilisé pour le traitement de démence modérée de la maladie d'Alzheimer. Son activité réside dans la forme énantiomérique (*S*). Récemment à l'échelle des laboratoires, une synthèse de ce médicament a été développée en passant par un dédoublement cinétique par acylation lipasique d'un alcool secondaire racémique le 1-(3-méthoxyphényl) éthanol, comme une étape clé pour importer l'énantio-pureté au sein de la molécule<sup>38</sup> (*Schéma 14*).



**Schéma14:** Synthèse de la (*S*)-Rivastigmine en passant par un DCE.

<sup>36</sup>J. J. Cui, M. Tran-Dubé, H. Shen, M. Nambu, P. P. Kung, M. Pairish, & M. McTigue, *Journal of medicinal chemistry*, **2011**,54(18), 6342-6363.

<sup>37</sup> P. P. Kung, C. Martinez, & J. Tao, **2008**, *U.S. Patent No. 7,465,842*. Washington, DC: U.S. Patent and Trademark Office.

<sup>38</sup>J. Mangas-Sánchez, M. Rodríguez-Mata, E. Busto, V. Gotor-Fernández & V. Gotor, *The Journal of Organic chemistry*, **2009**,74(15), 5304-5310.

## I-7. CONCLUSION :

Ce chapitre expose les différentes approches de catalyse énantiosélective pour accéder aux molécules énantio-pures incluant les différentes voies catalytiques (homogène, hétérogène, enzymatique). La catalyse enzymatique est une alternative particulièrement intéressante qui s'est imposée ces dernières années. Les domaines d'applications de la catalyse enzymatique sont très nombreux, notamment dans le cadre de la réduction de l'intention environnemental des processus chimiques. Elle permet l'utilisation de systèmes plus performants, rapides et économiques en énergie. Cet outil est de plus en plus utilisé dans le monde industriel pour la production d'intermédiaires chiraux ou de substances à haute valeur ajoutée.

Au cours des 20 dernières années, les enzymes sont apparus comme un outil indispensable dans la synthèse organique pour l'obtention des molécules chirales. Les lipases, en particulier, sont généralement les plus utilisées du fait de leur compatibilité avec une large gamme de substrats et présentent souvent une grande sélectivité et des propriétés pertinentes telles que leur facilité de mise en œuvre qui leur permet d'être utilisées dans différents domaines. De nombreux exemples montrant l'implication des enzymes dans la synthèse des médicaments sont présentés dans ce chapitre. Les lipases sont mises en œuvre de manière continue dans une large gamme des applications comme alternative aux procédés chimiques, offrant des performances et un rendement supérieurs, un produit amélioré et des fonctionnalités ayant un impact moindre sur les ressources énergétiques.



**PREMIERE PARTIE**



**CHAPITRE II**  
**DEDOUBLEMENT CINETIQUE ENZYMATIQUE**

## II-1. INTRODUCTION :

L'obtention de molécules chirales énantiomériquement pures est devenue un enjeu majeur pour les industries pharmaceutiques et agrochimiques. Si ces dernières années, d'importantes avancées ont été réalisées dans le domaine de la catalyse asymétrique en général, le dédoublement cinétique de mélanges racémiques demeure encore aujourd'hui la méthode la plus exploitée pour la synthèse de molécules optiquement pures. Cette approche s'est développée au niveau de la recherche fondamentale et connaît de nombreuses applications industrielles ou elle apparaît comme une alternative durable aux procédés chimiques qui souffrent de la complexité des processus classiques (températures et pressions élevées, faible sélectivité) ainsi que de leur coût élevé. Les réactions enzymatiques sont réalisées à température ambiante et à pression atmosphérique ce qui minimise les problèmes d'isomérisation, de racémisation, d'épimérisation ou de réarrangement. L'avantage des réactions enzymatiques est une spécificité de substrat élevée et leur stéréosélectivité élevée.<sup>39</sup>

### II-1-1. Définition du dédoublement :

Le dédoublement est la séparation des deux énantiomères d'un racémique qui à l'exception du dédoublement spontané se fait par l'intervention d'un auxiliaire chiral ou un catalyseur chiral.

Il existe plusieurs types de dédoublement:

#### *Le dédoublement spontané :*

Ce type de dédoublement concerne uniquement des molécules qui cristallisent sous forme de "conglomérat". Il consiste en une séparation mécanique appelée « tri » des cristaux des deux énantiomères du mélange racémique et qui peut être effectuée à l'aide d'un microscope. C'est ainsi que Pasteur a dédoublé le tartrate d'ammonium.<sup>40</sup>

#### *Le dédoublement par formation de diastéréoisomères :*

Ce mode de dédoublement d'un racémique (dl) est réalisé à l'aide d'une substance énantiopure (D) qui permet de former des diastéréoisomères qui sont séparables par leurs différences de

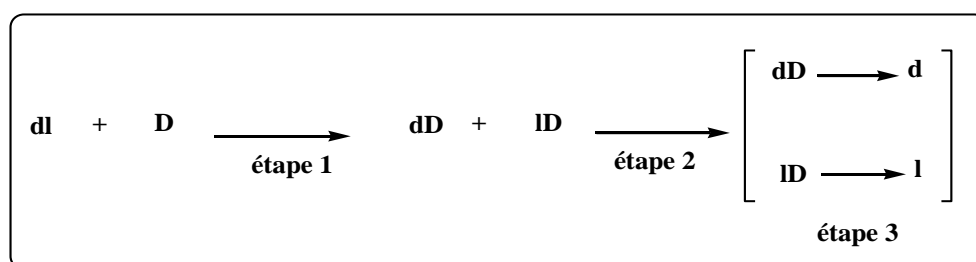
---

<sup>39</sup> (a) S. Ahuja, *Chiral Separations: Application and Technology*, American Chemical Society, **1997**; (b) K. Buchholz, V. Kasche, U.T. Bornscheuer, *Biocatalysts and Enzyme Technology*, Weinheim: Wiley-VCH Verlag GmbH, **2005**; (c) J. P. Rasor, Voss E. *Appl. Catal. A: Gen.*, **2001**, 221, 145-158; (d) M.C. Hillier, P.J. Reider *Drug discovery today*, **2002**, 7, 303-314.

<sup>40</sup> L. Pasteur; *Ann. Chim et Phys.*, **1848**, 24, 442.

propriétés physiques. Ce procédé a été largement utilisé dans l'industrie pharmaceutique. Ce type de dédoublément se fait en trois étapes :

- ✚ la formation de diastéréoisomères par formation des sels, complexes cristallins, complexes de coordination et les composés covalents.
- ✚ La séparation des diastéréoisomères par cristallisation, distillation ou chromatographie.
- ✚ Le clivage et la récupération de la substance énantiopure par voie chimique, traitement acide ou basique ou par échange de ligands.



**Schéma 15:** Procédure de dédoublément par formation des diastéréoisomères

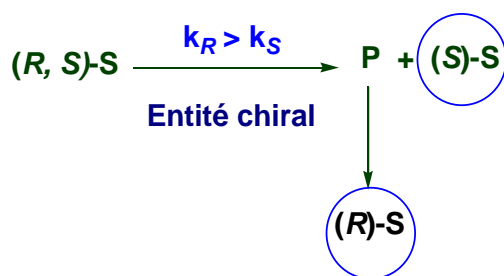
#### ✚ Le dédoublément chromatographique :

La grande majorité des dédoubléments chromatographiques sont de nature analytique et leur but est la détermination de la composition énantiomérique. Cette méthode est basée sur la formation d'un mélange de diastéréoisomères covalents entre les énantiomères du racémique et la phase chirale (stationnaire ou mobile). Il y a séparation en fonction de la différence de vitesse d'élution de ces diastéréoisomères.

#### ✚ Le dédoublément cinétique :

Le dédoublément cinétique est basé sur la différence de vitesse de réaction de chaque énantiomère avec un réactif chiral (Réaction stoechiométrique) ou un catalyseur chiral (enzyme). Les énergies des états de transition de chaque énantiomère sont différentes, car les deux états sont diastéréoisomères, d'où la différence de vitesse. Ainsi, la modification chimique de l'un des deux énantiomères permettra d'assurer le dédoublément du racémique par des méthodes classiques de séparation utilisées en chimie organique.<sup>41</sup> (**Schéma 16**)

<sup>41</sup> (a) H. Pellissier, *Tetrahedron.*, **2003**; 59, 8291–8327. (b) Martin-Matute, Jan-E Bäckvall, *Curr. Opin. Chem. Bio*; **2007**; 11; 226-232.

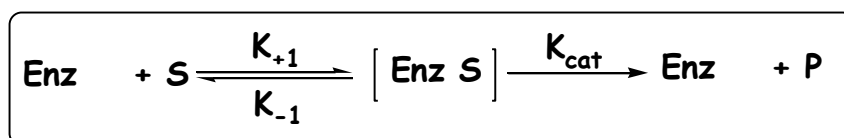


**Schéma 16:** Principe de dédoublement cinétique.

$k_R$  et  $k_S$  étant les constantes de vitesse respectives des énantiomères  $R$  et  $S$ .

## II-2. Le dédoublement cinétique enzymatique :

En 1902, *Henri et A. Brown* ont suggéré indépendamment que la formation d'un complexe enzyme – substrat est un intermédiaire obligatoire de la réaction enzymatique, dans ce cas le catalyseur est une enzyme. En se basant sur cette suggestion, *L. Michaelis et M. Menten* redécouvrirent en 1913, et établirent la relation suivante que l'on connaît actuellement sous le nom d'équation de Michaelis-Menten :



**Schéma 17:** Etapes de la réaction enzymatique..

Où Enz : Enzyme, S : Substrat, P : Produit, [Enz.S]: Complexe Enzyme- Substrat.  
 $k_{+1}$ ,  $k_{-1}$ ,  $k_{\text{cat}}$  : Constantes des vitesses des différentes étapes de la réaction.

### **+** Paramètres de Michaelis-Menten :

$k_{\text{cat}}$  : la constante de vitesse de l'étape la plus lente de la réaction enzymatique pour la transformation chimique du complexe E-S en E-P. Cette constante est aussi appelée « **turnover** » parce qu'elle représente le nombre de molécule de substrat qui sont converties en produit par le site actif de l'enzyme par unité de temps.

$k_{-1}$ : la constante d'association en complexe E-S.

$k_{+1}$ : la constante de dissociation du complexe E-S en E et S.

La vitesse de la réaction est déterminée en fonction de vitesses de formation des deux énantiomères ( $R$  et  $S$ ) du substrat.

$$v = k_{cat} [Enz, S] = \frac{k_{cat} [Enz] [S]}{k_m}$$

Equation.1

$k_m$  est la constante de *Michaelis* qui détermine l'affinité de l'enzyme pour le substrat. Le rapport ( $k_{cat}/k_m$ ) caractérise l'affinité spécifique d'une enzyme pour son substrat.

$$k_m = \frac{k_{-1} + k_{cat}}{k_{+1}}$$

Equation.2

### II-2-1. Paramètres d'évaluation d'un DCE irréversible :

Pour évaluer l'efficacité d'un dédoublément cinétique enzymatique irréversible, exprimée par le terme de sélectivité « E » H. B Kagan et J. C. Fiaud <sup>42</sup> ainsi que Sih et Coll <sup>43</sup> ont décrit les relations mathématiques suivantes :

*L'excès énantiomérique (ee)* : détermine la pureté optique ou l'enrichissement d'une substance donnée en un énantiomère.

$$ee = \frac{|R - S|}{|R + S|}$$

*La conversion (C)* : représente le taux d'avancement de la réaction.

$$C = \frac{ee_S}{ee_S + ee_P} \quad 0 < C < 1$$

*Le facteur de sélectivité (E)* : montre l'affinité de l'enzyme envers l'un des énantiomères, c'est le rapport des vitesses de réaction des deux énantiomères. Ce paramètre caractérise l'affinité spécifique d'une enzyme pour son énantiomère. L'équation diffère selon que l'on calcule la sélectivité par rapport au substrat S ou par rapport au produit P.

<sup>42</sup> H.B. Kagan, J.C. Fiaud. Kinetic Resolution, Topics in Stereochemistry. E.L.Eliel, S.H. Wiley & Sons, Inc. New-York. **1988**, 18, 249-330.

<sup>43</sup> C.S. Chen, Y. Fujimoto, G. Girdaukas, C. Sih, *J. Am. Chem. Soc.*, **1982**, 104, 7294.

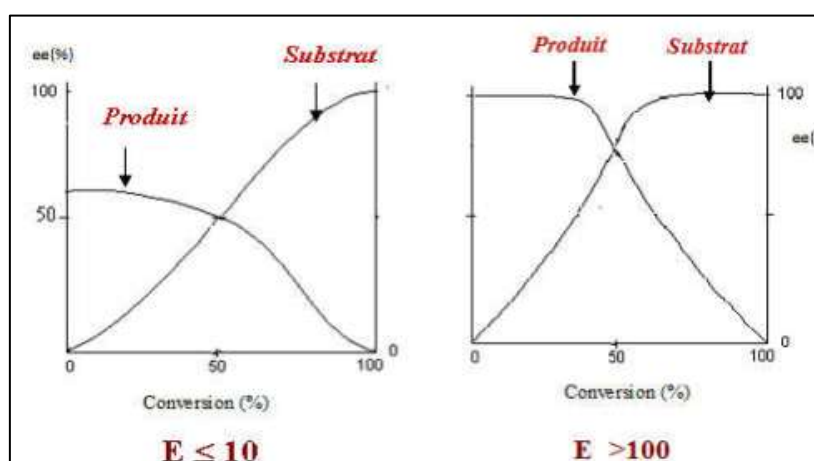
$$E = \frac{K_R}{K_S}$$

$$E = \frac{\ln[1-C(1+ee_p)]}{\ln[1-C(1-ee_p)]} = \frac{\ln[(1-C)(1-ee_s)]}{\ln[(1-C)(1+ee_s)]}$$

Le taux d'avancement d'une réaction de dédoublément cinétique enzymatique ( $C$ ) est directement lié aux excès énantiomériques du substrat non réagi ( $ee_s$ ) et du produit obtenu ( $ee_p$ ), ce qui influe directement sur le facteur de sélectivité ( $E$ ). L'obtention d'une haute pureté énantiomérique est liée à la rapidité avec laquelle le site actif peut différencier entre les deux énantiomères ainsi que la préférence ou la reconnaissance enzyme-substrat. En effet, si la pureté énantiomérique du substrat de départ augmente celle du produit de la réaction doit nécessairement diminuer. Lors d'un dédoublément cinétique enzymatique, le cas idéal est d'avoir une pureté optique optimale des deux énantiomères à une conversion de 50%, on considère que la réaction est sélective. Deux cas peuvent se présenter: (**Figure 7**)

**Cas1 : Facteur de sélectivité faible ( $E \leq 10$ )** ; l'énantiomère non réagi peut être obtenu avec un enrichissement optique élevé à une conversion très avancée et l'autre antipode optique avec un excès énantiomérique ridicule.

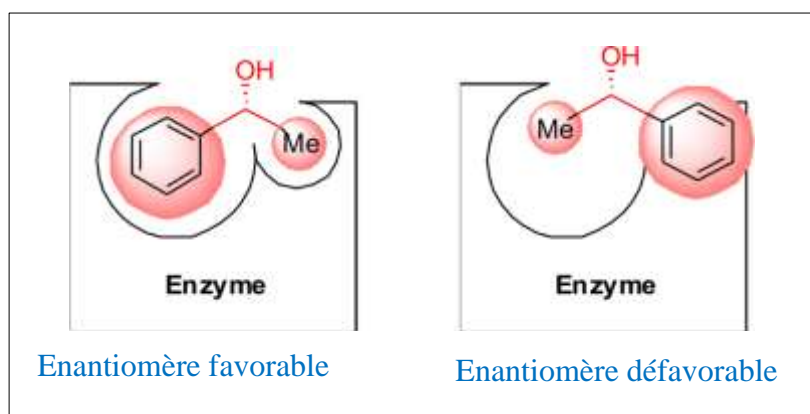
**Cas2 : Facteur de sélectivité élevé ( $E > 100$ )** ; on pourrait obtenir les deux énantiomères d'un racémique avec une haute pureté optique en un seul dédoublément.



**Figure 7:** Variation des excès énantiomériques ( $ee_s$  et  $ee_p$ ) en fonction de la conversion.

### II-2-2. Les modèles de prédiction empiriques:

Il est possible de prédire la sélectivité des enzymes face à certain type de substrat, mais pas de son degré d'affinité. Le premier modèle décrit est celui de *Prélog*,<sup>44</sup> il prédit l'énantiosélectivité de l'alcool déshydrogénase de levure lors de la réduction des cétones. Ce modèle est basé sur la taille des substituants situés de chaque côté du groupement carbonyle. Les autres modèles sont basés sur les poches, ou ils donnent la taille et la forme des molécules qui tolèrent le site actif. Tels que, le modèle de Jones de l'estérase de foie de porc (*PLE*),<sup>45</sup> de la subtilisine<sup>46</sup> et plusieurs d'autres lipases.<sup>47</sup> Ensuite, *Kazlauskas* a décrit sa règle empirique concernant la reconnaissance chirale entre les lipases et les alcools secondaires.<sup>48</sup> Basée sur les différentes tailles des deux poches qui constituent le site actif de la lipase (**Figure 8**), cette règle permet de prédire l'énantiopréférence de la lipase de *Pseudomonas cepacia* (*PCL*) envers certains substrats.



**Figure 8:** Règle de Kazlauskas

Ainsi, si le groupe de grande taille (Ph) a une priorité par rapport au groupe d'une taille moyenne (Me), le (*R*)-alcool réagit pour donner l'ester correspondant. La même stéréopréférence a été observée pour les réactions d'hydrolyse des esters, dans ce cas le produit (*R*)-alcool est obtenu.

<sup>44</sup> V. Prelog. *Pure Appl. Chem.*, **1964**, 2, 119.

<sup>45</sup> T. Lee, R. Sakowicz, V. Martichonoc, J.K. Hogan, M. Gold, J.B. Jones. *Acta Chem. Scand.* **1996**, 50, 697.

<sup>46</sup> P.A. Fitzpatrick, A.M. Klivanov. *J. Am. Chem. Soc.*, **1991**, 113, 3166.

<sup>47</sup> K. Lemke, M. Lemke, F. Theil, *J. Org. Chem.*, **1997**, 62, 6268. (b) K. Naemura, R. Fukuda, M. Konishi, K. Hirose, Y. Tobe. *J. Chem. Soc., Perkin Trans.*, **1994**, 1253. (c) J.M. Moreno, A. Samoza, C. del Campo, E.F. Liama, J.V. Sinisterra. *J. Mol. Catal. A: Chem.*, **1995**, 95, 179–192.

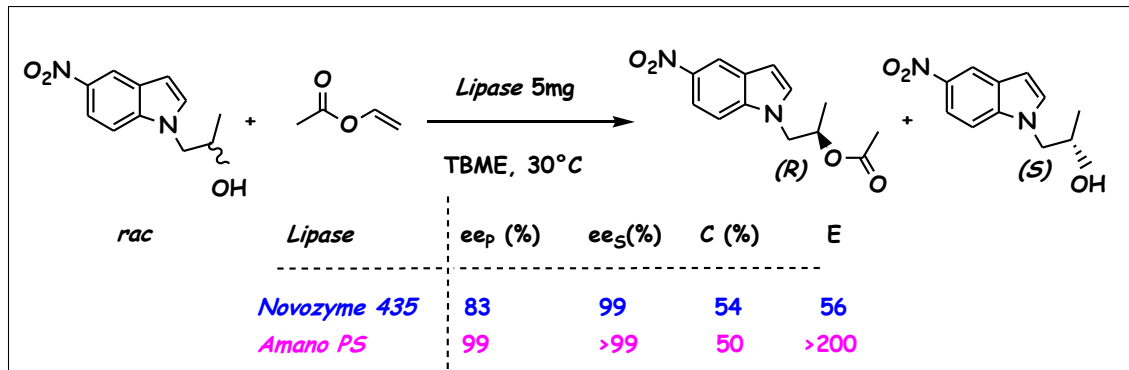
<sup>48</sup> R.J. Kazlauskas, A.N.E. Weissfloch, A.T. Rappaport, L.A. Cuccia, *J. Org. Chem.* **1991**, 56, 2656–2665.

### II-3. Paramètres influant sur la sélectivité de la réaction de DCE :

De nombreux paramètres peuvent influencer sur la réactivité et la sélectivité de la réaction de dédoublément cinétique enzymatique (hydrolyse, acylation) notamment, la nature de l'enzyme, la structure de substrat, la température, le solvant et le co-solvant organique ainsi que le pH.

#### II-3-1. Influence de la nature de la lipase :

L'un des facteurs importants pour réaliser un dédoublément cinétique, la nature de la lipase. Ce paramètre consiste, dans les pluparts des études décrites, comme la première étape déterminante, de la réactivité et de la sélectivité des lipases étudiées vis-à-vis un substrat sélectionné. Pour cela, plusieurs travaux ont été consacrés. Dans ce contexte, nous citons l'exemple suivant qui a montré l'acylation énantiosélective lipasique du 1-(5-nitro-1H-indol-1-yl)propan-2-ol, en utilisant l'acétate de vinyle comme donneur d'acyle dans le *tertio*-butylméthyléther. Afin de trouver la lipase adéquate pour dédoubler le 1-(β -hydroxypropyl) indoles, les auteurs ont examiné plusieurs lipases.<sup>49</sup> (Schéma 18)

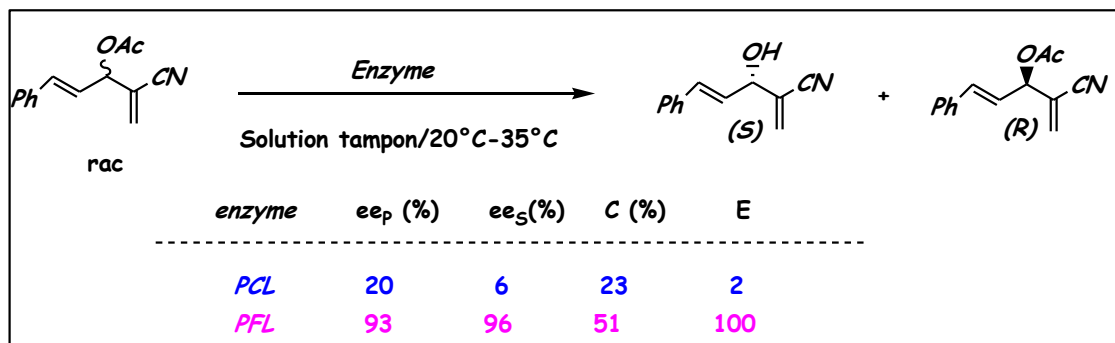


**Schéma 18:** Acylation énantiosélective du 1-(5-nitro-1H-indol-1-yl)propan-2-ol.

L'utilisation de la lipase *Amano PS*, a donné lieu au deux énantiomères, acétate (*R*) produit et alcool (*S*) résiduel énantiomériquement purs, à une conversion de 50%, et un facteur de sélectivité  $E > 200$ , en faveur de l'énantiomère (*R*). Tandis qu'avec la lipase *Novozyme 435*, le produit est obtenu avec un excès énantiomérique 83% à une faible sélectivité de 56 alors que l'énantiomère résiduel est obtenu énantio-pur.

<sup>49</sup> P. Borowiecki, I. Justyniak, Z. Ochal, *Tetrahedron: Asymmetry*, **2017**, 28, 1717-1732.

Wanyama P. Juma et coll<sup>50</sup> ont montré l'influence de la nature de l'enzyme sur la réaction d'hydrolyse enzymatique de l'acétate racémique de Morita-Baylis-Hillman, dans la solution tampon d'après le (Schéma 19).

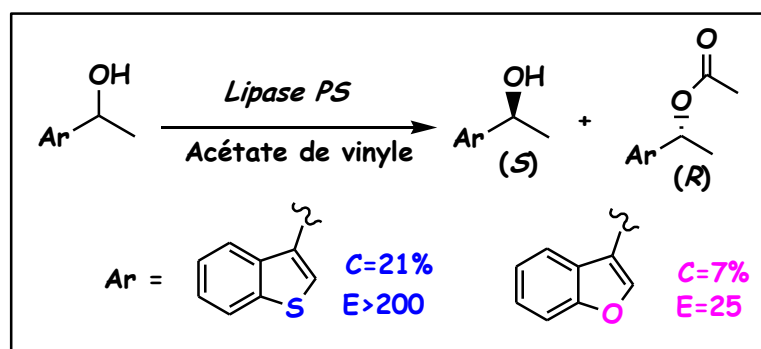


**Schéma 19** : Hydrolyse enzymatique de Morita-Baylis-Hillman acétates.

La meilleure résolution de cet acétate est effectuée avec la lipase *Pseudomonas fluorescens* (PFL) (E=100) qui donne le produit avec une grande pureté 93% ee à une conversion de 51% par rapport à la lipase *Pseudomonas Cepacia* (PCL) qui n'est pas sélective, les deux énantiomères réagissent à des vitesses comparables.

### II-3-2. Influence de la nature du substrat :

La structure de substrat peut influencer d'une façon remarquable sur la sélectivité de l'enzyme. Dans cet exemple Tosa et coll<sup>51</sup> ont montré que le changement d'un atome de soufre par un oxygène diminue l'activité et la sélectivité enzymatiques pour la transestérification des 1-hétéroaryléthanol avec l'acétate de vinyle comme donneur d'acyle en présence de la lipase PS dans le toluène (Schéma 20).

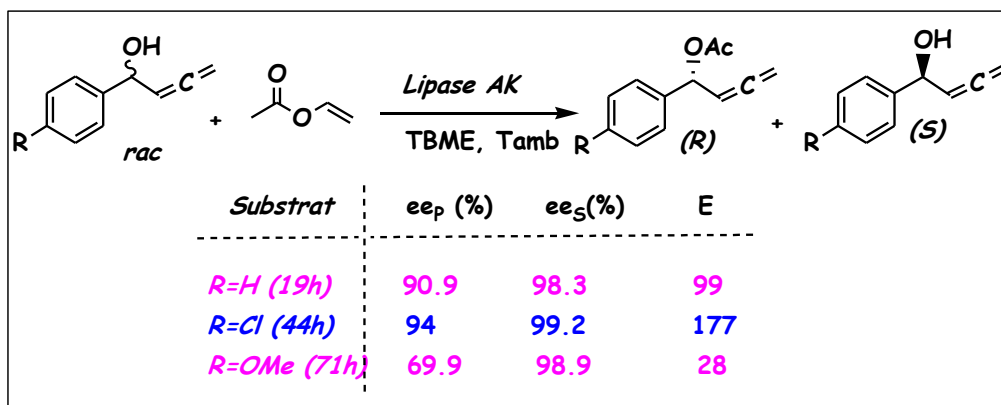


**Schéma 20**: Transestérification enzymatique de 1-hétéroaryléthanol racémique.

<sup>50</sup>Wanyama P. Juma a, Varsha Chhiba, Dean Brady, Moira L. Bode, *Tetrahedron: Asymmetry*, **2017**,28,1169.

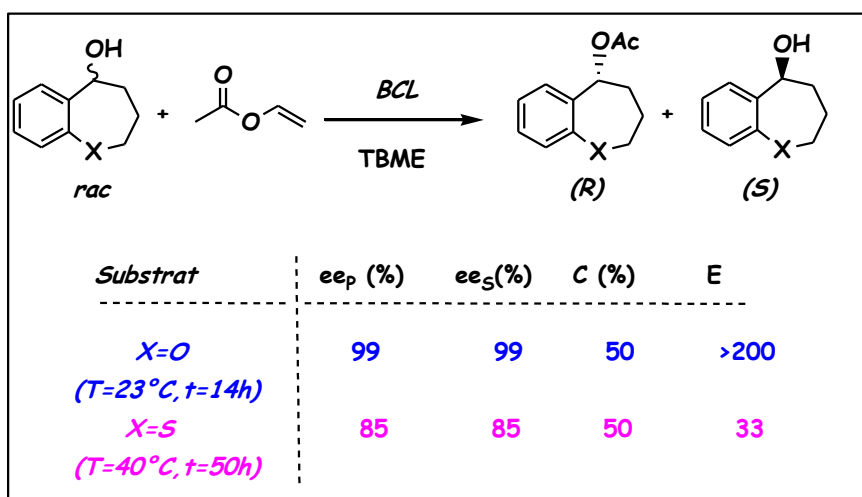
<sup>51</sup> Tosa, M., Pilbak, S., Moldovan, P., Paizs, C., Szatzker, G., Szakacs, G. Poppe, L. *Tetrahedron: Asymmetry*, **2008**, 19(15), 1844-1852.

Un autre exemple illustre l'influence de la nature de substrat, *Li et coll*<sup>52</sup> ont décrit une influence importante de l'effet électroniques des substituent en *para*- du noyau aromatique lors de l'acylation d'une série d'alcools aryl- $\alpha$ -alléniques, en présence de la lipase AK avec l'acétate de vinyle comme donneur d'acyle dans le TBME. La présence d'un groupement électrodonneur joue en défaveur de la sélectivité, tandis que la substitution en *para* par un groupement électroattracteur améliore nettement la réactivité et la sélectivité lipasique. (*Schéma 21*).



**Schéma 21:** Acylation lipasique d'alcools alléniques.

D'après une étude récente,<sup>53</sup> la lipase *Burkholderia Cepacia* (BCL) a présenté une différence de sélectivité importante lors du dédoublément cinétique d'analogues du chroman-4-ol et du thiochroman-4-ol. Cette lipase montre une grande affinité pour le dérivé analogue du chroman-4-ol avec ( $E > 200$ ) plutôt qu'avec le thiochroman-4-ol. (*Schéma 22*).



**Schéma 22:** Acylation d'alcools secondaire avec la lipase *Burkholderia Cepacia*.

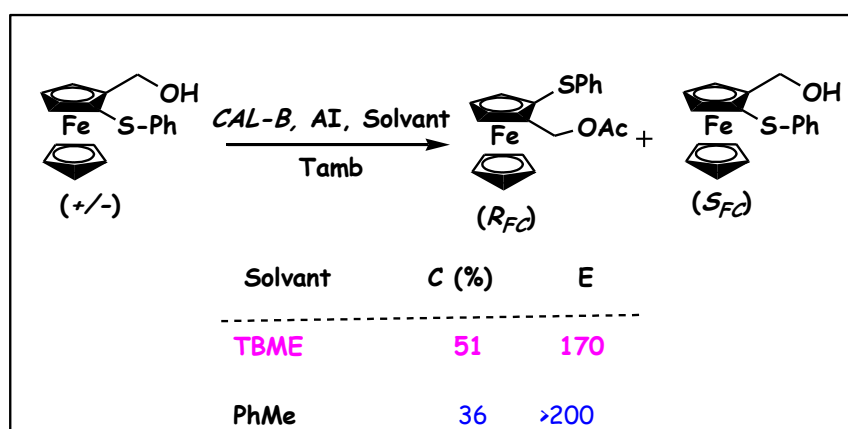
<sup>52</sup> W. Li, Z. Lin, L. Chen, X. Tian, Y. Wang, S. H. Huang, & R. Hong, *Tetrahedron Letters*, **2016**, 57, 603-606.

<sup>53</sup> O. V. Kucher, A. O. Kolodyazhnaya, O. B. Smolii, A. I. Boiko, V. S. Kubyshkin, P. K. Mykhailiuk, A. A. Tolmachev, *Tetrahedron: Asymmetry*, **2014**, 25(6), 563-567.

### II-3-3. Influence du solvant/co-solvant activité de l'eau :

Le solvant joue un rôle important dans la résolution cinétique enzymatique et des modifications importantes de l'activité d'une enzyme peuvent être observées selon la nature du solvant utilisé. Plusieurs travaux ont démontré l'utilité de choisir des solvants qui contiennent un minimum d'eau pour que l'enzyme fonctionne dans les milieux organiques.<sup>54</sup> La polarité des solvants organiques est désignée par une corrélation entre l'hydrophobicité d'un solvant organique et le facteur  $\text{Log}P$ , le logarithme du coefficient de partition entre le *n*-octanol et l'eau. Les solvants non-polaires avec un  $\text{Log}P > 2$  sont les plus sollicités pour les réactions de transestérification enzymatique. Cette règle reste empirique et des tests préalables doivent être effectués sur une gamme de solvants pour chaque réaction de dédoublement cinétique enzymatique. Dans le cas des réactions d'hydrolyse enzymatique, le solvant principal est constitué par la solution tampon aqueuses auquel est ajouté un solvant organique considéré comme un co-solvant afin d'augmenter la solubilité du substrat organique dans le milieu réactionnel.

De nombreux exemples montrent le rôle important du solvant sur la réactivité et la sélectivité des enzymes. Cet effet apparait nettement dans l'acylation d'un alcool ferrocénique primaire avec l'acétate d'isopropényle en utilisant deux solvants de diverses polarités, en présence de la lipase *Candida antarctica B* (CAL-B)<sup>55</sup> (Schéma 23).

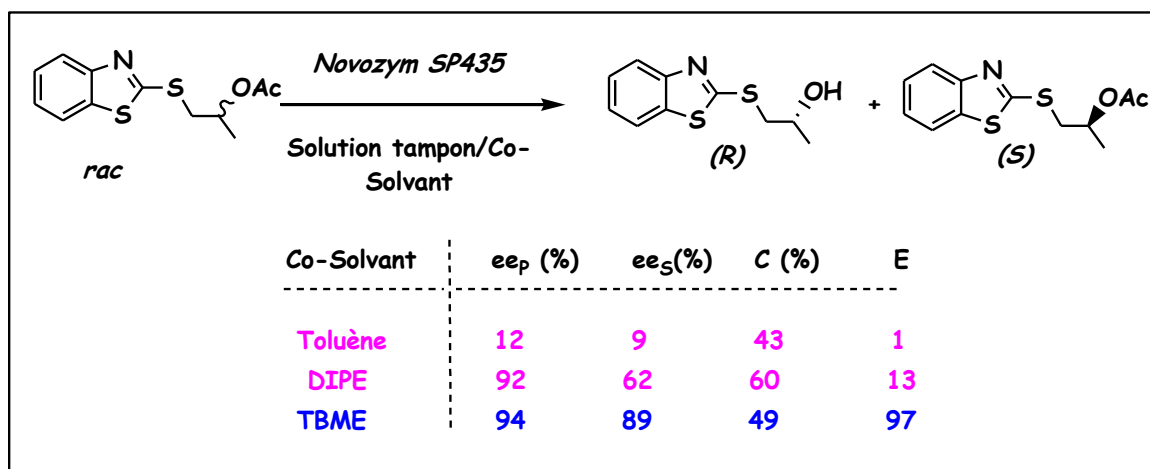


**Schéma 23:** Acylation lipasique d'un alcool ferrocényl primaire à chiralité planaire.

<sup>54</sup> A. M. Klivanov, *Chemtech*, **1986**, 16, 354-359.

<sup>55</sup> M. Merabet-Khelassi, L. Aribi-Zouiouche, O. Riant, *Tetrahedron: Asymmetry*, **2008**, 19(20), 2378-2384.

L'influence du co-solvant est illustrée par la réaction d'hydrolyse d'un acétate hétérocyclique catalysée par la *Novozyme SP435*, dans un milieu biphasique solution tampon / co-solvant organique<sup>56</sup> (*Schéma 24*).



**Schéma 24:** Hydrolyse lipasique d'un acétate hétérocyclique: effet du Co-solvant.

L'utilisation du Toluène, solvant hydrophobe, joue en défaveur de l'énantio-sélectivité, par contre, l'addition d'un solvant à caractère hydrophile (**TBME**) améliore nettement la sélectivité.

Aux cours de ces dernières années, le concept de "chimie verte" a conduit les chimistes organiciens vers des nouveaux systèmes de solvants moins toxiques et peu polluants tels que les fluides supercritiques ( $scCO_2$ )<sup>57</sup> et les liquides ioniques.<sup>58</sup> Ces nouveaux solvants, ininflammables et non volatils, offrent une manipulation aisée en contrôlant l'énantiosélectivité enzymatique<sup>59</sup> via la variation commode de la température et de la pression. La première utilisation des fluides supercritiques en catalyse enzymatique remonte à **1985**, où les chercheurs ont démontré l'effet bénéfique de l'utilisation du *Dioxyde de carbone supercritique* ( $scCO_2$ ) sur la réactivité et l'énantiosélectivité enzymatique.<sup>60</sup>

Très récemment, le  $scCO_2$  a été utilisé dans la réaction de dédoublement cinétique par

<sup>56</sup> P. Borowiecki, M. Fabisiak, Z. Ochal, *Tetrahedron*, **2013**, *69*, 4597-4602.

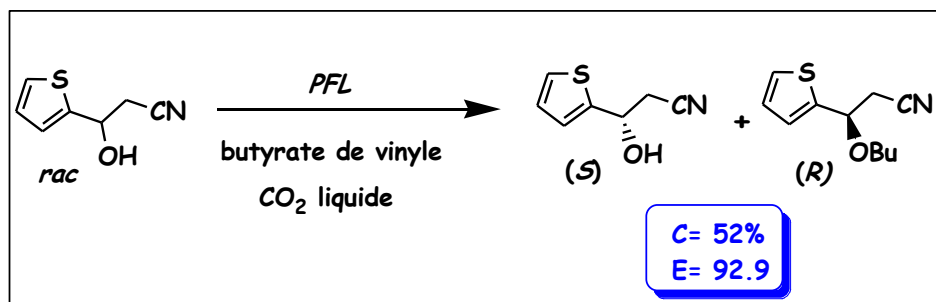
<sup>57</sup>(a) H. R. Hobbs, N. R. Thomas, *Chem. Rev.*, **2007**, *107*, 2786. (b) Matsuda, T.; Watanabe, K.; Harada, T.; Nakamura, K.; Arita, Y.; Misumi, Y.; Ichikawa, S.; Ikariya, T. *Chem. Commun.* **2004**, 2286. (c)-Matsuda, T. *J. Biosci. Bioeng.* **2013**, *115*, 233.

<sup>58</sup> T. Itoh, *Biotransformation in Ionic Liquid*. In *Future Directions in Biocatalysis*; Matsuda, T., Ed.; Elsevier Science B.V.: Amsterdam, **2007**; pp 3–20. Chapter 1.

<sup>59</sup> J. M. DeSimone, W. Tumas, *Green Chemistry Using Liquid and Supercritical Carbon Dioxide*; Oxford University Press: New York, **2003**

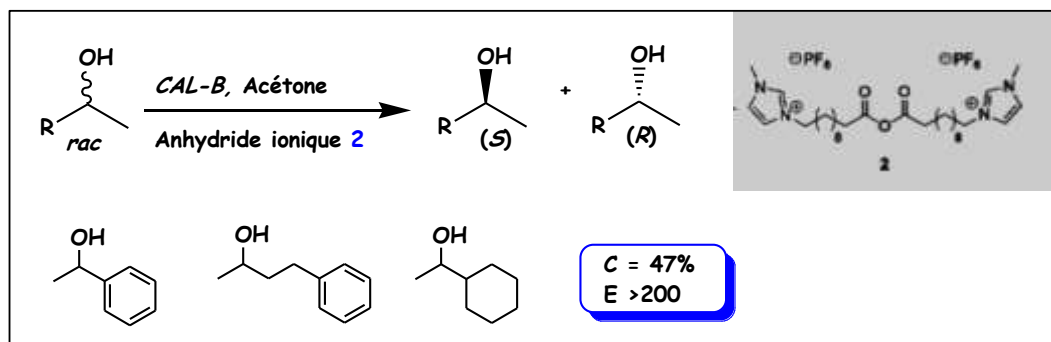
<sup>60</sup> (a) A. Ghanem, *Tetrahedron.*, **2007**, *63*, 1721-1754; (b) T. Matsuda, T. Harada, K. Nakamura, T. Ikariya, *Tetrahedron: Asymmetry*, **2005**, *16*, 909-915; (c) M. Albrycht, P. Kielbasinski, J. Drabowicz, M. Mikolajczyk, T. Matsuda, T. Harada, K. Nakamura, *Tetrahedron: Asymmetry*, **2005**, *16*, 2015-2018.

transestérification du (+/-) 3-hydroxy-3-(2-thienyl) propanenitrile (**Schéma 25**) par la PFL.<sup>61</sup> L'alcool résiduel est obtenu avec 99% ee avec une conversion optimale et une excellente sélectivité.



**Schéma 25:** Transestérification enzymatique de (+/-) 3-hydroxy-3-(2-thienyl)propanenitrile.

Une utilisation très intéressante dans ce domaine a été publiée récemment par l'équipe de Rocha<sup>62</sup> où l'**anhydride liquide ionique** préparé *in situ* est utilisé comme agent d'acylation dans la séparation énantiomérique d'une série d'alcool secondaire par la lipase **CAL-B** comme biocatalyseur (**Schéma 26**).



**Schéma 26 :** Transestérification enzymatique d'alcools secondaire par l'anhydride ionique 2.

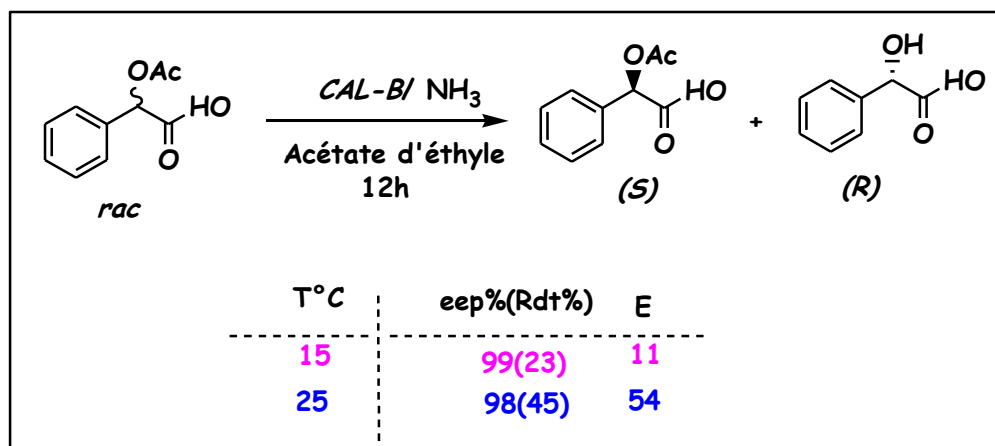
### II-3-4. Influence de la température :

La température est un facteur important dans l'étude de la réactivité et la sélectivité enzymatique. L'étude de l'influence de la température sur l'énantioselectivité de la réaction

<sup>61</sup> J. Zhang, Y. Li, W. Qian, L. Zhang, , F. Li, P. Chen, , & L. Wang, *Green Chemistry Letters and Reviews*, **2018**, *11*(3), 224-229.

<sup>62</sup> Rocha, Ângelo, et al, *Chem. Sus. Chem.* **2017**, *10*, 296-302.

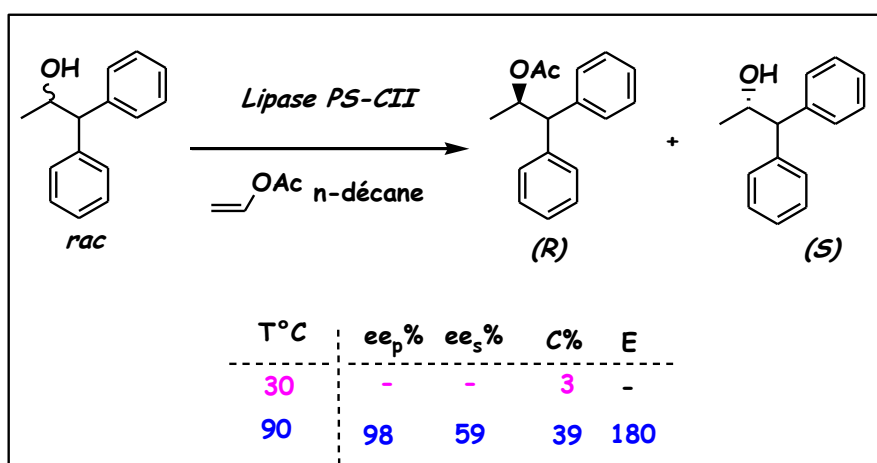
d'aminolyse enzymatique est montrée par *Chen et coll*<sup>63</sup> sur l'ester (*R/S*)-mandelique acide dans l'acétate d'éthyle en présence de la *CAL-B* suivant le *Schéma 27*.



*Schéma 27*: Aminolyse enzymatique d'ester mandelique.

Le résultat de cette étude a montré que l'alcool de configuration (*S*) est obtenu optiquement pur (ee = 99%) à une température égale à 25°C avec une sélectivité de E=54 alors qu'à 15°C elle chute à E=11. Il apparaît que la stabilité de l'enzyme est augmentée à température ambiante.

Dans un autre exemple,<sup>64</sup> a montré que pour l'acylation du 1,1-diphényl-2-propanol les lipases expriment une grande réactivité et sélectivité à une haute température T = 90°C (*Schéma 28*).



*Schéma 28*: Influence de la température sur la réaction de transestérification enzymatique.

<sup>63</sup> Shan Chen, Fuyan Liu, Kuan Zhang, Hansheng Huang. *Tetrahedron Letters*. **2016**, *57*, 5312–5314

<sup>64</sup> E. Tadashi, K. Masafumi, K. Toshinobu, S. Takashi. *Tetrahedron: Asymmetry*, **2003**, *14*, 3943–3947.

A  $T = 30^{\circ}\text{C}$ , la conversion atteint à peine 3% après une heure de temps, elle augmente avec l'augmentation de la température ou elle atteint  $C = 39\%$  à  $T = 90^{\circ}\text{C}$ , la meilleure sélectivité est obtenue à cette haute température ( $E > 180$ ).

### II-3-5. Influence de la nature de l'agent acylant :

Plusieurs travaux ont montré l'influence de l'agent acylant sur l'énantiosélectivité de la réaction de transestérification enzymatique. Les agents acylants activés utilisés pour la transestérification enzymatique se regroupent sous trois catégories: <sup>65</sup> **les réversibles, les quasi-irréversibles et les irréversibles**. Les agents irréversibles sont les plus utilisés et les plus performants pour effectuer des réactions de transestérification irréversible et c'est dans ce but que l'on utilise des esters d'énol <sup>66</sup> et des anhydrides d'acide. <sup>67</sup>

**Les esters d'énols** comme l'acétate d'isopropényle (**AI**) et l'acétate de vinyle (**AV**) font partie des agents acylants les plus utilisés dans le dédoublement cinétique enzymatique des alcools chiraux. L'irréversibilité de cette réaction et dans le cas des esters d'énol est due aux énols instables qui sont libérés et convertis sitôt en aldéhyde et en cétone respectivement

*Schéma 29.*

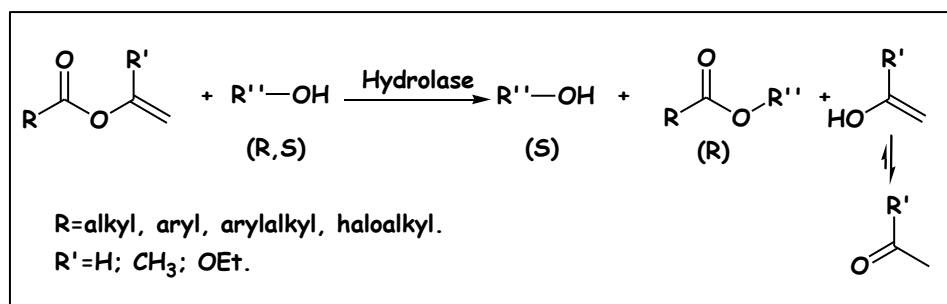


Schéma 29 : Réaction de transestérification avec les esters d'énol.

**Les anhydrides d'acides** dont l'intérêt est de récupérer les deux énantiomères dans deux phases différentes par simple extraction. L'énantiomère produit est récupéré sous forme d'ester acide dans la phase aqueuse et l'énantiomère alcool restant est se trouve dans la phase

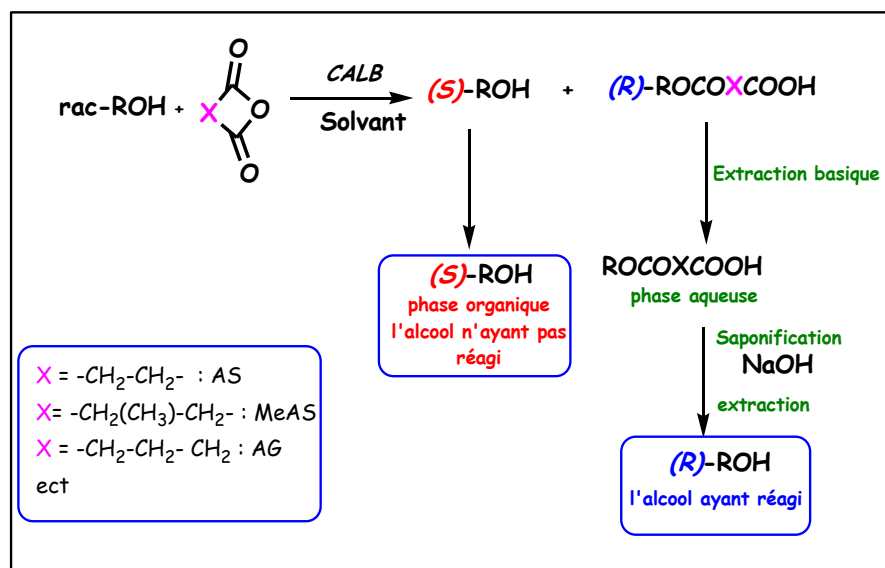
<sup>65</sup> H. Hanefeld, *Org. Biomol. Chem*, **2003**, 1, 2405-2415.

<sup>66</sup> (a) M. Degueil-Castaing, B. De Jeso, S. Drouillard; *Tetrahedron Letters.*, **1987**, 28, 953-954; (b) Y.F. Wang, C.H. Wong, *J. Org. Chem.*, **1988**, 53, 3129.

<sup>67</sup> D. Bianchi, P. Cesti, E. Battistel; *J. Org. Chem.*, **1988**, 53, 5531.

organique. Cela permet d'éviter la séparation par la chromatographie sur colonne et l'utilisation importante de solvants organiques (*Schéma 30*).

Leur utilisation est très avantageuse au niveau industriel à cause de la facilité de l'isolement des deux énantiomères mais ce type d'agent acylants reste limité à cause de la difficulté de contrôler la concentration acide dans le mélange réactionnel qui peut causer une dénaturation de la lipase ou rend la réaction enzymatique non sélective.



**Schéma 30 :** Réaction de transestérification avec les anhydrides d'acide.

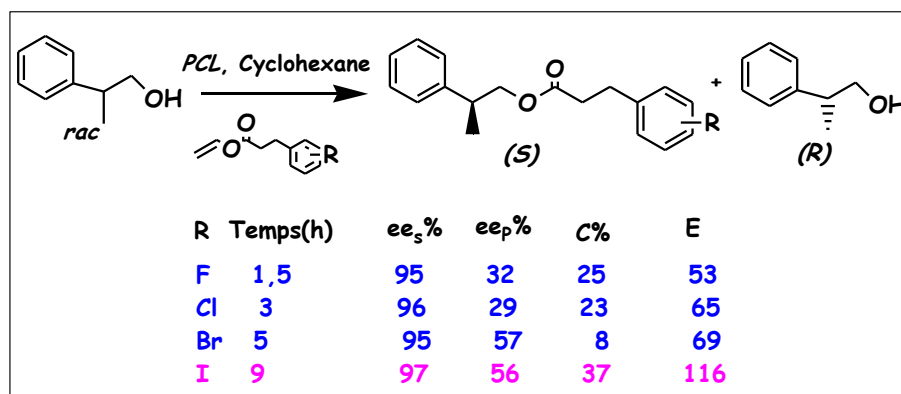
Des travaux ont été entrepris principalement pour étudier l'influence de la partie acyle de l'agent acylant ainsi que la partie alcool de l'ester concernant les esters d'énol d'une part et l'anhydride succinique d'autre part, comme il sera illustré ci-dessous par des exemples choisis de la littérature.

➤ *Influence des esters d'énols :*

✓ *Influence de la partie acyle de l'agent acylant :*

Kawasaki et coll<sup>68</sup> ont montré l'influence des agents acylants sur le dédoublment enzymatique du 2-phenyl-1-propanol en présence de la lipase de *Pseudomonas Cepacea* (*PCL*). La nature des différents halogènes substitués sur le phényle influe considérablement sur la réactivité et la sélectivité de la lipase. Le para-iodo donne la meilleure sélectivité ( $E > 100$ ). (*Schéma 31*)

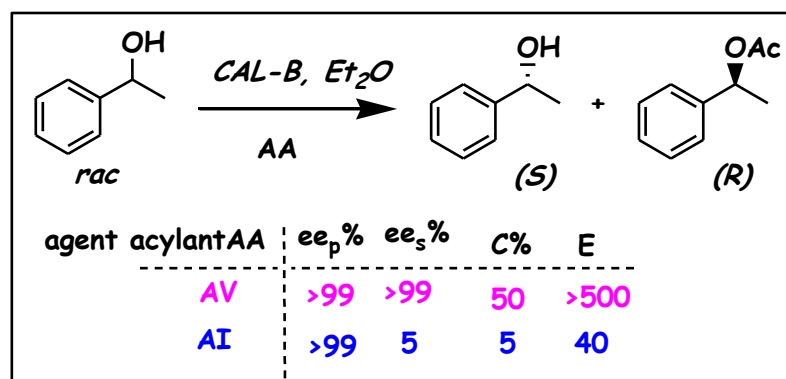
<sup>68</sup> M. Kawasaki, M. Goto, S. Kawabata, T. Kometani; *Tetrahedron: Asymmetry.*, **2001**, 12, 585-596.



**Schéma 31 :** Influence de la partie acyle sur l'acylation du 2-phényl-1-propanol.

✓ *Influence de la partie alcool de l'ester :*

Bouzemi et coll<sup>69</sup> ont montré l'importance de la partie alcool de l'ester et qui comporte l'acétate de vinyle (R=H) et l'acétate d'isopropényle (R=CH<sub>3</sub>) dans une réaction de transestérification enzymatique du 1-phényl éthanol en présence de la lipase CAL-B et dans l'éther diéthylique comme solvant (Schéma 32).

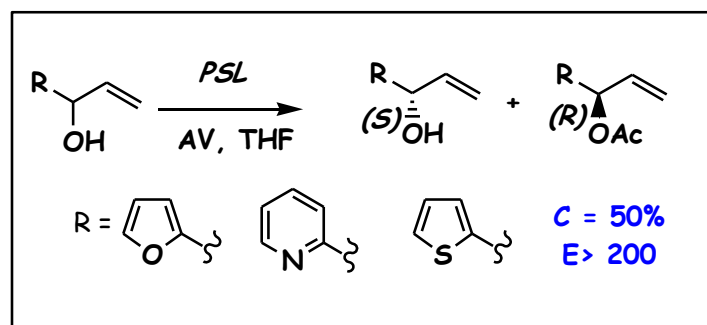


**Schéma 32:** Acylation enzymatique avec les esters d'énol.

L'acétate de vinyle est le meilleur agent acylant comparativement avec l'acétate de d'isopropényle pour ce substrat, ces deux énantiomères sont obtenus optiquement purs ee > 99% pour une conversion de C= 50% et une sélectivité élevée E>500. De même, les alcools de type 2-hétéroaryl allyliques sont dédoublés avec une grande pureté optique avec la lipase de *Pseudomonas Cepacia* et l'acétate de vinyl comme donneur d'acyle.<sup>70</sup> (Schéma 33)

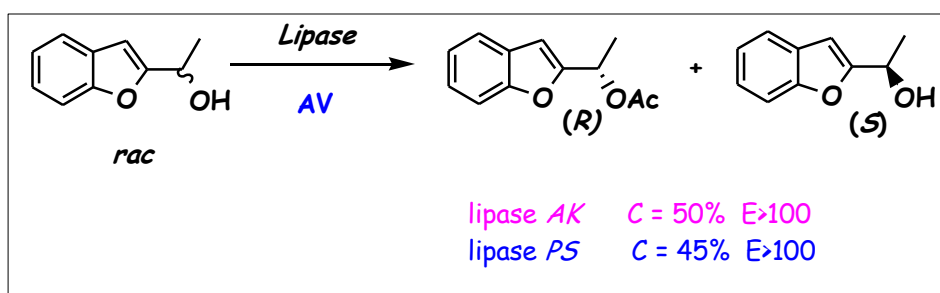
<sup>69</sup> N. Bouzemi, H. Debeche, L. Aribi-Zouiouche, J.C. Fiaud; *Tetrahedron Letters*. **2004**, 45, 627-630.

<sup>70</sup> S. Sezer, E. Sahin, C. Tanyeli, *Tetrahedron: Asymmetry.*, **2010**, 21(4), 476-485.



**Schéma 33 :** Résolution cinétique enzymatique des alcools hétérocycliques allyliques.

Le 1-(benzofuran-2-yl) éthanol racémique, un dérivé biologiquement actif, utilisé comme un agent antifongique, a été dédoublé avec une excellente énantiosélectivité,  $E \gg 100$ , avec l'acétate de vinyle en présence de la lipase AK et la *Novozym SP435*.<sup>71</sup> (**Schéma 34**).



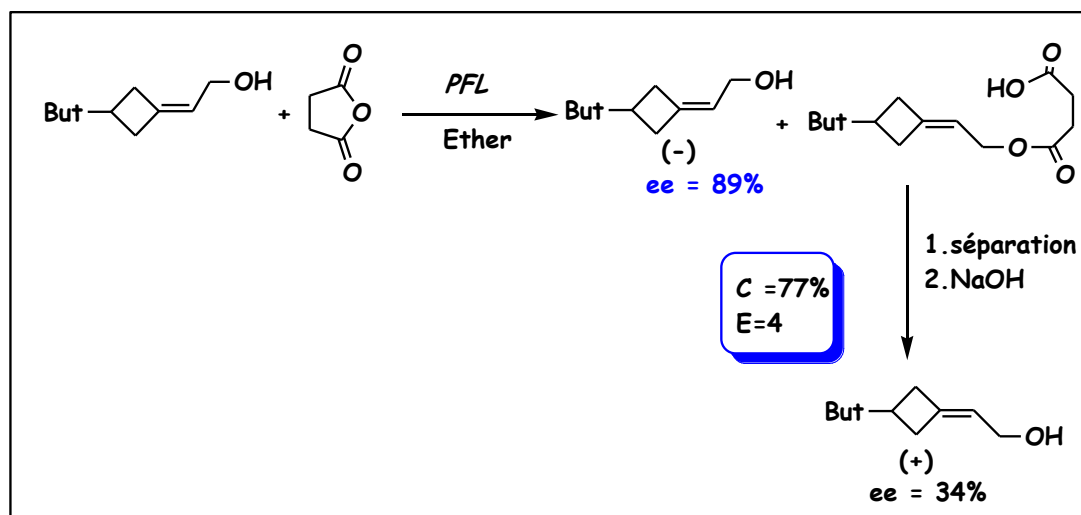
**Schéma 34:** Transestérification enzymatique de (+/-)-1-(benzofuran-2-yl) éthanol.

➤ **Influence des anhydrides d'acides :**

Un des premiers exemples est l'utilisation de l'anhydride succinique dans le dédoublément du 3-(*tertiobutylcyclobutyl*diène) éthanol,<sup>72</sup> un alcool primaire à chiralité axiale très difficile à dédoubler. Le DC est réalisé avec la lipase de *Pseudomonas fluorescens* (PFL) comme catalyseur et l'alcool résiduel est obtenu avec un excès énantiomérique de **89 %** à une conversion de **77 %**.

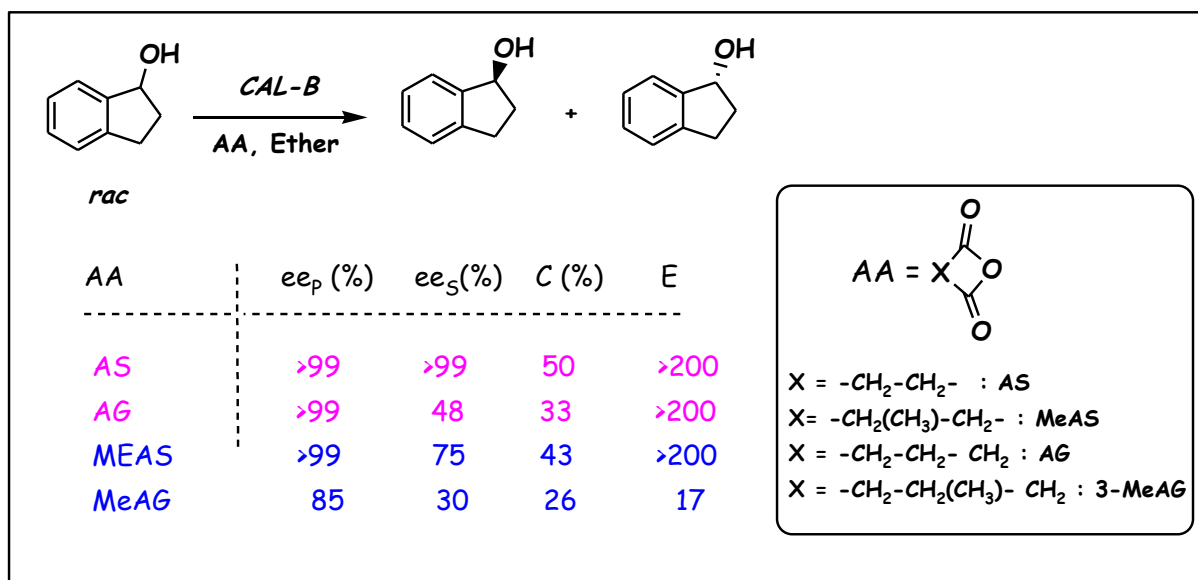
<sup>71</sup> C. Paizs, M. Tosa, V. Bodai, G. Szakacs, I. Kmezc, B. Simandi, C. Majdik, L. Novak, F-D. Irimie, L. Poppe, *Tetrahedron: Asymmetry*, **2003**, 14, 1943-1949.

<sup>72</sup> J.-C. Fiaud, R. Gil, J.-Y. Legros, L. Aribi-Zouioueche, W. A. König, *Tetrahedron Lett.* **1992**, 33, 6967 -6970.



**Schéma 35:** Estérification lipasique du 3-(tertiobutylcyclobutylidène) éthanol.

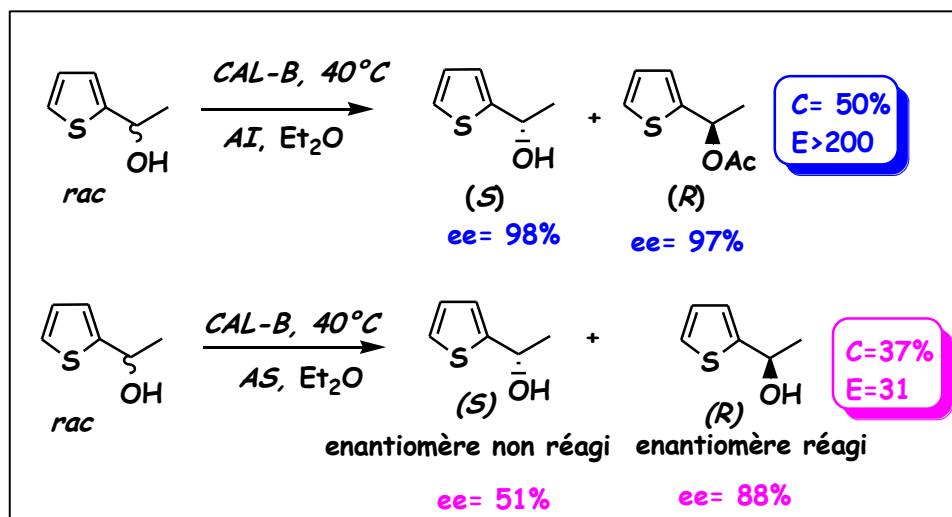
Cette approche a été appliquée sur une série d'aryl-alkyl-carbinols,<sup>73</sup> avec les différents anhydrides cycliques comme agents d'acylation en présence de la lipase CAL-B dans l'éther éthylique comme solvant. Le meilleur résultat en termes de réactivité et sélectivité a été obtenu avec anhydride succinique (**Schéma 36**).



**Schéma 36 :** Acylation lipasique d'alcools secondaires avec des anhydrides acides.

<sup>73</sup> H. Debbeche, M. Toffano, J. C. Fiaud, & L. Aribi-Zouioueche, *Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic*, **2010**, 66, 319-324.

L'étude est étendue sur une large gamme des alcools hétérocycliques <sup>74</sup> et on constate l'influence de l'anhydride succinique sur l'acylation enzymatique du *1*-(thiophèn-2-yl) éthanol par comparaison avec un ester d'énol l'AI, et ce, en présence de la lipase CAL-B. (Schéma 37).



**Schéma 37 :** Acylation enzymatique du *1*-(thiophèn-2-yl) éthanol.

➤ **Autre intérêt des anhydrides acides :**

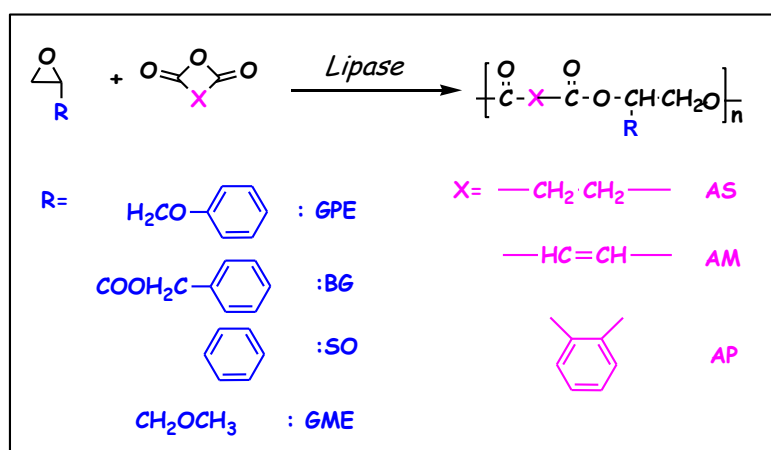
Les **anhydrides acides** ont également été engagés avec succès comme des substrats de départ dans la synthèse des polyesters biodégradables. Pour cela, diverses combinaisons de monomères ont été développées pour la synthèse de ces polyesters. La copolymérisation est l'une des voies permettant la synthèse de matières polymériques avec les propriétés désirées.

L'exploitation de la copolymérisation lipasique pour la synthèse des polyesters est rarement reportée dans la littérature. La polymérisation enzymatique par ouverture de cycles qui était restreinte aux lactones cycliques et aux carbonates a été réalisée, pour la première fois par *S. Matsumura* <sup>75</sup> qui a rapporté la synthèse de polyesters fonctionnels par copolymérisation de l'anhydride succinique avec des oxiranes portant des groupements phényle et hydroxyle, en l'occurrence, le glycidyl-phényl-éther (GPE) et le glycidate de benzyle (BG). Entre 60-80 °C, les oxiranes et l'anhydride succinique sont facilement polymérisés en les polyesters correspondants, et parmi les lipases testées, c'est la lipase pancréatique de porc (*PPL*) qui a donné, à 80 °C, les meilleurs résultats (conversion du monomère et poids moléculaire du

<sup>74</sup> N. Melais, M. Boukachabia, L. Aribi-Zouiouche, O. Riant. *Bioprocess Biosyst Eng*, **2015**, *38*, 1579-1588.

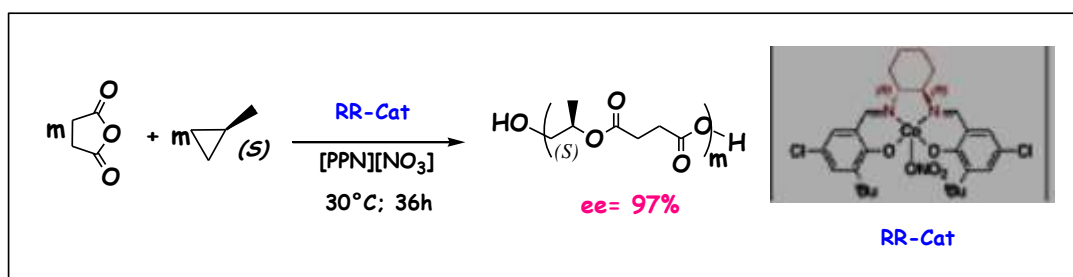
<sup>75</sup> S. Matsumura, T. Okamoto, K. Tsukada, T. Toshima, *Macromol. Rapid Commun.*, **1998**, *19*, 295-298.

polymère). Dans l'exemple qui suit (**Schéma 38**), l'éther phénylique glycidique, ainsi que d'autres oxiranes comme le glycidate de benzyle (BG), l'éther de méthyle et de glycidyle (GME) et l'oxyde de styrène (SO) a été copolymérisé avec les anhydrides dicarboxyliques comme l'anhydride succinique (AS), l'anhydride phtalique (AP) et l'anhydride maléique (AM), par l'action d'enzymes pour produire les polyesters correspondants contenant quelques liaisons « éther » avec un maximum de  $M_w = 13500\text{g/mol}$ . Il a également (tout comme le glycidol) été homopolymérisé et copolymérisé avec d'autres oxiranes par voie enzymatique pour produire les polyéthers correspondants.<sup>76</sup>



**Schéma 38 :** Copolymérisation enzymatique des oxiranes et des anhydrides dicarboxyliques.

Récemment,<sup>77</sup> une stratégie analogue faisant intervenir l'anhydride succinique et l'oxyde de propylène énantio pur comme monomères et un catalyseur organométallique a permis d'accéder au *poly-((S) propylène succinate)* avec un excès énantiomérique de 97% (**Schéma 39**).

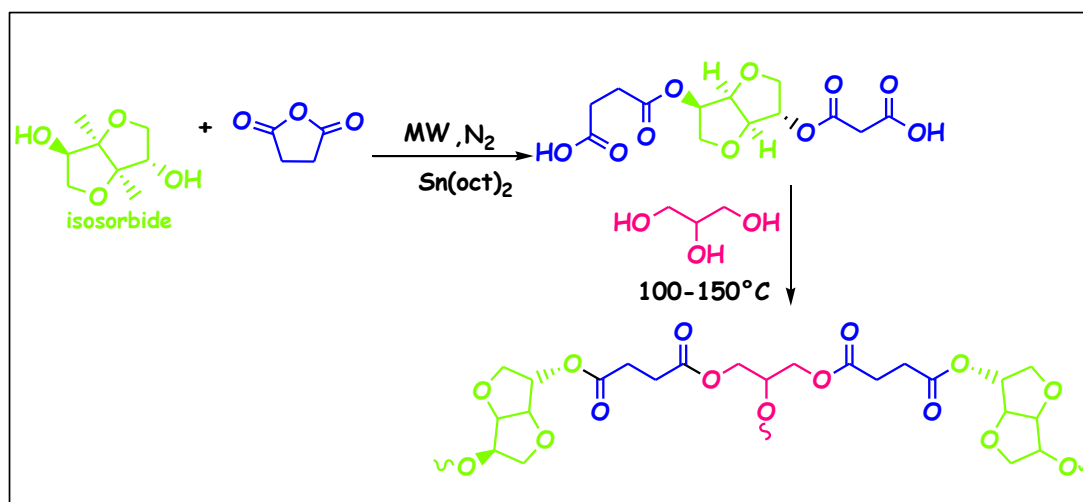


**Schéma 39 :** Synthèse de *poly((S)propylène succinate)*.

<sup>76</sup> Y. Soeda, T. Okamoto, K. Toshima, S. Matsumura ; *Macromol. Biosci.*, **2002**, *2*, 429-436.

<sup>77</sup> J. M Longo, A. M. DiCiccio, & Coates, G. W. (). *Journal of the American Chemical Society*, **2014**, *136*, 15897-15900.

Plus récemment, <sup>78</sup> assisté par le micro-onde une condensation de l'isosorbide avec l'anhydride succinique a été développée en optimisant le temps de réaction à 5min (**Schéma 40**). Le dérivé d'acide isucorbique disuccinique résultant a été polymérisé à haute température 100-150°C sans solvant avec du glycérol pour former un polyester biodégradable d'une haute stabilité thermique.

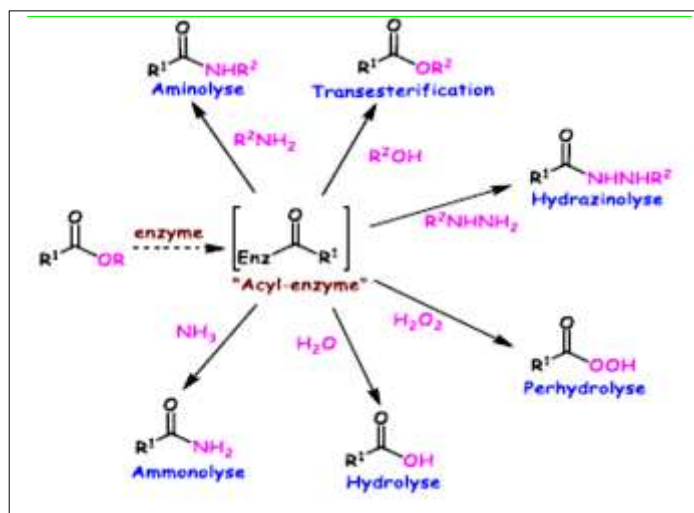


**Schéma 40:** Polycondensation d'isosorbide/ anhydride succinique et glycérol.

#### II-4. Les réactions catalysées par les lipases :

L'utilisation des réactions de dédoublement cinétique lipasique offrent une alternative hautement énantiosélective pour la formation d'une liaison ester (estérification/transestérification) par acylation mais aussi la déprotection de ces liaisons par des réactions de déacylation (hydrolyse/alcoolyse). Et ces réactions sont initiées par la formation d'un intermédiaire « acyl-enzyme » (**Schéma 42**).

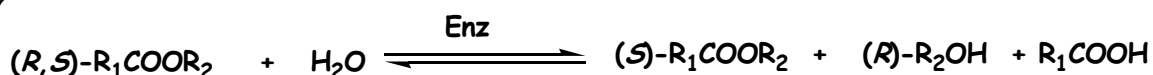
<sup>78</sup> P. A. Wilbon, J. L. N. R Swartz, Meltzer, J. P. Brutman, M. A. Hillmyer, & J. E. Wissinger, *Chemistry & Engineering*, **2017**. 5(10), 9185-9190.



**Schéma 41 :** Réactions catalysées par des enzymes.

#### II-4-1. Réaction d'hydrolyse enzymatique :

La réaction d'hydrolyse enzymatique est l'une des réactions initialement les plus utilisées avec les lipases. Cette réaction est réalisée en milieu aqueux ou en solution tampon. Elle peut être aussi réalisée en milieu biphasique pour les produits peu solubles dans le milieu aqueux. Cette réaction s'avère, en général, moins sélective que la réaction de transesterification, nous citons, ci après les différentes conditions d'hydrolyse enzymatique (**Schéma 42**).



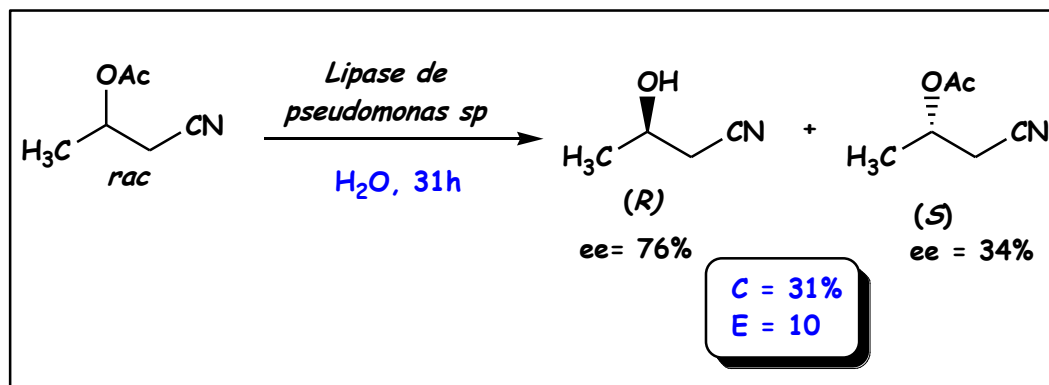
**Schéma 42:** Réaction d'hydrolyse enzymatique.

##### *a) L'utilisation de l'eau :*

L'utilisation de l'eau uniquement limite fortement son application. La gamme de substrat qui peut être utilisé est réduite aux composés solubles dans l'eau, par ailleurs, une trop grande quantité d'eau peut modifier la structure de l'enzyme. L'hydrolyse enzymatique du  $\beta$ -acétoxybutyronitrile a été développée par l'équipe de Itoh,<sup>79</sup> dans l'eau en présence de la lipase de *Pseudomonas sp* (PSL). L'énantiosélectivité était modérée  $E = 10$  pour un taux d'avancement  $C = 31\%$ . Le taux d'avancement et l'énantiosélectivité ont été

<sup>79</sup> T. Itoh, Y. Hiyama, A. Betchaku, H. Tsukube; *Tetrahedron Letters*, **1993**, 34, 2617-2620.

considérablement améliorés par l'addition de l'additif : hydroxyméthyl-12-couronne-4 ( $C = 44\%$ ,  $E = 18$ ). (Schéma 43)

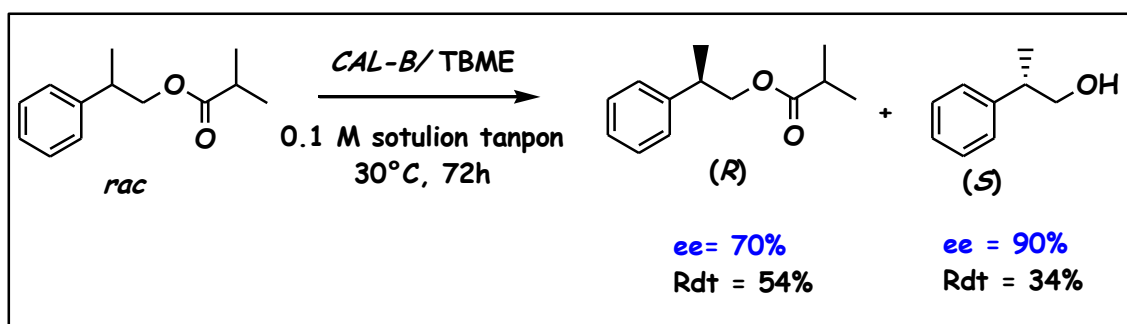


**Schéma 43:** Hydrolyse enzymatique du  $\beta$ -acétoxybutyronitrile dans l'eau.

#### b) Hydrolyse dans un milieu biphasique ou en solution tampon :

L'eau nécessaire à l'hydrolyse peut être solubilisée dans le milieu réactionnel par un co-solvant polaire ou bien, de façon préférentielle, l'eau constitue une phase à part, la réaction de l'hydrolyse étant alors réalisée en milieu biphasique. La mise en oeuvre de systèmes de type biphasique (solvant organique/solution tampon ou eau) permet d'optimiser la biocatalyse d'un substrat hydrophobe, le rapport entre les deux phases peut varier. L'eau utilisée peut être tamponnée ou non et son pH peut varier de 4 à 10 environ, préférentiellement on utilise de l'eau dont le pH est de l'ordre de 5 à 8.

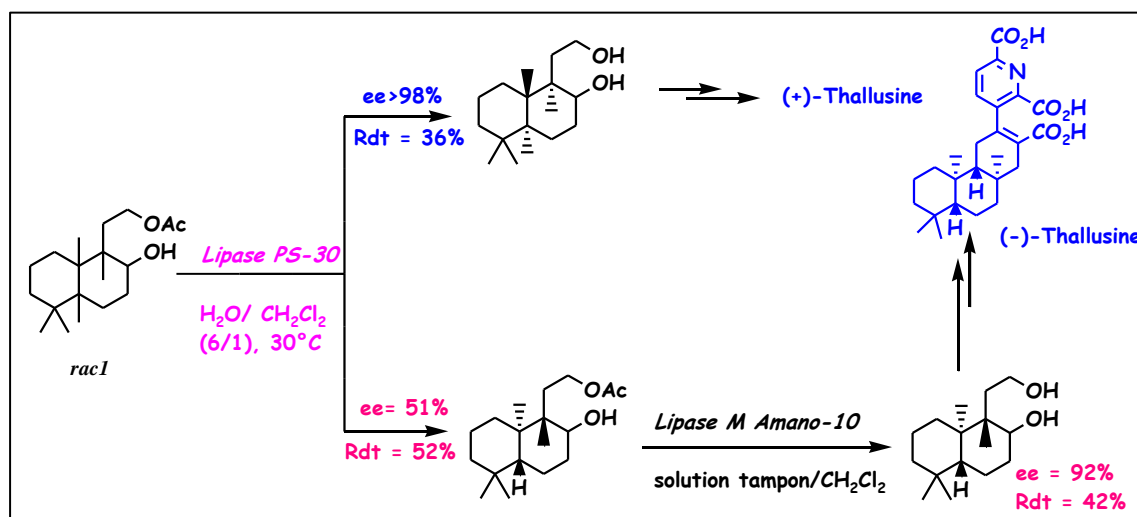
L'hydrolyse enzymatique du 2-phénylpropyl isobutyrate a été réalisée *via* la lipase de la CAL-B dans un système bi-phasique : TBME/solution tampon (0.1M) (Schéma 44).<sup>80</sup> L'alcool correspondant est obtenu avec 90% ee.



**Schéma 44:** Hydrolyse enzymatique du 2-phénylpropyl isobutyrate.

<sup>80</sup> A. M. Foley et al. / *Tetrahedron: Asymmetry*. 2017, 28, 1144–1153.

Dans ce contexte, la synthèse enantiocomplémentaire de (+)-Thallusine et son antipode a été réalisée avec succès par un groupe japonais.<sup>81</sup> L'hydrolyse énantiosélective du racémique *rac I*, par le biais de la lipase *PS-30* dans un système biphasique ( $H_2O/CH_2Cl_2$ ) conduit à la formation du diol ( $ee > 98\%$ ) et le mono acétate ( $ee = 51\%$ ). des intermédiaires clés dans cette synthèse. (Schéma 45).

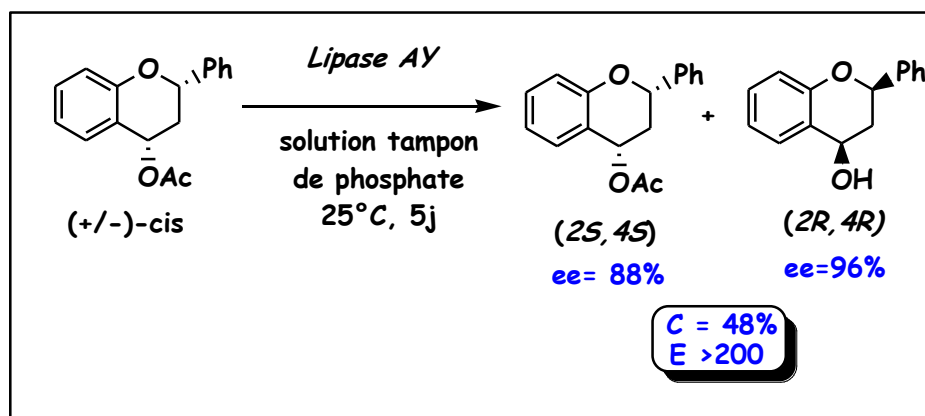


**Schéma 45:** Synthèse de Thallusin

L'hydrolyse en solution tampon phosphate ( $pH = 6.8$ ) seule est également possible pour l'hydrolyse enzymatique de l'acétate du (+/-)-*Cis-flavanol* réalisé avec la lipase *AY* ou on observe une bonne sélectivité ( $E > 200$ ) et les deux énantiomères sont obtenus avec un bon excès énantiomérique. (Schéma 46).<sup>82</sup>

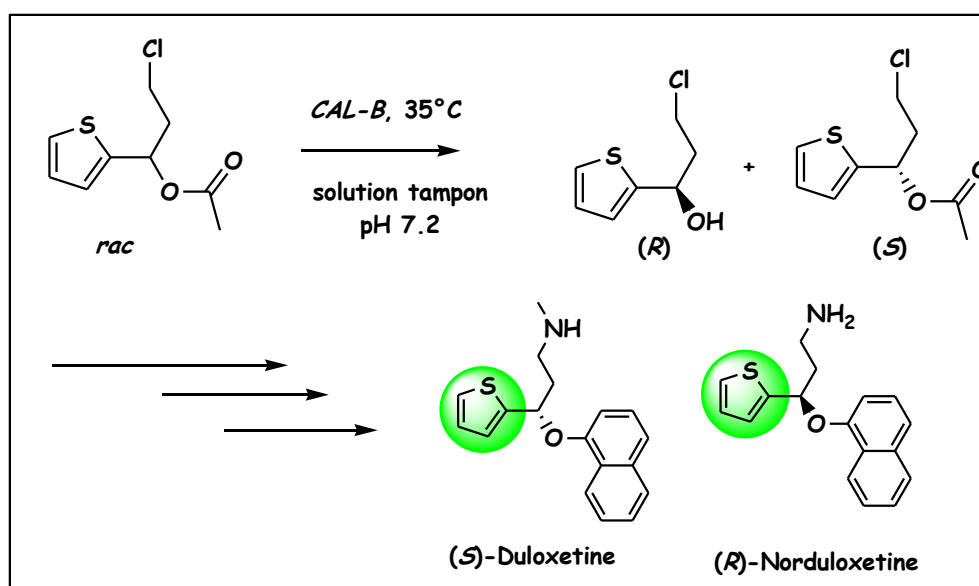
<sup>81</sup> H. Yamamoto, Y. Takagi, T. Oshiro, et al. *The Journal of Organic Chemistry*, **2014**, 79, 8850-8855.

<sup>82</sup> M. Bolduc, J. Bergeron, A. Michaud, N. Pelchat, P. Morin, M. Dasser, R. Chênevert, *Tetrahedron:Asymmetry*, **2012**, 23, 428-433.



**Schéma 46:** Hydrolyse enzymatique d'acétate du flavan-4-ol.

Une hydrolyse enzymatique du rac-3-chloro-1-(thiophen-2-yl)propyl acétate a été réalisée par l'équipe de Solano<sup>83</sup> dans une solution tampon de phosphate 0,1 M à pH neutre (pH = 7,2). Cette hydrolyse consiste en l'étape clé pour l'obtention de SNRIs (Classe de médicaments antidépresseurs utilisés dans le traitement de la dépression majeure et d'autres troubles de l'humeur), et ce, en présence de la CAL-B, une bonne sélectivité a été obtenue (E > 200) avec un excès énantiomérique de produit de (ee = 99%) (Schéma 47).



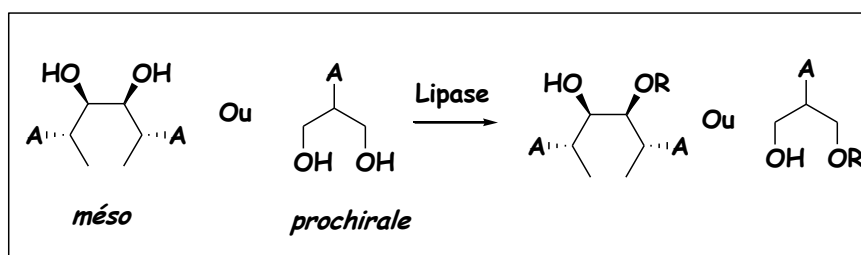
**Schéma 47:** Hydrolyse enzymatique dans une solution tampon.

#### II-4-2. Réaction de désymétrisation enzymatique:

La désymétrisation en stéréochimie est la modification d'une molécule qui se traduit par la perte d'un ou plusieurs éléments de symétrie qui donnent lieu à l'apparition de chiralité. La désymétrisation enzymatique est une synthèse asymétrique qui consiste à modifier une

<sup>83</sup> L. M Solano, N. M. Lourenço, *Química Nova*, **2015**, *38*(2), 285-287.

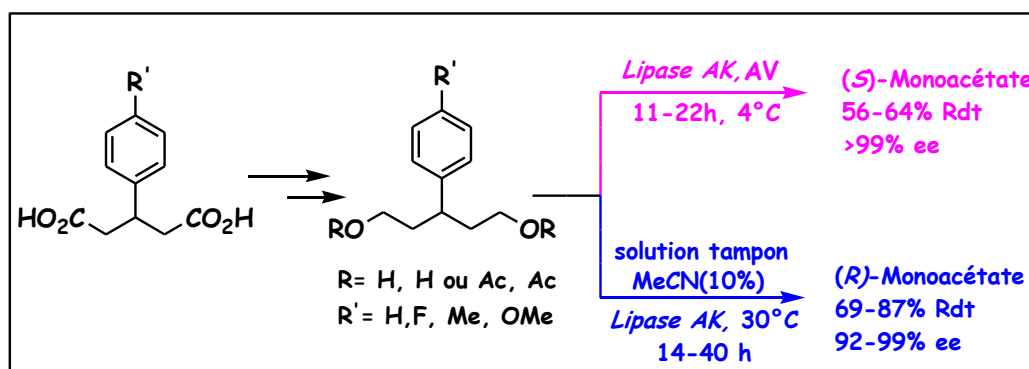
molécule afin d'éliminer un ou plusieurs éléments de symétrie présents dans le substrat pour le rendre chiral. Les lipases ont la capacité à sélectionner les groupements énantiotopes des substrats achiraux et de favoriser la transformation de l'un par rapport à l'autre (**Figure 9**).



**Figure 9:** Principe de désymétrisation.

Les processus de désymétrisation ont fait l'objet de nombreuses études en vue de rechercher des méthodes optimales pour la production de monoacétates énantio-enrichis à partir des diols, diesters, et des anhydrides prochiraux.

Des processus intéressants de désymétrisation énantiocomplémentaires sont assurés par lipase AK pour obtenir de nouveaux dérivés d'acide carboxylique énantiopurs par acylation d'une série 3-arylpentane-1,5-diols et hydrolyse de leurs acétates correspondants.<sup>84</sup> (**Schéma 48**).

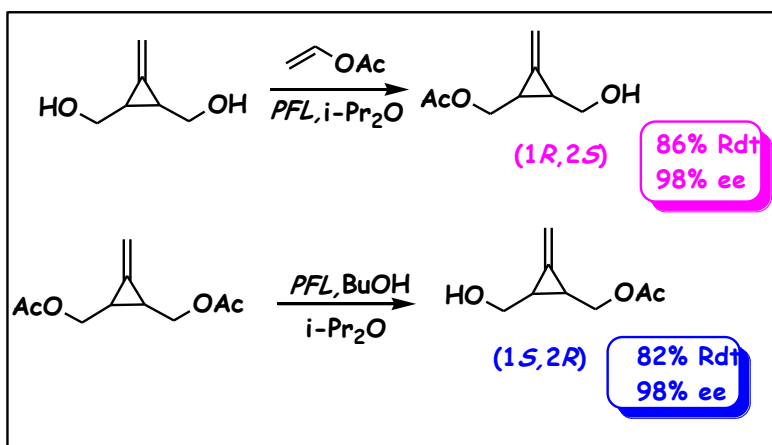


**Schéma 48 :** Désymétrisation de nouveaux dérivés d'acide carboxylique par la lipase AK.

Un autre exemple a mis en évidence cette caractéristique d'énantiocomplémentarité par deux réactions lipasique (transestérification /alcoololyse). L'équipe de *Obame et coll*<sup>85</sup> a pu obtenir les deux énantiomères d'un monoacétate avec d'excellents excès énantiomériques et des rendements chimiques assez élevés (**Schéma 49**).

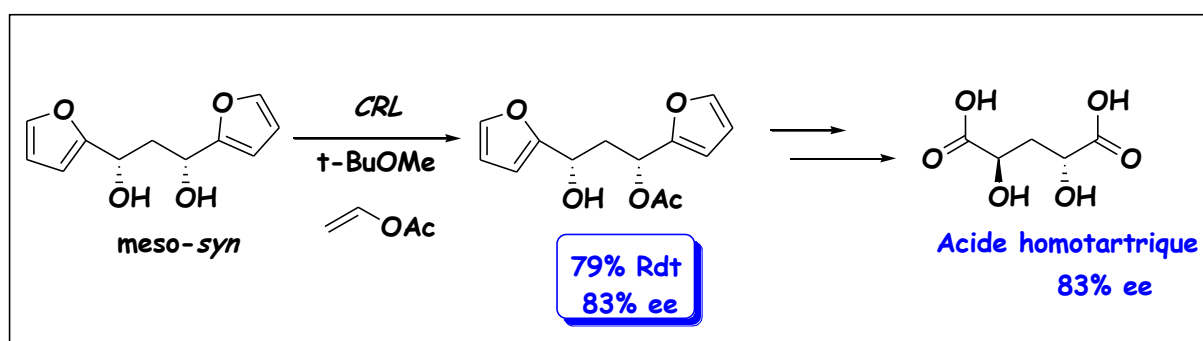
<sup>84</sup> N. Rios-Lombardía, V. Gotor-Fernandez, V. Gotor, *J. Org. Chem.* **2011**, *76*, 811–819.

<sup>85</sup> (a) G. Obame, P. Bremond, C. Pannecouque, G. Audran, *Synthesis*. **2013**;45:2612. (b) G. Obame, H. Pellissier, N. Vanthuyne, J-B. Bongui, G. Audran, *Tetrahedron Lett.* **2011**;52: 1082. (c) Takeyuki Suzuki, *Tetrahedron Letters*, **2017**, *58*, 4731–4739.



**Schéma 49:** Désymétrisation d'un diol dérivé de Méthylèncyclopropane.

Le dernier exemple (**Schéma 50**) à être présenté du groupe de *Stefano Serra*, a réalisé la désymétrisation du diol méso-syn afin de réaliser une synthèse chimioenzymatique de l'acide homotartrique.<sup>86</sup>

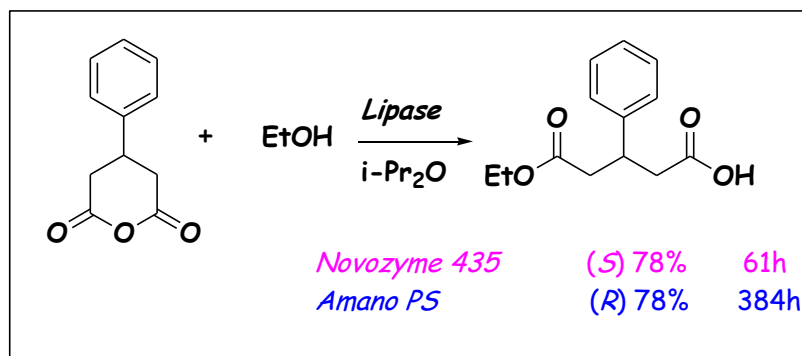


**Schéma 50:** Désymétrisation d'un diol méso-précurseur de l'acide homotartrique.

La désymétrisation enzymatique des anhydrides cyclique est peu étudiée dans la littérature, nous citons l'exemple développé par *Staszewski et coll.*<sup>87</sup> de désymétrisation lipasique du 3-phényl-glutarique anhydride, générant un mono-hémister optiquement pur, avec de bon rendement en utilisant deux lipases différentes qui assurent une parfaite énantio-complémentarité (**Schéma 51**).

<sup>86</sup> D. Acetti, E. Brenna, C. Fuganti,; F.G. Gatti, S. Serra, *Tetrahedron Lett.* **2009**, 50, 2249.

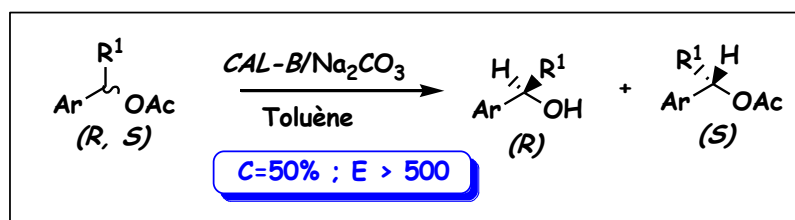
<sup>87</sup> R. Ostaszewski, D. E. Portlock, A. Fryszkowska, K. Jeziorska, *Pure Appl. Chem.*, **2003**, 75, 413.



**Schéma 51 :** Désymétrisation lipasique d'un anhydride cyclique.

### II-5. Travaux récents antérieurs du laboratoire :

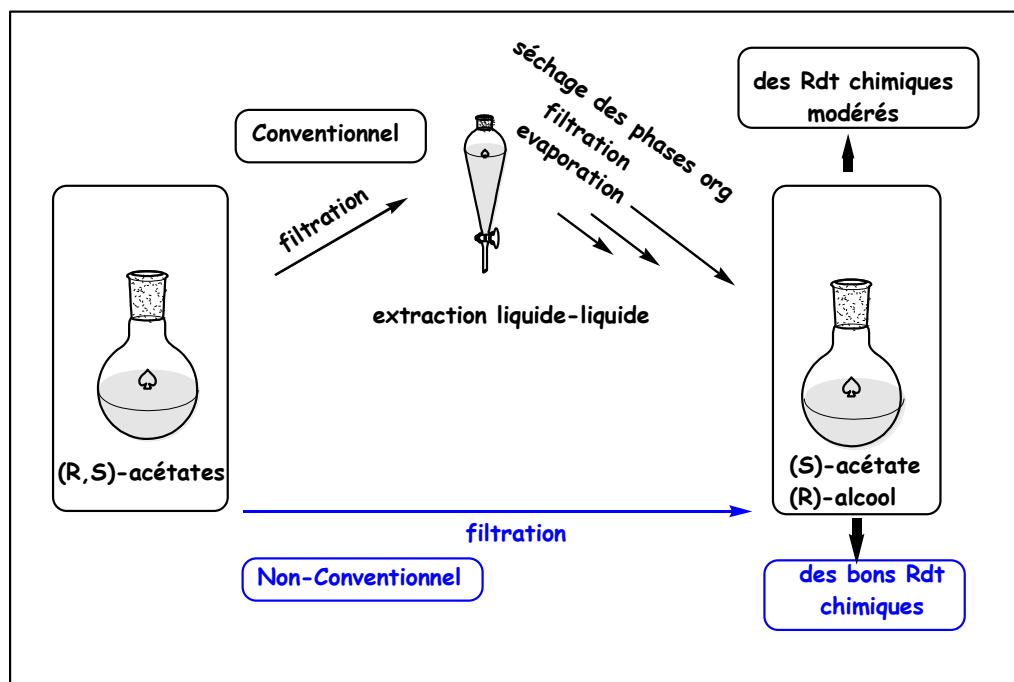
Récemment une approche originale a été publiée par notre équipe sur la résolution cinétique enzymatique par hydrolyse en présence des sels de carbonates en milieu non aqueux avec la CAL-B.<sup>88</sup> Cette réaction est simple, efficace et permet une grande amélioration de la réactivité et la sélectivité de cette lipase, elle a été appliquée initialement sur les arylalkylcarbinols et fait l'objet d'études pour une valorisation sur d'autres types de substrats (**Schéma 52**).



**Schéma 52:** Hydrolyse enzymatique en présence du carbonate de sodium.

Sur le plan pratique, cette méthode présente un grand intérêt, une simple filtration suffit pour récupérer le produit comparativement à l'hydrolyse en milieu bi-phasique ou une filtration suivie d'une extraction, de la récupération des phases organiques, de leur séchage et d'une deuxième filtration sont nécessaires (**Schéma 53**).

<sup>88</sup> M. Merabet-Khelassi, Z. Houiene, L. Aribi-Zouiouèche, O. Riant, *Tetrahedron: Asymmetry*, **2012**, 23, 828.



**Schéma 53:** Procédure de l'hydrolyse dans un milieu non-conventionnel.

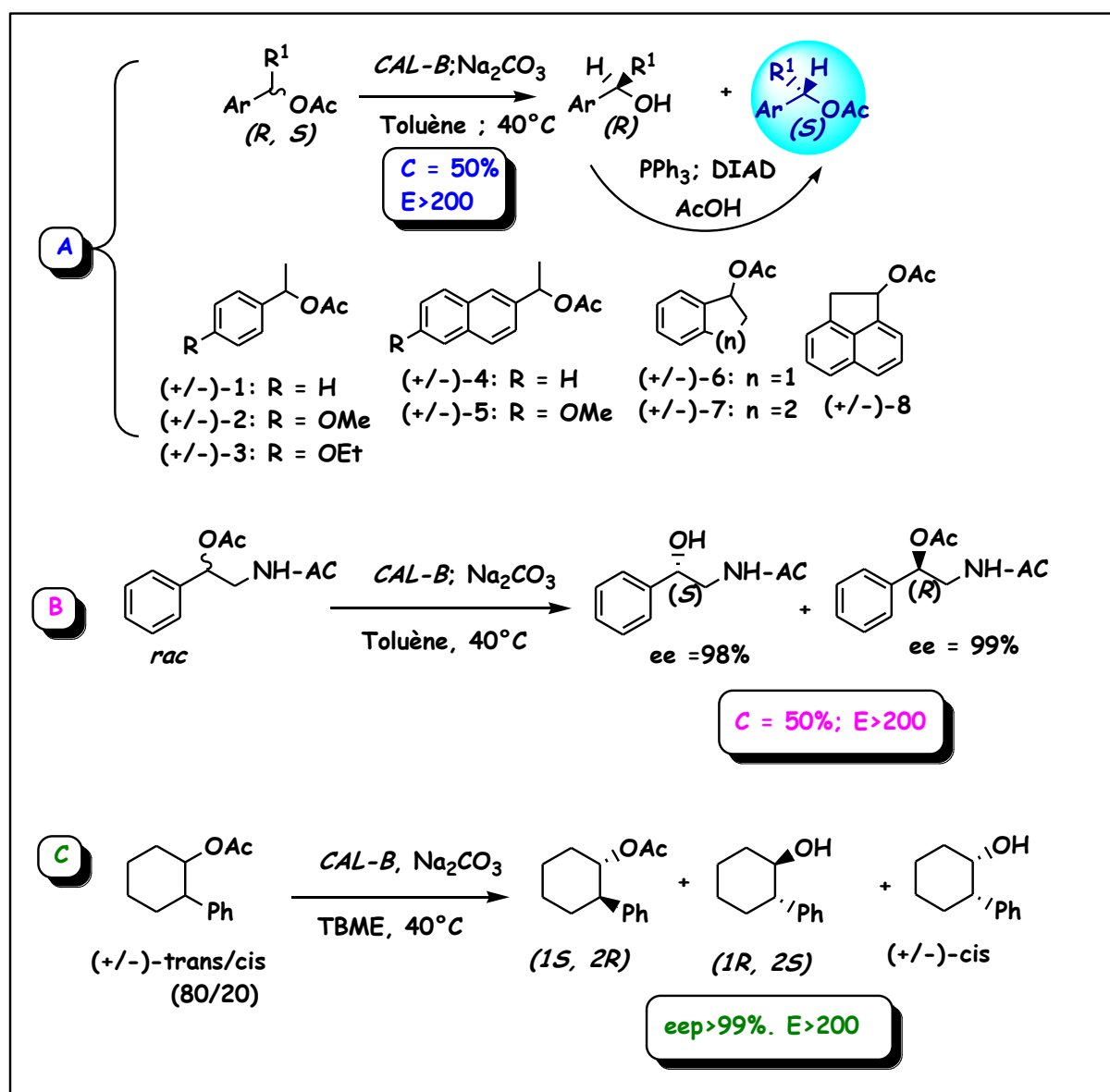
Vu l'intérêt de cette nouvelle réaction d'hydrolyse, elle a été appliquée au DCE d'autres substrats d'intérêt. En **2013**, cette approche d'hydrolyse enzymatique alcaline est intégrée à un processus de déracémisation, elle est combinée à une estérification de Mitsunobu et permet de parvenir aux acétates des arylalkylcarbinols<sup>89</sup> avec un rendement optimal et d'excellents excès énantiomériques (**Schéma 54A**). Les acétates benzyliques (*S*) sont obtenus avec des *ee* ( $57\% < ee < 99\%$ ) et des rendements chimiques ( $70\% < \text{Rdt} < 89\%$ ). La synthèse énantiosélective hautement énantiosélective de  $\beta$ -amino alcools d'intérêt pharmacologique<sup>90</sup> est réalisée en **2016** par hydrolyse en milieu organique alcalin avec la *CAL-B*. La réaction est réalisée en milieu organique hydrophobe, en présence de carbonate de sodium, la lipase *CAL-B* s'est avérée sélective avec les dérivées de 2-amino-1-aryléthanol. (**Schéma 54B**). La performance de cette réaction a été montrée en **2017** sur les dérivés acétates des 2-phénylcyclohexanol<sup>91</sup> *cis/trans*, l'hydrolyse alcaline catalysée par *CAL-B* est diastéréo- et énantiosélective. L'application d'un procédé en tandem désacylation / acylation permet un accès direct à un certain nombre d'auxiliaires chiraux intéressants avec des puretés énantiomériques élevées ( $> 99\% ee$ ) et de hautes sélectivités  $E > 200$ . Par ailleurs, une

<sup>89</sup> Z. Houiene, M. Merabet-Khelassi, N. Bouzemi, O. Riant, L. Aribi-Zouiouche, *Tetrahedron: Asymmetry*, **2013**, *24*, 290–296

<sup>90</sup> A. Alalla, M. Merabet-Khelassi, Olivier Riant, Louisa Aribi-Zouiouche, *Tetrahedron: Asymmetry*, **2016**, *27*, 1253–1259.

<sup>91</sup> FZ. Belkacemi, M. Merabet-Khelassi, L. Aribi-Zouiouche, O. Riant. *Tetrahedron: Asymmetry*, **2017**, *28*:1644.

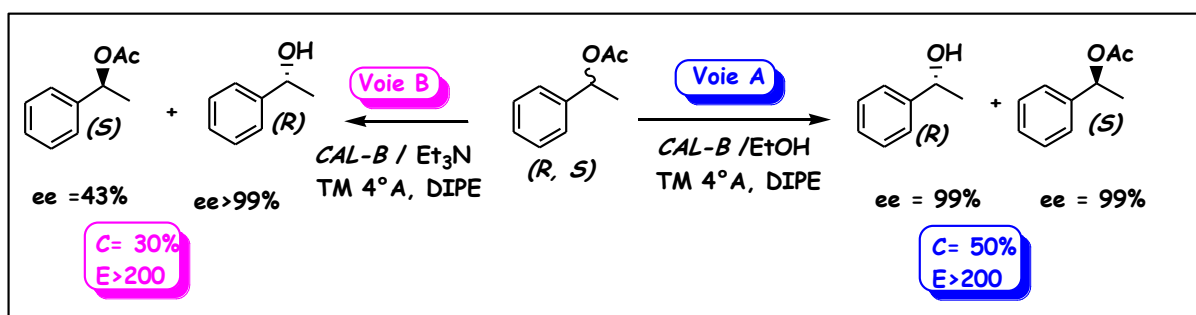
séparation aisée des alcools et acétates énantiomériquement purs, nous citons l'exemple (Schéma 54C).



**Schéma 54:** Hydrolyse enzymatique de substrats d'intérêt en milieu alcalin avec la CAL-B.

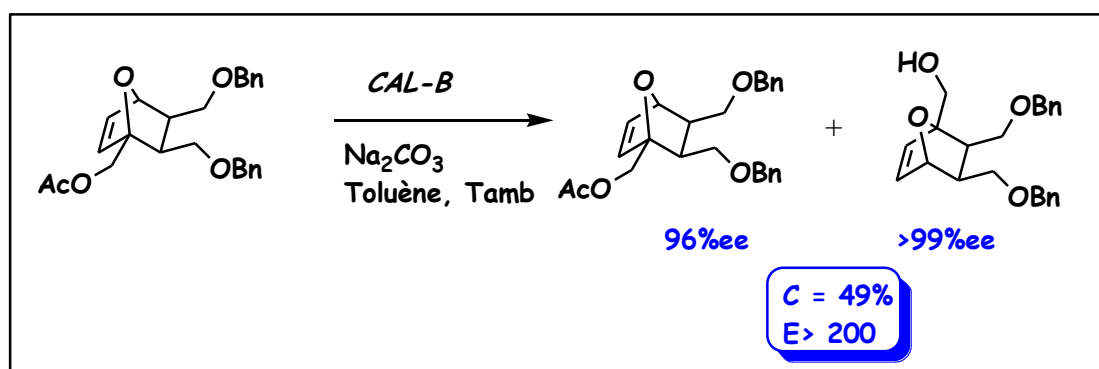
Afin de mieux comprendre ce nouveau mode de deacylation lipasique, l'étude a été comparée à la déacylation d'une série d'acétate benzylique en milieu organique pauvre en eau, par deux voies :

- ↪ La déacylation par alcoolyse enzymatique <sup>92</sup> qui est réalisée sur une série d'acétates benzyliques d'intérêt pharmaco-thérapeutique en présence des divers alcools primaires, secondaires et tertiaire comme nucléophile et d'une quantité catalytique de CAL-B, de tamis moléculaire 4Å dans différent solvants organiques.
- ↪ La déacylation par aminolyse <sup>93</sup> en présence des divers amines primaires, secondaires et tertiaire achirales comme nucléophile avec la CAL-B comme catalyseur et du tamis moléculaire 4Å, dans différents solvants organiques. L'efficacité des deux procédés est montrée dans l'exemple suivant (*Schéma 55*).



*Schéma 55* : Déacylation par alcoolyse et aminolyse avec la CAL-B.

La réaction d'hydrolyse alcaline a été également rapportée dans un travail récent <sup>94</sup> pour préparer le 1-Hydroxyméthyl-7-oxabicyclo[2.2.1]hept-2-ene avec une haute pureté énantiomérique par l'hydrolyse dans le toluène, en présence de carbonate de sodium et différentes lipases. L'utilisation de la CAL-B libre, a donné lieu aux énantiomères purs, à une conversion de 49%, et un facteur de sélectivité E>200 (*Schéma 56*).



*Schéma 56*: Hydrolyse enzymatique du 1-Hydroxyméthyl-7-oxabicyclo[2.2.1]hept-2-ene.

<sup>92</sup> A. Zaïdi, M. Merabet-Khelassi, L. Aribi-Zouiouche. *Catal. Lett.*, **2015**; *145* :1054.

<sup>93</sup> M. Merabet-Khelassi, A. Zaïdi, & L. Aribi-Zouiouche, *Enzyme and microbial technology*, **2017**, *107*, 1-6.

<sup>94</sup> U. Chandrasekhar Reddy | Muraleedharan K. Manheri, *Chirality*. **2019**; 1–12.

Dans ces travaux de thèse nous nous sommes intéressés à la déacylation, en l'occurrence l'hydrolyse alcaline hautement énantiosélective de nouvelles briques moléculaires d'intérêt en milieu organique. Pour ce faire, des études systématiques de différents paramètres<sup>95</sup> de réaction mise en jeu afin d'optimiser la sélectivité des lipases.

## II-6. CONCLUSION :

Dans ce chapitre, nous avons présenté une mise au point bibliographique sur la réaction de dédoublément cinétique enzymatique ainsi que ses paramètres d'évaluation. Cette voie d'accès est très sollicitée pour la séparation chirale à partir des racémiques.

Nous avons montré, par des exemples de la littérature, que ces réactions sont très sensibles aux divers paramètres mis en jeu qui peuvent intervenir d'une manière significative sur la réactivité et la sélectivité, avec notamment, la nature du substrat, de la lipase, du solvant et de l'agent acylant employés. Ces éléments sont essentiels pour améliorer la sélectivité des lipases et leur évaluation est fondamentale à l'optimisation de la sélectivité des lipases. Par ailleurs, le choix de la nature de l'agent acylant est important à la fois pour la sélectivité de la réaction mais également pour faciliter la récupération des énantiomères comme avec les anhydrides.

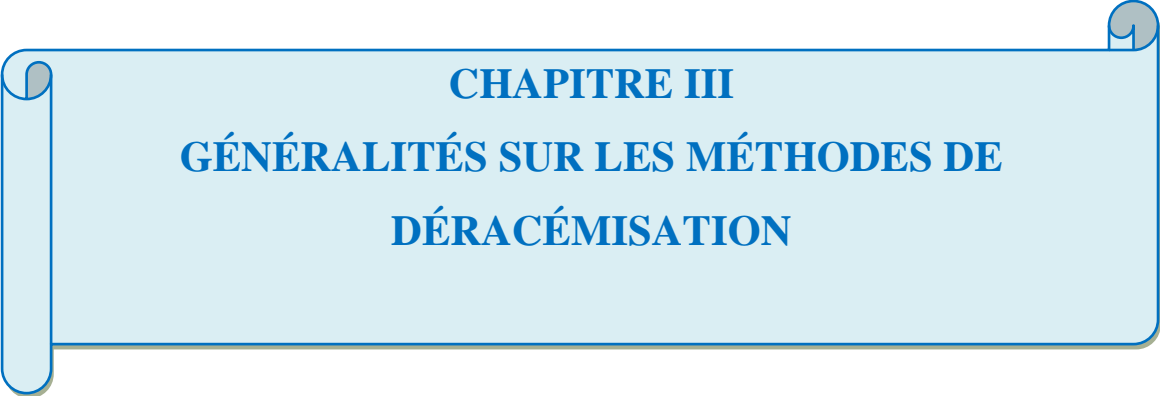
Le choix du système réactionnel est orienté en priorité vers le système la plus sélectif mais aussi en tenant compte des conditions de la purification des produits. Dans ce cadre, nous avons présenté la réaction d'hydrolyse enzymatique qui est l'une des réactions initialement les plus utilisées avec les lipases mais dont les conditions nuisent souvent à la sélectivité lipasique. Dans ce cadre, nous avons présenté quelques résultats récents de notre laboratoire sur l'étude de la réaction d'hydrolyse alcaline en milieu organique avec la *CAL-B* qui constitue une nouvelle approche efficace de déacylation enzymatique en cours de valorisation. Nos travaux de recherche s'inscrivent dans la continuité de ces résultats.

---

<sup>95</sup> Réf 54: (a) A. M. Klibanov, *Chemtech.*, **1986**, 16, 354-359 ; (b) C. E. Humphrey, M. Ahmed, A. Ghanem, N. J. Turner, *Synthetic Methods.*, **2014**, 123-160.



**PREMIERE PARTIE**



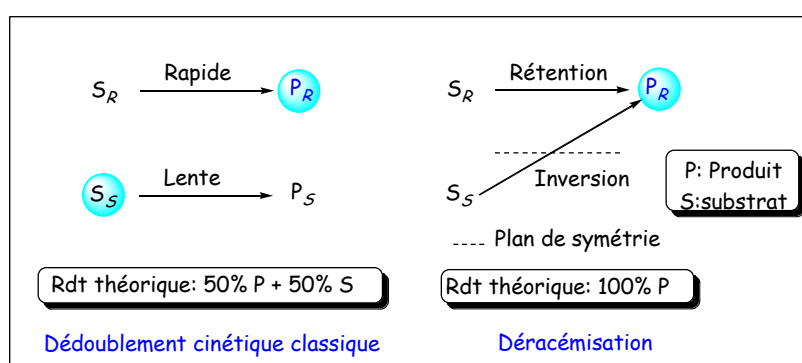
**CHAPITRE III**  
**GÉNÉRALITÉS SUR LES MÉTHODES DE**  
**DÉRACÉMISATION**

### III-1. INTRODUCTION :

Face aux exigences commerciales, la demande en produits chiraux énantiopurs s'est fortement accrue ces dernières années, ce qui a contribué au développement soutenu de synthèses énantiosélectives et plus précisément à l'exploitation de la réaction de dédoublement cinétique des racémiques qui constituent la forme majoritaire des médicaments en cours d'exploitation. L'inconvénient du dédoublement cinétique est la limitation du rendement à 50% maximum ce qui n'est pas très satisfaisant car cela engendre la perte de la moitié de l'énantiomère inutile notamment dans le cas où un seul énantiomère est intéressant, et il est nécessaire de le récupérer et de le recycler. Afin de remédier à cet inconvénient, des méthodes de déracémisation <sup>96</sup> efficaces se sont développées à partir des années 2000. C'est une solution élégante qui permet d'aboutir à un énantiomère uniquement avec une excellente pureté optique et un rendement chimique théorique de 100%.

### III-2. Principe de déracémisation :

La déracémisation est un processus dans lequel le mélange racémique est totalement converti en produit non racémique avec un rendement maximal, sans séparation intermédiaire des substrats. Cela peut se faire des processus divers: (i) par le recyclage de l'énantiomère indésirable après l'étape du dédoublement cinétique enzymatique *via* une racémisation (spontanée, catalysée par un catalyseur biologique ou chimique), (ii) par une stéréo inversion *in situ* de l'énantiomère inutile (réactif chimique ou biocatalyseur), (iii) ou par une déracémisation qui repose sur une séquence d'oxydoréduction cycliques (**Schéma 57**).



**Schéma 57:** Principes de déracémisation.

<sup>96</sup>(a) H. Stercher, K. Faber, *Synthesis*, Janvier **1997**, 1-16; (b) U. T. Strauss, U. F. Felfer, K. Faber, *Tetrahedron: Asymmetry*, **1999**, 10, 107-117; (c) K. Faber, *Chem. Eur. J.*, **2001**, 7, 5005-5010.

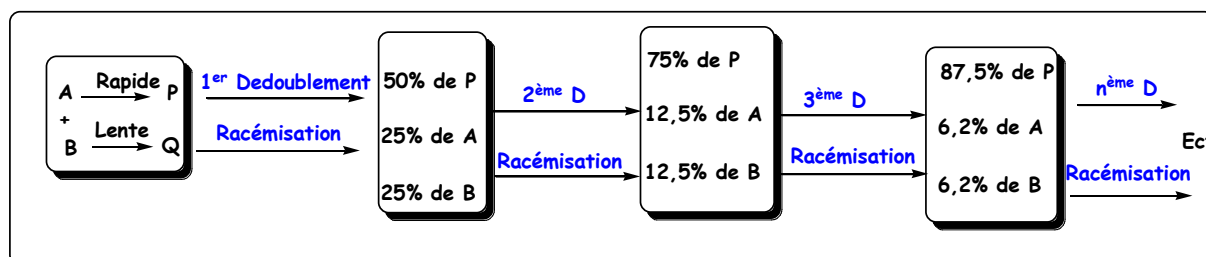
### III-3. Les différentes méthodes de déracémisation :

Les différentes méthodes de déracémisation qui permettent l'obtention d'un seul énantiomère à partir d'un mélange racémique avec un rendement chimique théorique de 100% sont largement décrites dans plusieurs revues de la littérature <sup>97</sup> et elles sont réparties en différentes approches qui sont:

- ❖ Déracémisation par les dédoublements répétés.
- ❖ Déracémisation par le dédoublement cinétique dynamique.
- ❖ Déracémisation par oxydoréduction cyclique.
- ❖ Déracémisation par le processus de stéréo inversion.

#### III-3-1. Déracémisation par les dédoublements répétés :

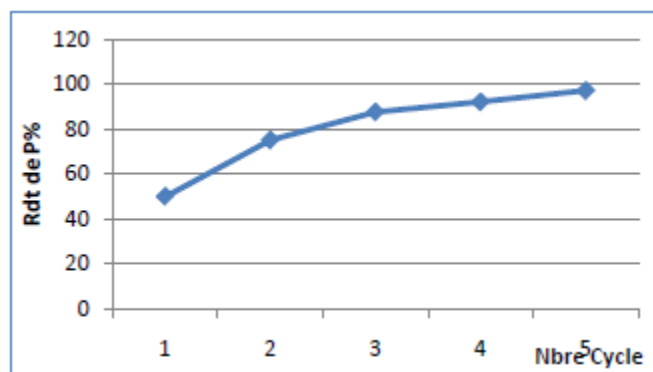
Cette méthode est basée sur le recyclage de l'énantiomère indésirable, après une réaction de dédoublement cinétique enzymatique classique hautement sélective ( $E > 100$ ), après sa séparation de son antipode optique l'énantiomère qui a réagi lentement subit une racémisation suivi d'un deuxième dédoublement cinétique enzymatique. Cette séquence réactionnelle se répète jusqu'à consommation totale de tout l'énantiomère indésirable suivant le schéma 58.



**Schéma 58 :** Processus de dédoublement cinétique répété.

Le rendement chimique théorique total d'un seul énantiomère peut atteindre le seuil de 95% après cinq recyclages (**Figure 10**).

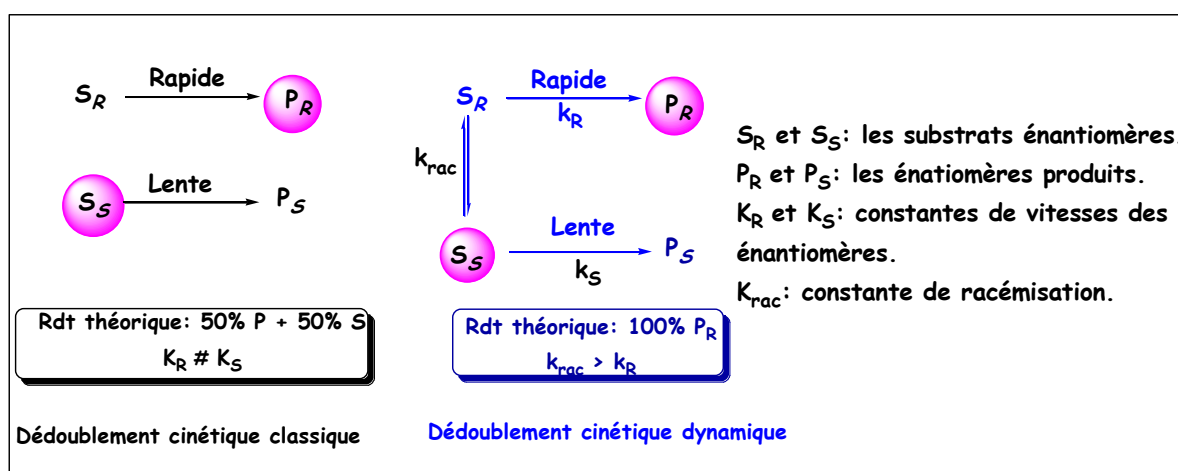
<sup>97</sup> (a) N. J. Turner, *Current Opinion in Biotechnology*, **2003**, *14*, 401-406; (b) J. H. Schrittwieser, J. Sattler, V. Resch, F. G. Mutti, W. Kroutil; *Current Opinion in Chemical Biology*, **2011**, *15*, 249-256. (c) A. Kamal, M. A. Azhar, T. Krishnaji, M. H. Malik, S. Azeza, *Coordination Chemistry Reviews*, **2008**, 569-592. (d) Turner, N. J. Deracemisation methods. *Current opinion in chemical biology*, **2010**, *14*(2), 115-121 (e) Réf 95(b): Humphrey, Cara E., Ahmed, Marwa, Ghanem, Ashraf.: *Synthetic Methods*, **2014**, p. 123-160. (f) Verho, Oscar, and Jan-E. Bäckvall, *Journal of the American Chemical Society*, **2015**, *137*(12), 3996-4009. (g) Z. S. Seddigi, M. S. Malik, S. A. Ahmed, A. O. Babalghith, , & A. Kamal, *Coordination Chemistry Reviews*, **2017**, *348*, 54-70.



**Figure 10:** Rendements chimiques théoriques lors d'un processus de dédoublement répété.

### III-3-2. Déracémisation par le dédoublement cinétique dynamique (DCD) :

Le dédoublement cinétique dynamique associe au dédoublement cinétique une racémisation *in situ* de l'énantiomère le moins réactif du substrat. Cette méthode permet d'obtenir un seul énantiomère ( $P_R$ ) à partir d'un mélange racémique ( $S_R, S_S$ ) avec un rendement chimique théorique de 100%. (**Schéma 59**)



**Schéma 59:** Principe du dédoublement cinétique classique et dynamique.

Pour obtenir un dédoublement cinétique dynamique, plusieurs conditions sont requises simultanément :

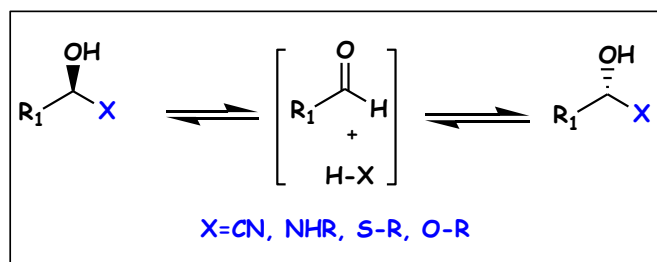
- ✂ Le DCE doit être irréversible pour assurer une bonne énantiosélectivité.
- ✂ La vitesse de racémisation doit être égale ou supérieure à la vitesse de la réaction de l'énantiomère le plus rapide afin d'éviter son épuisement ( $K_{rac} \geq K_R$ ).
- ✂ Le facteur de sélectivité du DCE doit être supérieur à 20.

- ✂ Pour des sélectivités modérées ( $E < 100$ ), la vitesse de racémisation doit être supérieure au moins dix fois à la vitesse de l'énantiomère le plus rapide ( $K_{\text{rac}} > 10 K_{\text{R}}$ ).
- ✂ Le dédoublement cinétique dynamique est généralement limité aux composés possédant un seul centre asymétrique.

L'étape clé de ce processus de déracémisation consiste en une racémisation de l'énantiomère qui réagit lentement. Plusieurs exemples de DCD via différents classe de racémisation sont à distinguer: il peut être biocatalysée, réalisée chimiquement ou se produire spontanément in situ.

#### ✚ DCD via une racémisation spontanée :

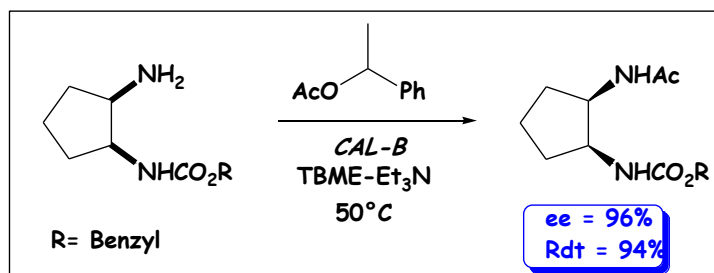
Cette méthode a été appliquée avec des dérivés d'alcools secondaires et d'amines comme les cyanohydrines, les hémiaminals et les hémithioacétals. L'étape de racémisation spontanée est basée sur l'instabilité des intermédiaires formés.



**Schéma 60:** DCD via une racémisation spontanée.

Dans ce contexte *Rebolledo et coll.*<sup>98</sup> ont décrit que l'étape de racémisation spontanée du dédoublement cinétique dynamique est basée sur une migration intramoléculaire du groupement alkoxy-carbonyl entre les deux nitrogènes vicinaux sous l'influence de l'acide acétique libéré. Ils ont synthétisé ( $\pm$ )-*Cis*-N-(alkoxy-carbonyl)cyclopentane-1,2-diamines quantitativement avec un excellent excès énantiomérique par la réaction d'aminolyse des racémiques mono carbamate catalysée par la *lipase de Candida Antarctica (CAL-B)*, le 1-phényléthanol donneur d'acyle dans le tertbutylméthyléther (TBME) et la triéthylamine ( $\text{NEt}_3$ ) comme co-solvant à 50°C. (**Schéma 61**).

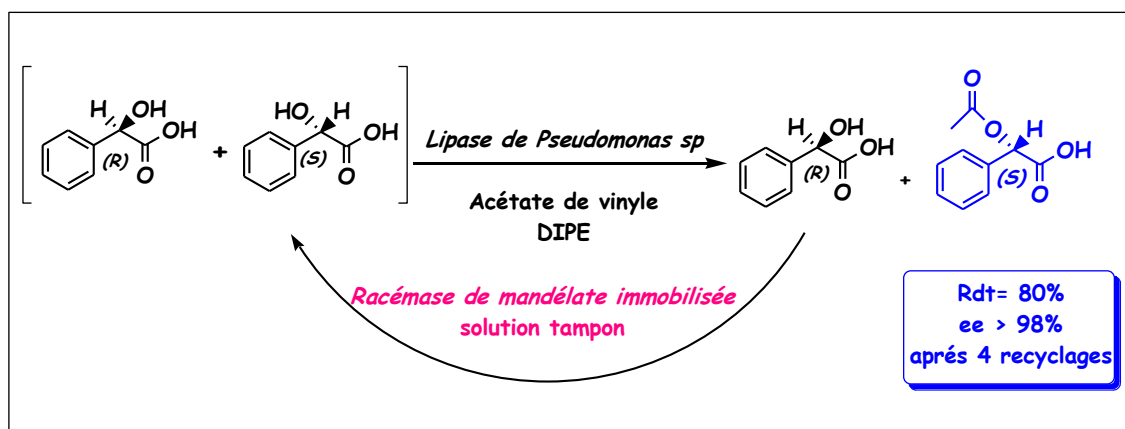
<sup>98</sup> F. J. Quijada, V. Gotor, F. Rebolledo; *Organic Letters*, **2010**, 12, 3602-3605.



**Schéma 61:** DCD enzymatique de ( $\pm$ )-cis-N-(Alkoxy-carbonyl) cyclopentane-1,2-diamines. basé sur une racémisation spontanée.

✚ **Dédoublage cinétique dynamique via une racémisation biocatalysée :**

Ce type de réaction est bien étudié par *Faber et coll.*,<sup>99</sup> nous citons l'exemple de déracémisation de l'acide mandélique racémique qui est applicable à grand échelle.<sup>100</sup> Ce procédé débute par une acylation énantiosélective de l'acide mandélique racémique catalysée par la lipase de *Pseudomonas cepacia sp.*, dans le diisopropyléther, avec l'acétate de vinyle comme donneur d'acyle. À 50% de conversion la réaction est arrêtée, la lipase est filtrée et le solvant est évaporé. L'énantiomère (*R*) n'ayant pas réagi subit une racémisation, sans séparation préliminaire des deux énantiomères, dans une solution tampon avec la racémase de mandélate immobilisée. Après quatre recyclages consécutifs, seul l'acétate de configuration (*S*) est obtenu quantitativement (80% de rendement isolé) avec un excès énantiomérique supérieur à 98% (**Schéma 62**).



**Schéma 62:** DCD via une racémisation biocatalysée.

<sup>99</sup> B. Schnell, K. Faber, W. Kroutil, *Adv. Synth. Catal.*, **2003**, 345, 653-666.

<sup>100</sup> U. T. Strauss, K. Faber, *Tetrahedron: Asymmetry*, **1999**, 10, 4079-4081.

### ✚ DCD via une racémisation catalysée par les métaux :

La combinaison d'une enzyme avec un complexe métallique (Ru, Rh, Ir, Al, Pd) pour réaliser un DCD est parmi les approches les plus développées. L'efficacité de ce dédoublement cinétique dynamique dépend de la compatibilité des deux systèmes. Dans ce cas, l'enzyme agit comme agent d'énantiosélectivité, et le catalyseur métallique comme agent racémisant. Cette méthode consiste en deux étapes, la première est un dédoublement cinétique classique fortement sélectif et la seconde est un processus de racémisation *in situ*, soit via un transfert d'hydrogène (**Schéma 63A**), soit via une formation d'un complexe  $\pi$ -allyle (**Schéma 63B**).



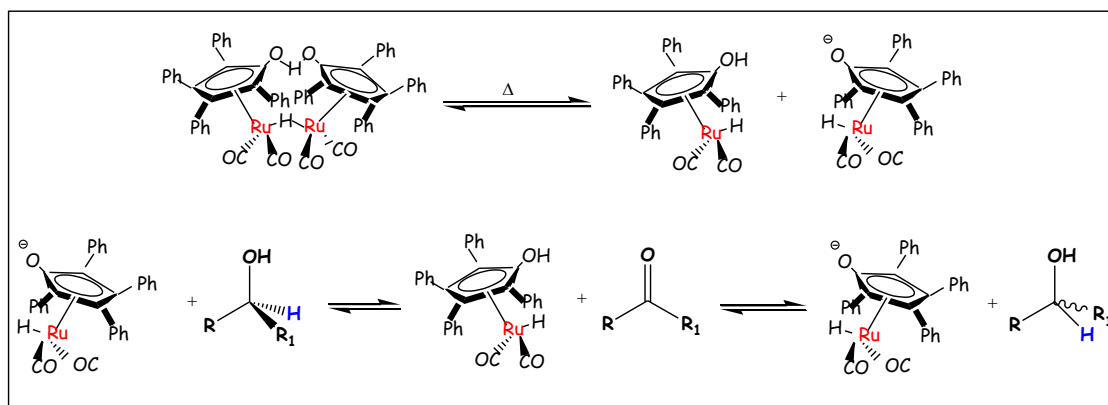
**Schéma 63:** Méthodes générales de racémisation métallique lors d'un DCD.

Ce système a largement été appliqué avec des alcools fonctionnalisés utilisés comme des auxiliaires chiraux dans l'industrie chimique fine. Nous citons quelques exemples de la littérature.

### ✓ Système Ruthénium/Enzyme :

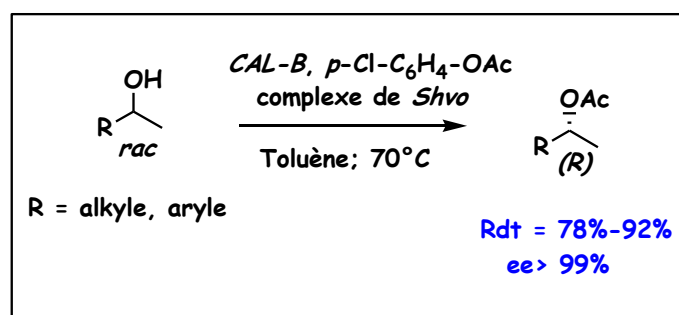
Ce processus est largement étudié par l'équipe de *Backvall et Shvo* qui ont développé leur propre complexe « le complexe de *Shvo* » pour la déracémisation,<sup>101</sup> c'est un dimère appliqué avec succès sur une large gamme de substrats (alcools secondaires, alcools fonctionnalisés, diols et amines). Ce complexe bimétallique nécessite une activation entre 70-80°C afin de séparer le dimère, la racémisation de l'alcool se fait par transfert de deux hydrogènes de l'alcool vers le ligand, ou du ligand vers la cétone (**Schéma 64**).

<sup>101</sup>(a) Y. Blum, D. Czarkie, Y. Rahamim, & Y. Shvo, *Organometallics*, **1985**, 1459-1461. (b) Y. Shvo, D. Czarkie, Y. Rahamim, & D. F. Chodos, *J. Am. Chem. Soc.*, **1986**, *108*, 7400-7402. (c) K. Bogár, J-E. Bäckvall; *Tetrahedron: Letters*, **2007**, *48*, 5471-5474. (d) A. Díaz-Rodríguez, I. Lavandera, & V. Gotor, *Current Green Chemistry*, **2015**, *2*, 192-211.



**Schéma 64:** Mécanisme de racémisation en utilisant le complexe de Shvo.

L'exemple ci-après <sup>102</sup> (**Schéma 65**) a décrit la déracémisation des alcools secondaires via une transestérification enzymatique par la *CAL-B* combinée au ruthénium dimère (complexe de *Shvo*) avec le *p*-chlorophénylacétate comme donneur d'acyle dans le toluène à 70°C.

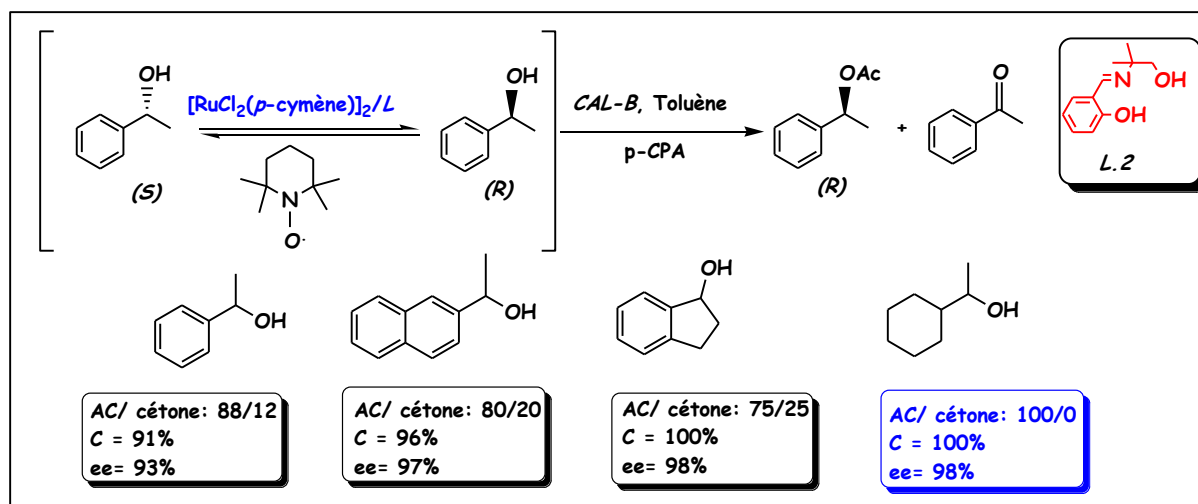


**Schéma 65:** DCD d'une série d'alcools secondaires.

Dans les travaux antérieurs de notre laboratoire, le dédoublement cinétique dynamique d'une série des alcools secondaires a été réalisé par *Merabet-Khelassi et coll.* <sup>103</sup> L'étape de racémisation est assurée par le catalyseur ruthénium  $[\text{RuCl}_2(\text{p-cymène})]_2$  est combiné avec la lipase *CAL-B* et le *p*-chlorophénylacétate (*p*-CPA) comme acyle donneur dans le toluène à 70°C (**Schéma 66**). Après optimisation du système de racémisation  $[\text{RuCl}_2(\text{p-cymène})]_2/\text{Ligand}/\text{TEMPO}$ , le dérivé acétate du 1-cyclohexyléthanol est obtenu avec un excès énantiomérique 98% ee et rendement chimique global de 94% à une conversion totale C = 100%.

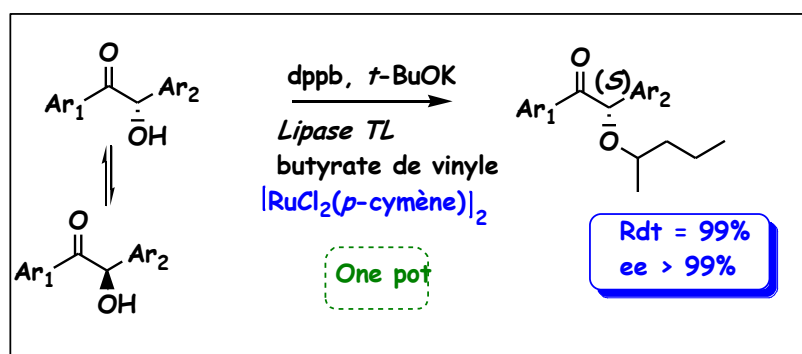
<sup>102</sup> A L E. Larsson, B A. Persson, J E. Bäckvall; *Angew. Chem. Int. Ed.*, **1997**, *36*, 1211

<sup>103</sup> M. Merabet-Khelassi, N. Vriamont, L. Aribi-Zouiouche, O. Riant ; *Tetrahedron: Asymmetry*, **2011**, *22*, 1790-1796.



**Schéma 66 :** DCD catalysé par un système Ruthenium/ enzyme.

Dans une étude plus récente,<sup>104</sup> un complexe de ruthénium formé à partir de  $[\text{Ru}(\text{p-cymène})\text{Cl}_2]_2$  et de 1,4-bis(diphénylphosphino)butane disponible commercialement catalyse très efficacement la racémisation d' $\alpha$ -hydroxy cétones aromatiques à température ambiante. La racémisation est entièrement compatible avec une résolution cinétique catalysée par une lipase de *Pseudomonas Stutzeri* (TL). Les esters d' $\alpha$ -hydroxy cétones de configuration (S), ont été obtenus quantitativement avec d'excellentes énantiosélectivités (**Schéma 67**).

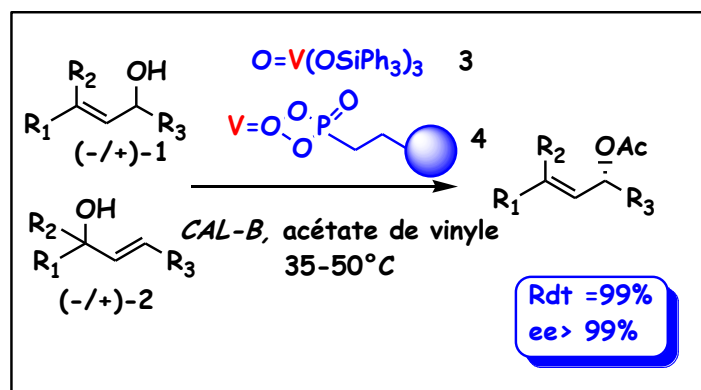


**Schéma 67:** DCD catalysé par un système Ruthenium/ enzyme  
à température ambiante.

<sup>104</sup> S. Agrawal, E. Martínez-Castro, R. Marcos, B. Martín-Matute, *Organic Letters*, **2014**, 16, 2256-2259.

✓ *Système Vanadium / Enzyme :*

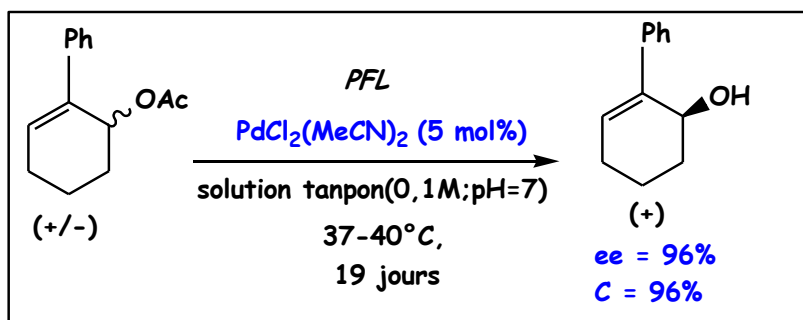
Akai et coll,<sup>105</sup> a développé la déracémisation des alcools allyliques, en appliquant avec succès la combinaison d'une racémisation catalysée par un oxovanadium, avec une transestérification enzymatique catalysée par la CAL-B. La présence de l'un des deux complexes de vanadium **3** ou **4** avec la lipase donne lieu à un seul ester allylique à partir de substrats régio et stéréoisomères (1 et 2) (*Schéma 68*).



**Schéma 68 :** DCD des alcools allyliques via d'une racémisation catalysée par un oxovanadium.

✓ *Système Palladium / Enzyme :*

Dès 1996, l'équipe de J. Williams<sup>106</sup> a démontré la compatibilité des deux systèmes : enzymes et complexes de métaux de transition en décrivant le premier exemple de DCD d'acétates allyliques par hydrolyse. Cette réaction faisait appel à une lipase comme biocatalyseur et un complexe de palladium (II) comme catalyseur induisant la racémisation via un complexe  $\pi$ -allyle (*Schéma 69*).

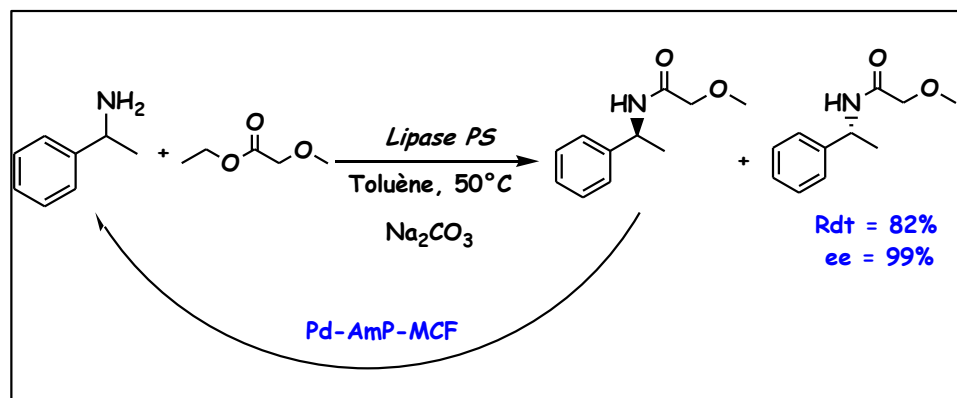


**Schéma 69:** DCD de l'acétate de 2-phénylcyclohex-2-enyle.

<sup>105</sup> S. Akai, R. Hanada, N. Fujiwara, Y. Kita, M. Egi *Org Lett*, **2010**, 12; 4900–4903.

<sup>106</sup> J V. Allen, J M J. Williams; *Tetrahedron: Letters*, **1996**, 37, 1859-1862.

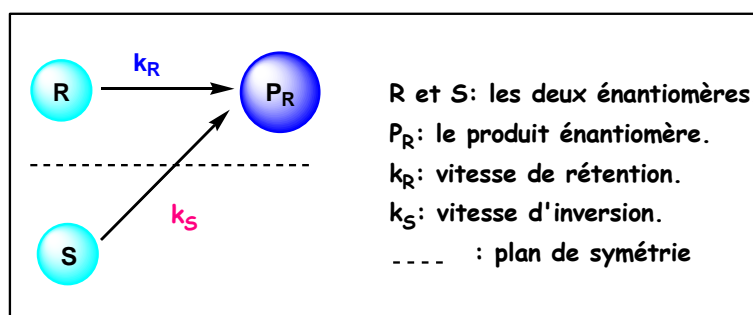
Depuis, ce système a été amélioré pour déracémiser par l'équipe de *Backvall*, il concerne la transestérification enzymatique avec des amines primaires comme substrats. Un nouveau complexe recyclable constitué de nanoparticules de palladium immobilisées compatible avec la lipase *Amano PS*,<sup>107</sup> a été utilisé pour effectuer la racémisation de l'amide résiduelle. (*Schéma 70*).



*Schéma 70* : DCD de 1-Phényl-éthylamine.

✓ *Le processus d'énantioconvergence* :

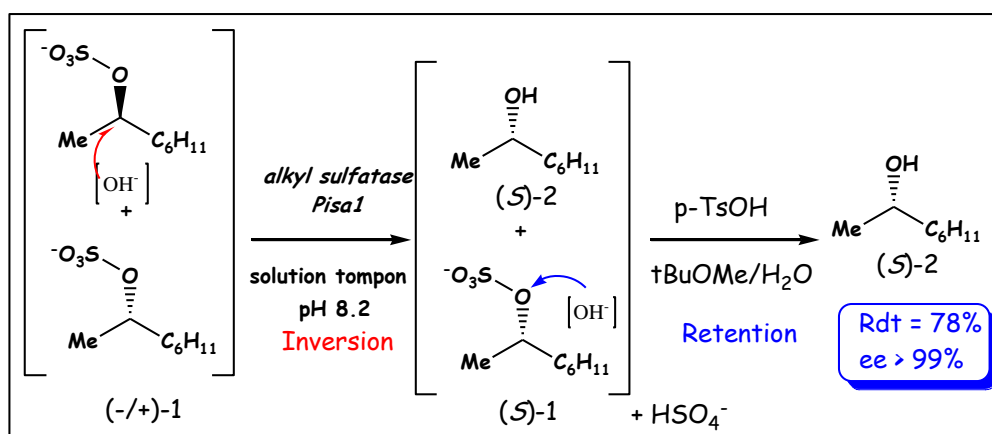
Cette approche de déracémisation est accomplie par l'utilisation de méthodes convergentes qui transforment les deux énantiomères du substrat (S et R) en un seul énantiomère du produit ( $P_R$ ). La caractéristique clé de cette stratégie est que chaque énantiomère du substrat suit une voie de réaction différente vers un énantiomère unique du produit (*Schéma 71*).



*Schéma 71* : Principe de la transformation par énantioconvergence.

<sup>107</sup> K. P. J. Gustafson, R. Lihammar, O. Verho, K. Engström, J.-E. Bäckvall, *J. Org. Chem.* **2014**, *79*, 3747–3751.

Un exemple élégant de déracémisation de 2-octyl sulfate racémique a été développé en utilisant deux systèmes différents: une lipase de type *sec-alkyl-sulfatase Pisa1* (*Pseudomonas sp. DSM 6611*) qui hydrolyse l'énantiomère (*R*) avec une inversion de configuration en générant le (*S*)-2-octanol. Cette hydrolyse enzymatique est suivie par une seconde hydrolyse chimique de l'énantiomère (*S*) non réagi et donne lieu à une rétention de configuration. La combinaison des deux systèmes conduit à une complète déracémisation. (*Schéma 72*).<sup>108</sup>

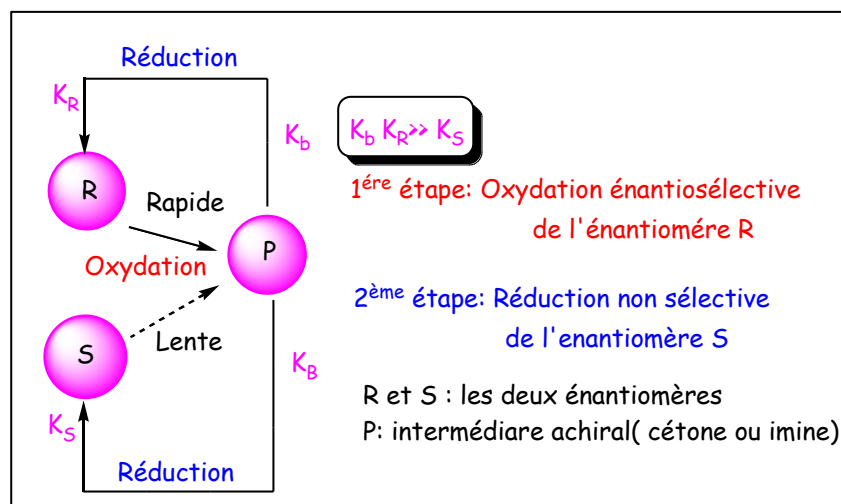


**Schéma 72 :** Déracémisation 2-octyl sulfate racémique par transformation énantiocouverte

### III-3-3. Déracémisation par oxydoréduction cyclique :

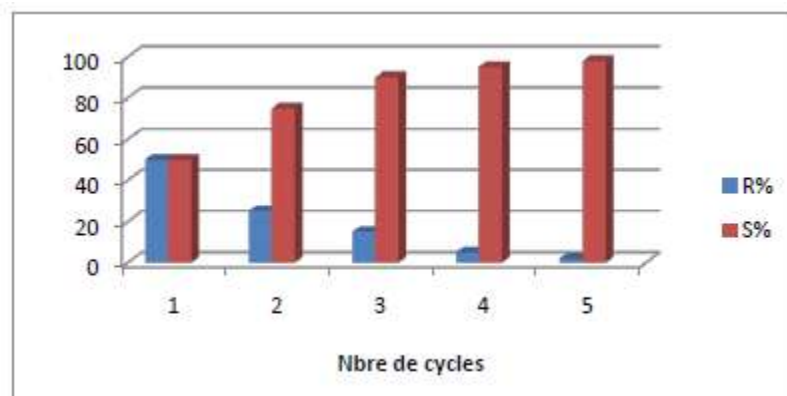
Cette stratégie est basée sur une séquence d'oxydoréduction cyclique des deux énantiomères des alcools secondaires ou amines, la première étape consiste à une oxydation énantiosélective du racémique de départ pour former un intermédiaire prochiral **P** (cétone ou imine). Ce dernier se transforme en sa forme racémique par une réduction non sélective (*Schéma 73*).

<sup>108</sup> M. Schober, P. Gadler, T. Knaus, H. Kayer, R. Birner-Grünberger, C. Güllly, K. Faber, *Organic letters*, **2011**, 13, 4296-4299. 1859



**Schéma 73:** Déracémisation par oxydoréduction cyclique.

L'énantiomère *R* est sélectivement oxydé pour donner le produit *P* achiral avec un rendement de 50%. Dans la deuxième étape, le produit intermédiaire achiral est non sélectivement réduit pour donner *R*+*S* en quantité égale à 25% pour chaque un. Par conséquent, la composition énantiomérique de *R/S* est égale à 25/75 après le premier cycle. Le rendement chimique de l'énantiomère *S* augmente progressivement par rapport à celui de l'énantiomère *R* ou il peut atteindre son maximum après plusieurs cycles.

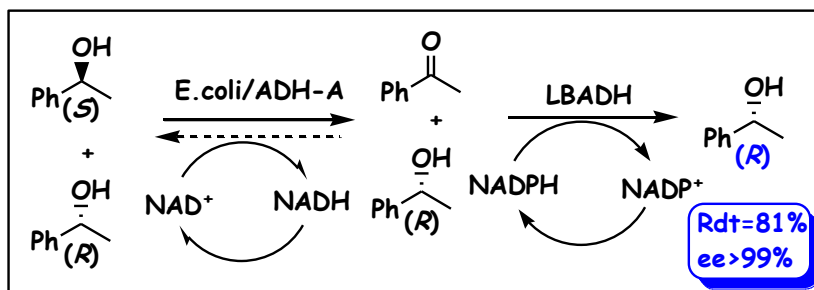


**Figure 11:** Rendements chimiques théoriques d'une racémisation par oxydoréduction cyclique.

Le meilleur résultat de cette méthode est obtenu en un seul pot, lorsque les deux étapes d'oxydation et de réduction sont compatibles. Dans cette optique, nous citons l'exemple<sup>109</sup> de

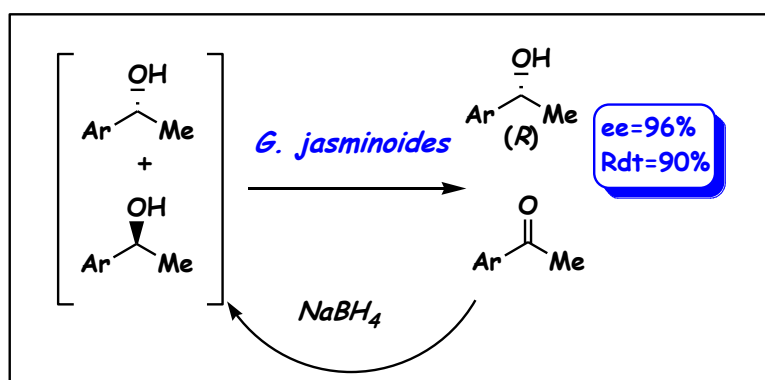
<sup>109</sup> C. E. Paul, I. Lavandera, V. Gotor-Fernandez, W. Kroutil, & V. Gotor, *Chem. Cat. Chem.*, **2013**, 5, 3875.

déracémisation par oxydation-réduction du phényle éthanol via des cellules d'Escherichia coli (*Rhodococcus ruber* DSM 44541 :*E. coli*/ADH-A). La déracémisation implique une oxydation sélective de l'énantiomère (*S*) en cétone suivi par sa réduction sélective. L'énantiomère (*R*) est obtenu avec une pureté optique supérieure à 99% (**Schéma 74**).



**Schéma 74:** Déracémisation microbienne du phényl-éthanol par oxydoréduction cyclique.

Dans l'exemple <sup>110</sup> suivant (**Schéma 75**) a concerné la déracémisation des alcools secondaires par une séquence chimio-enzymatique d'oxydation/réduction en utilisant des cellules végétales la *G. Jasminoides* immobilisée, la réduction de la cétone formé lors de la première étape est réduite par  $\text{NaBH}_4$  pour donner le racémique. Le cycle de déracémisation est répété 6 fois, l'énantiomère (*R*) est obtenu avec excès énantiomérique  $ee = 96\%$  et rendement de 90%.



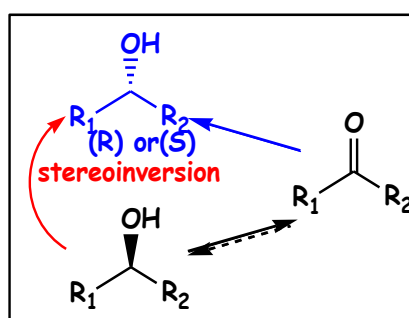
**Schéma 75 :** Déracémisation via une combinaison d'un catalyseur biologique et une méthode chimique.

<sup>110</sup> C. Magallanes-Noguera, M M. Ferrari, M. Kurina-Sanz, A A. Orden ; *Journal of Biotechnology*, **2012**, 160, 189-194.

### III-3-4. Déracémisation par le processus de stéréoinversion:

Le terme de « stéréoinversion » a été proposé pour la première fois par Hafner,<sup>111</sup> la déracémisation par stéréoinversion présente un grand intérêt et se développe selon deux méthodes. Dans la première approche la stéréoinversion s'accomplit directement lors du processus réactionnel avec les mêmes réactifs de départ, par oxydoréduction. La seconde implique une deuxième réaction chimique qui assure l'inversion de configuration de l'énantiomère qui réagit lentement.

La première approche est basée sur la formation d'un intermédiaire prochiral ou achiral stable à partir d'un substrat racémique via des réactions d'oxydoréduction qui donne lieu à un produit énantiomériquement pur avec un rendement chimique théorique de 100%. D'où l'un des énantiomères subit une oxydation pour former l'intermédiaire prochiral qui sera réduit sélectivement pour donner l'autre antipode optique.

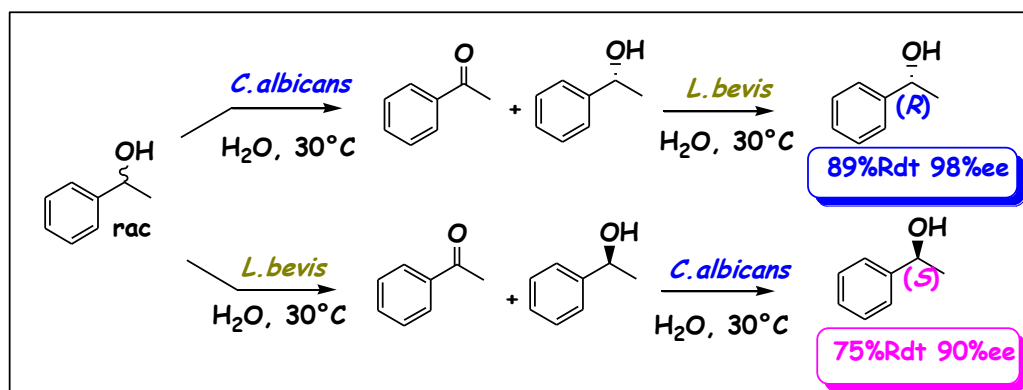


**Schéma 76:** Principe de la transformation énantioconvergente.

Dans ce contexte, un travail récent est rapporté par une équipe brésilienne pour la préparation d'aryléthanol à haute pureté énantiomérique par déracémisation via une stéréoinversion. Les (*R*)-phényléthanol sont synthétisés à 98% d'excès énantiomérique en utilisant un procédé tandem de *C. albicans* suivi de *Lactobacillus brevis* CCT 3745 (**Schéma 77**). Si la séquence de ces microorganismes est inversée, c'est l'antipode le (*S*)-phényléthanol énantiomériquement pur qui est produit avec 90% ee.<sup>112</sup>

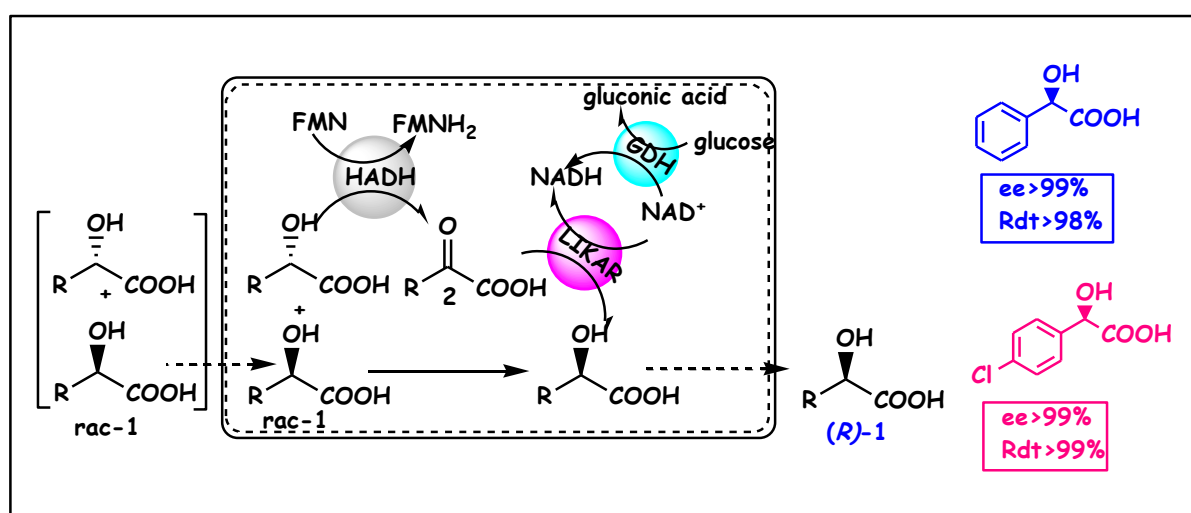
<sup>111</sup> E. W. Hafner and D. Wellner, *Proc. Nat. Acad. Sci.*, **1971**, 68, 987-991.

<sup>112</sup> F. D Nasário. T. Cazetta, P. J. Moran, & J. A. R Rodrigues, *Tetrahedron: Asymmetry*, **2016**, 27, 404-409.



**Schéma 77:** Déracémisation via une stéréoinversion par une oxydoréduction.

Une stéréoinversion par oxydo-réduction en cascade est utilisée avec succès pour préparer de précieux (*R*)-2-hydroxyacides avec un système efficace à trois enzymes de même souche « *Escherichia coli* » à partir du racémique. Tout d'abord, le (*S*)-2-hydroxyacide est oxydé par la (*S*)-2-hydroxyacide déshydrogénase (*HADH*) en  $\alpha$ -cétoacide qui est ensuite transformé en (*R*)-2-hydroxyacide par la *Escherichia coli* (*HADH-LIKAR-GDH*), la régénération du cofacteur est assurée par la troisième enzyme qui est *glucose déshydrogénase* (*GDH*).<sup>113</sup> Cette déracémisation développée par biocatalyse en cascade possède une efficacité élevée est économe en atome et représente une stratégie prometteuse pour la production d'acides (*R*)-2-hydroxyacide hautement énantiopure.



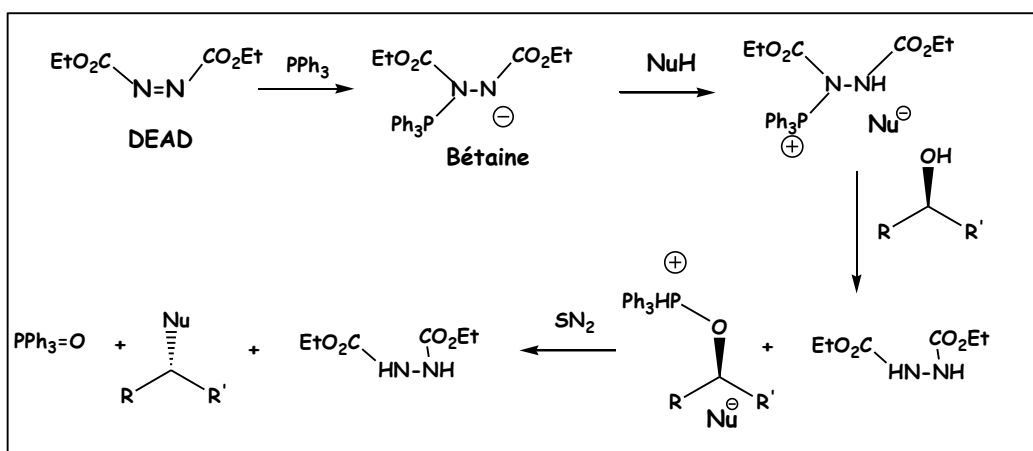
**Schéma 78:** Déracémisation d'hydroxyacides par oxydo-réduction.

<sup>113</sup> Y. P. Xue, C. Wang, D. C. Wang, Z. Q. Liu, & Y. G. Zheng, **2018**, *186*(3), 563-575

Une autre approche de cette méthode de déracémisation par stéréoinversion est composée de deux étapes successives, la première est un dédoublement cinétique biocatalysé hautement énantiosélective (hydrolyse ou transestérification) suivi d'une réaction chimique incluant une inversion de configuration de l'un des énantiomères. Nous nous sommes intéressés à cette alternative, notamment la déracémisation via la réaction de Mitsunobu. Nous détaillons dans ce qui suit, la synthèse énantio pure des acétates et des alcools, substrats d'intérêt majeur par cette approche précédemment décrites dans la littérature.

### ↳ La réaction de Mitsunobu

La substitution d'alcools primaires ou secondaires par des nucléophiles, médiée par une combinaison redox d'un triarylphosphine et un azodicarboxylate est connue comme la réaction de Mitsunobu. Depuis sa découverte en 1967 par le professeur *Oyo Mitsunobu*, elle a joué un rôle important en synthèse organique et en chimie médicinale en raison de sa portée, stéréospécificité, et de ses conditions réactionnelles douces. Le mécanisme de la réaction de Mitsunobu procède en 3 étapes pour un nucléophile (NuH) avec un alcool secondaire. (**Schéma 79**) Lors de la première étape, la TPP réagit rapidement avec le DEAD pour former un adduit P-N zwitterionique, communément appelé la « bétaine de Mitsunobu » qui déprotonne le NuH pour former un sel de phosphonium. Dans l'étape de l'activation de l'alcool, il réagit avec le sel de phosphonium et l'hydrazine réduite. Finalement, le nucléophile déprotonné réagit avec le sel d'oxyphosphonium dans une réaction  $S_N2$  pour conduire au produit de stéréochimie inverse et l'oxyde de triphénylphosphine.

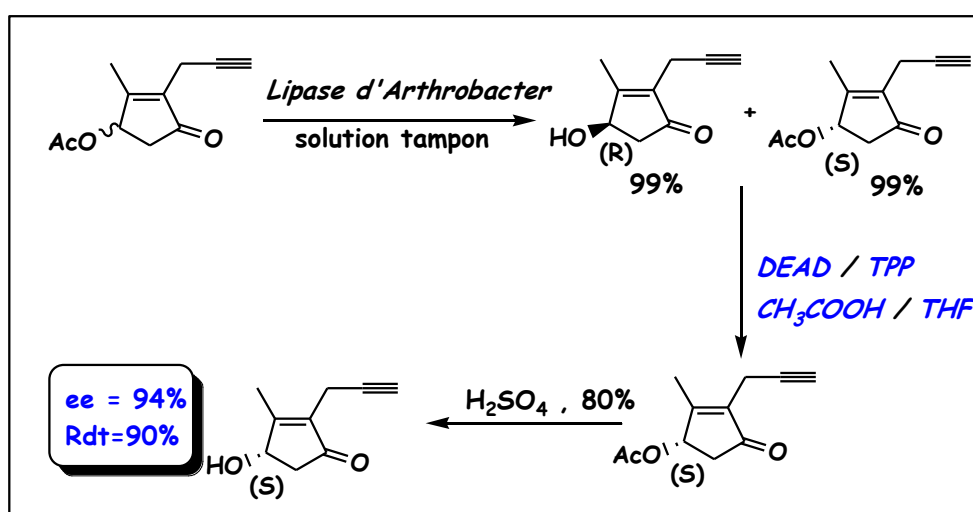


**Schéma 79:** Mécanisme de la réaction de Mitsunobu.

Un nucléophile ayant un pKa trop élevé (plus grand que 13) ne serait pas en mesure de protonner l'adduit et la réaction ne se complèterait tout simplement pas.

↪ *Application de la réaction de Mitsunobu dans la déracémisation :*

La réaction de Mitsunobu est une réaction largement intégrée pour la déracémisation des acétates et des alcools chiraux secondaires. La préparation de (*S*)-4-hydroxy-3-méthyl-2-(2-propynyl)-2-cyclopenten-1-one a été développée quantitativement avec un excès de 94% par l'équipe de Danda<sup>114</sup> (Schéma 80).

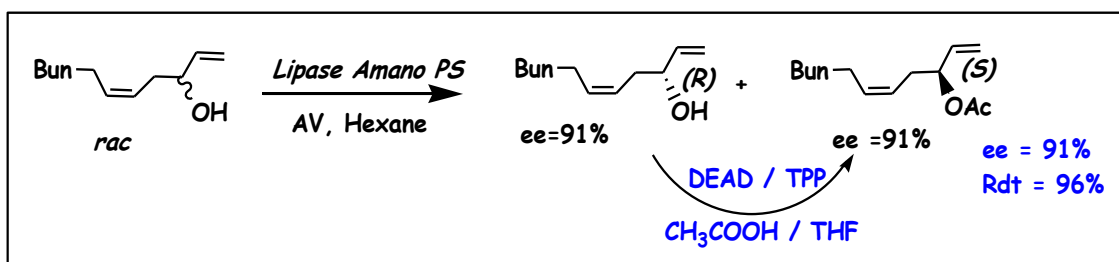


**Schéma 80:** Déracémisation par combinaison d'une hydrolyse enzymatique et une Stéréo-inversion « in situ »

La même approche a été appliquée par l'équipe de Faber<sup>115</sup> pour obtenir le (*S*)-dictyoprolène, un acétate secondaire insaturé d'intérêt cosmétique. Le dédoublement cinétique enzymatique, réalisé par transstérification du mélange racémique de l'alcool correspondant, a donné les deux énantiomères avec des excès énantiomériques ee = 91%. En ajoutant le réactif de Mitsunobu, seul l'ester est obtenu sans perte de sa pureté optique et avec un rendement chimique Rdt = 96%. (Schéma 81).

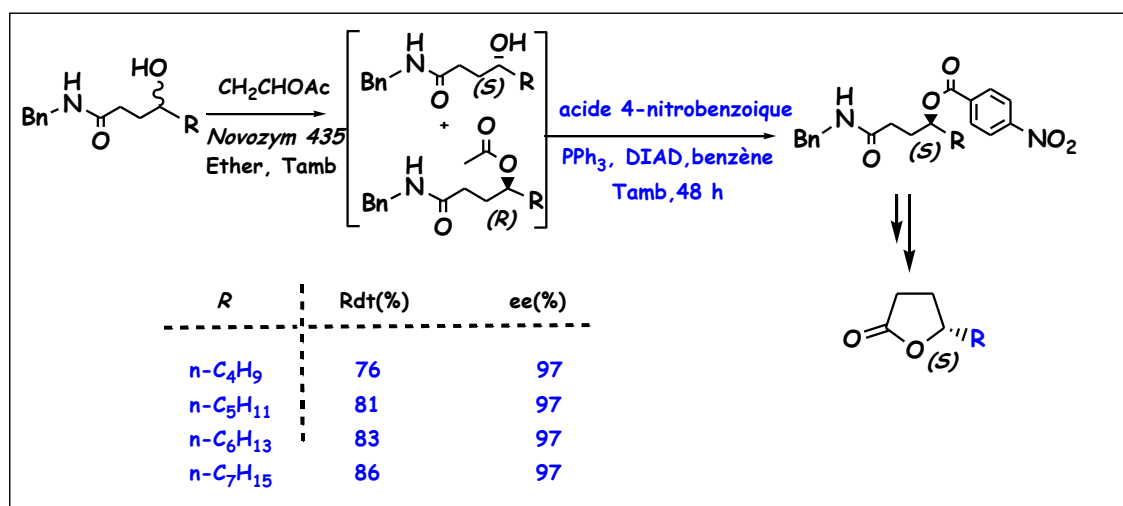
<sup>114</sup> T. Danda, T. Nagatomi, A. Maehara, T. Umemura, *Tetrahedron*, **1991**, *47*, 8701-8716.

<sup>115</sup> A. Wallner, H. Mang, S.M. Glueck, A. Steinreiber, S.F. Mayer, K. Faber, *Tetrahedron: Asymmetry*, **2003**, *14*, 2427-2432.



**Schéma 81:** Accès au (S)-dictyoprolène via une transestérification enzymatique suivie du protocole de Mitsunobu.

Une large gamme des (S)- $\gamma$ Lactones énantio-pures sont obtenues avec des rendements élevés, en appliquant la déracémisation suivi de la stéréoinversion par la réaction de Mitsunobu.<sup>116</sup> (Schéma 82).

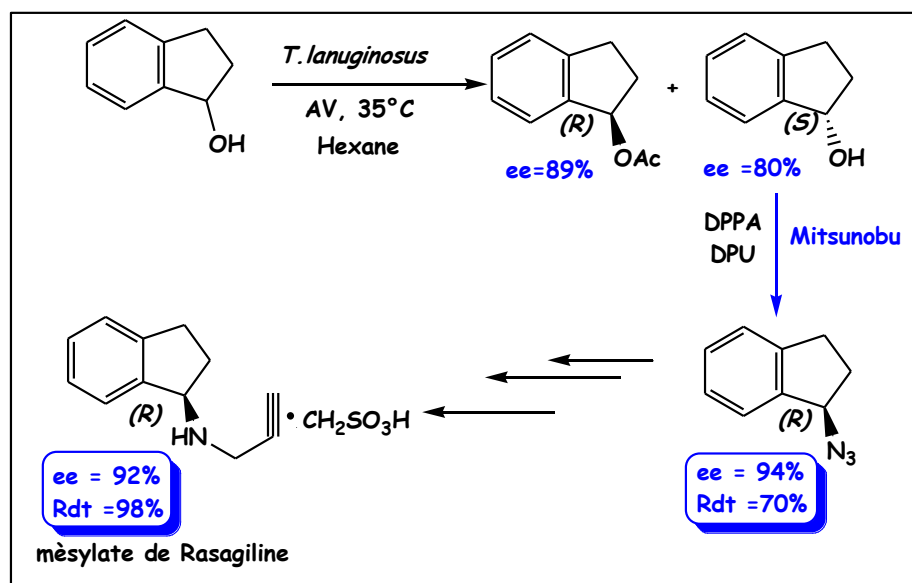


**Schéma 82:** Synthèse des (S)- $\gamma$ -Lactones par déracémisation via mitsunobu.

Le mèsylate de Rasagiline, est utilisé en monothérapie médicamenteuse chez les patients souffrants de la maladie de Parkinson. La synthèse de ce médicament a été développée récemment avec succès par T. de Sousa Fonseca et coll,<sup>117</sup> l'étape clé de cette synthèse est l'association du protocole de Mitsunobu au dédoublement cinétique par transestérification de l'indanol racémique en présence d'une lipase immobilisée de *Thermomyces lanuginosus*. (Schéma 83).

<sup>116</sup> Y. Shimotori, & T. Miyakoshi, *Synthetic Communications*, **2009**, *39*, 1570-1582

<sup>117</sup> T. de Sousa Fonseca, M. R. da Silva, M. D. C. F. de Oliveira, T. L. G. de Lemos, R. de Araújo Marques, & M. C. de Mattos, *Applied. Catalysis. A: General*, **2015**, *492*, 76-82.



**Schéma 83:** Synthèse du mésylate de Rasagiline par déracémisation via Mitsunobu.

### III-4. CONCLUSION :

Dans ce chapitre nous avons exposé le principe de déracémisation qui est complémentaire au DCE. Les différentes approches de déracémisation sont présentées et illustrées par des exemples montrant l'utilité et l'intérêt de chaque procédure dont l'application est adaptée selon la nature des substrats et des catalyseurs utilisés. Les développements survenus depuis les années 2000 dans le domaine des déracémisations enzymatiques ont largement augmenté leur efficacité et leur champ d'application. Par exemple, la combinaison de dédoublement cinétique enzymatique et la réaction Mitsunobu a fait l'objet d'un développement important, en particulier pour l'obtention de molécules d'intérêt pharmaceutiques et agrochimique potentiel, avec une excellente pureté optique et des rendements chimiques quantitatifs. Cette approche de déracémisation est simple et facile à utiliser mais elle reste dépendante de la nature des substrats étudiés pour lesquels la réaction de Mitsunobu ne procède pas toujours avec une totale inversion de configuration. Dans ces travaux de thèse, nous avons appliqué cette approche de stéréoinversion à la déracémisation de divers alcools hétéroaromatiques en utilisant la nouvelle hydrolyse alcaline en milieu organique.

## CONCLUSION DE LA PREMIERE PARTIE

Au cours de cette première partie, nous avons présenté les différents modes d'accès aux molécules chirales, énantiomériquement enrichies. Plusieurs voies sont décrites, mais la plus utilisée est le dédoublement cinétique des mélanges racémiques et essentiellement par transestérification ou hydrolyse catalysées par les hydrolases et particulièrement les lipases. L'utilisation de ces biocatalyseurs en milieu organique s'est beaucoup développé depuis une trentaine d'années pour leur grande sélectivité et leur accessibilité à des coûts modérés. Ils s'inscrivent surtout dans le développement de méthodes de synthèse simples, efficaces et sécuritaires qui s'inscrivent totalement dans les principes de chimie verte. En chimie fine, le potentiel d'utilisation des biocatalyseurs est très important, qu'ils soient seuls ou combinés avec les catalyseurs chimiques classiques.

Une variété de réactions récentes de la littérature présentent le dédoublement cinétique de racémique par biocatalyse. Des nombreux exemples illustrent l'importance des conditions réactionnelles d'activation des enzymes et l'influence de divers paramètres sur la réactivité et l'énantiosélectivité de ces réactions avec notamment: la nature de l'enzyme, la structure du substrat, l'agent acylant, le solvant et l'introduction des additifs. Une bonne maîtrise de ces paramètres donne lieu à un dédoublement cinétique enzymatique sélectif constituant la première étape fondamentale de séparation des énantiomères.

Afin de parvenir à un énantiomère unique avec un rendement chimique quantitatif, l'optimisation de cette approche est ensuite abordée. En effet, l'utilisation du DCE reste limitée par le rendement chimique maximum théorique de 50% de chacun des énantiomères. Cette limitation peut être résolue et un rendement chimique de 100% peut être atteint en faisant appel à divers processus efficaces de déracémisation et qui sont présentées dans le troisième chapitre de cette première partie. Parmi ces méthodes, le processus de stéréoinversion par la réaction de Mitsunobu est une voie intéressante qui se développe actuellement et qui est devenue un outil de la déracémisation après avoir été largement utilisé en synthèse organique. Nous l'avons intégré à la synthèse énantiosélective d'alcools hétéroaromatiques d'intérêt.

## **DEUXIEME PARTIE**

### **CHAPITRE IV**

#### **HYDROLYSE ALCALINE ENZYMATIQUE DE 1-3- (HYDROXY PHÉNYL) ÉTHYLE-ACÉTATE EN MILIEU NON CONVENTIONNEL**

## IV-1. INTRODUCTION :

Actuellement, la résolution cinétique enzymatique est l'une des méthodes les plus avantageuse pour accéder aux énantiomères purs <sup>118</sup> constituant la source des intermédiaires chiraux indispensables pour la chimie pharmaceutique <sup>119</sup> ou on constate que plus de 80% des médicaments en cours de développement sont chiraux.<sup>120</sup> En raison de leur spécificité de substrat et de leur haute sélectivité, les enzymes émergent comme des catalyseurs précieux pour accéder aux molécules optiquement pures dans des conditions douces respectueuses de l'environnement.<sup>121</sup> Dans ce cadre, les lipases (EC 3.1.1.3) sont les biocatalyseurs les plus utilisés pour la synthèse de composés énantiomériquement purs notamment par transestérification dans des solvants organiques ou par hydrolyse en milieu aqueux ou biphasique ou leur potentiel industriel est élevé. <sup>122</sup>

Depuis de nombreuses années, l'acétylation régiosélective de composés polyhydroxylés est un domaine de recherche intéressant en chimie et pose de nombreux défis pour la synthèse d'intermédiaires pharmaceutiques actifs. <sup>123</sup> Les méthodes de chimie classiques produisent un mélange de produits monoacétylés et diacétylés alors que les réactions de monoacétylation catalysées par les lipases se sont développées en raison de leur sélectivité élevée et des conditions réactionnelles douces excluant l'utilisation de catalyseurs toxiques. <sup>124</sup> La monoacétylation régiosélective catalysée par une lipase a été établie comme une approche appropriée pour obtenir les produits mono acétylés en utilisant divers diols <sup>125</sup> qui sont des sous-unités structurales importantes pour diverses applications synthétiques.

<sup>118</sup> (a) G. Carrea, S. Riva, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2000**, 39, 2226 (b) Réf 11(c):K. Faber, “*Biotransformations in Organic Chemistry*”, 6th ed.; Springer-Verlag: Berlin Heidelberg, **2011**.

<sup>119</sup> (a) Bhardwaj, Kamal Kumar, Gupta, Reena. *Journal of Oleo Science*, **2017**, 66, 1073. (b) Agustian, Joni, Kamaruddin, Azlina Harun, et Bhatia, Subhash. *Process Biochemistry*, **2010**, 45, 1587.(c) Simon, Robert C., Mutti, Francesco G., et Kroutil, Wolfgang. *Drug Discovery Today: Technologies*, **2013**, 10, 37-44.

<sup>120</sup> (a) Gotor-Fernández, Vicente, Brieva, Rosario, et Gotor, Vicente. *Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic*, **2006**, 40, 111. (b) Réf 98(c): Kamal, Ahmed, Azhar, M. Ameruddin, Krishnaji, Tadiparthi, et al. *Coordination Chemistry Reviews*, **2008**, 252, 569-592. (c) U. T. Bornscheuer, G. W. Huisman, R. J. Kazlauskas, et al. . *Nature*, **2012**, 485, 185-194.

<sup>121</sup> (a) P. T. Anastas , N. Eghbali, *Chem. Soc. Rev.*, **2010**, 39, 301-312; (b) B. M. Trost, *Science* ,**1991**, 1471-1477, *Angew. Chem. Int. Ed.* **1995**, 107, 285-307.

<sup>122</sup> (a) Schmid A, Dordick JS, Hauer B, Kiener A, Wubbolts M, Witholt B. Industrial biocatalysis today and tomorrow. *Nature*. **2001**, 409 (6817), 258-268. (b) RN. Patel , *Organic Synthesis Using Biocatalysis.*; **2016**: 339; 411.

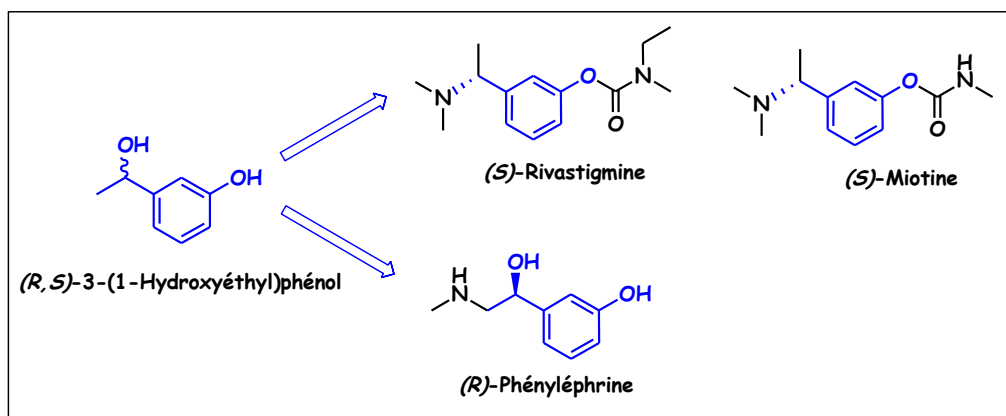
<sup>123</sup> (a) D. Lee, C.L. Williamson, L. Chan, M.S. Taylor, *J. Am. Chem. Soc.* **2012**; 134; 8260. (b) T. Yasmin, T. Jiang, B. Han, *Catal. Lett.* **2007**, 116, 46. (c) B. Ren, M. Rahm, X. Zhang, Y. Zhou, H. Dong, *J. Org. Chem.* **2014**, 79, 8134.

<sup>124</sup> K. Jing, R. Duan, J. Sun, S. Wang, Y. Lu, *Adv. Mater. Res.* **2013**, 12, 690–693.

<sup>125</sup> (a) F. Theil, J. Weidner, S. Ballschuh, A. Kunath, H. Schick, *J. Org. Chem.* **1994**, 59, 388. (b) C. Oger, Z. Marton, Y. Brinkmann, V. Bultel-Ponce, T. Durand, M. Graber, J.M. Galano, *J. Org. Chem.* **2010**, 75,1892. (c)

Les *hydroxyalkyl-phénols* énantiopures et leurs dérivés sont des intermédiaires de synthèse pour des applications pharmaceutiques<sup>126</sup> et constituent un important intérêt industriel.<sup>127</sup> Les deux énantiomères du **3-(1-hydroxyéthyl) phénol** et ces dérivés sont des intermédiaires de synthèse pour accéder à diverses substances médicamenteuses importantes qui sont:

- La **(S)-(-)-Rivastigmine**, un inhibiteur de l'acétylcholinestérase prescrit pour le traitement des démence modérée chez les patients atteints de la maladie d'Alzheimer et de la maladie de Parkinson ou également la **(S)-Miotine**, un anticholinestérase.
- La **(R)-(-)-Phényléphrine**, un puissant agent adrénergique et sympathomimétique du récepteur  $\beta$ , exclusivement commercialisé sous forme optiquement active (**Figure 12**).



**Figure 12 :** Intérêt des énantiomères du 3- (1-hydroxyéthyl) phénol

Dans cette partie du travail, nous nous sommes intéressés au développement d'une procédure d'accès aux composés monoacétylés chimio-sélectivement à partir du **(R, S)-3-(1-hydroxyéthyl) phénol**, contenant des groupes hydroxyles phénoliques et aliphatiques. L'étude réside donc dans la mise au point des conditions expérimentales qui permettent d'obtenir, par différentes approches enzymatique, cette molécule optiquement pure.

V. Framis, F. Camps, P. Clapes, *Tetrahedron Lett.* **2004**; 45; 5031. (d) V.S. Meena, U.C. Banerjee, *Monatsh. Chem.* **2012**; 143; 951.

<sup>126</sup> (a) Do-Min Lee, Jong-Cheol Lee, Nakcheol Jeong and Kee-In Lee, *Tetrahedron: Asymmetry.* **2007**, 18, 2662–2667. (b) A Mathes et MMiacrhtaienl K F. Pub. No.: US **2010**/0168229 (c) Marco Wieser, Hirota Furukawa, Hiroshi Morita, Toyokazu Yoshida and Toru Nagasawa, *Tetrahedron: Asymmetry*, **1999**, 10, 1627–1630

<sup>127</sup> (a) Dalko, Maria. U.S. Patent Application No 14/007,853, 29 mars **2012**. (b) Mathes, Christian, Michael Foulkes, Martin Kesselgruber. U.S. Patent No. 8,415,508. 9 Apr. **2013**. (c) DIVI, Murali Krishna Prasad, RAO, Padakandla Gundu, RAO, Bolneni Nageswara, *et al.* U.S. Patent No 8,455,692, 4 juin **2013**.

Dans la continuité des travaux précédents, nous avons abordé l'étude de la régiosélectivité et l'énantiosélectivité de la lipase *Candida antarctica* B (*CAL-B*) pour le DC du (*R*, *S*)-3-(1-hydroxy-éthyle) phénol et ses diacétates par des chemins de déacylation/acylation en milieu organique. L'objectif peut être atteint par deux voies, l'une par l'élimination sélective d'un seul groupe acyle du composé diacétylé et l'autre par la monoacylation sélective des composés dihydroxylés. La lipase *CAL-B* est un biocatalyseur largement utilisé en synthèse organique qui présente une haute activité sur une très large gamme de substrats spécifiques<sup>128</sup> avec une grande stabilité que ce soit dans des conditions aqueuses ou organiques.<sup>129</sup> C'est le biocatalyseur idéal pour la résolution d'une large gamme de composés pouvant être utilisés dans de secteur industriel.<sup>130</sup> Par ailleurs, cette lipase est décrite comme le meilleur catalyseur pour la monoacétylation régiosélective de divers diols.<sup>131</sup>

#### IV-2. Mise au point bibliographique:

Les diols optiquement actifs sont des composés précieux car ils peuvent être transformés en plusieurs molécules intéressantes. En raison de leur importance en tant que composantes de base de la synthèse organique, un certain nombre de méthodologies synthétiques ont été développés pour leur préparation à l'exception de l'hydrolyse enzymatique classique pour laquelle aucun exemple résolution du diacétate racémique par n'est décrit dans la littérature.

La synthèse chimioenzymatique de la (*S*)-(-)-Rivastigmine<sup>132</sup> ou (*R*)-(-)-Phényléphrine<sup>133</sup> a été réalisée par des processus à voies multiples impliquant essentiellement des transformations asymétriques de la 3-hydroxyacétophénone en esters correspondants optiquement actifs.

Les dérivés du 3-(1-acétoxyéthyl) phénol constituent un intermédiaire important pour la synthèse des médicaments et l'hydrogénation asymétrique s'est imposée comme une méthode

<sup>128</sup> O. Kirk, M.W. Christensen, *Org. Process Res. Dev.* **2002**, 6, 446-451.

<sup>129</sup> E.M. Anderson, K.M. Larsson, O. Kirk, *Biocatal. Biotransform.* **1998**, 16, 181-204.

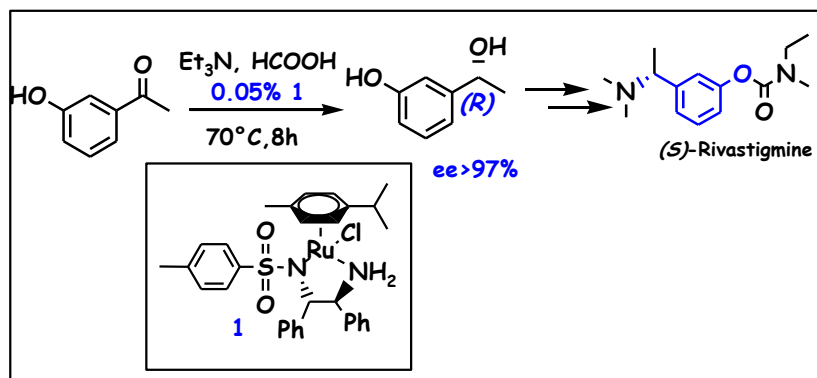
<sup>130</sup> (a) V. Gotor-Fernandez, R. Brieva, V. Gotor, *J. Mol. Catal. B: Enz.* **2006**, 40, 111-120, (b) V. Gotor-Fernandez, E. Busto, V. Gotor, *Adv. Synth. Catal.* **2006**, 348, 797-812.

<sup>131</sup> (a) SV. Pawar, GD. Yadav, D. Ganapati. *J Ind Eng Chem.* **2015**, 31, 335. (b) LC. Bencze, C. Paizs, MI. Toşa, FD. Irimie, *Tetrahedron: Asymm.* **2011**, 22; 675-683.

<sup>132</sup> (a) K. Han, C. Kim, J. Park, MJ. Kim. *J. Org. Chem.* **2010**; 75; 3105. (b) Fuchs M, Koszelewski D, Tauber K, Kroutil W, Faber K. *Chem. Comm.* **2010**; 46; 5500. (c) PC. Yan, GL. Zhu, Xie JH, Zhang XD, Zhou QL, Li YQ, Shen WH, Che DQ. *Process Res. Dev.* **2013**; 17; 307.

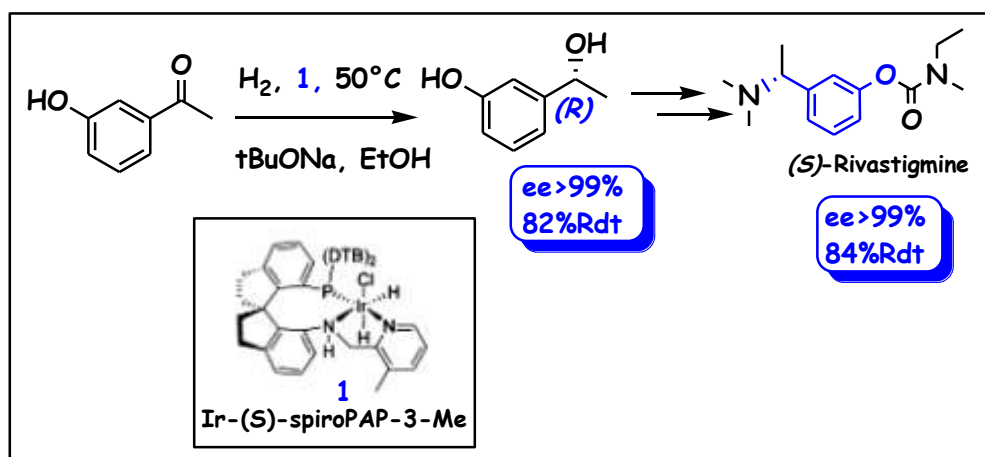
<sup>133</sup> (a) RK. Pandey, PK. Upadhyay, P. Kumar, *Tetrahedron Lett.* **2003**, 44, 6245. (b) JF. McGarrity, A. Zanotti-Gerosa *Tetrahedron: Asymmetry.* **2010**; 21; 2479. (c) S. Dai, G. LI, W. Zhang, C. Zhang, X. Song, D. Huanget. *Catalyst. Chem. Lett.* **2017**, 46, 740.

de choix pour aboutir efficacement à l'énantiomère requis, plusieurs brevets sont publiés dans cette optique que nous citons ce travail.<sup>134</sup> (*Schéma 84*).



*Schéma 84* : Synthèse de la (S)-(-)-Rivastigmine via une hydrogénation asymétrique.

Dans le même contexte, l'équipe de yan<sup>135</sup> a effectué la préparation du (S)-Rivastigmine avec une hydrogénation asymétrique de la 3-hydroxyacétophénone catalysée par le Ir-spiroPAP chiral. Le diol correspondant a été obtenu avec un excès énantiomérique >99% et un rendement de 82%. (*Schéma 85*).

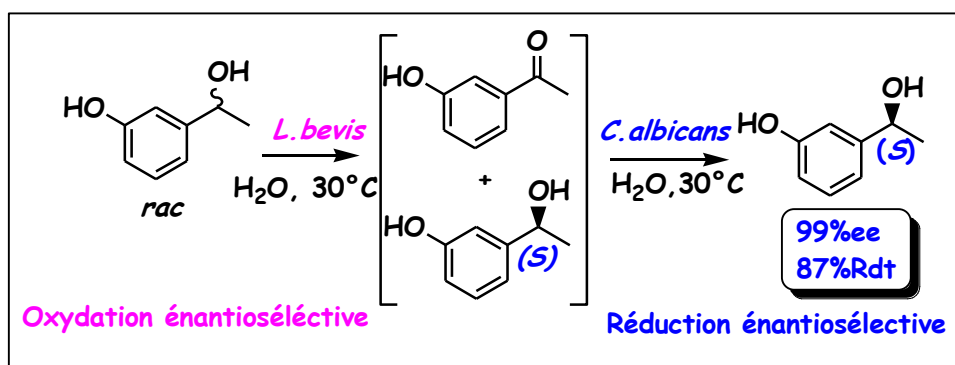


*Schéma 85* : Synthèse de la (S)-(-)-Rivastigmine via une hydrogénation asymétrique en présence de Ir-(S)-spiroPAP

<sup>134</sup> Réf 128(b): Mathes, Christian, Michael Foulkes, and Martin Kesselgruber. Process for the preparation of optically active compounds using transfer hydrogenation. U.S. Patent No. 8,415,508. 9 Apr. 2013.

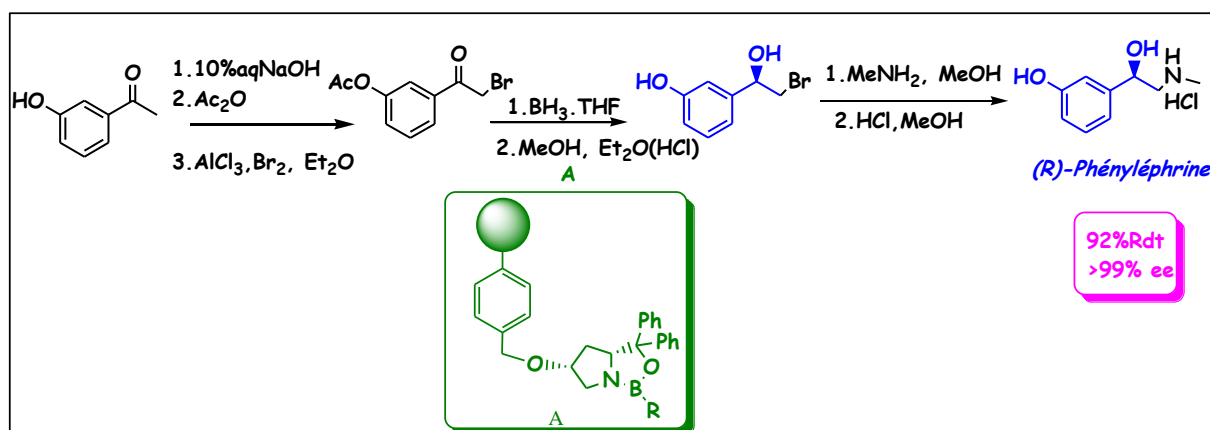
<sup>135</sup> Réf 133(c) : PC. Yan, GL. Zhu, Xie JH, Zhang XD, Zhou QL, Li YQ, Shen WH, Che DQ. *Process Res. Dev.* 2013; 17; 307.

Nasiro *et coll*<sup>136</sup> ont décrit la synthèse quantitative du (*S*)-3-(1-hydroxy-éthyl) phénol avec 99% d'excès énantiomérique par une déracémisation *via* une oxydoréduction cyclique énantiosélective du *rac*-3-(1-hydroxy-éthyl) phénol en présence de *Lactobacillus brevis* CCT 3745 pour produire l'intermédiaire achiral à partir du (*R*)-énantiomère et laisser l'énantiomère (*S*) inchangé dans une première étape. Une réduction énantiosélective *via* *C. albicans* est réalisée pour donner l'énantiomère (*S*) par réduction énantiosélective à partir de la cétone. L'inversion de la séquence de ces microorganismes produit l'autre antipode énantiomériquement pur. (Schéma 86)



**Schéma 86:** Déracémisation du *rac*-3-(1-hydroxy-éthyl) phénol par oxydoréduction cyclique.

L'obtention du (*R*)-Phényléphrine est également réalisée par l'hydrogénation asymétrique du *rac*-2-Bromo-1-(3-hydroxy-éthyl)-phénone avec un nouvel catalyseur griffé sur une résine ce procédé offre le (*R*)-Phényléphrine avec 99% ee et 92% de rendement.<sup>137</sup> (Schéma 87)



**Schéma 87:** Synthèse énantiosélective du (*R*)-Phényléphrine.

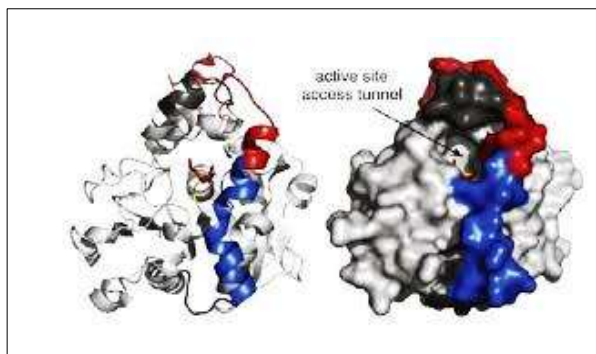
<sup>136</sup> Réf 112: F. D. Nasário, T. Cazetta, P. J. Moran, & J. A. R. Rodrigues, *Tetrahedron: Asymmetry*, **2016**, *27*, 404-409.

<sup>137</sup> Réf 134(c) : S. Dai, G. LI, W. Zhang, C. Zhang, X. Song, D. Huanget, *Chem. Lett.* **2017**, *46*, 740.

### IV-3. Etude de la régio et de l'énantiosélectivité lors du DCE du 3- (1-hydroxy-éthyl) phénol par voies d'acylation et de déacylation:

La mise au point de procédures permettant d'obtenir des composés monoacétylés chimiquement et sélectivement à partir de molécules contenant des groupes hydroxyle phénoliques et aliphatiques est un défi.<sup>138</sup> Le dédoublement cinétique catalysée par des lipases pour la production de diols énantiomériquement purs est une voie moins décrite.<sup>139</sup>

La lipase de *Candida Antarctica* B (CAL-B) est biocatalyseur robuste et respectueux de l'environnement très utilisé dans les réactions de dédoublement cinétique pour sa stéréosélectivité élevée.<sup>140</sup> C'est une lipase commerciale d'origine microbienne qui catalyse spécifiquement les acylations régio et énantiosélective de composés polyfonctionnels dans des conditions douces.<sup>141</sup> Cette lipase a été appliquée à l'acylation chimiosélective du 4- (2-hydroxyéthyl) phénol.<sup>142</sup> Elle est également utilisée dans le dédoublement asymétrique des diols.<sup>143</sup> Cette lipase est thermodynamiquement stable,<sup>144</sup> elle est utilisée dans la recherche comme dans l'industrie, surtout sous sa forme immobilisée.



**Figure 13:** Structure tridimensionnelle de la CAL-B<sup>145</sup>.

<sup>138</sup> (a) GW. Breton, *J. Org. Chem.*, **1997**, 62, 8952. (b) S. Yamada, T. Sugaki, K. Matsuzaki, *J. Org. Chem.*, **1996**; 61; 5932.

<sup>139</sup> (a) Arunkumar K, Reddy MA, Kumar TS, Kumar BV, Chandrasekhar KB, Kumar PR, Pal M. *J. Org. Chem.* **2010**; 6: 1174. (b) Mangas-Sánchez J, Rodríguez-Mata M, Busto E, Gotor-Fernández V, Gotor V. *J. Org. Chem.* **2009**; 74; 5304.

<sup>140</sup> (a) Raza S, Fransson L, Karl H. *Protein Sci.* **2001**; 10, 329. (b) Réf 130: Anderson EM, Larsson KM, Kirk O. *Biocatal. Biotransfor.* **1998**; 16; 181. (c) A. Idris, A. Bukhari, *Biotechnol. Adv.*, **2012**, 30, 550.

<sup>141</sup> (a) B. Danieli, M. Luisetti, G. Sampognaro, G. Carrea, S. Riva, *J. Mol. Catal. B: Enzym.* **1997**, 3, 193. (b) Virsu P, Liljeblad A, Kanerva A, Kanerva LT. *Tetrahedron: Asymmetry.* **2001**; 12; 2447

<sup>142</sup> T. Miyazawa, M. Yamamoto, H. Danjo, *Biotechnol. Lett.* **2013**; 35. 625.

<sup>143</sup> C.R. Johnson, S.J. Bis; *Tetrahedron Lett.*, **1992**, 33, 7287.

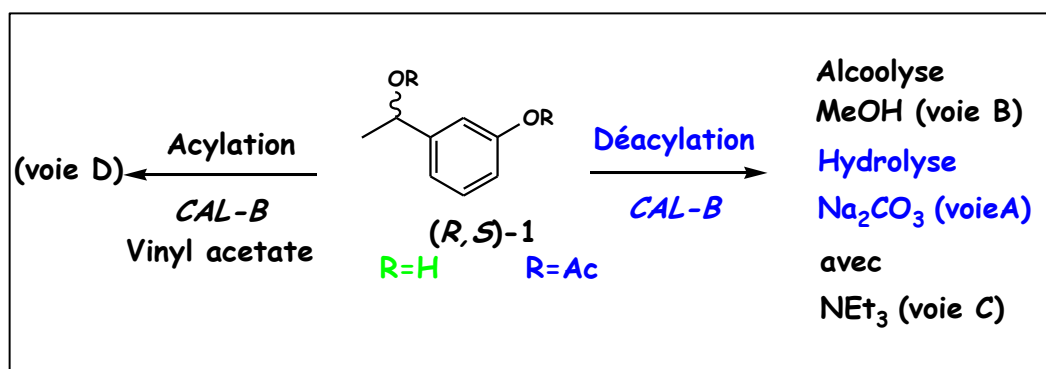
<sup>144</sup> J. Drouin, J. Costante, E. Guibé-Jampel, *J. Chem. Educ.* **1997**, 74, 992.

<sup>145</sup> <http://www.rcsb.org/pdb/>

Nous avons précédemment mis au point une méthode d'hydrolyse enzymatique simple et pratique avec du carbonate de sodium en milieu organique catalysée par la lipase *CAL-B*.<sup>146</sup> qui a été appliquée avec succès aux acétates d'arylalkylcarbinol,<sup>147</sup> aux amino-alcools N, O protégés,<sup>148</sup> et aux acétates de 1-arylcyclohexyle.<sup>149</sup> Après ajustement des paramètres de réaction, la *CAL-B* a montré une énantiosélectivité élevée et une grande spécificité de substrat.

Dans ce contexte, nous étudions la *régio* et l'*énantiosélectivité* de la lipase *CAL-B* dans la résolution cinétique du (*R,S*)-3-(1-hydroxyéthyl) phénol et de ses diacétates par différentes voies déacylation / acylation.

Le but peut être atteint soit par l'élimination sélective d'un seul groupe acyle des composés diacétylés ou par la monoacylation sélective des composés dihydroxylés. Le premier procédé de déacylation, **voie A**, consiste en l'application de l'hydrolyse alcaline catalysée par la *CAL-B* dans un milieu organique via du carbonate de sodium. Dans la **voie B**, c'est une alcoololyse avec du MeOH comme nucléophile qui est utilisée et pour la **voie C**, la déacylation est effectuée en présence de  $\text{NEt}_3$  comme additif. L'acylation du (*R,S*)-3-(1-hydroxyéthyl) phénol est également examinée (**voie D**) (*Figure 14*).



**Figure 14:** Différentes routes de résolution cinétique enzymatique du rac-1.

<sup>146</sup> Réf 88: M. Merabet-Khelassi, Z. Houiene, L. Aribi-Zouiouche, O. Riant, *Tetrahedron: Asymmetry*, **2012**, 23, 828.

<sup>147</sup> Réf 89: Z. Houiene, M. Merabet-Khelassi, N. Bouzemi, O. Riant, L. Aribi-Zouiouche, *Tetrahedron: Asymmetry*, **2013**, 24, 290–296.

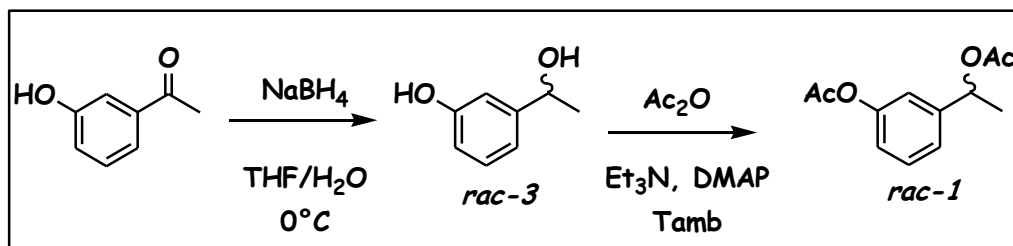
<sup>148</sup> Réf 90: A. Alalla, M. Merabet-Khelassi, Olivier Riant, Louisa Aribi-Zouiouche, *Tetrahedron: Asymmetry*, **2016**, 27, 1253-1259.

<sup>149</sup> Réf 91: FZ. Belkacemi, M. Merabet-Khelassi, L. Aribi-Zouiouche, O. Riant. *Tetrahedron: Asymm.* **2017**; 28:1644

### IV-3-1. Synthèse du diol et l'acétate correspondant:

L'obtention du diol **3** se fait par la réduction de 3-Hydroxyacétophenone en présence de sodium ( $\text{NaBH}_4$ ) dans un mélange de solvant : tétrahydrofurane/eau (THF/ $\text{H}_2\text{O}$  :4/1). L'anion hydrure génère par le  $\text{NaBH}_4$  attaque le carbonyle de la cétone pour donner des alcoolates de sodium, qui est converti en alcool correspondant par hydrolyse acide.

L'acétate racémique 3-(1-Acétoxyéthyl) phényl acétate **1** correspondant au diol a été synthétisé par une acylation chimique en présence d'une quantité catalytique de 4-diméthylamino pyridine (DMAP) dans l'éther anhydre avec la triméthylamine ( $\text{NEt}_3$ ) et une quantité adéquate d'anhydride acétique ( $\text{Ac}_2\text{O}$ ). Le rendement est de **90%**.



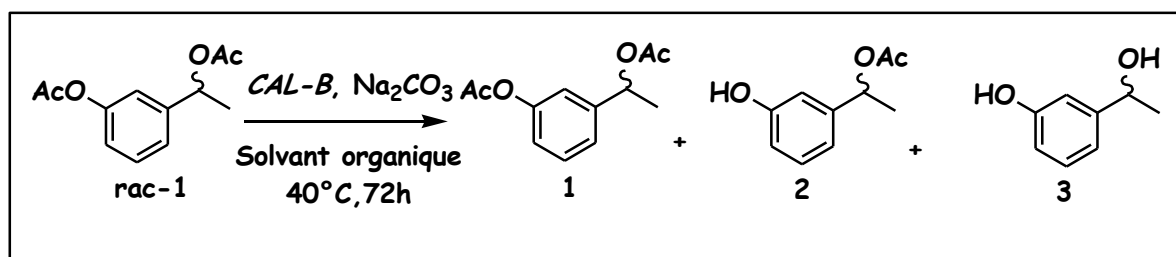
**Schéma 88 :** Synthèse chimique du **rac-3** et **rac-1**.

### IV-3-2. Etude de déacylation du 1-3-(hydroxy phényl) éthyle-acétate **1** par hydrolyse en milieu non-conventionnel :

Dans un premier temps, les paramètres de la régiosélectivité de l'hydrolyse alcaline du diacétate **1** catalysée par la lipase de *Candida antarctica* B (**CAL-B**) en présence du carbonate de sodium sont étudiés. Le solvant organique est le premier paramètre à être examiné dans des conditions de réactions précédemment mises en œuvre précédemment. Des solvants d'hydrophobicités différentes sont utilisés: le THF, le toluène, l'acétone, l'heptane, dichlorométhane.

- **Influence de la nature du solvant :**

L'hydrolyse alcaline est réalisée sur 1 mmole de diacétate **1**, en présence de 1 équivalent de  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  et 40 mg de **CAL-B** dans 2 mL de solvant organique. La réaction est menée sous agitation magnétique à  $40^\circ\text{C}$  durant 72 heures (**Schéma 89**).



**Schéma 89:** Hydrolyse enzymatique du rac-1a avec le Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>

L'évolution de la réaction est suivie par chromatographie sur couche mince. Les mélanges réactionnels sont filtrés sur célite puis évaporés sous vide. L'avancement des réactions et les excès énantiomériques des produits obtenus sont déterminés par HPLC chirale, et ce, après la séparation du diol produit et du monoacétate par flash chromatographie avec un mélange éluant (80/20) éther de pétrole/ acétate d'éthyle).

Les résultats dans le **tableau 1** montrent une influence importante du solvant sur la régiosélectivité de **CAL-B** dans l'hydrolyse alcaline du diacétate **1**. En outre, une hydrolyse sélective des groupes hydroxyle phénoliques en présence d'un groupe hydroxyle aliphatique a été obtenue. Le clivage régiosélectif rapide du fragment acétyle dépend clairement de l'hydrophobicité du solvant.

**Tableau 1 :** Effet de solvant dans l'hydrolyse alcaline du diacétate 1 catalysée par la CAL-B.

Entrée <sup>(a)</sup>	Solvant Log P	1		2		3		C(% <sup>(c)</sup> )	E <sup>(c)</sup>
		Ee (% <sup>(b)</sup> )	Rdt (% <sup>(c)</sup> )	Ee (% <sup>(b)</sup> )	Rdt (% <sup>(d)</sup> )	Ee (% <sup>(b)</sup> )	Rdt(% <sup>(d)</sup> )		
1	THF (0.48)	-	-	31 (40)	-	>99% (21)	-	24	>200
2	Acétone (-0.23)	-	-	4 (15)	-	>99 (trace)	-	4	>200
3	CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> (1.01)	6 (8)	-	1.5 (40)	-	-	-	80	1
4	Toluène (2.5)	5 (10)	-	4 (50)	-	-	-	55.6	1
5	Héptane (4)	-	-	4 (65)	-	-	-	100	-

<sup>(a)</sup>Réaction s'est déroulée avec 1mmol d'acétate racémique, 1mmol de Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> dans 2 ml de THF à 40°C en présence du (40mg) CAL-B pendant 72 heures <sup>(b)</sup> Mesuré par HPLC chirale. <sup>(c)</sup> Conversion: C=eeS/eeP+ees ;facteur de Sélectivité: E =Ln[(1-C)(1-ee(S))]/ Ln[(1-C)(1+ee(S))] .

Le diol **3** et le monoacétate **2** sont récupérés uniquement dans deux solvants, le THF et l'acétone (tableau 1, entrée 1-2). Dans les deux cas, le facteur de sélectivité est élevé ( $E > 200$ ) et le diol **3** est récupéré énantiopur ( $ee > 99\%$ ). La meilleure conversion est enregistrée dans le THF ( $C = 24\%$ ) par rapport à l'acétone ( $C = 4\%$ ) solvant hydrophile dans lequel une dénaturation de l'enzyme peut se produire (entrée 1 et 2).<sup>150</sup> Dans le toluène ou dans le dichlorométhane, le monoacétate **2** et le diacétate résiduel **1** sont obtenus sous forme racémique (tableau 1, entrée 3-4). De manière surprenante, dans l'heptane, solvant hydrophobe, seul le clivage de l'acétyle aromatique a été observé avec conversion totale en faveur du monoacétate **2** (tableau 1, entrée 5). Les résultats ci-dessus montrent que le THF est le milieu organique approprié pour l'hydrolyse alcaline-enzymatique du diacétate **1**. Afin d'optimiser les conditions de l'hydrolyse alcaline pour ce substrat, divers paramètres ont été examinés tels que la quantité de lipase, la quantité de  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  et le temps de la réaction.

- *Influence de la quantité de carbonate :*

L'étude de la réaction de dédoublement cinétique par hydrolyse alcaline catalysée par la **CAL-B** se poursuit avec le THF qui est le meilleur solvant. Nous poursuivons en examinant l'influence de la quantité de  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  en adaptant la durée de la réaction à son avancement. Les résultats sont détaillés dans le tableau 2.

**Tableau 2 :** Influence du carbonate de sodium sur l'hydrolyse enzymatique du **diacétate 1**

Entrée <sup>a</sup>	$\text{Na}_2\text{CO}_3$ (Eq.)	CAL-B (mg)	Temps (h)	(S)- <b>2</b>		(R)- <b>3</b>		C(%) <sup>(e)</sup>	E <sup>(e)</sup>
				ee <sub>s</sub> (%) <sup>(d)</sup>	Rdt (%) <sup>(f)</sup>	ee <sub>p</sub> (%) <sup>(d)</sup>	Rdt (%) <sup>(f)</sup>		
<b>1</b>	-	40	72	-	-	-	-	NR	-
<b>2</b>	0.2	40	72	0.1	72	-	-	-	-
<b>3</b>	0.3	40	72	12	55	>99	8	10	>200
<b>4</b>	0.4	40	72	17	50	>99	10	14	>200
<b>5</b>	0.5	40	72	31	40	>99	21	23	>200
<b>6</b>	1	40	72	33	44	>99	20	25	>200
<b>7<sup>b</sup></b>	1	-	72	-	-	-	-	NR	-
<b>8</b>	1	40	96	53	34	>99	30	35	>200
<b>9<sup>c</sup></b>	1.5	40	96	55	36	>99	30	36	>200
<b>10<sup>c</sup></b>	2	40	72	67	44	>99	36	40	>200

<sup>(a)</sup> 1 mmol diacétate racémique en présence du  $\text{Na}_2\text{CO}_3$ , 40 mg de **CAL-B** en 2 mL de THF à 40°C. <sup>(b)</sup> sans lipase en présence du 0.02 mL d'eau. <sup>(c)</sup> 4 mL de THF. <sup>(d)</sup> ee: Mesuré par HPLC chiral. <sup>(e)</sup> Conversion :  $C = ee_s / ee_p + ee_s$ ; facteur de sélectivité :  $E = \ln [(1-C) (1-ee_s)] / \ln [(1-C) (1+ee_s)]$ . <sup>(f)</sup> Rendement isolé; NR: pas de réaction

<sup>150</sup> VL. Nevers, Z. Marton, S. Lamare, K. Hult, M. Graber, *J. Mol. Catal. B: Enzym.* **2009**; 59; 90.

Les résultats du tableau 2 montrent l'efficacité de la réaction d'hydrolyse alcaline catalysée par la *CAL-B* du diacétate **1** que ce soit pour la régiosélectivité ou pour l'énantiosélectivité dans les conditions examinées. Le (*R*)-diol **3** est obtenu énantiomériquement enrichi 99%ee dans tous les cas à des conversions variables. L'augmentation progressive de la quantité de Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> de 0,3 à 1 équivalent améliore de manière significative le taux de conversion de l'hydrolyse alcaline (tableau 2, entrée 2-6). Par ailleurs, la réaction n'avance pas en absence de Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (tableau 2, entrée 1). La prolongation du temps à 96 heures améliore le taux de conversion jusqu'à C = 35% (tableau 2, entrée 8). L'augmentation de la quantité de Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> jusqu'à 2 équivalent avec une dilution du milieu réactionnel pour une meilleure solubilité permet d'atteindre une conversion de 40% qui n'augmente pas après un temps de réaction plus long jusqu'à 96 heures (tableau 2, entrée 10).

- **Influence de la quantité de lipase :**

Afin d'optimiser la conversion ainsi que la sélectivité, une augmentation du taux catalytique de la lipase est ensuite examinée. Le dédoublement cinétique par hydrolyse alcaline est réalisé avec 2 équivalents de Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> dans le THF, à 40°C, durant 96 heures. Les résultats sont détaillés dans le tableau 3.

**Tableau 3:** Influence de la quantité de la *CAL-B* sur l'hydrolyse enzymatique du diacétate **1**

Entrée	Na <sub>2</sub> CO <sub>3</sub> (Eq.)	<i>CAL-B</i> (mg)	Temps (h)	<i>(S)</i> - <b>2</b>		<i>(R)</i> - <b>3</b>		C(%) <sup>(f)</sup>	E <sup>(f)</sup>
				ee <sub>s</sub> (%) <sup>(e)</sup>	Rdt(%) <sup>(g)</sup>	ee <sub>p</sub> (%) <sup>(e)</sup>	Rdt (%) <sup>(g)</sup>		
<b>1<sup>b</sup></b>	1	-	72	-	-	-	-	NR	-
<b>2<sup>a</sup></b>	2	40	96	67	37	>99	38	40	>200
<b>3<sup>c</sup></b>	2	80	96	67	30	>99	28	40	>200
<b>4<sup>d</sup></b>	<b>2</b>	<b>120</b>	<b>96</b>	<b>98</b>	<b>44</b>	<b>&gt;99</b>	<b>40</b>	<b>50</b>	<b>&gt;200</b>

<sup>(a)</sup> 1 mmol diacétate racémique en présence de 2eqNa<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>, 40 mg de *CAL-B* en 2 mL de THF à 40°C <sup>(b)</sup> 1mmole Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> sans lipase en présence de 0.02 mL d'eau durant 72h <sup>(c)</sup> 4 mL de THF <sup>(d)</sup> 6ml de THF en présence de 120mg de *CALB*. <sup>(e)</sup>ee: Mesuré par HPLC chiral. <sup>(f)</sup> Conversion : C=ee<sub>s</sub>/ee<sub>p</sub>+ee<sub>s</sub>; facteur de sélectivité : E =Ln [(1-C) (1-ee<sub>(S)</sub>)]/ Ln [(1-C) (1+ee<sub>(S)</sub>)]. <sup>(g)</sup> Rendement isolé

Aucun avancement de réaction n'est observé lorsque le taux catalytique est doublé, la conversion est maintenue à C = 40% même après 96h. Lorsque le taux catalytique est triplé, la réactivité obtenue est optimale C = 50%. Les énantiomères (*S*)-monoacétate **2** et (*R*)-diol **3**

sont récupérés avec des excès énantiomériques élevés de  $98\% < ee < 99\%$  (tableau 3, entrée 4). Ce résultat confirme l'hypothèse selon laquelle l'efficacité de l'hydrolyse alcaline est probablement due à l'eau native de l'enzyme. En effet l'augmentation de la quantité de lipase qui a permis d'augmenter la réactivité par une présence plus importante de son « eau constitutive » qui se trouve en concentration d'autant plus importante que la quantité d'enzyme est grande. Cette eau est un élément nécessaire à la lipase afin de lui assurer sa structure active optimale.

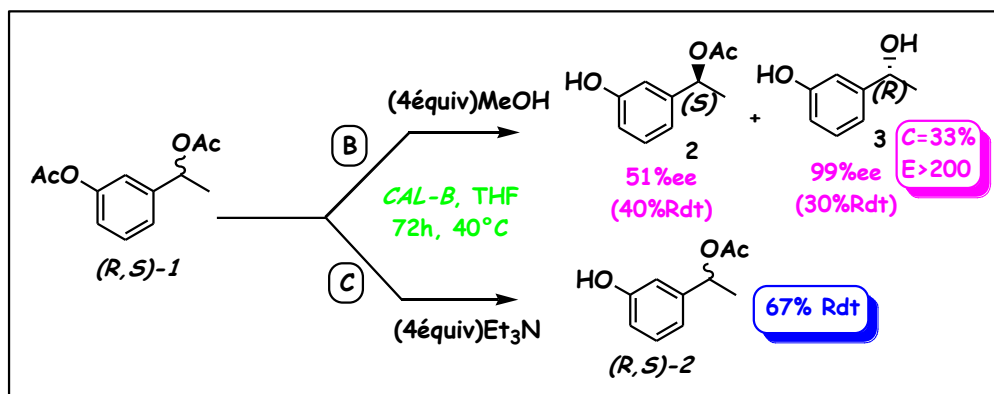
A la lumière de ces résultats et afin d'examiner la régio- et l'énantiosélectivité de la *CAL-B* lors de la déacylation du diacétate **1**, nous avons comparé d'autres approches de résolution cinétique en acylation et déacylation. Pour la déacylation, deux voies sont étudiées: (i) *via* une alcoololyse avec le méthanol comme accepteur d'acétyle ou la *CAL-B* s'est montrée très sélective en milieu organique, sur un ensemble d'acétates benzyliques, dans des conditions douces <sup>151</sup> (**voie B**) et (ii) avec la Et<sub>3</sub>N comme additif et la *CAL-B* qui a montré une haute sélectivité lors de la désacylation d'acétates benzyliques en milieux non aqueux <sup>152</sup> (**voie C**) selon les travaux précédents. L'acylation du diol est effectuée en avec un ester d'énol, l'acétate de vinyle (**voie D**). (*Figure 14*).

#### IV-3-3. Déacylation du 1-3-(hydroxy phényl) éthyle-acétate **1** par alcoololyse et avec la triéthylamine comme additif :

L'alcoololyse a été réalisée sur 1 mmole de diacétate **1** et 4 équivalents de MeOH en présence de 40 mg de *CAL-B* et 60 mg de tamis moléculaire 4 Å dans 3 ml de THF. La déacylation à l'aide de triéthylamine a été effectuée dans les mêmes conditions en utilisant 4 équivalents d'amine tertiaire. Les deux réactions sont menées sous agitation magnétique à 40°C durent 72 heures. L'évolution de la réaction est suivie par chromatographie sur couche mince. Les mélanges réactionnels sont filtrés sur célite puis évaporées sous vide. L'avancement des réactions et les excès énantiomériques des produits obtenus sont déterminés par HPLC chirale, et ce, après la séparation du diol produit et du monoacétate par flash chromatographie avec un mélange éluant (80/20) éther de pétrole/ acétate d'éthyle). Les résultats des méthodes de déacylation catalysées par la *CAL-B* sont résumés dans le *Schéma 90*.

<sup>151</sup> Réf 92 : A. Zaïdi, M. Merabet-Khelassi, L. Aribi-Zouiouche, *Catal. Lett.* **2015**; 145 ; 1054.

<sup>152</sup> Réf 93: M. Merabet-Khelassi, A. Zaïdi, L. Aribi-Zouiouche, *Enzyme Microb. Tech.* **2017**; 107:1.

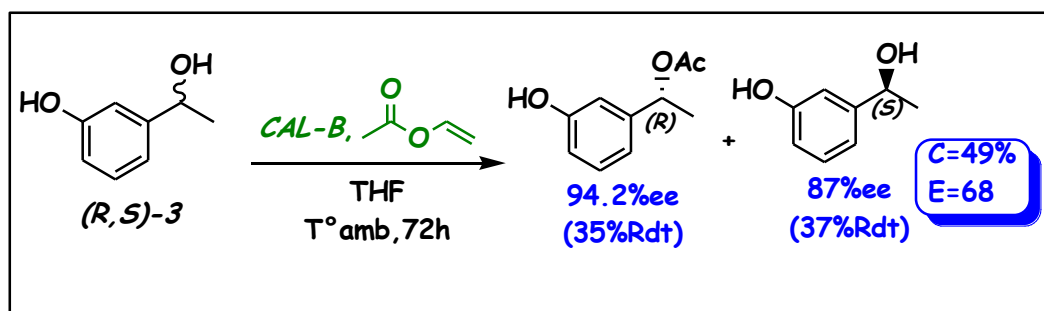


**Schéma 90:** Déacylation de **1** par alcoololyse /avec la triéthylamine comme additif.

Le dédoublement cinétique du 3-(1-Acétoxyéthyl)phényl acétate par alcoololyse avec la *CAL-B* dans le THF s'est montrée hautement sélectif ( $E > 200$ ) et fourni le (**R**)-**3** diol avec 99% ee à une conversion de  $C = 33\%$  après 72 heures de réaction. Dans le cas de la déacylation en présence de triéthylamine, comme additif, on obtient uniquement le mono acétate **2**.

#### IV-3-4. Acylation enzymatique du 3-(1-hydroxyéthyl)phénol via *CAL-B* :

Le dédoublement cinétique du diol **3** est également menée par transestérification avec la *CAL-B* et l'acétate de vinyle afin de comparer les deux voies énantiocomplémentaires que sont l'hydrolyse alcaline du diacétate **1** et l'acylation du diol **3**. L'acylation du diol **3** est effectuée en présence de 40 mg de *CAL-B* avec 4 équivalents d'acétate de vinyle dans 3 ml de THF à température ambiante durant 72h.

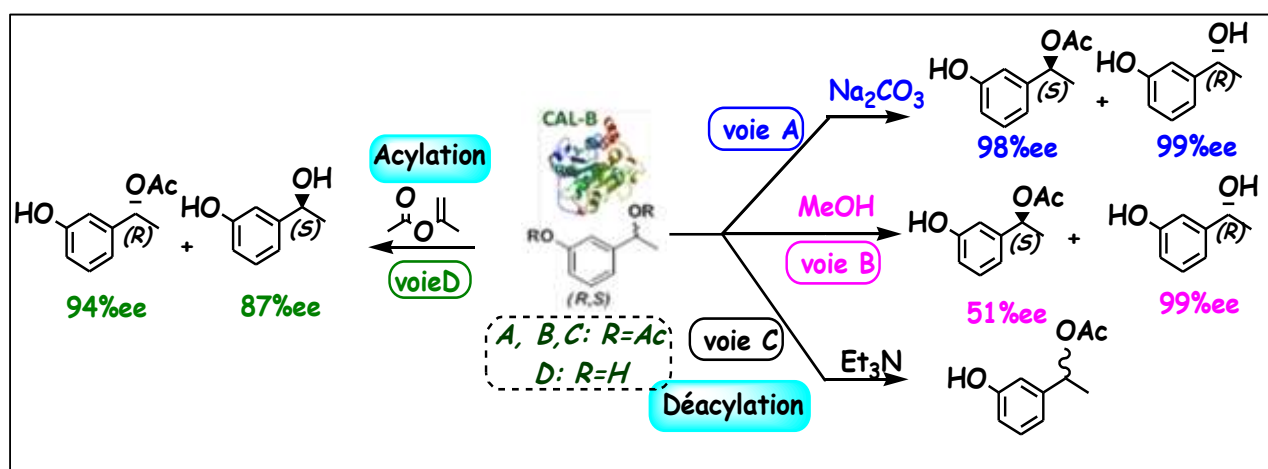


**Schéma 91 :** Acylation enzymatique du 3-(1-hydroxyéthyl) phénol par la *CAL-B*

Le dédoublement cinétique du 3-(1-hydroxyéthyl) phénol par transestérification avec la *CAL-B* donne le produit (**R**)-monoacétate avec un excès énantiomérique élevé ( $ee = 94.2\%$ ) au bout

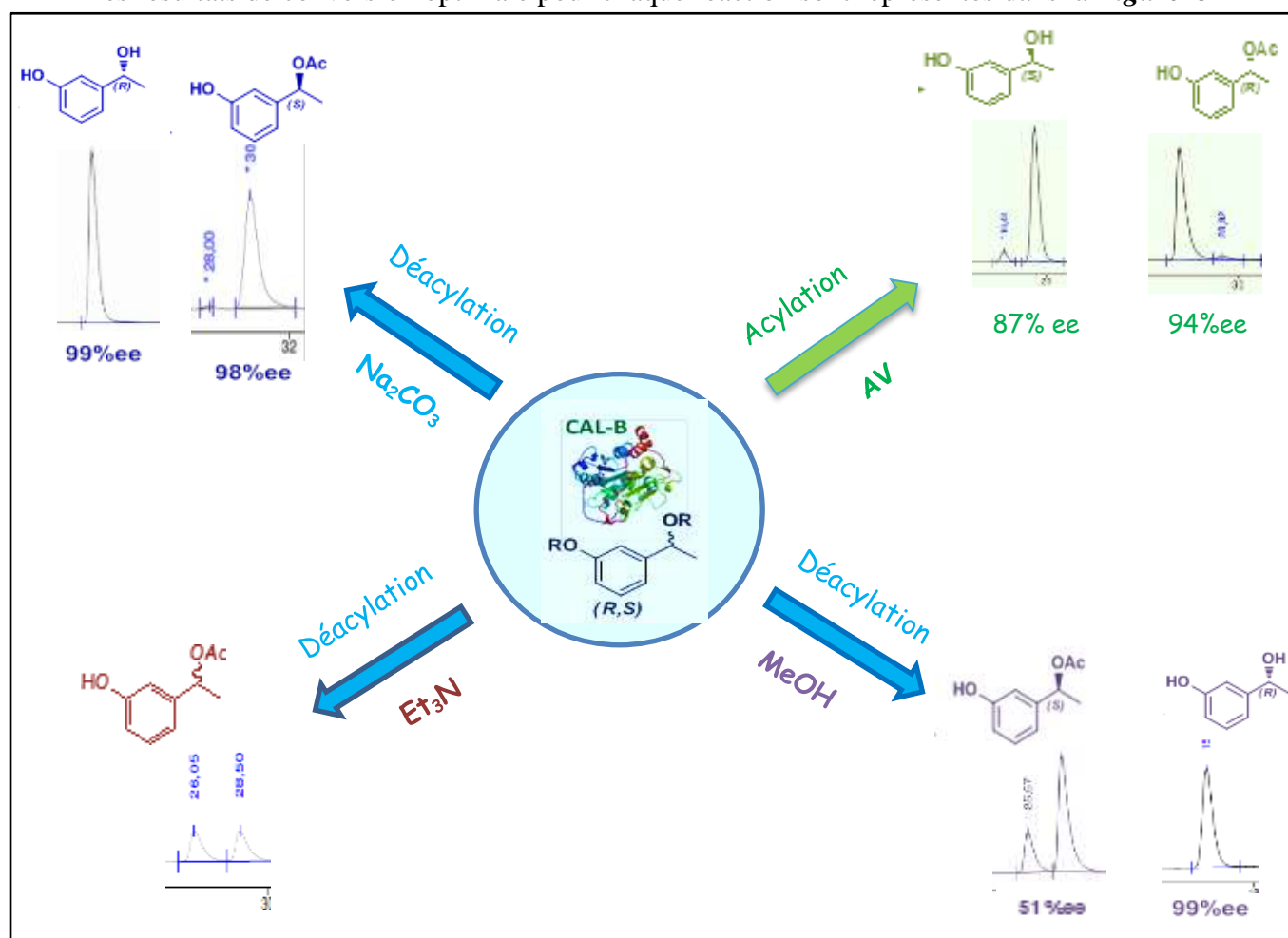
de 72 heures avec une conversion de  $C = 49\%$  dans le THF comme solvant. L'analyse comparative de réactivité et la sélectivité de la lipase *CAL-B* dans le THF dans des conditions réactionnelles différentes est très intéressante et montre sa spécificité envers le substrat en fonction des approches étudiées. On constate que la résolution cinétique du diacétate **1** racémique *via* une alcoolyse catalysée par la *CAL-B* (**voie B**) présente une énantiosélectivité élevée et fournit le diol énantio pur (*R*)-**3** ( $ee > 99\%$ ) à un taux de conversion de  $C = 33\%$ . La déacylation à l'aide de triéthylamine ne conduit qu'au monoacétate **2** racémique (**voie C**). L'acylation du diol racémique **3** donne le (*R*)-monoacétate **2** avec  $ee = 94,2\%$  et le (*S*)-diol **3** avec  $ee = 87\%$  et un facteur de sélectivité  $E = 70$  à  $48\%$  de taux de conversion (**voie D**).

Les résultats des différentes voies montrent clairement que les meilleurs résultats en termes de réactivité et d'énantiosélectivité ont été obtenus par la réaction d'hydrolyse alcaline catalysée par *CAL-B* (**voie A**). La lipase est hautement régulée et énantiosélective, les énantiomères (*S*)-monoacétate **2** et (*R*)-diol **3** sont obtenus énantiomériquement purs avec des rendements élevés. La lipase *CAL-B* conduit à l'hydrolyse sélective du groupe hydroxyle phénolique et à l'énantiosélection (*R*) de l'hydroxyle chiral. De plus, l'hydrolyse alcaline du diacétate **1** et l'acylation du diol **3** sont des réactions sélectives et énantiocomplémentaires. L'hydrolyse enzymatique à médiation alcaline dans les milieux organiques donne accès aux énantiomères du (*S*)-monoacétate **2** et du (*R*)-diol **3** de manière simple et pratique. Cette approche permettant de valoriser les deux énantiomères du 3-(1-hydroxyéthyl) phénol racémique est décrite pour la première fois. (**Schéma 92**)



**Schéma 92** : Comparaison des approches acylation/déacylation.

Les résultats de conversion optimale pour chaque réaction sont représentés dans la **Figure 15**



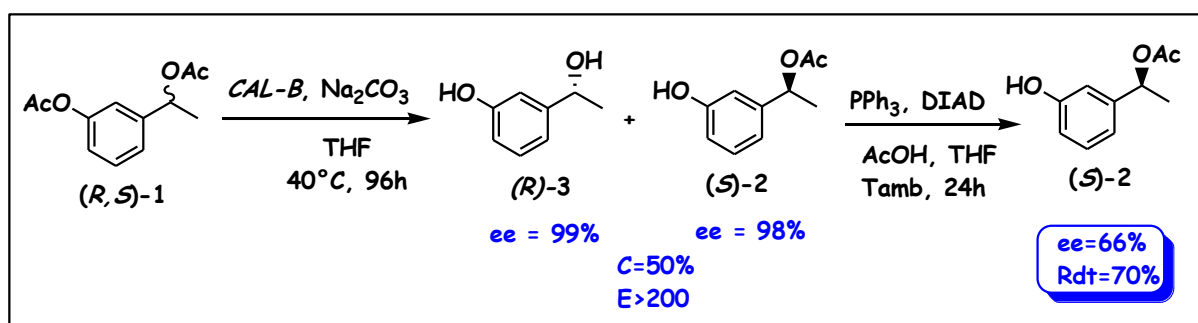
**Figure 15 :** Chromatogrammes des approches acylation/déacylation

On constate que la *CAL-B* est hautement énantiosélective pour la résolution cinétique *via* les deux réactions énantiocomplémentaires, l'acylation du 3-(1-hydroxyéthyl) phénol avec l'acétate de vinyle et l'hydrolyse alcaline de 1-3-(hydroxy phényl) éthyle-acétate, elle présente une (*R*)-énantiosélectivité. La réaction d'hydrolyse alcaline a montré une nouvelle fois qu'elle est la plus efficace en termes de conversion et d'énantiosélectivité pour obtenir les deux énantiomères : le (*S*)-monoacétate **2** et le (*R*)-diol **3** énantiomériquement purs (>99%).

**IV-4. Déracémisation du 3-(1-Acétoxyéthyl) phényl acétate 1 via Mitsunobu :**

Les procédés de stéréoinversion sont développés pour dépasser la limitation d'une résolution cinétique (rendement maximal de 50%) et fournir un seul produit stéréoisomère avec un rendement théorique de 100%.<sup>153</sup> Ce type de déracémisation est obtenu par résolution combinée par une estérification catalysée par *CAL-B* / Mitsunobu. Il a été appliqué à des processus énantiocomplémentaires par acylation<sup>154</sup> ou hydrolyse alcaline<sup>155</sup> permettant l'accès aux énantiomères (*R*)- ou (*S*)-acétate d'arylalkylcarbinols avec de bons rendements et des excès énantiomériques élevés.

Nous avons combiné la procédure optimisée de résolution cinétique par hydrolyse alcaline avec le processus de stéréoinversion pour la déracémisation du diacétate **1** afin d'optimiser le rendement (*Schéma 93*).



**Schéma 93 :** Déracémisation de **1** par combinaison de *CAL-B*-hydrolyse alcaline / estérification de Mitsunobu.

L'étape de déracémisation est réalisée après l'hydrolyse avec la lipase *CAL-B* en milieu basique non aqueux, elle est suivie par l'étape d'estérification effectuée avec le réactif de Mitsunobu directement sur le mélange après une simple filtration de l'enzyme. Le mélange est constitué de l'acétate (*S*) non réagi et de l'alcool (*R*) produit de l'hydrolyse sur lequel le réactif de Mitsunobu réagit pour donner l'acétate (*S*).

Le diacétate est hydrolysé selon le mode opératoire optimisé, lorsque la conversion optimale est atteinte ( $C = 50\%$ ) et que les valeurs de l'acétate restant et de l'alcool formé atteignent  $98\%$  ee, l'enzyme est filtrée. On ajoute directement au filtrat 1.2 équivalent de

<sup>153</sup> (a) CC. Gruber, I. Lavandera, K. Faber, W. Kroutil. *Adv. Synth. Catal.* **2006**; 348; 1789-1805; (b) O. Pàmies J-E. Bäckvall. *Curr. Opin. Biotech.* **2003**; 14; 407; (c) JH. Schrittwieser, B. Groenendaal, V. Resch, D. Ghislieri, et al. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2014**; 53, 3731.

<sup>154</sup> Réf **134(b)**: JF. McGarrity, A. Zanotti-Gerosa, *Tetrahedron: Asymmetry.* **2010**, 21, 2479.

<sup>155</sup> MR Farlow, J L. Cummings *Am. J. Med.* **2007**; 120; 388.

triphénylphosphine et 1.2 équivalent d'acide acétique. Du diisopropylazodicarboxylate (DIAD) 1,2 équivalent est introduit goutte à goutte à 0°C pour convertir le (*R*)-diol **3** en (*S*)-mono-acétate **2** qui s'ajoute au (*S*)-mono-acétate non réagi suite à l'hydrolyse enzymatique. Le (*S*)-mono-acétate **2** obtenu est isolé après un traitement standard suivi d'une purification sur colonne de gel de silice et la pureté énantiomérique est déterminée par HPLC Chirale. Le monoacétate de (*S*)-**2** est obtenu avec un excès énantiomérique modéré de ee = 66%. Ainsi, après estérification de Mitsunobu, on constate une diminution ( $\Delta ee = 33\%$ ) de la pureté énantiomérique du (*S*)-acétate **2**, alors que les excès énantiomériques du matériau de départ étaient excellents 98%-99% ee. Cela montre qu'une racémisation partielle du diol **3** s'est produite lors de la réaction de Mitsunobu. Des résultats similaires sont également observés lors de précédentes recherches concernant la déracémisation par résolution d'acylation enzymatique / hydrolyse alcaline via l'estérification de Mitsunobu,<sup>156</sup> où un phénomène de racémisation s'est produit lors de la synthèse énantiosélective de l'acétate de 1-(4-méthoxyphényl) éthyle. Une forte diminution de l'énantiosélectivité a été observée pour les substrats portant un groupe électrodonneur puissant sur le noyau aryle en raison d'une racémisation<sup>157</sup> au cours de l'étape de substitution de Mitsunobu. Cette observation a été également notée pour 1-(4-méthoxyphényl)-éthyl ester lors des travaux de Houiene Z.<sup>158</sup> dans les mêmes conditions de déracémisation. Ce phénomène de racémisation est également observé lors des synthèses énantiosélectives *via* la stéréoinversion de Mitsunobu.

<sup>156</sup> (a) N. Bouzemi, L. Aribi-Zouiouèche, J-C. Fiaud, *Tetrahedron: Asymmetry*, **2006**, 17, 797-800. (b) **Réf 91**: Z. Houiene, M. Merabet-Khelassi, N. Bouzemi, Olivier Riant, L. Aribi-Zouiouèche, *Tetrahedron: Asymmetry*, **2013**, 24, 290–296.

<sup>157</sup> (a) T. H. K. Thvedt, E. Fuglseth, E. Sundby, B. H. Hoff, *Tetrahedron*, **2010**, 66, 6733-6743. (b) E. Warmerdam, J. Brussee, C.G. Kruse, A van der Gen, *Tetrahedron*, **1993**, 49, 1063–1070.

<sup>158</sup> **Réf 91**: Z. Houiene, M. Merabet-Khelassi, N. Bouzemi, Olivier Riant, L. Aribi-Zouiouèche, *Tetrahedron: Asymmetry*, **2013**, 24, 290–296.

#### IV-5. CONCLUSION :

Nous avons développé un nouveau procédé efficace pour accéder aux énantiomères (*S*) et (*R*) du 3-(1-hydroxyéthyl) phénol qui sont des intermédiaires clés respectivement pour la synthèse (*S*)-Rivastigmine et la (*R*)-Phényléphrine. Nous avons appliqué l'hydrolyse alcaline dans des milieux organiques dans des conditions douces avec la *CAL-B* et du carbonate de sodium sur le *rac*-3-(1-Acétoxyéthyl)phényl acétate.

Des *regio* et des *énantiosélectivités* élevées sont observées: le (*R*)-3-(1-hydroxyéthyl) phénol est obtenu avec un *ee* de 99% et (*S*)-2-(1-acétoxyéthyl) phénol avec un *ee* de 98% avec une *sélectivité* élevée  $E > 200$  et *conversion* optimale  $c = 50\%$ . Deux approches de *déacylation* sont comparées: l'alcoolyse au MeOH et en présence de triéthylamine. L'acylation enzymatique *via* la *CAL-B* du 3-(1-hydroxyéthyl) phénol avec l'acétate de vinyle est également examinée. Les meilleurs résultats sont obtenus par hydrolyse alcaline mais une bonne *regio* et *énantiosélectivité* est également observée dans les réactions d'alcoolyse et d'acylation. Avec la triéthylamine, seul le monoacétate racémique a été obtenu. Dans tous les cas, une hydrolyse sélective des groupes hydroxyle phénoliques en présence de groupe hydroxyle aliphatique a été obtenue.

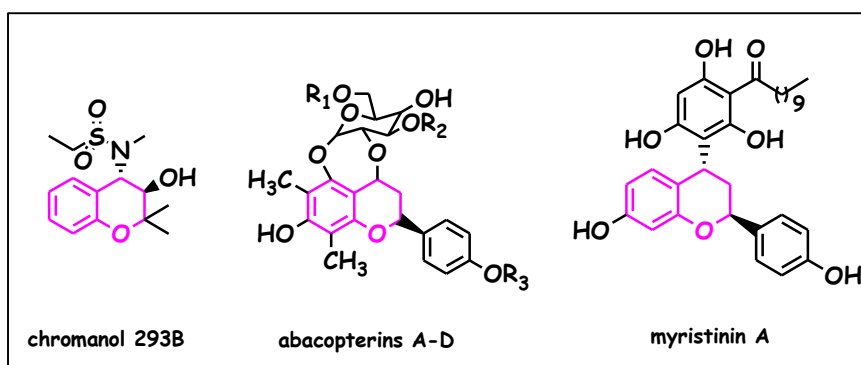
La *déracémisation* par hydrolyse alcaline catalysée par la lipase *CAL-B* associée à l'estérification de Mitsunobu a permis de préparer l'ester avec un excès *énantiomérique* de seulement *ee* = 66% bien que les énantiomères (*S*) et (*R*) aient été obtenus avec un *ee* > 98% après hydrolyse alcaline. Enfin, ces énantiomères *énantiopurs*, intermédiaires clés pour l'accès à la (*S*)-(-)-Rivastigmine et à la (*R*)-(-)-Phényléphrine, ont été obtenus avec une *énantiopurité* élevée à partir du diacétate racémique correspondant par hydrolyse par la *CAL-B* par du carbonate de sodium en milieu organique.

**V-1. INTRODUCTION :**

La synthèse de composés chiraux énantiomériquement purs est un objectif important en chimie fine, ils sont nécessaires pour la synthèse de médicaments chiraux en chimie médicinale

<sup>159</sup> ou en chimie des arômes. <sup>160</sup> Les composés hétérocycliques <sup>161</sup> chiraux sont particulièrement recherchés, ce sont des fragments communs importants trouvés dans plusieurs composés bioactifs naturels et non naturels.

Les hétéroaromatiques sont fortement représentés dans les produits pharmaceutiques et dans les produits naturels, les flavonoïdes et les chromanoïdes, y compris les flavanols, et les chromanols sont une grande famille de produits naturels bien connus (**Figure 16**). De plus, les flavonoïdes chiraux et les chromanoïdes pourraient facilement être utilisés dans la synthèse de nombreux produits naturels contenant du benzopyrane. Ces produits naturels ont été montrés pour présenter un large éventail d'activités biologiques, y compris antitumoraux et anticancéreux, <sup>162</sup> antibactérien et antimicrobien, <sup>163</sup> antioxydant, <sup>164</sup> œstrogénique et anti-œstrogénique.



**Figure 16 :** Flavanoïdes et chromanoïdes d'activité biologique.

<sup>159</sup> (a) M. Fujio, J.R. Keeffe, R.A. More O'Ferrall, A.C. O'Donoghue *J. Am. Chem. Soc.*, **2004**, 126, 9982-9992. (b) V. Stepanenko, W. Correa, M. Ortiz-Marciales, *Tetrahedron: Asymmetry*, **2009**, 20, 2659-2665. (c) F. Mohamed, A. Megeed, E. Badr, M. Azaam, G. El-Hiti, *Bioorg. Med. Chem.*, **2012**, 20, 2252-2258.

<sup>160</sup> (a) B.G.Davis, V. Boyer, *Nat. Prod. Rep.*, **2001**, 18, 618-640. (b) A. Ghanem, H.Y. Aboul-Enein, *Tetrahedron: Asymmetry*, **2004**, 15, 3331-3351.

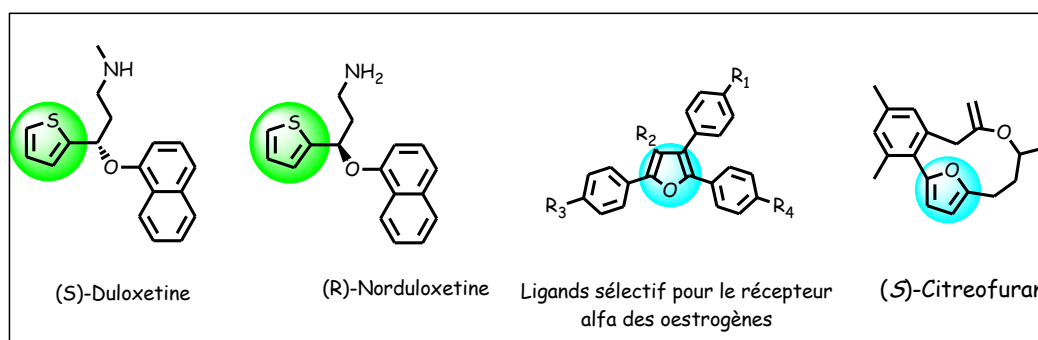
<sup>161</sup> (a) K. C. Majumdar, & S. K. Chattopadhyay, (Eds.). *Heterocycles in natural product synthesis*. John Wiley & Sons. **2011**. (b) K. Jones, J.J. Mohan, L.C. Xavier, T.J. Blacklock, D.J. Mathre, P.E. Sohar, T. Turner Jones, R. Reamer, R.A. Roberts, F.E.J.J. Grabowski, *J. Org. Chem.* **1991**, 56, 763-769.

<sup>162</sup> (a) D. F. Birt, S. Hendrich, W. Wang, *Pharmacology & therapeutics*, **2001**, 90, 157-177. (b) D. Sarkar, S. Behera, S. Ashe, B. Nayak, S. K. Seth, *Tetrahedron*. **2017**, 73, 7200-7209

<sup>163</sup> L. Feng, M. M. Maddox, M. Z. Alam, L. S. Tsutsumi, G. Narula, D. F. Bruhn, Y. C. Tse-Dinh, *J. Med. Chem.* **2014**, 57, 8398-8420

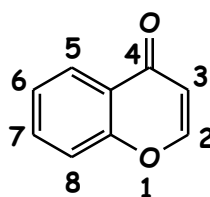
<sup>164</sup> (a) P. G. Pietta, Flavonoids as antioxidants, *J. Nat. Prod.* **2000**, 63, 1035-1042; (b) R. J. Nijveldt, E. van Nood, D. E. C. van Hoorn, P. G. Boelens, K. van Norren,; P.A.M van Leeuwen, *Am. J. Clin. Nutr.*, **2001**, 74, 418-425.

Les groupements furane et thio-furane se trouvent également dans des nombreux produits naturels. Le groupement *furane* est présent dans plusieurs molécules bioactives telles que les agents antimicrobiens <sup>165</sup> et antifongiques <sup>166</sup> où il est utilisé comme un ligand sélectif pour le récepteur alpha des œstrogènes. <sup>167</sup> Le groupement *thio-furane* se trouve dans la structure de SNRIs <sup>168</sup> (une classe de médicaments antidépresseurs utilisés dans le traitement de la dépression majeure et d'autres troubles de l'humeur).



**Figure 17 :** Molécules d'intérêt biologique à base de furane et de thiofurane.

La chromone (4H-chromène-4-one, 4H-1-benzopyran-4-one) est une classe très importante des composés hétéroaromatiques et appartient à la famille des flavonoïdes (flavone, flavonols) ou encore les isoflavones qui intègrent un squelette de chromone substitué par un groupe phényle en position 2 ou 3.



La chromone et ses analogues sont des pharmacophores importants et des structures privilégiées en chimie médicinale, ils ont été utilisés dans de nombreux médicaments utilisés en clinique. Les études les plus récentes ont révélé que les dérivés de chromones exercent un

<sup>165</sup> Boykin D. W., Kumar A., Sychala J., Zhou M., Lombardy R. J., Wilson W. D., Dykstra C. C., Jones S. K., Hall J. E., *J. Med. Chem.*, **1995**, *38*, 912-916.

<sup>166</sup> Pour M., Spulak M., Buchta V., Kubanov P., Voprsalova M., Wsol V., Fakova H., Koudelka P., pourova H., Schiller R., *J. Med. Chem.* **2001**, *44*, 2701-2706

<sup>167</sup> Mortensen D. S., Rodriguez A. L., Carlson K. E., Sun J., Katzenellenbogen B. S., Katzenellenbogen J. A., *J. Med. Chem.* **2001**, *44*, 3838-3848.

<sup>168</sup> J. R. Cashman, S. Ghirmai, *Bioorg Med Chem.* **2009**, *7*, 6890.

large spectre d'activités pharmacologiques <sup>169</sup> qui peuvent être classés comme des agents actifs dans les catégories suivantes: anti-cancer, anti-HIV, anti-oxidant, anti-tuberculeux, anti-inflammatoire et analgésique, anti-microbien, anti-diabétique, anti-convulsif, antihistaminique, antihypertenseurs. Ils peuvent également avoir une activité insecticide et sont des agonistes / antagonistes des enzymes et des récepteurs.

Ces dernières années des stratégies de résolution polyvalentes se multiplient au niveau industriel et universitaire pour réinventer les modes de fabrication en tant que source d'innovation pour répondre aux besoins futurs de la société en des activités stratégiques axées sur des processus et des systèmes durables. <sup>170</sup> Un des nombreux défis concerne la préparation rapide et durable des intermédiaires chiraux nécessaires pour accéder aux composés complexes dont les besoins sont croissants. La déraccémisation <sup>171</sup> par résolution cinétique enzymatique combinée à une stéréoinversion <sup>172</sup> constitue une approche chimioenzymatique intéressante pour accéder aux alcools et aux amines énantiomériquement enrichies.

Dans ce chapitre, nous présentons la résolution cinétique par hydrolyse alcaline avec la lipase de *Candida Antarctica B* (CAL-B) appliquée dans un processus de déraccémisation via une stéréoinversion par le protocole de Mitsunobu sur une série d'alcools hétéroaromatiques avec particulièrement les dérivés de flavonols qui présentent un grand intérêt afin de générer des blocs de construction optiquement purs par des voies respectueuses des principes de chimie verte.

## V-2. Mise au point bibliographique :

Il existe de nombreux rapports sur la synthèse de flavanones, de flavanols, de chromanones et de chromanols mais seules quelques méthodes stéréosélectives ont été conçues pour accéder à des produits énantiomériquement enrichis. Deux voies catalytiques peuvent être utilisées qui

<sup>169</sup> R.S. Keri, et al. "Chromones as a privileged scaffold in drug discovery: A review." *European journal of medicinal chemistry*, **2014**, 78, 340-374.

<sup>170</sup> K.R. Haapala, et al. *Journal of Manufacturing Science and Engineering*, **2013**, 135, 041013.

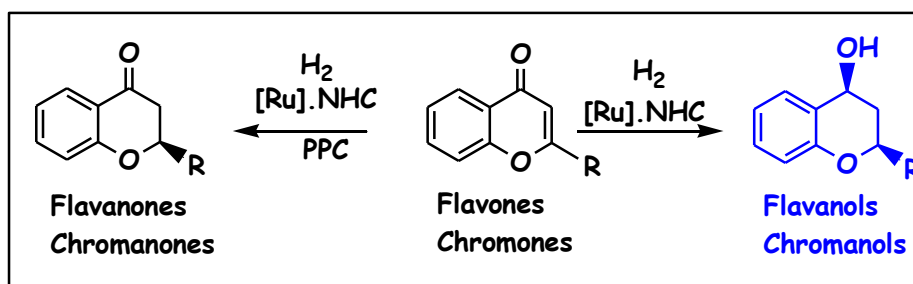
<sup>171</sup> (a) H. Pellissier, *Tetrahedron*, **2008**, 64, 1563-1601. (b) O. Verho, and Jan-E. Bäckvall, *Journal of the American Chemical Society*, **2015**, 137, 3996-4009. (c) AS de Miranda, LSM Miranda, ROMA de Souza. *Biotechnology advances*, **2015**, 33, 372-393. (d) Z.S. Seddigi, M.S. Malik, S.A. Ahmed, A.O. Babalghith, & A. Kamal, *Coordination Chemistry Reviews*, **2017**, 348, 54-70

<sup>172</sup> (a) J.H. Lee, K. Han, M. J. Kim, & J. Park, *European Journal of Organic Chemistry*, **2010**, 6, 999-1015. (b) H.L. Liu, T. Anthonsen, *Chirality*, **2002**, 14, 25-27. (c) N. Bouzemi I. Grib, Z. Houiene, L. Aribi-Zouiouche, **2014**, 4, 215-225. (d) Réf 157: N. Bouzemi, L. Aribi-Zouiouche, J.C. Fiaud, *Tetrahedron: Asymmetry*, **2006**, 17, 797-800. (e) Tarcila Cazetta, Paulo J.S. Moran, J. Augusto R. Rodrigues, *Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic*, **2014**, 109, 178-183.

sont, (i) la réduction asymétrique et (ii) le dédoublement cinétique de racémiques dont nous présenterons quelques exemples ci après.

La réduction asymétrique est une méthode efficace pour la préparation de composés énantiopurs. Dans ce domaine, de nombreux nouveaux ligands chiraux ont été développés essentiellement par catalyse avec des métaux de transition.<sup>173</sup> Des approches enzymatiques ont été précédemment développées pour la préparation de dérivés chromanols optiquement actifs à base fruits<sup>174</sup> ou par des complexes de ruthénium dans l'eau.<sup>175</sup>

Par exemple, l'hydrogénation asymétrique de flavones et de chromones a été mise au point pour former des flavanols, chromanols et des flavanones, chromanones énantiomériquement enrichis par réduction asymétrique par catalyse à l'aide d'un complexe chiral l'association formé de ruthénium (II) et de plusieurs NHC (NHC = carbène N-hétérocyclique).<sup>176</sup> Les catalyseurs sont actifs et énantiosélectifs pour l'hydrogénation. (*Schéma 94*).



**Schéma 94:** Hydrogénation de chromones et de flavones pour accéder aux chromanols et flavanols optiquement actifs.

Plus récemment, la (*R*)-(+)-chroman-4-ol est obtenu avec une conversion totale (100%) et 98%ee lors de l'introduction d'un catalyseur de Ruthenium (II) coordonné avec un ligand Hemisalen en réduction asymétrique d'une série de cétones hétérocycliques par transfert asymétrique (ATH).<sup>177</sup> (*Schéma 95*).

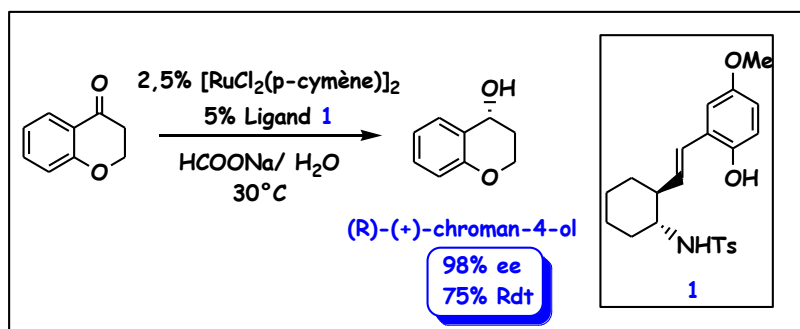
<sup>173</sup> (a) A. E. Nibbs, K. A. Scheidt, *Eur. J. Org. Chem.* **2012**, 449; (b) L. Meng, Wang, J. *Synlett.*, **2016**, 27, 656.

<sup>174</sup> M. Bennamane, S. Zeror, L. Aribi-Zouiouche. *Biocatalysis and Biotransformation*, **2014**, 32, 327-332.

<sup>175</sup> M. Bennamane, S. Zeror, L. Aribi-Zouiouche. *Chirality*, **2015**, 27, 205-210.

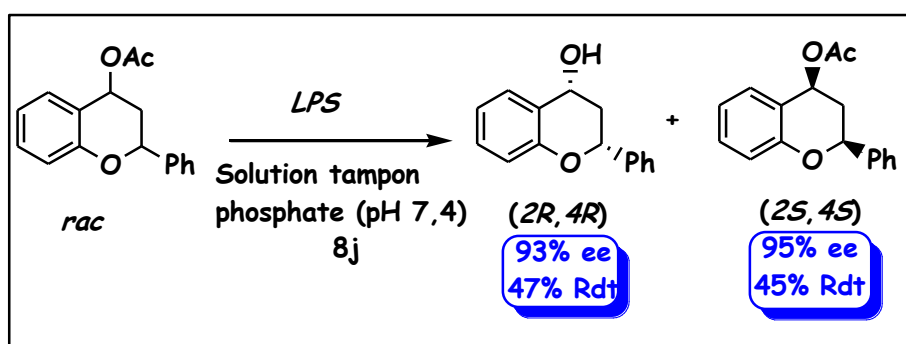
<sup>176</sup> Zhao, Dongbing, Bernhard Beiring, and Frank Glorius. *Angewandte Chemie International Edition*. **2013**, 52, 8454-8458.

<sup>177</sup> **Réf 27:** M. Boukachabia, L. Aribi-Zouiouche, and O. Riant. *Journal of Organometallic Chemistry*, **2018**, 868, 95-101.



**Schéma 95 :** Synthèse asymétrique de (R)-4-Chromanol.

Le dédoublement cinétique enzymatique a été également utilisé comme méthode stéréosélective pour accéder à des produits optiquement enrichis. En 1992, *Kasahara et ses collaborateurs*<sup>178</sup> ont rapporté la résolution cinétique enzymatique de la flavanone et de l'acétate du cis-flavanol. La résolution cinétique enzymatique de l'acétate hydrolyse en milieu bi-phasique à température ambiante durant huit jours a conduit à un mélange cis-flavanol et l'acétate correspondant énantiomériquement enrichi. (**Schéma 96**)

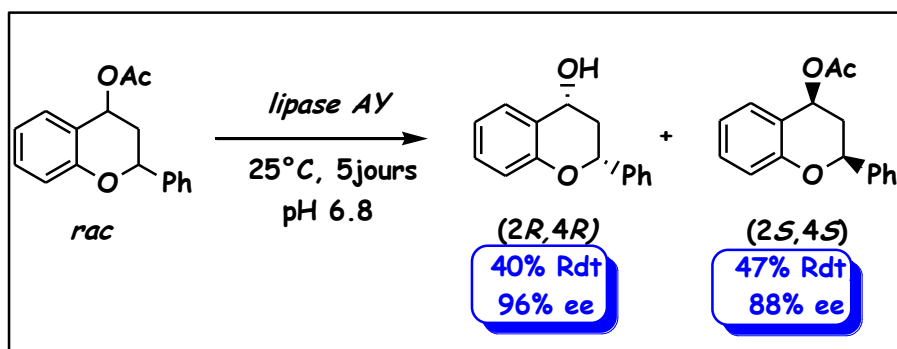


**Schéma 96 :** Hydrolyse de l'acétate du cis-2-phényl-4-chromanol avec la LPS.

*Tanaka et coll*<sup>179</sup> ont dédoublé le flavanol par transestérification énantiosélective en présence de plusieurs lipases la *PS, M, A, R et AY*, le meilleur résultat a été obtenu, en utilisant la *lipase AY* pour l'hydrolyse de l'acétate de cis-flavanol racémique dans une solution tampon phosphate (pH 6,8). (**Schéma 97**)

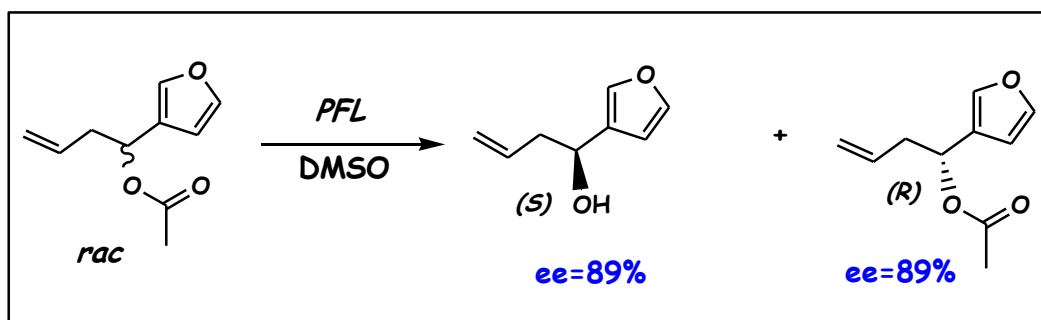
<sup>178</sup> T. Izumi, T. Hino, A. Kasahara *J Chem Soc Perkin Trans.* **1992**, 1, 1265–1267.

<sup>179</sup> T. Todoroki, A. Saito and A. Tanaka, *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, **2002**, 66, 1772–1774.



**Schéma 97 :** Hydrolyse du *cis*-2-phényl-4-chromanol avec la lipase AY.

La première résolution des alcools furyl racémiques catalysée par des enzymes est décrite en 1997 Tanyeli et coll.<sup>180</sup> Cette approche a permis d'obtenir des puretés énantiomériques élevées et le 1-(3-furyl)-3-butène-1-ol a été obtenu par l'hydrolyse de l'acétate par la lipase PFL dans le DMSO.<sup>181</sup> (Schéma 98)



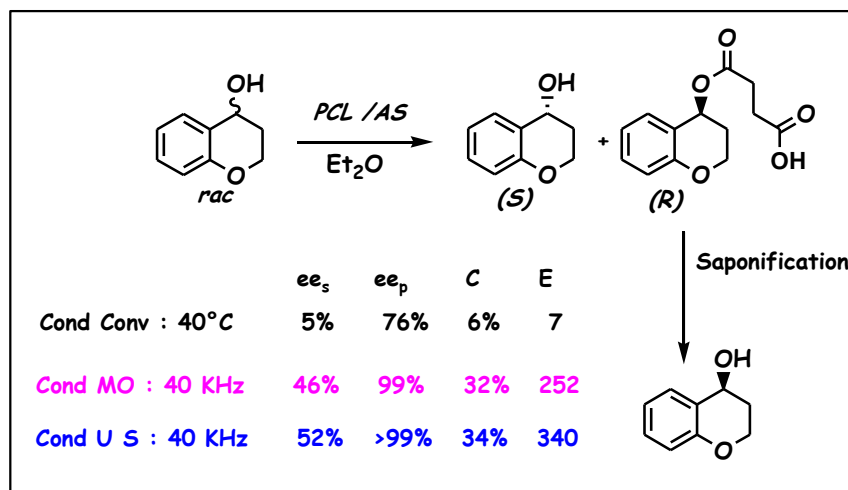
**Schéma 98 :** Hydrolyse enzymatique de 1-(furan-3-yl) allyl acétate

La mise au point de nouveaux processus d'accès aux molécules énantiopures a été abordé dans d'autres travaux des équipes du laboratoire. L'étude de nouvelles procédures d'activation pour améliorer la sélectivité et la réactivité des lipases a été abordée par N. Melais. L'acylation des alcools secondaires hétérocycliques a été réalisée avec l'anhydride succinique, un agent acylant qui permet de récupérer les deux énantiomères par simple extraction. Cet agent d'acylation mis sous activation par ultrasons (US) ou micro-ondes (MO) avec la PCL a permis une résolution d'alcools secondaires hétérocycliques. La meilleure

<sup>180</sup> C. Tanyeli, A.S. Demir, A.H. Arkin, I.M. Akhmedov, *Enantiomers*, **1997**, 2, 433.

<sup>181</sup> P. Holmberg, J. Karlsson, A. Gogoll, *Tetrahedron: Asymmetry*; **2005**, 16, 2397-2399.

sélectivité est obtenue avec le 4-chromanol ( $E > 200$ ) et ces modes d'activation alors que sous agitation conventionnelle la sélectivité est faible.<sup>182</sup> (Schéma 99)



**Schéma 99 :** DC du 4-chromanol sous Microondes/ultrasons.

### V-3. Objectifs du travail :

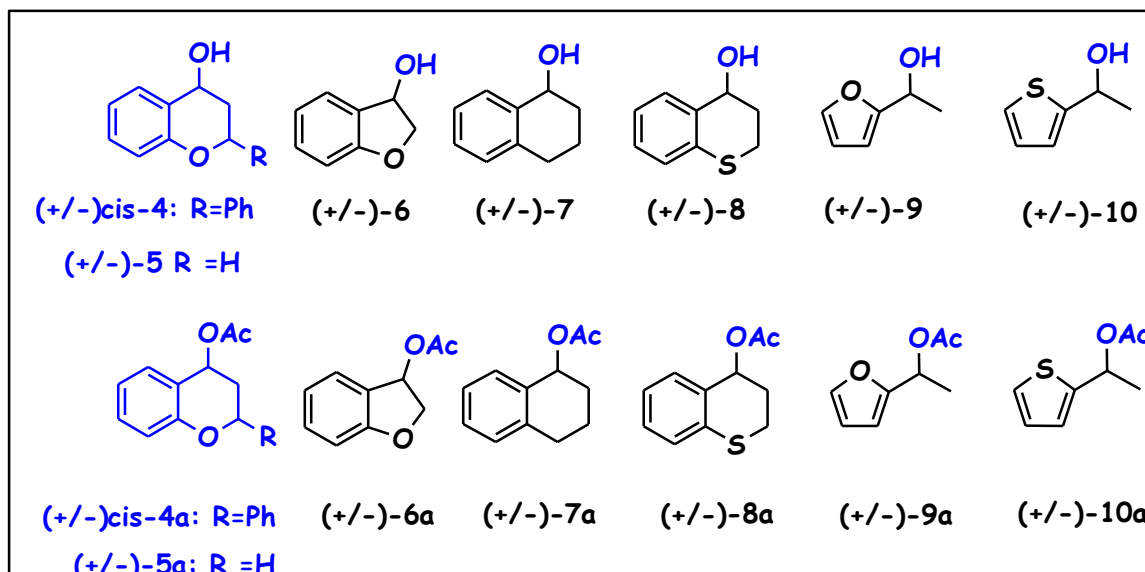
Dans cette partie, nous avons choisi de travailler sur une gamme d'alcools hétéroaromatiques importants (chromanol, hétéroaryléthanol) en raison de leurs activités biologiques de leurs applications comme synthons pour accéder à des produits naturels et des médicaments.

L'étude réside dans la mise au point des conditions expérimentales qui permettent d'obtenir la meilleure sélectivité enzymatique en utilisant le dédoublement cinétique par hydrolyse alcaline avec la *CAL-B* en milieu non-conventionnel sur cette série d'alcools hétéroaromatiques. (Schéma 100).

Après optimisation des conditions d'hydrolyse alcaline avec la *CAL-B*,<sup>183</sup> et pour les substrats ou les meilleures sélectivités et réactivités sont atteintes, la réaction pourra être intégrée à une déracémisation par stéréoinversion *via* l'estérification par le protocole de Mitsunobu afin d'optimiser le rendement en composé optiquement enrichi. La déracémisation par cette approche pour la production d'alcools hétéroaromatiques énantiomériquement purs est une voie qui n'est pas décrite.

<sup>182</sup> Réf 74 : N. Melais, M. Boukachabia, L. Aribi-Zouiouèche, *et al. Bioprocess and biosystems engineering*, **2015**, *38*, 1579-1588.

<sup>183</sup> Réf 90: M. Merabet-Khelassi, Z. Houiene, L. Aribi-Zouiouèche, O. Riant, *Tetrahedron: Asymmetry*, **2012**, *23*, 828.

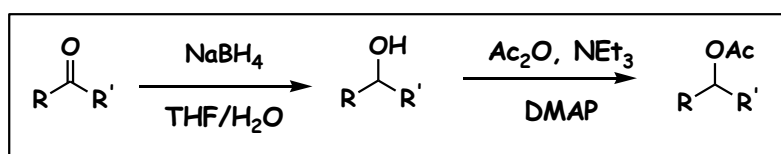
**Schéma100:** Substrats d'étude.

Les alcools secondaires choisis sont : *cis*-2-phényl-4-chromanol « *cis*-flavan4-ol » **4**; le 4-chromanol **5**; 2,3-Dihydro-benzofuran-3-ol **6**; 1, 2, 3, 4-tétrahydronaphthalèn-1-ol **7**; 2,3-dihydrothiochromèn-4-ol (le 4-thiochroman) **8**; 1-(furan-2-yl) éthanol **9**, 1-(thiophène-2-yl) éthanol **10**.

### V-3-1. Synthèse des alcools et les acétates hétéroaromatiques chiraux :

L'obtention des alcools racémiques [**4-10**] est réalisée par réduction des cétones commerciales correspondantes et ce par le biais de l'hydruure de tétrahydroborate de sodium ( $\text{NaBH}_4$ ) dans un mélange de solvant tétrahydrofurane/eau (THF/ $\text{H}_2\text{O}$  : 4/1). Cet agent réducteur génère in situ un complexe hydruure qui réagit sur le carbonyle de la cétone pour donner des alcoolates de sodium, qui est converti en l'alcool correspondant par hydrolyse acide selon le **Schéma101**.

En ce qui concerne les acétates racémiques ils ont été obtenus par une acylation chimique des alcools racémiques correspondants qui a lieu en présence d'une quantité catalytique de 4-diméthylamino pyridine (DMAP) dans l'éther diéthylique anhydre avec de la triéthylamine ( $\text{Et}_3\text{N}$ ) et d'anhydride acétique selon le **Schéma** réactionnel.

**Schéma 101 :** Synthèse des alcools [**4-10**] et des acétates [**4a-10a**] racémiques.

**Tableau 4** : Rendements des alcools et acétates racémiques.

Alcool	Rendement(%)	Acétate	Rendement(%)
(+/-)- <b>4</b>	<b>65</b>	(+/-)- <b>4a</b>	<b>95</b>
(+/-)- <b>5</b>	<b>95</b>	(+/-)- <b>5a</b>	<b>95</b>
(+/-)- <b>6</b>	<b>85</b>	(+/-)- <b>6a</b>	<b>80</b>
(+/-)- <b>7</b>	<b>92</b>	(+/-)- <b>7a</b>	<b>92</b>
(+/-)- <b>8</b>	<b>90</b>	(+/-)- <b>8a</b>	<b>89</b>
(+/-)- <b>9</b>	<b>90</b>	(+/-)- <b>9a</b>	<b>72</b>
(+/-)- <b>10</b>	<b>96</b>	(+/-)- <b>10a</b>	<b>80</b>

La réduction de la flavanone commerciale aboutit à l'obtention du (+/-)-*cis*-2-**phényl-4-chromanol 4** avec un rendement de **65%**, sous forme d'un mélange d'énantiomères (**2S**, **4S**) et (**2R**, **4R**) mis en évidence par HPLC Chirale : *Chiralpak IA*.

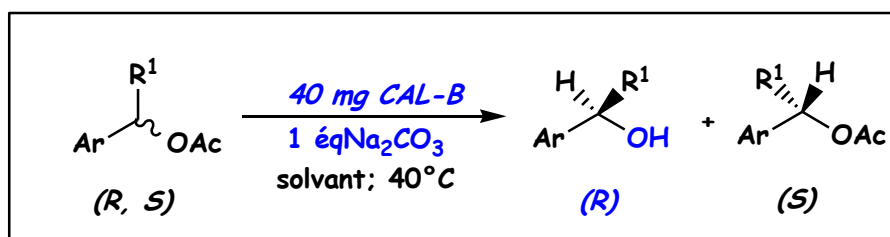
Les acétates racémiques sont obtenus avec de bons rendements chimiques. Les caractéristiques structurales des acétates synthétisés sont établies par les méthodes spectroscopiques usuelles, infrarouge (IR) et Résonance Magnétique Nucléaire du proton (RMN 1H) et du carbone 13 (RMN C13). Les analyses chromatographiques sont réalisées par chromatographie gazeuse (CPG) ou chromatographie liquide à haute performance (HPLC) avec des colonnes chirales.

Dans un premier temps, nous avons appliqué la nouvelle méthode d'hydrolyse alcaline récemment décrite par notre groupe pour la déacylation de nouveaux acétates hétéroaromatiques synthétisés. Nous avons examiné la réactivité et la sélectivité de la lipase *CAL-B* lors de l'hydrolyse avec Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> en milieu organique des acétates [**4a-10a**].

#### V-4. Dédoublent cinétique par hydrolyse des acétates 4a-10a catalysé en milieu non conventionnel :

Dans la continuité de nos travaux sur cette nouvelle approche réactionnelle et suite aux résultats obtenus avec les di-acétates, nous avons effectué l'hydrolyse des acétates

secondaires hétérocyclique [4a-10a] avec la lipase de *Candida antarctica* fraction B **CAL-B** et le carbonate de sodium dans le THF. (**Schéma 102**)

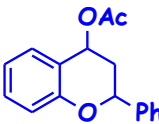
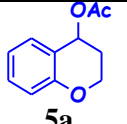
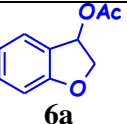
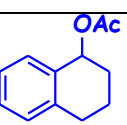
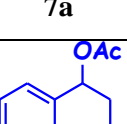
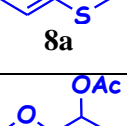
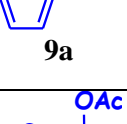


**Schéma 102** : Hydrolyse alcaline des acétates racémiques [4a-10a] avec la CAL-B et Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>.

L'hydrolyse enzymatique des acétates hétéroaromatiques secondaires **4a-10a** est réalisée avec la **CAL-B** en milieu organique et en présence du sel de carbonate (Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>) selon les conditions mises en œuvre. Un mélange équimolaire d'acétate racémique et de carbonate de sodium est solubilisé dans un solvant organique et on ajoute 40 mg de **CAL-B** à ce mélange qui est mis sous agitation durant 72 heures à 40°C. Le suivi de la réaction est effectué par chromatographie couche mince. Les acétates résiduels et des alcools formés sont récupérés après filtration de la lipase, ils sont ensuite séparés par chromatographie sur colonne de gel de silice. Les excès énantiomériques (ee) sont déterminés par GC ou HPLC sur colonne chirale. Les résultats obtenus sont réunis dans le **tableau 5**.

Les résultats du tableau 4 montrent que dans le THF la réaction d'hydrolyse alcaline en milieu organique avec la **CAL-B** est réactive **46% < C < 50%** et hautement sélective **E >200** pour la plupart des acétates étudiés [5a-10a]. Une faible conversion **C= 2%** est notée pour l'acétate du *cis-2-phényl-4-chromanol* **4a** dans le THF (**entrée 1**). L'augmentation de la quantité de **CAL-B** ne permet pas d'améliorer la conversion (**entrées 2-3**). Par contre, l'utilisation du toluène comme solvant permet une amélioration de la conversion à **C = 20%** (**entrée 4**) mais c'est avec l'heptane que la meilleure conversion est enregistrée (**C = 50%**) dans pour une charge catalytique de **200 mg** de **CAL-B** (**entrée 5**).

**Tableau 5 :** Hydrolyse enzymatique des acétates racémique **4a-10a**

Entrée	Substrat	CAL-B	Solvant	(S)-Acétate		(R)-Alcool		C <sup>e</sup> (%)	E <sup>e</sup>
				ee <sub>S</sub> <sup>d</sup> (%)	Rdt <sup>f</sup> (%)	ee <sub>P</sub> <sup>d</sup> (%)	Rdt <sup>f</sup> (%)		
1 <sup>a</sup>	 4a	40	THF	2.3	-	>99	-	2	>100
2 <sup>b</sup>		100		4	-	>99	-	4	>200
3 <sup>c</sup>		200		8	-	>99	-	7.4	>100
4 <sup>c</sup>		200	Toluène	25	-	>99	-	20	>200
5 <sup>c</sup>		200	Heptane	95	43	94	46	50	>100
6 <sup>a</sup>	 5a	40	THF	99	42	99	46	50	>200
7 <sup>a</sup>	 6a			>99	-	97	-	50	>200
8 <sup>a</sup>	 7a			85	45	>99	40	46	>200
9 <sup>a</sup>	 8a			98	47	>99	47	50	>200
10 <sup>a</sup>	 9a			97	45	96	43	50	>200
11 <sup>a</sup>	 10a			>99	46	>99	45	50	>200

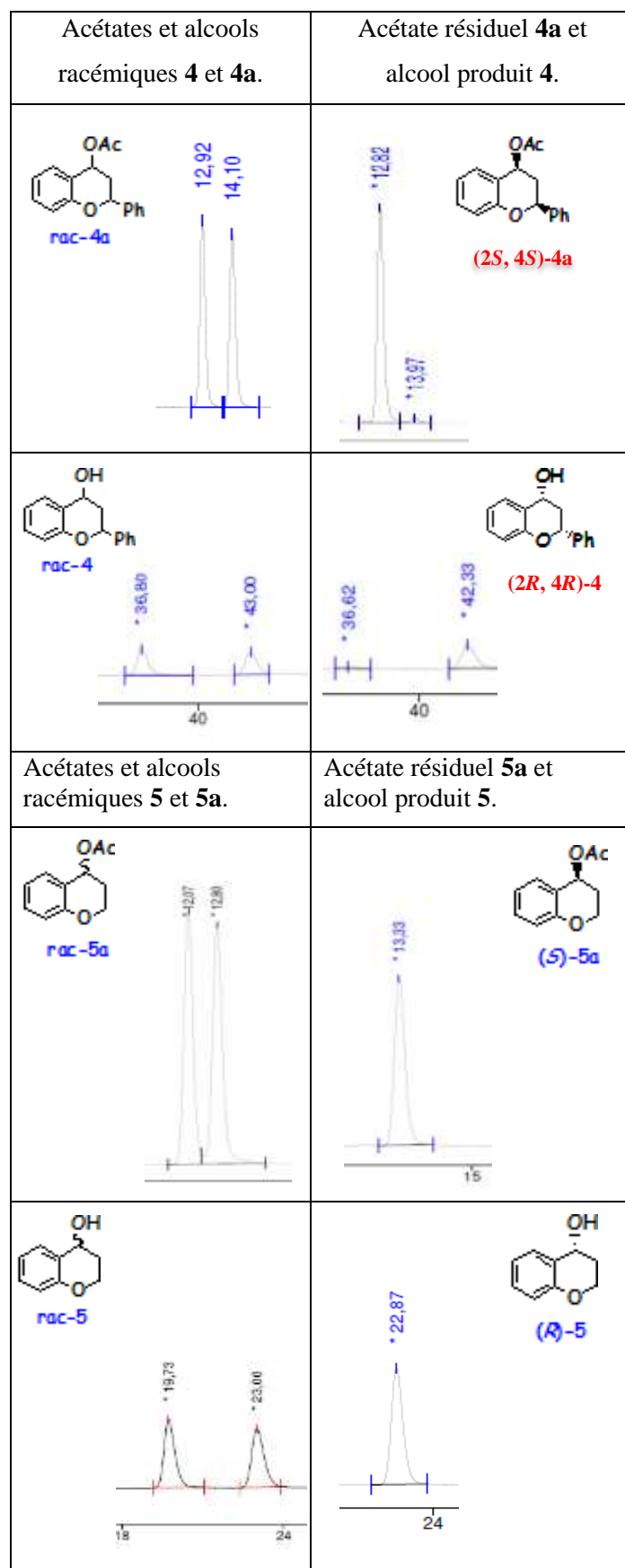
<sup>a</sup>) 1 mmol d'acétate racémique, 1 mmol Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> dans 3 ml de THF à 40°C pendant 72 heures. <sup>b</sup>) 1 mmol d'acétate racémique, 2 mmol Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> dans 6 ml de THF à 40°C pendant 96 heures. <sup>c</sup>) 1 mmol d'acétate racémique, 2 mmol Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> dans 6 ml de solvant à 40°C pendant 96 heures. <sup>d</sup>) ee: Mesuré par HPLC chiral ou GC. <sup>e</sup>) Conversion : C = ee<sub>S</sub>/ee<sub>P</sub>+ee<sub>S</sub> ; facteur de sélectivité: E = Ln [(1-C) (1-ee<sub>S</sub>)] / Ln [(1-C) (1+ee<sub>S</sub>)]. <sup>f</sup>) Rendement isolé.

Pour l'acétate **4a**, on constate un effet important de l'hydrophobicité du solvant organique sur la réactivité de la *CAL-B*. Dans le THF, solvant plus hydrophile que le toluène, la réaction atteint à peine le seuil de 2% de conversion, tandis qu'avec le toluène, plus hydrophobe, une conversion de 20% est obtenue. Le meilleur résultat est obtenu dans l'heptane solvant le plus hydrophobe qui permet également une meilleure solubilité de la molécule. On sait que la lipase *CAL-B* affiche un taux catalytique amélioré pour les substrats volumineux et aromatiques<sup>184</sup> ce qui est le cas de **4a** et qui ne sont généralement pas hydrolysés efficacement. Cette activité, accrue en milieu hydrophobe, est probablement due à un changement de conformation de l'enzyme qui donne un site actif plus ouvert.

Concernant les substrats **5a**, **6a**, **8a**, **9a** et **10a** de structures hétéroaromatiques diverses et quelque soit l'hétéroatome (O ou S), la conversion et la sélectivité sont optimales, C = 50% et E > 200. On constate que la sélectivité reste élevée E > 200 mais avec une conversion légèrement plus faible C = 46% pour le *1,2,3,4-tétrahydro-1-acétoxyphthalène 7a*.

Les chromatogrammes illustrent les résultats obtenus pour l'hydrolyse de **4a** et de **5a**.

<sup>184</sup> Zisis, Themistoklis, et al. *Biochemistry*, **2015**, 545, 969-979.



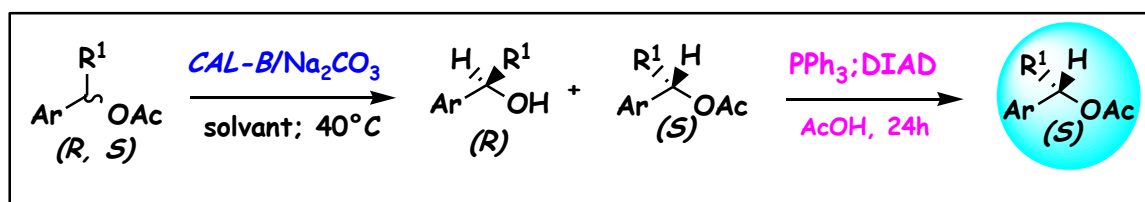
**Figure 18 :** Chromatogrammes après hydrolyse enzymatique du *rac-4a* et *rac-5a*.

### V-5. Déracémisation par hydrolyse enzymatique des acétates 4a-10a dans un solvant organique avec Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> combinée à la réaction de Mitsunobu :

Les meilleurs conditions de l'hydrolyse alcaline avec la *CAL-B* pour les substrats [4a-10a] sont atteintes et les meilleures sélectivités et réactivités ont été obtenues. Ainsi, afin d'optimiser les rendements en composé optiquement enrichi (rendement chimique théorique de 100%), la réaction peut être maintenant intégrée à une déracémisation par stéréoinversion *via* l'estérification par le protocole de Mitsunobu. Ce processus n'est pas décrit dans la littérature sur cette gamme des substrats et notamment les dérivés de chromanols et flavanols.

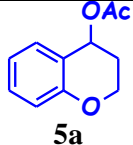
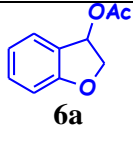
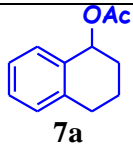

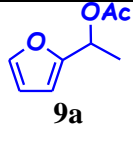
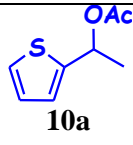
Comme précédemment, l'étape de déracémisation est réalisée après l'hydrolyse en milieu basique non aqueux avec la lipase *CAL-B*, elle est effectuée par estérification avec le réactif de Mitsunobu directement sur le mélange après une simple filtration de l'enzyme. Le mélange issu de l'hydrolyse alcaline est constitué du mélange de l'acétate (*S*) non réagi et du produit de la réaction, l'alcool (*R*) sur lequel le réactif de Mitsunobu réagi pour donner l'acétate (*S*).

Les acétates 4a-10a sont hydrolysés selon le mode opératoire optimisé. Après 72 heures, lorsque la conversion maximale est atteinte, l'enzyme est filtrée. On ajoute directement au filtrat la triphénylphosphine (1.2 équiv) et l'acide acétique (1.2 équiv). Du diisopropylazodicarboxylate (DIAD) (1,2 equiv.) est introduit goutte à goutte à 0°C pour convertir le (*R*)-alcool en (*S*)-acétate qui s'ajoute au (*S*)-acétate qui n'a pas réagi suite à l'hydrolyse enzymatique (*Schéma103*). L'évolution de la réaction est suivie par chromatographie sur couche mince. Les mélanges réactionnels sont filtrés sur célite puis évaporées sous vide. Les excès énantiomériques de l'acétate résiduel et de l'alcool produit sont déterminés par HPLC chirale ou GC chirale. La configuration absolue est confirmée par le pouvoir rotatoire par comparaison avec la littérature. Les résultats obtenus sont réunis dans le **Tableau 6**.



**Schéma 103** : Déracémisation chimioenzymatique des acétates racémiques 4a-10a.

**Tableau 6 :** Déracémisation chimioenzymatique des acétates racémiques **4a-10a**

Entrée <sup>a</sup>	Hydrolyse alcaline avec la <i>CAL-B</i>					Rct de Mitsunobu	
	Substrat	( <i>S</i> )-Acétate ee <sub>S</sub> <sup>b</sup> (%)	( <i>R</i> )-Alcool ee <sub>P</sub> <sup>b</sup> (%)	C <sup>c</sup> (%)	E	( <i>S</i> )-Acétate ee <sub>S</sub> (%)	Rdt <sup>d</sup> (%)
1	 <b>5a</b>	99	99	50	>200	89	80
2	 <b>6a</b>	> 99	97	50	>200	92	84
3	 <b>7a</b>	85	>99	46	>200	89.5	82
4	 <b>8a</b>	98	>99	50	>200	88	80
5	 <b>9a</b>	97	96	50	>200	51	70
6	 <b>10a</b>	> 99	>99	50	>200	62	78

<sup>(a)</sup> 1mmol d'acétate racémique, 1mmol Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>, 40mg de *CAL-B*, 3 ml de THF à 40°C pendant 72h<sup>(b)</sup> ee: Mesuré par HPLC chiral ou GC.<sup>(c)</sup> Conversion : C=ee<sub>S</sub>/ee<sub>P</sub>+ee<sub>S</sub> ; facteur de sélectivité: E =Ln [(1-C) (1-ee<sub>S</sub>)]/ Ln [(1-C) (1+ee<sub>S</sub>)].<sup>(d)</sup> Rendement isolé.

Les résultats du **Tableau 6** montrent que les (*S*)-acétates **5a-10a** sont obtenus quantitativement avec des rendements entre 70-91% et les excès énantiomériques varient selon la structure du substrat entre 51% < ee < 90%.

Après estérification de Mitsunobu, pour les substrats **5a**, **6a**, **7a** et **8a**, une légère diminution de la pureté énantiomérique des (*S*)-acétates d'environ 6% <  $\Delta ee$  < 10% est observée après déracémisation malgré les excès énantiomériques supérieurs à 96% ee des (*R*)-alcools récupérés suite à l'hydrolyse enzymatique. Les (*S*)-acétates sont obtenus avec des excès énantiomériques qui varient entre 88% < ee < 92% (entrée 1–4), impliquant que la stéréoinversion se soit produite avec une légère racémisation plus nette pour **7a** et **8a**. Mais la chute la plus importante des excès énantiomériques des (*S*)-acétates après déracémisation est **9a** et **10a** ou  $\Delta ee > 40\%$  (entrée 5-6) avec des excès énantiomériques entre 51- 62% ee. Le phénomène a précédemment été observé pour certains substrats dans des travaux antérieurs de notre groupe <sup>185</sup> lors de la stéréoinversion de Mitsunobu mais également pour d'autres synthèses énantiosélectives. <sup>186</sup>

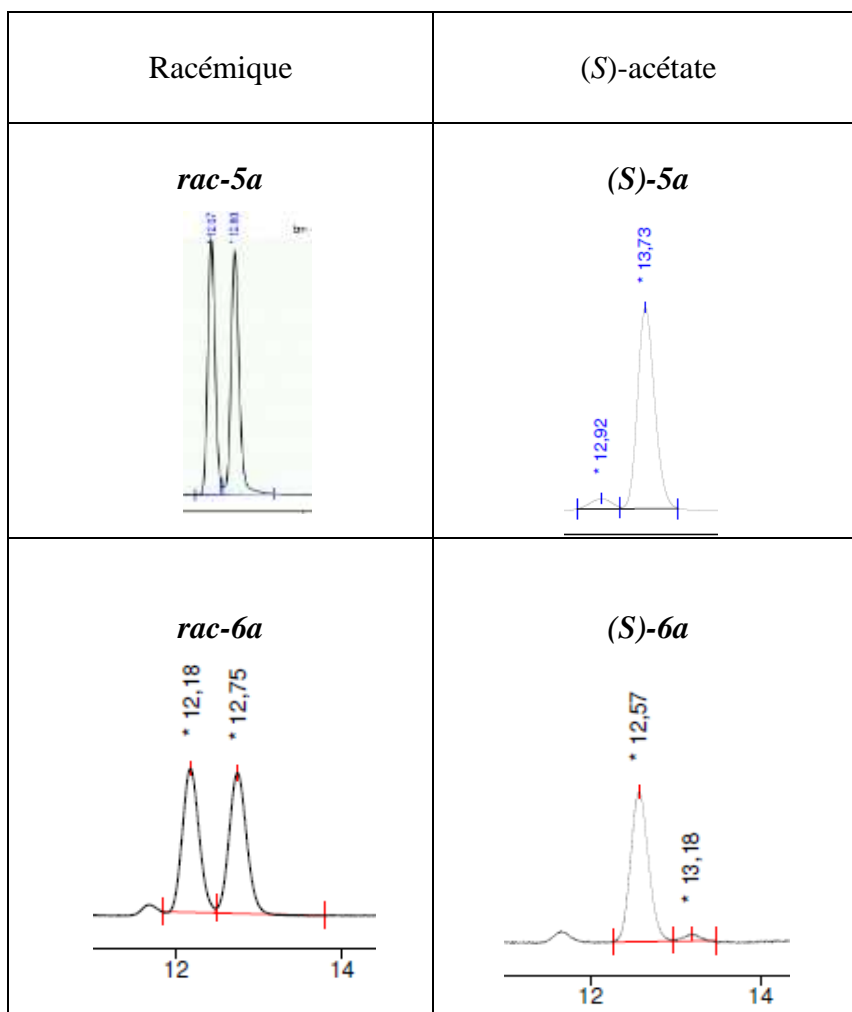
Ces résultats confirment que la chute d'énantiosélectivité dépend de la structure du substrat notamment de la présence des groupements électrodonneurs sur le cycle aromatique, cela est une nouvelle fois confirmé avec ces alcools hétéroaromatiques, notamment les cycles à cinq chaînons **9a** et **10a** ou la présence des atomes d'oxygène et de soufre sont proches du centre chiral et peuvent impacter plus fortement la racémisation au cours de l'étape de substitution de Mitsunobu. <sup>187</sup>

<sup>185</sup> (a) **Réf 157** : N. Bouzemi, L. Aribi-Zouiouèche, J-C. Fiaud. *Tetrahedron: Asymmetry*, **2006**, 17, 797-800.  
(b) **Réf 89** : Z. Houiene, M. Merabet-Khelassi, N. Bouzemi, Olivier Riant, L. Aribi-Zouiouèche, *Tetrahedron: Asymmetry*, **2013**, 290–296.

<sup>186</sup> T. H. K. Thvedt, E. Fuglseth, E. Sundby, B. H. Hoff, E. *Tetrahedron*, **2010**, 66, 6733-6743.

<sup>187</sup> E. Warmerdam, J. Brussee, C.G. Kruse, A. van der Gen, *Tetrahedron*, **1993**, 49, 1063–1070.

Les chromatogrammes suivants montrent les résultats satisfaisants.



**Figure 19 :** chromatogrammes après Déracémisation chimioenzymatique des acétates racémiques 5a, 6a.

## V-6. CONCLUSION :

Dans cette étude, nous avons étudié la réaction de dédoublement cinétique par hydrolyse alcaline avec la *CAL-B* de divers alcools hétéroaromatiques chiraux. Nous avons relevé l'efficacité de l'hydrolyse alcaline en milieu non-conventionnel appliquée aux alcools hétéroaromatiques **4a-10a**, elle est hautement sélective ( $E > 100$ ) avec des conversions élevées  $46\% < C < 50\%$ . Les énantiomères (*R*)-alcools produits et les (*S*)-acétates restant de tous les substrats étudiés sont obtenus avec des excès énantiomérique élevés pour l'ensemble des substrats.

L'optimisation des paramètres de réaction a permis d'obtenir la résolution du *cis-2-phényl-4-chromanol* **4a**, avec une sélectivité optimale ( $E > 100$ ) à une conversion  $C = 50\%$ . Ce substrat aromatique et volumineux qui est généralement mal hydrolysés a été résolu dans l'heptane, solvant plus hydrophobe qui permet également une meilleure solubilité de la molécule.

Ensuite, nous avons introduit la réaction d'hydrolyse en milieu non-conventionnel avec  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  et la lipase *CAL-B* dans un processus de déracémisation via une stéréoinversion par le processus de Mitsunobu.

L'étape de déracémisation a permis d'obtenir les acétates **5a-8a** avec des excès énantiomériques élevés  $88\% < ee < 92\%$  et des Rdt  $> 80\%$ . Ce n'est le cas pour les acétates **9a** et **10a** où après déracémisation, une chute des excès énantiomériques  $\Delta ee > 40\%$  est observée (51%ee pour **9a** et 62%ee pour **10a**) avec des rendements chimiques entre 70% - 82%.

## **DEUXIEME PARTIE**

### **CHAPITRE VI**

#### **ACYLATION ENZYMATIQUE PAR LES ANHYDRIDES : CAS DE L'ANHYDRIDE ITACONIQUE**

## VI-1. INTRODUCTION:

La synthèse des esters « composés aromatiques et parfumant précieux » constitue l'une des applications les plus importantes catalysées par les lipases par des réactions d'estérification ou de trans-estérification.

<sup>188</sup> Les esters d'énol qui assurent l'irréversibilité <sup>189</sup> de cette réaction, avec de hautes réactivités et énantiosélectivités, sont les agents d'acylation les plus largement employés pour le dédoublement des alcools racémiques; seulement, la séparation des substrats et des produits implique l'utilisation de grandes quantités de solvants organiques lors de la séparation chromatographique, ce qui est, au niveau pratique, très fastidieux. La mise en œuvre de nouveaux types d'agents acylants dans l'acylation lipasique permet d'accéder à la synthèse de molécules d'intérêt par biocatalyse dans des conditions de chimie verte. Une alternative très intéressante est l'utilisation d'anhydrides d'acide <sup>190</sup> qui permettent de les séparer aisément par extraction liquide-liquide. L'utilisation d'anhydrides d'acides en catalyse enzymatique constituent une nouvelle voie de recherche en pleine expansion si on considère la nouvelle conception de la chimie qui cherche l'application de solutions novatrices respectueuses des principes de chimie verte <sup>191</sup> tels que:

- La réduction des déchets et la prévention
- L'utilisation de la catalyse
- L'efficacité synthétique (Economie d'atomes)
- L'utilisation de matière première renouvelable (dont dérivés des flux agricoles)

Ces dernières années, le développement de nouvelles molécules bio-sourcées fonctionnalisées via des voies de synthèse faciles et vertes est un défi majeur de la chimie de synthèse moderne. <sup>192</sup> Les monomères fonctionnels produits à partir de matières premières de biomasse renouvelable sont des candidats prometteurs pour la technologie verte et constituent

<sup>188</sup> K. P. Dhake, D. D. Thakare, B. M. Bhanage, *Flavour Fragr. J.* **2013**, 28, 71–83.

<sup>189</sup> **Réf 66**: M. Degueil-Castaing, B. De Jeso, S. Drouillard, B. Maillard ; *Tetrahedron Lett.* **1987**, 28, 953.

<sup>190</sup> (a) Y. Terao, K. Tsuji, M. Murata, K. Achiwa, T. Nishio, N. Watanabe, K. Seto ; *Chem. Pharm. Bull.*, **1989**, 37, 1653–1655 ; (b) **Réf.72**: J.-C. Fiaud, R. Gil, J.-Y. Legros, L. Aribi-Zouiouèche, W. A. Köenig ; *Tetrahedron Lett.*, **1992**, 33, 6967–6970 ; (c) A. L. Gutman, D. Brenner, A. Boltanski ; *Tetrahedron : Asymmetry*, 1993, 4, 839-844 ; (d) **Réf 69** : N. Bouzemi, H. Debbeche, L. Aribi-Zouiouèche, J.-C. Fiaud ; *Tetrahedron Lett.*, **2004**, 45, 627–630. (e) **Réf 73** : H. Debbeche., M. Toffano., J.-C. Fiaud. L. Aribi-Zouiouèche. ; *Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic*; **2010**; 66, 319–324.

<sup>191</sup> **Réf 4**: P. T. Anastas, J. C. Warner, *Green Chemistry: Theory and Practice*, Oxford University Press: New York, **1998**, p.30. By permission of Oxford University Press from ACS Green Chemistry Institute Webpage

<sup>192</sup> B. J. Nikolau, M. A. D. N. Perera, L. Brachova, B. Shanks. *Plant J.* **2008**, 54, 536–545.

une excellente opportunité pour assurer la durabilité future.<sup>193</sup> Cette nécessité de «passer au vert» implique le développement de nouvelles voies durables, économiques et compétitives pour accéder aux monomères polyfonctionnels aux multiples intérêts que ce soit pour l'industrie pharmaceutique ou celles des matières plastiques.

L'anhydride itaconique est une molécule bio-dérivée d'utilisation croissante dans le domaine de la synthèse des polymères, elle est abondamment disponible à partir de la biomasse. L'acide itaconique et son dérivé l'anhydride sont parmi les matières premières bio-renouvelables qui promettent de réduire la dépendance de la société sur les produits chimiques à base de pétrole. Ils figurent sur la liste des 12 plus importants monomères biosourcés qui font l'objet d'une grande attention dans les domaines scientifique et industriel en tant que produits de départ pour produits chimiques innovants.<sup>194</sup> Le département de l'énergie américain le considère comme l'un des «produits chimiques à plus haute valeur ajoutée de la biomasse».

L'acide itaconique est obtenu industriellement par fermentation fongique de la biomasse en utilisant l'*Aspergillus terreus*<sup>195</sup> sa production devrait atteindre 400 000 tonnes par an d'ici 2020.<sup>196</sup> L'acide itaconique et son dérivé anhydride (AI) sont des substrats renouvelables incontournables pour accéder à de nouvelles voies de production de nouveaux polymères fonctionnalisés.<sup>197</sup> Leur utilisation dans le domaine de la synthèse des polymères est particulièrement intéressante en raison de la double fonctionnalité, contenant à la fois un acide dicarboxylique et une double liaison carbone-carbone.<sup>198</sup> La fonctionnalité diacide de l'acide itaconique, ou son anhydride correspondant, a été utilisée pour fabriquer des

<sup>193</sup> Y. Jiang, A. J. J. Woortman, G. O. R. Alberda van Ekenstein, D. M. Petrović, K. Loos. *Biomacromolecules.*, **2014**, 15, 2482.

<sup>194</sup> T. Werpy, G. Petersen. Top Value Added Chemicals From Biomass, Volume 1 – Results of Screening for Potential Candidates From Sugars and Synthesis Gas, Report No. NREL/TP-510-35523; National Renewable Energy Laboratory, Golden, CO (2004).

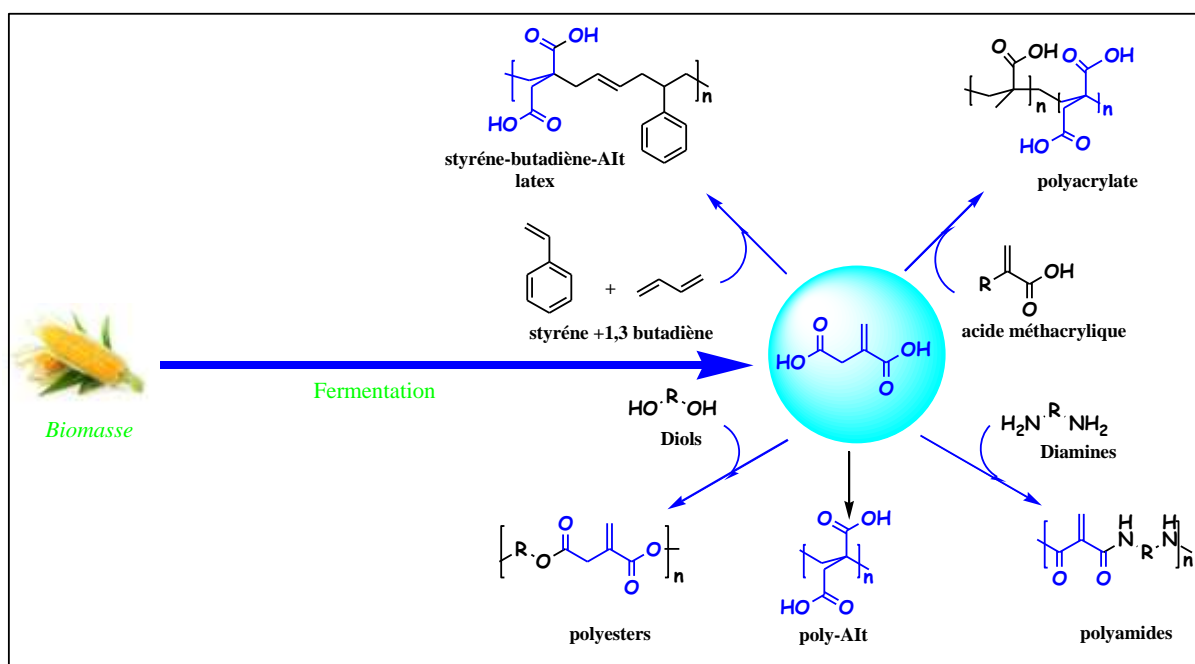
<sup>195</sup> M. Winkler, T. M. Lacerda, F. Mack, M. A. R. Meier. *Macromolecules.*, **2015**, 48, 1398.

<sup>196</sup> Weastra, WP 8.1. Determination of market potential for selected platform chemicals: Itaconic acid, Succinic acid, 2,5-Furandicarboxylic acid, **Weastra**, SRO.2012.(b) T. Willke and K. D. Vorlop, *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, **2001**, 56, 289–295.

<sup>197</sup> W. P. Dijkman, D. E. Groothuis, M. W. Fraaije. *Angew. Chem. Int.Ed.* **2014**, 53, 6515.

<sup>198</sup> (a) A. Pellis, L. Corici, L. Sinigoï, N. D'Amelio, D. Fattor, et al. *Green Chem.*, **2015**, 17, 1756–1766. (b) J. Dai, S. Ma, X. Liu, L. Han, Y. Wu, X. Dai and J. Zhu, *Prog. Org. Coat.*, **2015**, 78, 49–54. (c) L. Corici, A. Pellis, V. Ferrario, C. Ebert, S. Cantone and L. Gardossi, *Adv. Synth. Catal.*, **2015**, 357, 1763–1774. (d) T. J. Farmer, J. H. Clark, D. J. Macquarrie, J. K. Ogunjobi and R. L. Castle, *Polym. Chem.*, **2016**, 7, 1650–1658.

polyesters<sup>199</sup> et servent principalement de co-monomère dans la production de l'acrylonitrile butadiène styrène et des latex-acryliques. (**Figure 20**).



**Figure 20:** Intérêt d'acide itaconique.

Une propriété remarquable de l'acide itaconique et de ses dérivés est la possibilité de modifier la double liaison vinylique après la polycondensation ce qui favoriserait le développement de nouveaux biomatériaux.<sup>200</sup> L'utilisation de la polymérisation enzymatique d'acide itaconique et/ou de dérivés avec le 1,4-butanediol<sup>201</sup> et l'éthylène glycol a été rapportée récemment.<sup>202</sup>

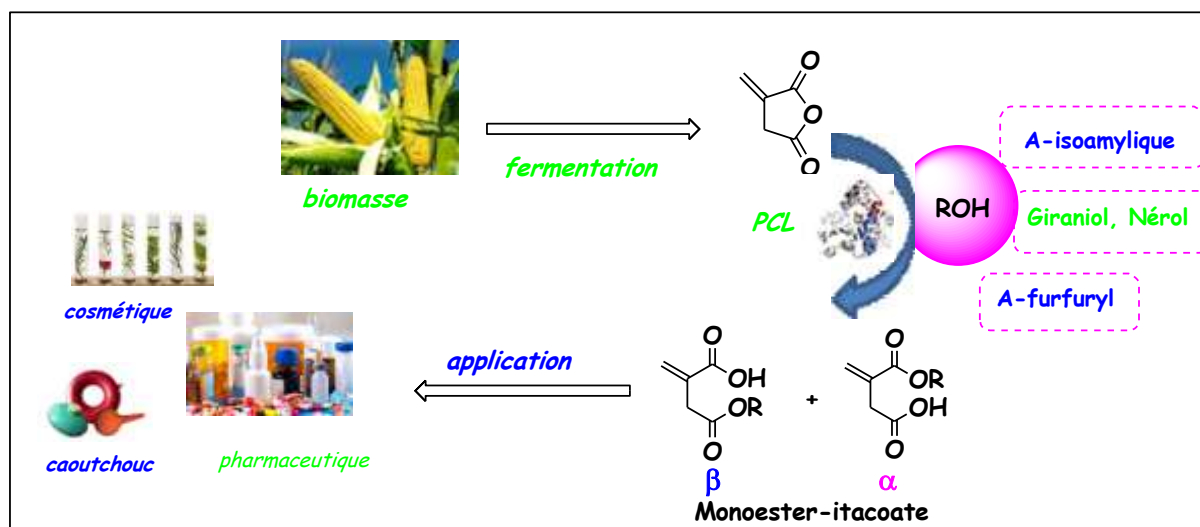
Cependant, l'utilisation de l'anhydride itaconique est une voie originale peu décrite pour la préparation de molécules intéressantes entièrement bio-dérivés. L'objectif de cette étude est la préparation de monomères fonctionnalisés par estérification enzymatique régiosélective et/ou énantiosélective de l'anhydride itaconique par divers alcools qui présentent un intérêt. Les monoesters itaconate produits des blocs de construction moléculaires chiraux ou non chiraux qui présentent un intérêt considérable dans divers domaines d'application (polymères, médicaments, cosmétiques). (**Schéma 104**)

<sup>199</sup> T. J. Farmer, R. L. Castle, J. H. Clark and D. J. Macquarrie, *Int. J. Mol. Sci.*, **2015**, 16, 14912–14932

<sup>200</sup> T. Robert, S. Friebel. *Green Chem.* **2016**, 18, 2922.

<sup>201</sup> Réf 200(c) : L. Corici, A. Pellis, V. Ferrario, C. Ebert, S. Cantone, L. Gardossi. *Adv. Synth. Catal.* **2015**, 357, 1763.

<sup>202</sup> C. Hoffmann, M. C. Stuparu, A. Daugaard, A. Khan. *J. Polym. Sci. A.*, **2015**, 53, 745.



**Schéma 104:** Préparation de monomères fonctionnalisés.

## VI-2. Mise au point bibliographique :

La littérature est riche d'exemples récents qui montrent que les lipases sont des catalyseurs utilisées avec succès pour l'élaboration des polymères biodégradables, elles permettent également la formation des liaisons "ester" entre des donneurs d'acyle (acides, esters d'énol, anhydrides carboxyliques, esters carboxyliques) et les alcools de manière efficace et dans des conditions diverses. Ci-après, nous présenterons une bibliographie succincte sur l'utilisation des réactions avec des enzymes et des anhydrides comme de nouveaux outils pour améliorer sensiblement la durabilité de synthèse des monomères fonctionnalisés biosourcés et diversifier les bibliothèques de structures.

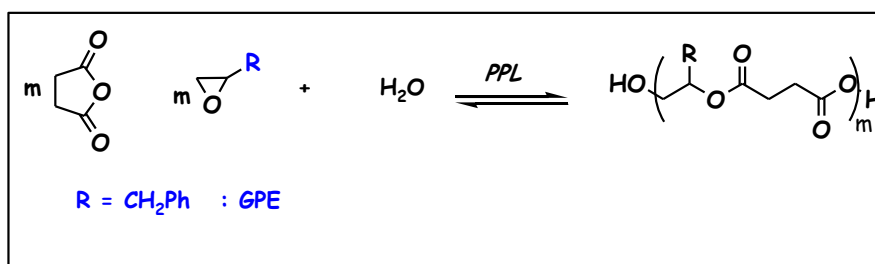
Le premier exemple d'une réaction enzymatique de poly (addition-condensation) à ouverture de cycle qui se déroule dans des conditions réactionnelles douces a été rapportée par S. Kobayashi<sup>203</sup> avec les anhydrides succinique et glutarique et du glycol.

Debbeche hanane et coll.<sup>204</sup> ont, pour leur part, été intéressés par l'étude de l'énantiosélectivité de la copolymérisation du glycidyl-phényl-éther (GPE) avec l'anhydride succinique (AS) en présence de lipase pancréatique de porc (PPL). Les résultats montrent que

<sup>203</sup> S. Kobayashi, H. Uyama, *Makromol. Chem. Rapid Commun.* **1993**, 14, 841-844.

<sup>204</sup> H. Debbeche, M. Toffano, E. Kolodziej, J. C. Fiaud, & L. Aribi-Zouieche, *European Polymer Journal*, **2012**, 48(7), 1323-1328.

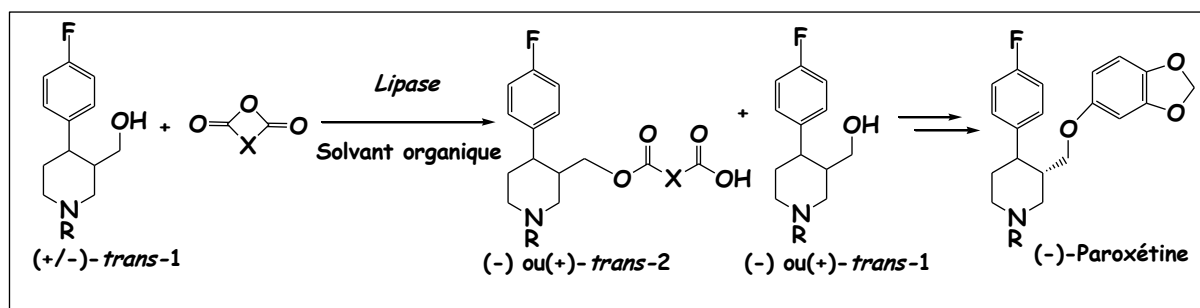
la structure des polymères synthétisés sont constitués de 5 motifs au maximum, et que l'énantioselectivite ne semble intervenir à aucune étape de la polymérisation (*Schéma 105*).



**Schéma 105:** Réaction lipasique du GPE et l'anhydride succinique

L'estérification d'anhydrides cycliques par des alcools primaires catalysée par des enzymes a été rapportée essentiellement pour la préparation des monomères molécules clé dans la synthèse des polyesters biodégradables ou pour la mise au point de nouvelles méthodes de synthèse de médicaments optiquement actifs pouvant être réalisés à grande échelle.

Une nouvelle méthode chimioenzymatique<sup>205</sup> pour la préparation d'un intermédiaire du (-) paroxétine utilise les anhydrides cycliques comme agents d'acylation dans l'estérification catalysée par des lipases du *trans*-4(4'-fluorophényle)-3-hydroxyméthyl-*N*-phényloxycarbonylpipéridine dans des solvants organiques. Les meilleures énantiosélectivités sont obtenues avec deux lipases différentes de *Candida Antarctica*. Ces deux lipases montrent une préférence stéréochimique opposée dans ces processus, de sorte que les deux énantiomères sont obtenus sous leurs formes optiquement pures. L'isomère (3*S*, 4*R*) est un intermédiaire pour la synthèse de la (-) paroxétine. (*Schéma 106*)



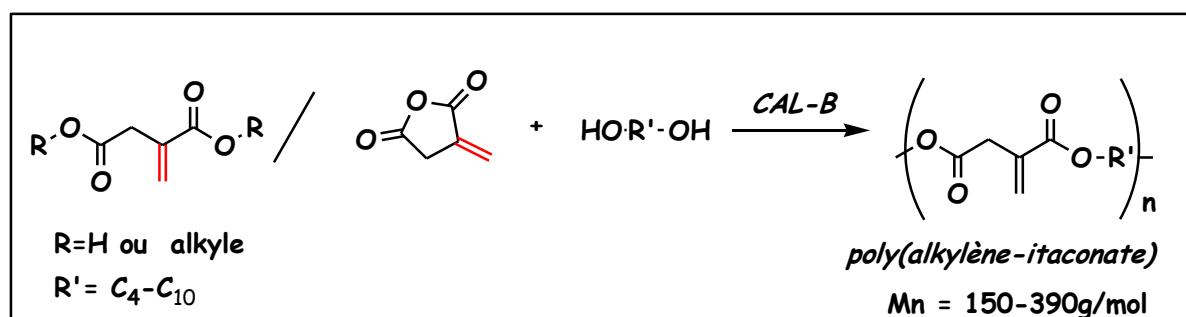
**Schéma 106:** Synthèse de la (-) paroxétine.

L'utilisation de l'anhydride itaconique pour la synthèse de polyesters biosourcés non saturés est peu rapportée dans la littérature. En effet, la liaison sensible (C=C) peut se détériorer facilement dans des conditions de polymérisation conventionnelles telles que des

<sup>205</sup> Gonzalo, et al. *The Journal of organic chemistry*, **2003**, 68, 3333-3336.

températures élevées et en présence de catalyseurs métalliques. Cependant, ce problème peut être facilement résolu en utilisant des catalyseurs enzymatiques dans la polymérisation, en raison des conditions douces et de leur grande spécificité catalytique.

Ainsi, la polycondensation directe d'itaconate et de diols aliphatiques catalysée par la lipase avec de courtes chaînes entraîne la formation d'oligomères. Gardossi *et coll.*,<sup>206</sup> indiquent que le produit de la polyestérification de l'itaconate de diméthyle et de 1,4-butandiol (1,4-BDO) catalysée par la CAL-B a donné un mélange d'oligomères de dimère à pentamère. De même, la polymérisation de l'anhydride Itaconique avec des diols aliphatiques (C4-C10) donnait des oligomères avec Mn d'environ 150–390 g / mol, Une faible réactivité de l'itaconate dans la polymérisation enzymatique est constatée. (*Schéma 107*)



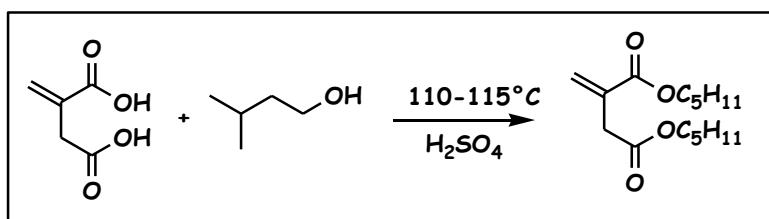
*Schéma 107* : Polycondensation directe d'itaconate et de diols aliphatiques.

Au cours des dernières décennies, la synthèse de monomères d'itaconates et leur polymérisation ont été largement étudiées pour une large gamme de diesters.<sup>207</sup> A cet égard, nous citons l'exemple rapporté par Runguo Wang *et al.*,<sup>208</sup> concernant la préparation d'un nouveau polymère, où l'étape clé de cette approche est la synthèse de di-isoamyl-itaconate comme monomère (*Schéma108*).

<sup>206</sup> Réf 199(c) : (a) L. Corici, A.Pellis, V. Ferrario, C.Ebert, S.Cantone, L. Gardossi, *Adv. Synth. Catal.* **2015**, *357*, 1763–1774. (b) Yi Jiang, Katja Loos, *Polymers* **2016**, *8*, 243.

<sup>207</sup> (a) J.M.G. Cowie, Z. Haq, *British Polym. J.* **1977**, *9*, 241-245. (b) I. Katime, A. Madoz, & J. L. Velada, *Thermochimica Acta*, **1993**, *220*, 91-101. J.(c) M. Novotny, A. Hrabálek, B. Januřsová, J. Novotny, K. Vávrová, *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2009**, *19*, 344–347.

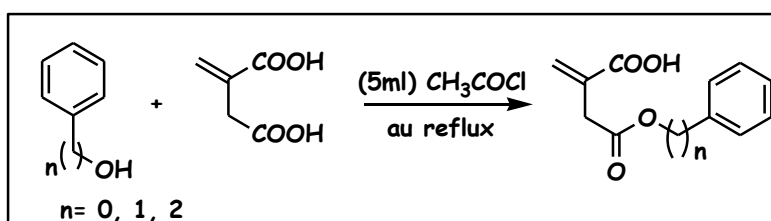
<sup>208</sup> R. Wang, J. MA, X. Zhou, *et al. Macromolecules*, **2012**, *45*, 6830-6839.



**Schéma 108 :** Préparation de monomère Diisoamyl Itaconate

Peu d'exemples sont rapportés sur la synthèse de mono-itaconates monomères, malgré leur intérêt qui réside principalement dans le fait que le reste du groupe carboxylique libre conduit à des produits amphiphiles, appelés macromères tensioactifs.

L'équipe de *Katime*<sup>209</sup> a synthétisé des monoesters-itaconates dans le but d'étudier leurs propriétés thermiques, cette synthèse est effectuée en présence d'une mole d'acide itaconique avec un excès de chlorure d'acide acétique ainsi que de l'alcool. Les monoesters-itaconates sont obtenus avec des rendements variant entre **58-71%**. (**Schéma 109**).

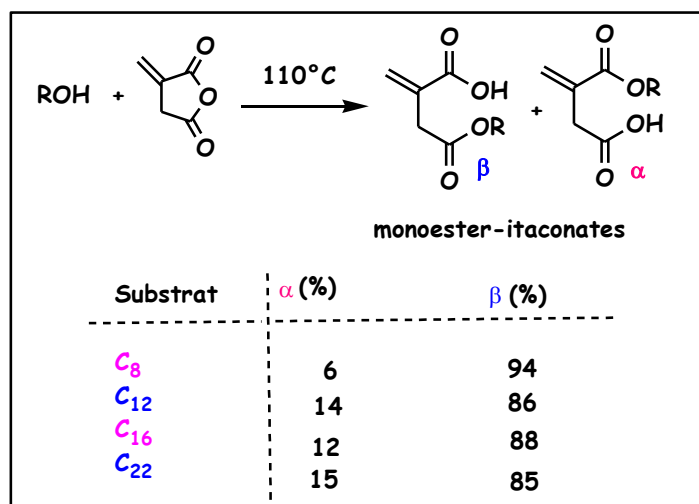


**Schéma 109:** Préparation de Monoesters-itaconates en présence de chlorure d'acide.

Avec le même objectif, *J-V Richard et coll.*,<sup>210</sup> ont préparé des monoesters itaconate *n*-alkyle par l'ouverture de l'anhydride itaconique en présence des alcools linéaires à longues chaînes (C8, C12, C16, C22) en chauffant à 110°C. Les monoesters  $\beta$  sont majoritaires dans les conditions étudiées. (**Schéma 110**)

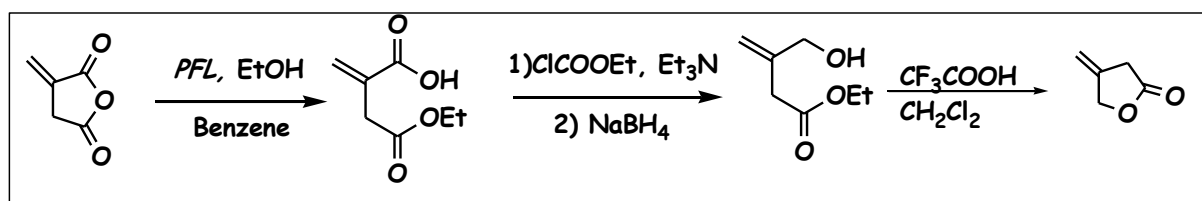
<sup>209</sup> I. Katime, M. Ana, and J. L. Velada. *Thermochimica Acta*. **1991**, 189, 25-35

<sup>210</sup> J. V. Richard, C. Delaite, G. Riess, & A. S. Schuller, *Thermochimica Acta*, **2016**, 623, 136-143.



**Schéma 110 :** Préparation de Monoesters-itaconate n-alkyle

Dans le même contexte, Ferraboschi *et coll.*,<sup>211</sup> ont synthétisé le monoéthyl-itaconate par l'ouverture régiosélective de l'anhydride itaconique en présence de l'enzyme PFL. Le monoester est obtenu avec un rendement de 60%, après réduction de la fonction acide, il est introduit pour la synthèse  $\beta$ -méthylène lactone. (Schéma 111).



**Schéma 111 :** Synthèse de la  $\beta$ -méthylène lactone.

Cette mise au point bibliographique montre que l'AIIt est un précurseur idéal qui permet d'accéder à plusieurs blocs constitutifs polyfonctionnels. Il est utilisé comme monomère biosourcé avec des catalyseurs enzymatiques pour accéder à des matériaux renouvelables. On constate que l'ouverture de l'AIIt se fait dans des conditions dures, à haute température ( $>100^\circ\text{C}$ ), en utilisant des solvants toxiques (classés rouges selon Pfizer) ou en exploitant des catalyseurs non bénins « acides et basiques » d'un point de vue environnemental, ce qui diminue la valeur ajoutée de cet anhydride issu de la biomasse végétale.

<sup>211</sup> P. Ferraboschi, S. Casati, P. Grisenti, E. Santaniello, *Tetrahedron*, **1994**, 50, 3251-3258.

### VI-3. Etude de la sélectivité d'acylation enzymatique de l'anhydride itaconique avec des alcools primaires :

Dans la continuité de nos travaux de recherche qui visent la mise au point d'une chimie organique contemporaine durable, nous avons développé une méthode sélective d'ouverture de l'anhydride Itaconique sous des conditions éco-compatibles. Nous étudions ci-après l'acylation lipasique de diverses classes d'alcools avec l'anhydride itaconique pour accéder à une bibliothèque d'esters fonctionnalisés originaux de manière *régio* et *énantio*sélective.

#### VI-3-1. Choix des substrats de l'étude:

Afin d'accéder à une bibliothèque d'esters fonctionnalisés, nous avons choisi de mettre en œuvre l'acylation enzymatique sélective de l'anhydride itaconique avec une sélection d'une large gamme d'alcools primaires, secondaires et tertiaires (tableau 7).


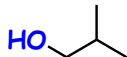
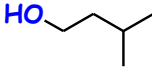
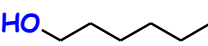
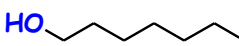
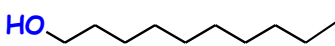
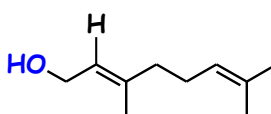
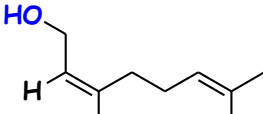
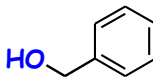
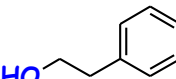
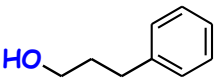
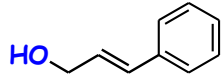
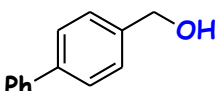
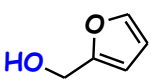
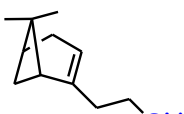
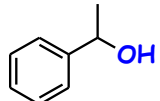
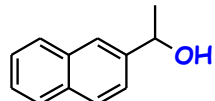
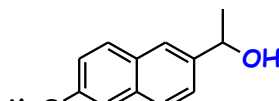
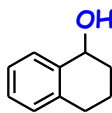
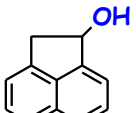
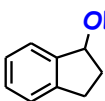
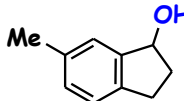
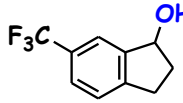
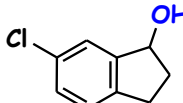
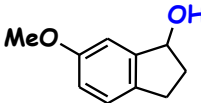
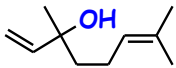
**Les alcools primaires** choisis sont aliphatiques et benzyliques, ce sont des blocs de constructions qui ont un intérêt dans les domaines des médicaments, des arômes, de l'agriculture et de l'agroalimentaire, et sont:

*Ethanol (11)*, *2-Méthyl-propan-1-ol (12)*, *3-Méthyl-butan-1-ol (13)*, *Hexan-1-ol (14)*, *Heptan-1-ol (15)*, *Décan-1-ol (16)*, *Géranol (17)*, *Nérol (18)*, *alcool benzylique (19)*, *2-Phényléthanol (20)*, *3-Phénylpropan-1-ol (21)*, *3-Phénylprop-2-en-1-ol (22)*, *Biphényl-4-yl-méthanol (23)*, *Alcool furfuryl (24)*, *Nopol (25)*.

**Les alcools benzyliques secondaires** choisis sont le *1-phényléthanol (+/-)-26*, le *1-(naphthalen-2-yl) éthanol (+/-)-27*, le *1-(6-méthoxynaphthalen-2-yl) éthanol (+/-)-28*, le *1,2,3,4-tetrahydronaphthalen-1-ol (1'-tétralol) (+/-)-29*, le *1,2-dihydro-acénaphthylén-1-ol (ou acénaphthénol) (+/-)-30*, le *2,3-dihydro-1H-indén-1-ol (ou indan-1-ol) (+/-)-31*, *6-Méthyl-indan-1-ol (+/-)-32*, *6-Trifluorométhyl-indan-1-ol (+/-)-33*, *6-Chloro-indan-1-ol (+/-)-34*, *6-Méthoxy-indan-1-ol (+/-)-35*.

**L'alcool tertiaire** choisis est le linalool (**36**).

**Tableau 7 :** les substrats de l'étude.

Alcools primaires				
 11	 12	 13	 14	 15
 16	 17	 18		
 19	 20	 21	 22	
 23	 24	 25		
Alcools secondaires				
 26	 27	 28		
 29	 30	 31	 32	
 33	 34	 35		
Alcool tertiaire				
 36				

### VI-3-2. Choix des enzymes :

Pour cette étude, nous avons choisis trois lipases de nature microbienne dont deux sous leur forme libre: la lipase de *Pseudomonas Cepacia* (**PCL**), la lipase de *Candida Rugosa* (**CRL**) et une sous forme immobilisée: la lipase de *Candida antarctica* (**CAL-B**). Ces lipases présentent des activités différentes:

- ✚ La lipase de *Pseudomonas Cepacia* (**PCL**), (*Ps. Amano de burkhoderia*) avec une activité de plus de 30000 unités/g. de chez aldrich
- ✚ La lipase de *Candida Rugosa* (**CRL**) avec une activité  $\geq 1170$  unités/mg. de chez sigma
- ✚ La lipase de *Candida antarctica* (**CAL-B**) immobilisée sur résine acrylique avec une activité plus de 10000 unités/g, de chez sigma.

### V-3-3. Mise au point de la réaction d'acylation enzymatique de l'anhydride itaconique avec l'alcool *Iso*-amylique :

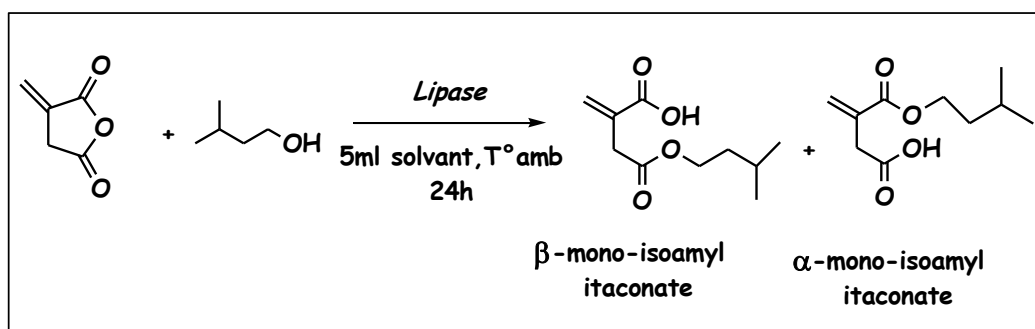
L'étude de la réaction d'ouverture de l'anhydride itaconique (AI<sub>t</sub>) et la mise au point des conditions réactionelles ont été réalisées dans un premier temps avec l'alcool *iso*-amylique. L'optimisation des conditions de réaction d'acylation est effectuée par l'examen de l'impact de la nature de lipase et de celle du solvant organique. Différentes lipases ont été utilisées dans le TBME comme solvant: **PCL(80mg)**, **CALB(150mg)**, **CRL(80mg)**. Le taux catalytique de l'enzyme ainsi que le solvant ont été choisis sur la base de divers travaux de la littérature.  
212

La réaction d'acylation est réalisée sur 1 équiv. d'anhydride itaconique avec 1 équiv. d'alcool *iso*-amylique en présence de la lipase dans 5 ml de TBME. La réaction est menée sous agitation magnétique à température ambiante durant 24 heures. (**Schéma 112**).

L'évolution de la réaction est suivie par chromatographie sur couche mince. Les mélanges réactionnels sont filtrés sur célite puis évaporées sous vide. Les caractéristiques structurales de produit synthétisé sont établies par les méthodes spectroscopiques (IR, RMN <sup>1</sup>H, RMN <sup>13</sup>C).

Les résultats obtenus sont résumés dans le tableau 8:

<sup>212</sup> (a) K. Yamamoto, T. Nishioka, J. Oda, Y. Yamamoto, *Tetrahedron Lett.* **1988**, 29, 1717. (b) Ozegowski, R.; Kunath, A.; Schick, H. *Tetrahedron: Asymmetry*. **1995**, 6, 1191. (c) I. Atodiressei, I. Schiffers, and C. Bolm. *Chem. Rev.* **2007**, 107, 5683-5712.



**Schéma 112** : Ouverture enzymatique de l'anhydride itaconique par l'alcool Iso-amyle.

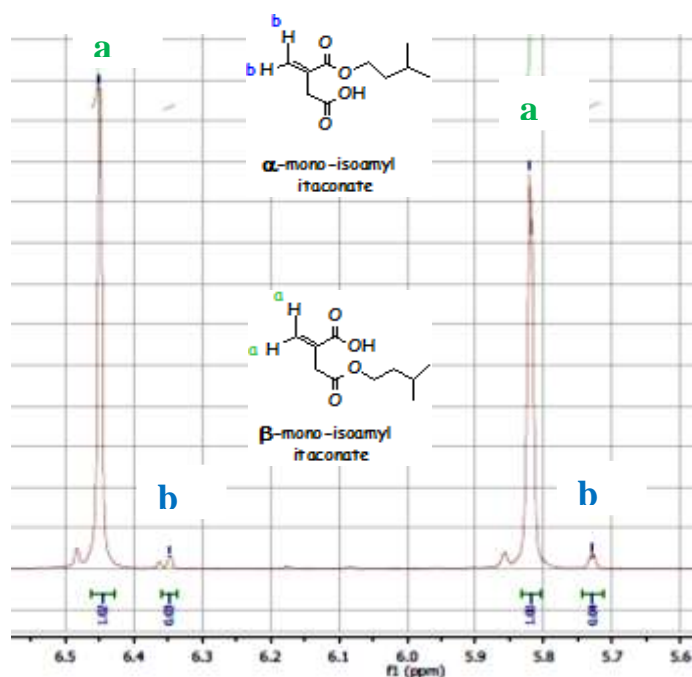
Les résultats montrent une ouverture hautement régiosélective de l'anhydride itaconique qui dépend de la nature de la lipase. Le  $\beta$ -isoamyl itaconate est obtenu à 90% avec un rendement 60% (**Tableau 8, entrée 4**) en utilisant 300 mg de la *PCL* et dans le TBME. Le rendement de la réaction a été optimisé en ajustant le taux catalytique *PCL* de 80 mg à 300 mg (**Tableau 8, entrée 1-3**). La nature du solvant influe fortement sur la réactivité de la *PCL*, on constate une diminution du rendement lors de l'utilisation de THF (Rdt = 20%) (**Tableau 8, entrée 10**) ou de Toluène (Rdt = 5%) (**Tableau 8, entrée 8**) avec la même régiosélectivité d'ouverture de l'AIT, d'autre part aucune réaction n'est observée dans l'acétate d'éthyle (**Tableau 8, entrée 9**).

**Tableau 8 :** Acylation de l'AIIt avec l'alcool iso-amyle avec des lipases.

Entrée	Lipase (mg)	Solvant	Itaconate mono-ester $\beta/\alpha$	Rdt %
1	<i>PCL</i> (80)	TBME	90/10	20
2	<i>PCL</i> (100)		90/10	27
3	<i>PCL</i> (200)		90/10	27
4	<i>PCL</i> (300)		90/10	60
5	<i>Sans</i>		-	-
6	<i>CRL</i> (80)		-	-
7	<i>CAL-B</i> (150)		40/60	60
8	<i>PCL</i> (300)	Toluène	90/10	5
9	<i>PCL</i> (300)	Acétate d'éthyle	-	-
10	<i>PCL</i> (300)	THF	90/10	20

<sup>(a)</sup> 1mmol anhydride itaconique, 1mmol alcool, dans 5ml de solvant avec la Lipase durant 24h à 25°C. <sup>(b)</sup> Rendements chimiques de produit isolé après recristallisation dans un mélange hexane/chloroforme (98 :2) <sup>(c)</sup> Les proportions des formes isomères sont quantifiées RMN H<sup>1</sup>.

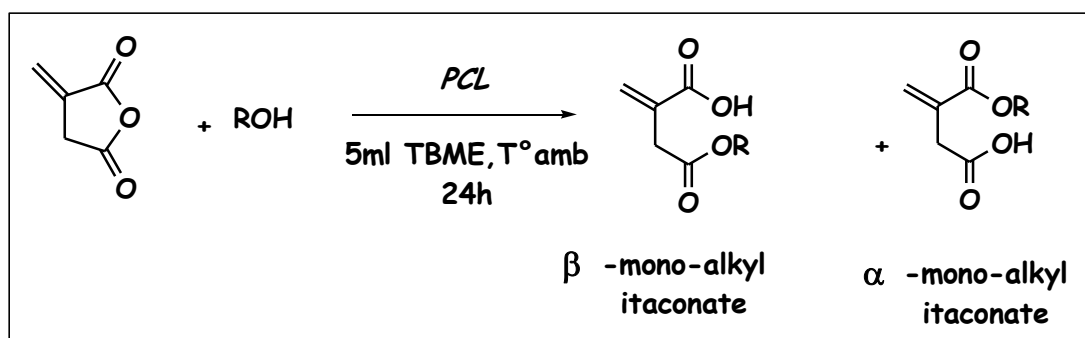
Par ailleurs, la lipase *CRL* est totalement inactive (Tableau 8, entrée 6). On constate également aucun avancement en absence de lipase même dans le TBME (Tableau 8, entrée 5). L'utilisation de la lipase *CAL-B* conduit à une ouverture peu sélective de l'AIIt confirmée par l'obtention des deux produits de l'ouverture ( $\beta$ ,  $\alpha$ ) avec une proportion de (40 : 60). La **Figure 21** présente un agrandissement de la RMN du dérivé mono-isoamylitaconate. Afin de quantifier la proportion de formes isomères, les déplacements chimiques des protons à double liaison ont été utilisés. Les déplacements chimiques à 6,45 et 5,82 ppm correspondent aux protons à double liaison de la *forme  $\beta$* , et à 6.35 et 5.73 ppm correspondent aux protons à double liaison de la *forme  $\alpha$* .



**Figure 21:** Agrandissement du spectre RMN  $^1\text{H}$  du mono-isoamylitaconate.


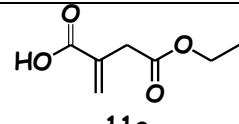
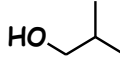
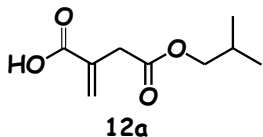
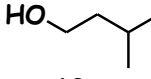
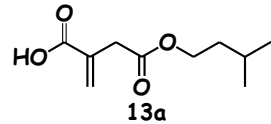
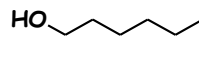
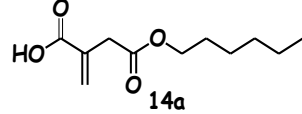
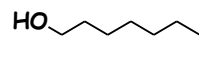
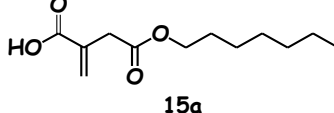
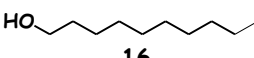
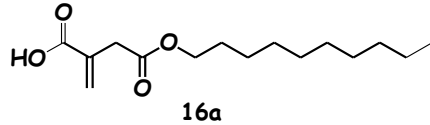
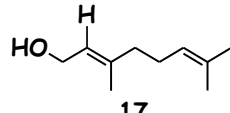
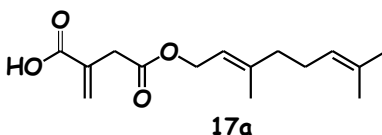
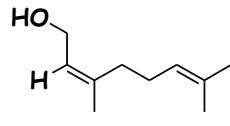
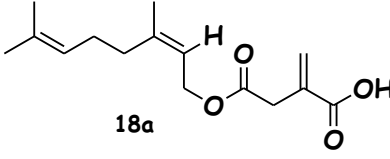
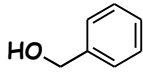
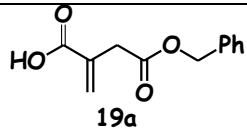
### VI-3-3. Application de l'acylation de l'AIT à une série d'alcools primaires :

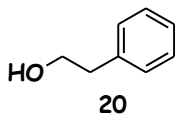
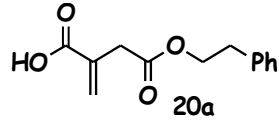
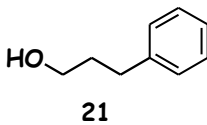
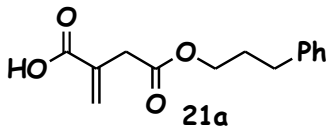
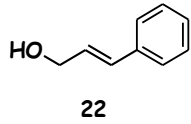
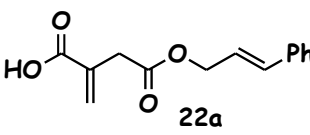
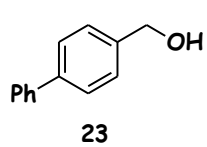
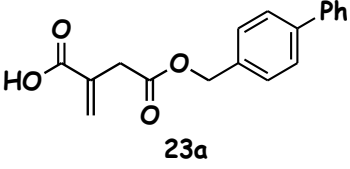
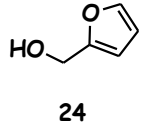
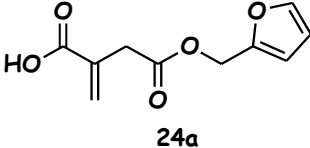
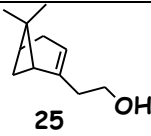
Vu les résultats significatifs de la réaction d'ouverture d'anhydride itaconique obtenu avec l'alcool *Iso*-amylique dans les conditions optimisées avec la lipase *PCL* dans le TBME, nous avons poursuivi cette étude avec divers alcools primaires susceptibles de former des monoesters fonctionnalisés très intéressants. Pour ce faire, la réaction d'ouverture est réalisée sur 1 equiv. d'anhydride itaconique avec 1 equiv. d'alcool en présence de 300 mg de la lipase *PCL* dans 5 mL de TBME. La réaction est menée sous agitation magnétique à température ambiante durant 24 heures (*Schéma 113*). Le rendement est calculé après extraction du produit et recristallisation dans un mélange hexane /chloroforme: 98 / 2. La proportion des formes isomères est quantifiée par RMN  $^1\text{H}$ . Les résultats sont réunis dans le tableau 9.



**Schéma113 :** Ouverture enzymatique de l'anhydride itaconique par les alcools primaires.

**Tableau 9 :** L'acylation de l'anhydride itaconique par différents alcools primaires avec la lipase *PCL*.

Entrée <sup>a</sup>	ROH	Equiv.	Produit	Rdt (%) <sup>b</sup>	$\beta/\alpha$ (%) <sup>c</sup>
1	 11	1	 11a	50	90/10
		2		90	
2	 12	1	 12a	43	90/10
		2		90	
3	 13	1	 13a	60	90/10
4	 14	1	 14a	30	90/10
		2		85	
5	 15	1	 15a	80	97/3
6	 16	1	 16a	90	>99
7	 17	1	 17a	82	90/10
8	 18	1	 18a	80	90/10
9	 19	1	 19a	80	90/10

10		1		71	98/2
11		1		90	97/3
12		1		60	96/4
13		1		50	90/10
		2		50	
14		1		85	>99
15		1	-	-	-

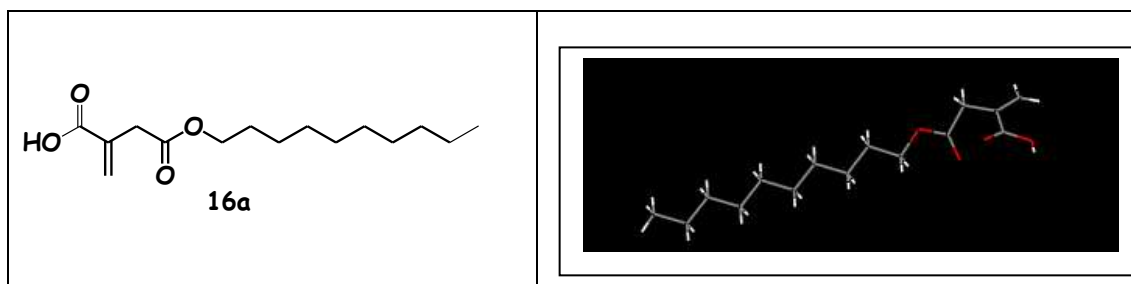
<sup>(a)</sup> 1mmol anhydride itaconique est ajoutée 1mmol alcool en présence de 300mg de *PCL* dans 5ml de TBME durant 24h à Tamb. <sup>(b)</sup> Rendements chimiques du produit isolé après recristallisation dans un mélange (hexane/chloroforme: 98 :2). <sup>(c)</sup> Quantification de la proportion de formes isomères par le spectre RMN H<sup>1</sup>.

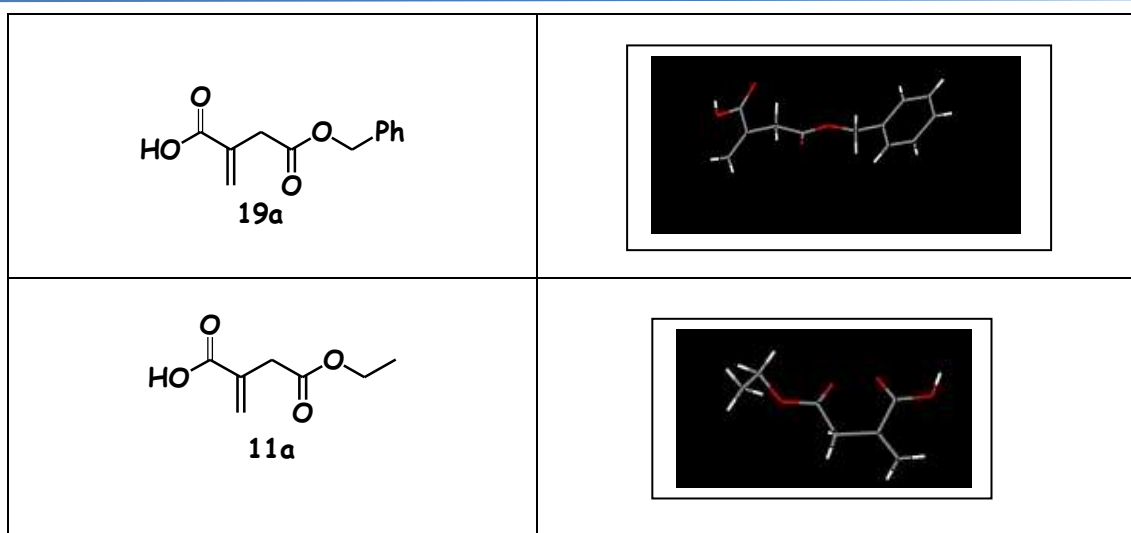
Les résultats du **Tableau 9** montrent que l'acylation de l'anhydride itaconique par différents alcools primaires avec la lipase *PCL* est hautement régiosélective dans les conditions optimisées. L'ouverture de l'AIIt conduit à l'isomère  $\beta$  avec une pureté de 90-99% et ce avec tous les alcools étudiés. On constate une influence importante de la structure d'alcool sur le rendement de la réaction, les rendements chimiques des monoesters-itaconates formés sont variant entre  $50\% \leq \text{Rdt} \leq 90\%$ . Lorsque les rendements sont modérés l'analyse RMN des produits de réaction révèlent des traces d'alcool, d'anhydride AIIt et son dérivé diacide.

Avec les dérivés alcanols, l'ouverture de AIIt avec des alcools linéaires de différentes longueurs de chaînes les meilleurs résultats sont obtenus avec les plus longues chaînes. En

effet les alcools **15** et **16** conduisent aux  $\beta$ -monoesters-itaconates **15a** et **16a** avec une régiosélectivité  $> 97\%$  et des rendements entre 80-90%. Le *Mono-Heptyl itaconate* est  $\beta$  à 97% avec un rendement de 80% (**Tableau 9, entrée 5**) et le *Mono-Decyl itaconate* est à 99%  $\beta$  avec un rendements de 90% respectivement (**Tableau 9, entrée 6**). Pour les alcools linéaires avec des chaînes plus courtes, on constate que le rendement de l'acylation est fortement amélioré en doublant la quantité d'alcool dans le milieu. En effet, pour l'alcool **14** le « *Mono-Hexyl itaconate* » **14a** le rendement passe de 30% à 85% lorsque le nombre d'équiv. d'alcool est doublé (**Tableau 9 entrée 4**). Cette amélioration est également observée pour les alcools **11** et **12**, où les rendements de **11a** « *mono-Ethyl itaconate* » et **12a** « *Mono-Isobutyl itaconate* » atteignent un rendement de 90% (**Tableau 9 entrée 1 et 2**), et ce, sans aucune perturbation de la régiosélectivité lipasique. Avec le Giraniol **17** et son isomère le Nérol **18**, l'ouverture lipasique de AIt régiosélective a eu lieu avec une proportion de 90% de  $\beta$ -itaconate avec 80% de rendements dans les deux cas.

Pour les alcools benzyliques, **19**, **20**, **21** et **22**, la régiosélectivité de l'estérification de AIt pour le dérivé  $\beta$  reste supérieure à 96% mais on constate que si les rendements varient de 71-97% pour les alcools **19**, **20**, **21** ce n'est pas le cas pour l'ester acide **22a** obtenu un rendement d'à peine 60% (**Tableau 9, entrées 9-12**). Pour l'alcool **23**, on constate une  $\beta$ -régioisomérisation à 90% mais avec un rendement modéré même si 2 equiv. d'alcool sont ajoutés dans le milieu réactionnel, cela est probablement dû à des contraintes stériques de l'alcool substitué par un phényle (**Tableau 9, entrée 13**). Avec l'alcool furfurylique **24**, l'estérification de AIt est hautement régiosélective pour l'ester acide  $\beta$  ( $>99\%$ ) avec un bon rendement de 85% (**Tableau 9, entrée 14**). Pour le Nopol **25**, l'estérification avec l'AIt n'a pas eu lieu, cela peut être également attribué à des contraintes stériques due à la structure bicyclique de cet alcool. (**Tableau 9, entrée 15**). La proportion des régioisomères est quantifiée par RMN  $H^1$ , et elle est confirmée par les RX pour les dérivés **16a**, **19a** et **11a** (**Figure 22**).





**Figure 22:** Rayons X des esters acides *11a*, *16a* et *19a*.

#### VI-4. Etude de la sélectivité d'acylation enzymatique de l'anhydride itaconique avec les alcools secondaires :

Dans la continuité des travaux, nous examinons l'estérification de l'anhydride itaconique sur une série d'alcools benzyliques secondaires chiraux. Dans ce cas, les alcools sont racémiques et l'étude concerne également la sélectivité de lipase dans la réaction de dédoublement cinétique pour accéder à des isomères optiquement purs.

##### VI-4-1.Objectif et choix des alcools :

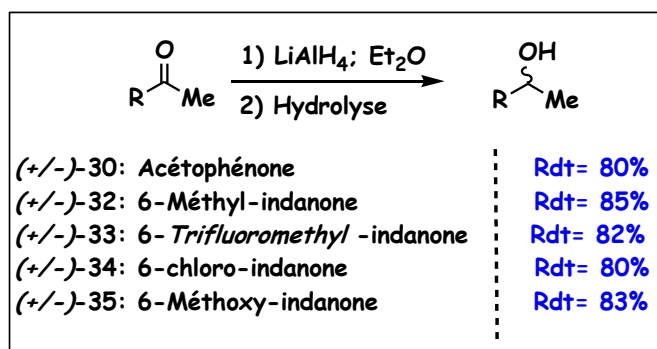
L'étude de la réaction de dédoublement cinétique a été effectuée des divers alcools secondaires benzyliques à chiralité centrales en présence de l'anhydride itaconique comme agent acylant et la lipase *PCL* selon le protocole opératoire mis au point lors de d'acylation enzymatique de l'anhydride itaconique avec les alcools primaires, présenté précédemment.

Les substrats choisis sont des alcools benzyliques secondaires chiraux de type "*1-aryl-alkyl-carbinols*" qui présentent un grand intérêt, en raison de leur implication dans d'un large éventail de blocs de construction chirales importants<sup>213</sup> et leur activité biologique.<sup>214</sup>

<sup>213</sup> (a) S-C. Stinson, Chiral drugs. *Chemical and engineering News*, **1992**, 46-79; (b) X. Lin, X. Dai, Z. Mao, Y. Wang, *Tetrahedron: Asymmetry*, **2009**, 65, 1763-1766 ; (c) M. Assie, J-Y. Legros, J. C. Fiaud, *Tetrahedron: Asymmetry*, **2005**, 16, 1183-1187; (d) J-Y. Legros, M. Toffano, J. C. Fiaud, *Tetrahedron*, **1995**, 51, 3235-3246.

<sup>214</sup> T. Nishikawa, M. Yoshikai, K. Obi, M. Isobe, *Tetrahedron Letters*, **1994**, 35, 7997-8000.

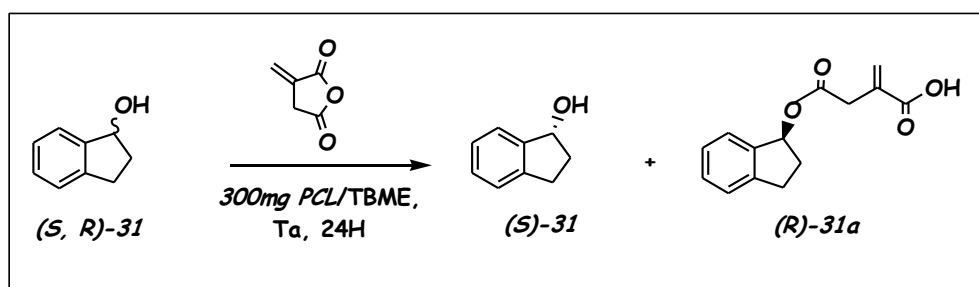
Les alcools **26**, **27**, **28**, **29** et **31** sont commerciaux. Les alcools racémiques **30**, **32**, **33**, **34** et **35** sont obtenus par réduction des cétones commerciales correspondantes par hydrure d'aluminium et de lithium ( $\text{LiAlH}_4$ ) dans l'éther anhydre. Cet agent réducteur génère *in situ* un complexe hydrure qui réagit sur le carbonyle de la cétone pour la convertir en l'alcool avec des rendements variant entre 80-85% (*Schéma 114*).



*Schéma 114*: Synthèse chimique des alcools racémiques (30-35).

#### VI-4-1. Acylation sélective de l'anhydride itaconique avec alcools secondaires :

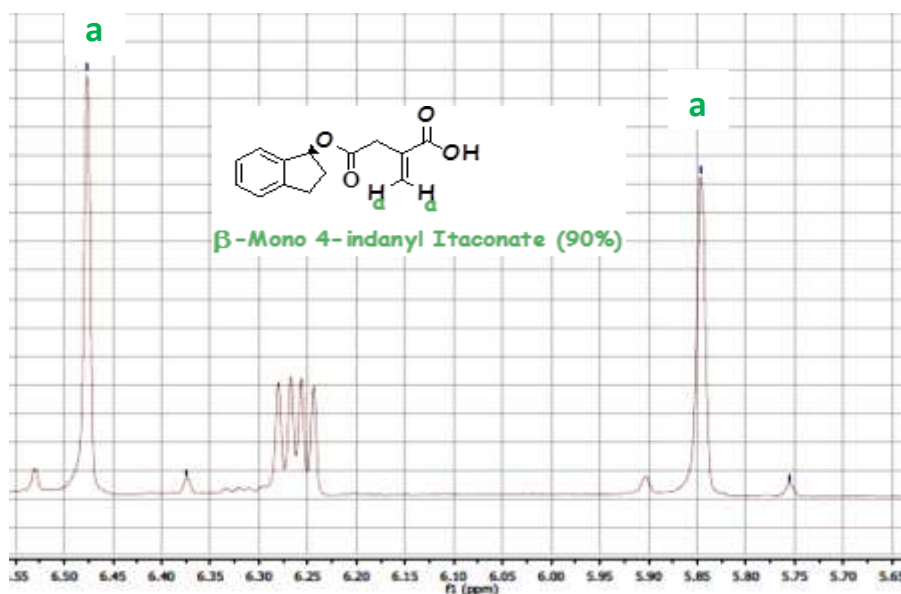
L'étude de la régio et de l'énantiosélectivité de l'acylation de l'anhydride itaconique par la lipase *PCL* avec des alcools secondaires benzyliques est initiée sur un alcool secondaire modèle: l'indanol. La réaction est réalisée sur 1mmole d'indan-1-ol en présence d'un équivalent d'AIt et de 300 mg d'enzyme (*PCL*) dans 5ml de TBME (*Schéma 115*), c'est un dédoublement cinétique car le substrat est un racémique.



*Schéma 115*: Estérification de l'anhydride itaconique par l'indan-1-ol avec la *PCL*.

Après 24 heures d'agitation, la lipase est filtrée, Le produit formé et l'alcool résiduel sont récupérés par une simple extraction liquide-liquide (Acido-basique). Les rendements chimiques sont évalués après séchage et évaporation sous vide. Le produit de la réaction; le

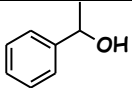
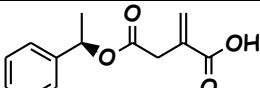
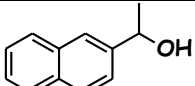
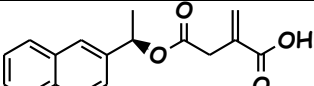
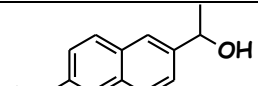
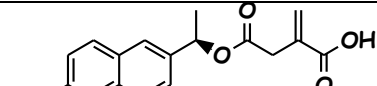
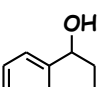
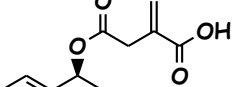
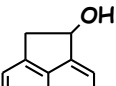
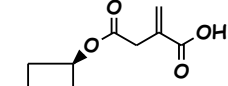
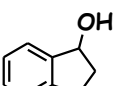
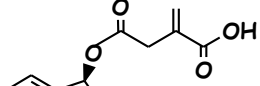
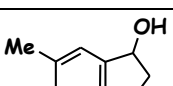
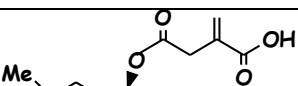
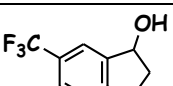
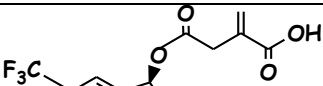
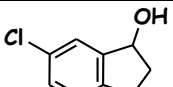
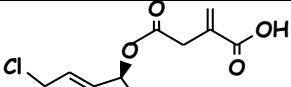
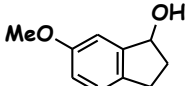
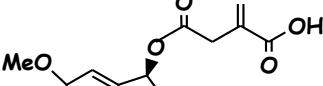
**Mono 4-indanyl Itaconate** est obtenu sous forme du régioisomère forme  $\beta$  (90%) largement majoritaire. La régiosélectivité a été confirmée par la RMN du proton. (**Figure 23**).



**Figure 23** : Agrandissement du spectre RMN  $^1\text{H}$  du Mono 4-indanyl Itaconate.

Les résultats montrent que le rendement de la réaction avec l'indanol est de 40% en ester acide et que de 40% d'alcool est récupéré. Sur cet alcool secondaire racémique, on observe un dédoublement cinétique de l'indanol où la lipase *PCL* présente une haute affinité envers un énantiomère de l'alcool pour former l'hémi-ester et ne réagit pas ou peu avec le second énantiomère. Si la réaction d'acylation avec la *PCL* et l'AlIt est sélective, seul l'énantiomère de (*R*) l'indanol réagit pour donner l'indanyl itaconate, l'énantiomère (*S*) reste inchangé. La réaction est ensuite appliquée aux autres alcools **26-35** objets de l'étude. Les résultats sont réunis dans le tableau10.

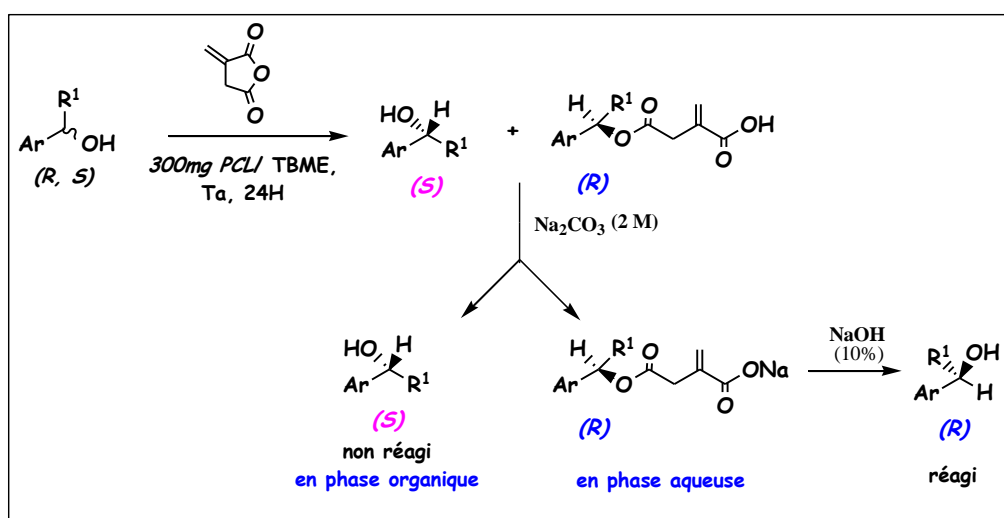
**Tableau 10 :** Acylation de l'Alt par des alcools secondaires avec la lipase *PCL*.

Entrée <sup>a</sup>	Alcools secondaires	Produit	Rdt(%) <sup>b</sup>
1	 rac-26	 (R)-26a	07
2	 rac-27	 (R)-27a	06
3	 rac-28	 (R)-28a	10
4	 rac-29	 (R)-29a	04
5	 rac-30	 (R)-30a	40
6	 rac-31	 (R)-31a	40
7	 rac-32	 (R)-32a	10
8	 rac-33	 (R)-33a	36
9	 rac-34	 (R)-34a	38
10	 rac-35	 (R)-35a	18

<sup>(a)</sup> 1mmol anhydride itaconique est ajoutée 1mmol alcool en présence de 300mg de *PCL* dans 5ml de TBME durant 24h à Tamb. <sup>(b)</sup> Rendements chimiques du produit isolé.

La réaction est régiosélective et un  $\beta$  mono ester acide itaconique est obtenu mais les rendements en hémioester sont inférieurs à 40%. Pour les alcools **30**, **31**, **33** et **34** les rendements varient entre 36% < Rdt < 40% (**Tableau 10, entrées 5-6, 8-9**) ce qui signifie que la lipase est réactive et peut être sélective mais pour les autres alcools (**26, 27, 28, 29, 32, 35**) le rendement, plus faible 6% < Rdt < 18% indique une faible réactivité de la *PCL* pour l'ouverture de l'AIIt vis à vis de ces substrats.

Dans une seconde étape, nous avons évalué le dédoublement cinétique de l'acylation avec la *PCL* par l'AIIt de ces alcools secondaires. Le traitement classique, utilisé avec les anhydrides d'acides comme agents acylants, est appliqué dans ce cas. On récupère la forme alcool à partir de l'hémioester formé par traitement de la phase aqueuse et l'alcool non réagi est récupéré directement dans la phase organique. Les excès énantiomériques et le pouvoir rotatoire sont mesurés à partir des alcools récupérés. (**Schéma 116**).

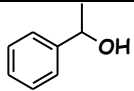
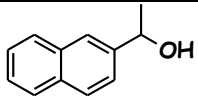
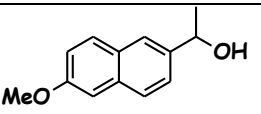
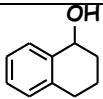
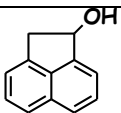
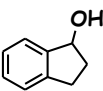
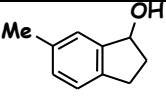
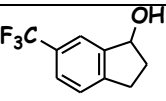
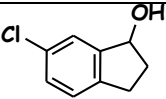
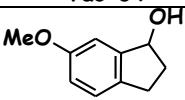


**Schéma 116 :** Dédoublement cinétique par la *PCL* d'alcools secondaires avec l'AIIt.

L'évolution de la réaction est suivie par chromatographie sur couche mince. Les mélanges réactionnels sont filtrés sur célite puis évaporés sous vide. Après filtration de la lipase, le mélange réactionnel est récupéré et soumis à un lavage avec une solution basique qui permet de séparer les deux énantiomères, celui qui a réagi sous forme d'ester acide dans la phase aqueuse et l'alcool qui n'a pas réagi dans la phase organique. L'avancement des réactions et les excès énantiomériques des substrats résiduels et des produits obtenus sont déterminés par HPLC chirale. Cette procédure a été appliquée sur tous la série d'alcools secondaires

benzyliques (26-35) dans les mêmes conditions. Les résultats obtenus sont résumés dans le tableau 11.

**Tableau 11 :** Dédoublage cinétique par la *PCL* d'alcools secondaires avec l'*Alt*.

Entrée (a)	Substrat	ee <sub>P</sub> (%) <sup>(b)</sup>	Rdt (%) <sup>(c)</sup>	ee <sub>S</sub> (%) <sup>(b)</sup>	Rdt (%) <sup>(c)</sup>	C (%) <sup>(d)</sup>	E <sup>(d)</sup>
1	 rac-26	76	7	8	60	9	8
2	 rac-27	94.6	6	8.6	65	8	39
3	 rac-28	79	10	11	70	12	10
4	 rac-29	72	4	3.4	53	4	6
5	 rac-30	95	40	99	45	51	>200
6	 rac-31	98	40	81	43	45	>200
7	 rac-32	75	10	12	60	14	8
8	 rac-33	70	36	45	52	39	9
9	 rac-34	71	38	59	40	45	11
10	 rac-35	90	18	24	50	21	24

<sup>(a)</sup> 1mmol anhydride itaconique, 1mmol alcool, en présence de 300mg de *PCL*, dans 5ml de TBME, 24h à 25°C. <sup>(b)</sup> ee: Mesuré par HPLC chirale ou GC. <sup>(c)</sup> Conversion :  $C = ee_S / ee_P + ee_S$ ; facteur de sélectivité:  $E = \ln [(1-C) (1-ee_S)] / \ln [(1-C) (1+ee_S)]$ . <sup>(d)</sup> Rendement isolé.

Le DC des alcools secondaires par l'AlIt avec la *PCL* montre que la réactivité et la sélectivité de la lipase sont très dépendants de la structure de l'alcool. On constate une haute sélectivité de la *PCL*  $E > 200$  pour l'*acénaphthén-1-ol* (**30**) et l'*indan-1-ol* (**31**) avec des conversions optimales,  $C = 51\%$  et  $C = 45\%$  respectivement (**Tableau 11, entrées 5-6**). Pour les alcools *6-Méthoxy-indan-1-ol*, **35** et *1-(2-Naphthyl) éthanol*, **27** la sélectivité est modérée avec  $E = 24$  et  $E = 39$  respectivement mais la conversion est meilleure  $C = 21\%$  pour le *Méthoxy-indan-1-ol* que pour *1-(2-Naphthyl) éthanol*  $C = 8\%$  (**Tableau 11 entrées 2 vs 10**). Avec des sélectivités et des conversions très faibles ( $E < 10$  et  $C < 13$ ), la *PCL* n'est ni réactive, ni sélective pour les alcools (**26**), (**28**), (**29**), (**32**) (**Tableau 11, entrées 1, 3, 4, 7**). Ces alcools sont de mauvais substrats pour la *PCL* avec l'anhydride itaconique. La réactivité de la *PCL* est meilleure pour les alcools *6-Chloro-indan-1-ol*, (**34**) ( $C = 45\%$ ) et *6-Trifluorométhyl-indan-1-ol*, (**33**) ( $C=39\%$ ) même si sa sélectivité reste faible ( $E < 11$ ) (**Tableau11 entrées 8-9**).

Si on compare la sélectivité et la réactivité de la *PCL* pour l'*indan-1-ol* (**31**) avec celles des dérivés alcools (**32**), (**33**), (**34**) et (**35**) on constate que la présence de groupements électroattracteur «  $CF_3$ ,  $Cl$ ,  $OMe$  » en position 6 sur le phényle jouent en défaveur la sélectivité de la lipase mais avec une conversion supérieure à 21%. L'influence est plus importante pour la présence d'un groupement électro-donneur le ( $CH_3$ ) où la lipase n'est plus ni active ni sélective.

Le DC de l'alcool tertiaire le linalool (**36**) par l'AlIt avec la *PCL* n'a pas eu lieu, cela peut être attribué à des contraintes stériques sur le carbone asymétrique.

On sait que la réactivité et la sélectivité de la *PCL* sont plus faibles lors de l'acylation des alcools secondaires et tertiaires avec l'anhydride succinique, par rapport aux esters d'énols dans les conditions d'agitation conventionnelle.<sup>215</sup> Dans le cas de l'AlIt, la présence de l'oléfine implique un encombrement encore plus important pour la formation de l'acyl-enzyme. Par ailleurs, on sait que le site actif de la *PCL* a la forme d'un entonnoir elliptique et que le site catalytique actif est à la base de l'entonnoir<sup>216</sup> impliquant une insertion totale du substrat pour l'atteindre. Tous ces éléments peuvent expliquer les résultats obtenus.

<sup>215</sup> Réf 74 : N. Melais, M. Boukachabia, L. Aribi-Zouioueche, O. Riant. *Bioprocess Biosyst Eng*, **2015**, 38, 1579-1588.

<sup>216</sup> S. Jammer, D. Rizkov, F. Gelman, , O. Lev. *Environmental Science: Processes & Impacts*, **2015**, 17, 1370-1376.

### VI-5. CONCLUSION :

L'AIIt est un précurseur idéal pour accéder à divers blocs constitutifs polyfonctionnels biosourcés chiraux et l'utilisation de catalyseurs enzymatiques est une approche particulièrement intéressante pour accéder à des matériaux renouvelables. Dans ce chapitre, nous avons mis en œuvre l'acylation sélective de l'anhydride itaconique avec des alcools primaires et secondaires par catalyse lipasique pour accéder à une bibliothèque d'esters fonctionnalisés originaux de manière régio et énantiosélective, sous des conditions éco-compatibles. L'étude de la réaction est réalisée avec l'alcool iso-amylique et diverses lipases et solvants. L'acylation de l'AIIt est hautement régiosélective avec la lipase *PCL*, l'isoamyl itaconate est obtenu avec 90% de régioisomère  $\beta$  et un rendement 60% dans le TBME. L'acylation de l'AIIt par l'alcool iso-amylique avec *CRL* est totalement inactive et avec la *CAL-B* elle donne les deux produits de l'ouverture ( $\beta$ ,  $\alpha$ ) avec une proportion de (40 : 60).

Dans les conditions optimisées, l'acylation de l'AIIt par une série de 15 alcools primaires avec la lipase *PCL* est hautement régiosélective et conduit à l'isomère  $\beta$  avec une pureté variant de 90-99% et ce, avec tous les alcools étudiés. Une influence importante de la structure d'alcool sur le rendement de la réaction est observée. Les rendements chimiques des monoesters-itaconates formés varient entre  $50\% \leq \text{Rdt} \leq 90\%$ . Avec les dérivés alcanols, les meilleurs résultats sont obtenus avec les chaînes les plus longues et pour les alcools linéaires avec des chaînes plus courtes, le rendement de l'acylation est fortement amélioré en doublant la quantité d'alcool dans le milieu. Avec les alcools primaires benzyliques, la régiosélectivité de l'estérification de AIIt pour le dérivé  $\beta$  reste supérieure à 96% mais on constate que les rendements varient de 60-97%. Avec l'alcool furfurylique, l'estérification de AIIt est hautement régiosélective pour l'ester acide  $\beta$  (>99%) avec un bon rendement de 85%.

L'anhydride itaconique est utilisé sur une série de 10 alcools benzyliques secondaires racémiques et les résultats du DC avec la lipase *PCL* sont très variables et dépendent essentiellement de la structure des alcools. La réaction est régiosélective avec une proportion de 90% de  $\beta$ -isomère. Les meilleurs résultats sont obtenus pour *l'indan-1-ol* et *l'acétophén-1-ol* ou on observe de hautes sélectivités  $E > 200$  et des conversions élevées  $45\% < C < 51\%$ . Ces résultats sont importants dans le cadre de la préparation des monoesters-itaconates énantio-purs biodégradable issus de la biomasse végétale. On constate que la présence de groupements électro-attracteur « *CF<sub>3</sub>, Cl, OMe* » en position 6 sur le phényle jouent en défaveur la sélectivité de la lipase mais avec une conversion supérieure à 21%. L'influence est plus importante pour la présence d'un groupement électro-donneur le (*CH<sub>3</sub>*) où la lipase n'est plus ni active ni sélective.



**CONCLUSION GENERALE**

## CONCLUSION GENERALE

Les travaux de cette thèse sont orientés vers la mise au point de nouvelles voies simples, efficaces et durables pour parvenir à l'élaboration d'édifices moléculaires énantiopurs à haute valeur ajoutée par catalyse avec des lipases.

**Dans un premier volet**, nous avons étudié les différents éléments qui influent sur la performance catalytique lipasique pour obtenir des molécules chirales d'un grand intérêt avec la mise en œuvre d'une nouvelle approche d'hydrolyse enzymatique alcaline en milieu organique nouvellement développée au laboratoire. La combinaison de ce nouveau procédé d'hydrolyse avec la réaction de Mitsunobu est appliquée pour la déracémisation de nouveaux types de substrats racémiques: (1) le *3-(1-hydroxy-éthyl) phénol*, ce diol est une sous-unité structurelle importante pour accéder à diverses substances médicamenteuses importantes (2) une série d'alcools benzyliques hétéroaromatiques, fragments communs importants trouvés dans plusieurs composés bioactifs naturels et non naturels. **Dans le second volet**, nous avons introduit l'anhydride itaconique pour la préparer des molécules intéressantes entièrement bio-dérivés. Cette molécule, abondamment disponible à partir de la biomasse est introduite avec divers alcools en acylation enzymatique pour la préparation de monomères fonctionnalisés intéressants entièrement bio-sourcés.

**Le premier volet de cette thèse** développe l'application d'une nouvelle hydrolyse alcaline en milieu organique combinée à la stéréoinversion de Mitsunobu pour la déracémisation de nouveaux types de substrats racémiques: (1) un diol, le *3-(1-hydroxy-éthyl) phénol* et (2) une série d'alcools benzyliques hétéroaromatiques,

(1)- La réaction d'hydrolyse alcaline enzymatique en milieu organique est tout d'abord étudiée pour accéder efficacement aux énantiomères (*S*) et (*R*) du *3-(1-hydroxyéthyl) phénol* qui sont des intermédiaires clés respectivement pour la synthèse (*S*)-*Rivastigmine* et la (*R*)-*Phényléphrine*. La réaction hydrolyse alcaline sur *rac-3-(1-Acétoxyéthyl)phényl acétate* avec la **CAL-B** et du carbonate de sodium en milieu organique dans des conditions optimisées permet d'observer une régio- et énantiosélectivité élevées: le (*R*)-*3-(1-hydroxyéthyl) phénol* est obtenu avec 99% ee et le (*S*)-*2-(1-acétoxyéthyl) phénol* avec 98% ee à une haute sélectivité  $E > 200$  et une conversion optimale  $C = 50\%$ . Deux approches de déacylation sont comparées: l'alcoololyse avec le MeOH et une déacylation en présence de triéthylamine. Le dédoublement cinétique enzymatique du *3-(1-Acétoxyéthyl)phényl acétate* par alcoololyse est hautement

énantiosélectif et fourni le **(R)-3** diol optiquement pur (ee >99%) mais à une conversion qui ne dépasse pas C = 33% après 3 jours. Tandis que la déacylation en présence de la triéthylamine a donné lieu au mono acétate **1** uniquement. La réaction d'acylation du 3-(1-hydroxyéthyl) phénol par la **CAL-B** avec l'acétate de vinyle est également examinée. Les meilleurs résultats sont obtenus par hydrolyse alcaline mais une bonne régio et énantiosélectivité est également observée dans les réactions d'alcoololyse et d'acylation. Dans tous les cas, une hydrolyse sélective des groupes hydroxyle phénoliques en présence de groupe hydroxyle aliphatique a été obtenue.

La déracémisation par hydrolyse alcaline catalysée par la lipase **CAL-B** associée à l'estérification de Mitsunobu permet d'avoir l'ester avec un excès énantiomérique de seulement ee = 66% bien que les énantiomères (*S*) et (*R*) soient obtenus avec un 98% ee après hydrolyse alcaline. Enfin, ces énantiomères énantio-purs, intermédiaires clés pour l'accès à la (*S*)-(-)-Rivastigmine et à la (*R*)-(-)-Phénylphrine, sont obtenus avec une énantio-purité élevée à partir du diacétate racémique correspondant par hydrolyse par la **CAL-B** par du carbonate de sodium en milieu organique.

**(2)-** La réaction d'hydrolyse alcaline enzymatique en milieu organique est ensuite appliquée aux alcools hétéroaromatiques racémiques **4a-10a**. L'hydrolyse alcaline avec la **CAL-B** en présence de 1 équivalent de Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> dans le THF est hautement sélective (E > 200) avec des conversions élevées 46% < C < 50% pour l'ensemble des substrats à l'exception du **Cis-2-Phényl-4-Chromanol 4a** ou une faible conversion C = 2% est notée dans les mêmes conditions. La meilleure résolution de ce substrat (E > 100 et C = 50%) est enregistrée dans l'heptane, solvant hydrophobe qui permet également une meilleure solubilité de la molécule pour une charge catalytique de 200 mg de **CAL-B**. L'introduction du processus de déracémisation via la réaction de Mitsunobu permet d'obtenir les acétates **5a-8a** avec des excès énantiomériques élevés 88% < ee < 92% et des rdt > 80%. Cela n'est pas le cas pour les acétates **9a** et **10a** où une chute des excès énantiomériques est observée après déracémisation 51% < ee < 62% avec des rendements chimiques entre 70% < Rdt < 82%.

**Dans le second volet de cette thèse**, nous développons de nouveaux monomères fonctionnalisés entièrement bio-dérivés par estérification enzymatique régio- et énantiosélective de l'anhydride itaconique par divers alcools primaires et secondaires dans des conditions durables.

L'étude de la réaction optimisée avec l'alcool iso-amylque, est hautement régiosélective avec la lipase **PCL**, l'isoamyl itaconate est obtenu avec 90% de régioisomère β et un rendement

60% dans le TBME. L'exemplification de l'acylation de l'anhydride itaconique catalysée par la *PCL* à une quinzaine d'alcools primaires conduit à l'isomère  $\beta$  avec une pureté variant de 90-99%, et ce, avec tous les alcools étudiés. Les rendements des monoesters-itaconates formés sont variables ( $50\% \leq \text{Rdt} \leq 90\%$ ), les meilleurs résultats sont obtenus lors de l'acylation de AIt avec les alcools aliphatiques ou les monoesters- itaconates **15a** et **16a** sont récupérées avec des rendements de **80%-90%** et une régiosélectivité de **97%-99%** respectivement. Avec les dérivés alcools alkyles, les meilleurs résultats sont obtenus avec les chaînes les plus longues et pour les alcools linéaires avec des chaînes plus courtes, le rendement de l'acylation est fortement amélioré en doublant la quantité d'alcool dans le milieu. Avec les alcools primaires benzyliques, la régiosélectivité de l'estérification de AIt pour le dérivé  $\beta$  reste supérieure à 96% mais on constate que les rendements varient de 60-97%. Avec l'alcool furfurylique, l'estérification de AIt est hautement régiosélective pour l'ester acide  $\beta$  ( $>99\%$ ) avec un bon rendement de 85% .

L'utilisation de l'anhydride itaconique lors d'acylation d'une dizaine d'alcools benzyliques secondaires catalysée par la *PCL* montre des résultats très variables qui dépendent essentiellement de la structure de ces derniers. Le meilleur résultat est obtenu avec *l'indan-1-ol* et *l'acétophén-1-ol* avec des conversions élevées  $45\% < C < 51\%$  et de hautes sélectivités  $E > 200$ . La régiosélectivité est réalisée avec une proportion de 90%. La présence de groupements électroattracteur «  $\text{CF}_3$ , Cl, OMe » sur le phényle jouent en défaveur la sélectivité de la lipase avec une conversion supérieure à 21%. L'influence est plus importante pour la présence d'un groupement électro-donneur le ( $\text{CH}_3$ ) ou la lipase n'est ni active ni sélective. Ces résultats sont des importants dans le cadre de la préparation des monoesters-itaconates énantiopurs, biodégradable par le biais de l'anhydride itaconique issu de la biomasse végétale.

Enfin, cette thèse, dans ses deux volets: **le premier**, consacré à la valorisation d'un nouveau mode d'hydrolyse alcalin en milieu aqueux sur de nouveaux composés et **le second**, au développement de l'utilisation de l'anhydride itaconique l'un monomères biosourcés les plus importants de la biomasse, a permis d'étendre l'accès à de nouvelles briques moléculaires chirales énantiopures en respectant plusieurs principes de chimie verte telles que:

- Utilisation de la catalyse (principe 9).
- Réduction de la dépense énergétique (principe 6) (utilisation des enzymes) ;

- Synthèses chimiques moins dangereuses (principe 3) (biocatalyse)
- Conception de produits chimiques plus sûrs (principe 4) (produits énantiopurs) ;
- Réduction de l'utilisation de solvants (principe 5) (utilisation d'anhydrides)



**PARTIE EXPERIMENTALE**

## GÉNÉRALITÉS

### ■ Réactifs et solvants :

#### ▪ Produits :

L'ensemble des produits utilisés (tels que reçus) dans ces travaux, disponibles sur le marché, ont été puisés des firmes Acros Organics, Alfa Aesar, Fluka, Janssen, Janssen Chemika, et Sigma Aldrich.

#### ▪ Lipases :

Les lipases mises en application sont commerciales, libres d'origine animale ou microbienne ou immobilisées sur un support acrylique.

#### ▪ Solvants :

Les solvants employés sont, avant leur mise à l'emploi, souvent purifiés par distillation sous argon sur un complexe "sodium-benzophénone" pour le THF et l'éther, et sur l'hydrure de calcium ( $\text{CaH}_2$ ) pour le toluène, l'hexane et le dichlorométhane ( $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ ). Les solvants destinés aux analyses HPLC sont filtrés sous vide.

### ■ Appareillage et méthodes expérimentales :

Les caractéristiques des produits synthétisés et / ou dédoublés ont été déterminées par les divers modes d'analyse suivants :

#### ▪ Méthodes spectrales :

↳ **Les spectres IR** conçus sur un appareil Spectrum One de chez Perkin Elmer. Les échantillons liquides sont déposés en film entre deux cellules de NaCl ou  $\text{CaF}_2$ , tandis que les solides sont préparés dans des pastilles de KBr parfaitement anhydre. Les nombres d'onde ( $\nu$ ) sont désignés en  $\text{cm}^{-1}$ .

↳ **Les spectres RMN 1H** enregistrés sur un spectromètre Brücker AM 250 à 250,13 MHz, AM 300 à 300,13 MHz ou AM 360 à 360,13 MHz dans une solution de chloroforme deutérié ( $\text{CDCl}_3$ ) avec le tétraméthylsilane (TMS) comme référence standard. Les déplacements chimiques ( $\delta$ ) sont indiqués en parties par million (ppm) et sont décrits par les notations suivantes : *s* (singulet), *d* (doublet), *t* (triplet), *q* (quadruplet), *m* (massif).

↪ **Les spectres RMN <sup>13</sup>C** établis sur un appareil *Brücker* AM 250 à 62,90 MHz ou AM 360 à 90,56 MHz. Les déplacements chimiques sont notifiés en ppm et sont mesurés par rapport à CDCl<sub>3</sub> pris comme référence interne.

↪ **Les spectres de masse (SM)** obtenus moyennant les services du laboratoire de spectroscopie de masse du bâtiment 410 de l'ICMMO à l'Université Paris-Sud 11 sur un appareil DSQ (*Thermo Scientific*) en utilisant l'électrospray (MH<sup>+</sup> / MNa<sup>+</sup>), l'ionisation chimique (MH<sup>+</sup> / MH-MNH<sub>4</sub><sup>+</sup>), ou l'impact électronique (M<sup>+</sup> / fragments).

#### ■ **Méthodes chromatographiques :**

Les chromatographies sur couche mince (CCM) réalisées sur des plaques de gel de silice (Merck 60 F254) en aluminium ou en plastique ; la détection des taches étant assurée par une lampe à lumière ultraviolette, ou par un révélateur chimique comme l'iode.

Les chromatographies liquides à haute performance (HPLC) permettant de déterminer les excès énantiomériques (ee) à l'aide d'une pompe P100 de Thermo Separation Product équipée de colonnes chirales de chez Regis Technologies de type (S, S)-WhelkO1 et (S, S)-Ulmo ou de chez Daicel de type Chiralpak OD-H, Chiralpak IA réglé à la longueur d'onde ( $\lambda = 254$  nm). Le système est lié à un ordinateur où les données sont interprétées par un logiciel "Azur". Les conditions d'élution sont souvent : hexane / isopropanol (i-PrOH) ou hexane / éthanol (EtOH) avec des proportions différentes et des débits variables.

Les chromatographies en phase gazeuse (CPG) effectuées sur un appareil GC-2010 Plus: *Chiralpak* Shimadzu Chiraldex G-BP ( 30m , 0.25mm ,0.12um )column, Méthode : 60°C pdt 20 min; rampe de 10°C/min; 180°C pdt 20min température injecteur et détecteur : 220°C, gaz vecteur Hydrogène,. Les appareils sont équipés d'un détecteur à ionisation de flamme (FID) avec l'hydrogène ou l'hélium comme gaz vecteurs.

Les chromatographies liquides sur colonne faites sur gel de silice Merck 230-400 Mesh (0,04-0,063 mm) avec souvent pour phase mobile des mélanges d'hexane / acétate d'éthyle et sous pression d'argon.

- **Polarimétrie :** *Les pouvoirs rotatoires* mesurés sur un polarimètre 341 de chez *Perkin Elmer* muni d'une cuve longue de 10 cm et d'une lampe au sodium ou au mercure.

## CHAPITRE IV

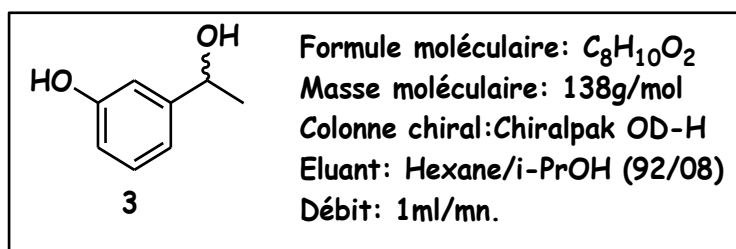
## HYDROLYSE ENZYMATIQUE DE 1-3-(HYDROXY PHENYL) ETHYLE-ACETATE

## ACETATE EN MILIEU NON CONVENTIONNEL

## ■ Procédures de Synthèse des racémique :

Préparation du rac-3-(1-hydroxy-éthyl) phénol 3:

Dans un bicol porté sous agitation magnétique et contenant une solution de cétone (10mmoles) dans 60 ml de THF est ajoutée, goutte à goutte, une solution de NaBH<sub>4</sub> (6 équivalents) dans un mélange de THF / H<sub>2</sub>O (4 / 1 : 80 ml / 20 ml) à 0°C. Le suivi de la réaction est assuré par chromatographie sur couche mince, et la réaction est arrêtée après la disparition totale de la cétone de départ après, généralement, 1 heure de temps. Le mélange réactionnel est neutralisé en ajoutant, précautionneusement et à froid, une solution de HCl (1N), avant que le solvant ne soit partiellement évaporé sous pression réduite et le résidu (dans l'eau) repris avec 3 x (90 ml) d'acétate d'éthyle. La phase organique est séchée sur MgSO<sub>4</sub> et est ensuite évaporée. **80%** rendement.

✚ Caractéristiques spectroscopiques :

**RMN <sup>1</sup>H (300 MHz, DMSO)** δ = 1.28 (d, J=6.5 Hz, CH<sub>3</sub>CHOH, 3H), 4.62 (q, J= 6.5 Hz PhCHOH, 1H), 5.08 (OH, 1H), 6.57-7.08 (m, 4H aromatiques), 9.26 (OH, 1H).

**RMN <sup>13</sup>C (75 MHz, DMSO)** δ = 26, 68.1, {112.2, 113.4, 116, 128.9, 149, 157.1.} (–C=C– aromatiques).

✚ Caractéristiques chromatographiques :

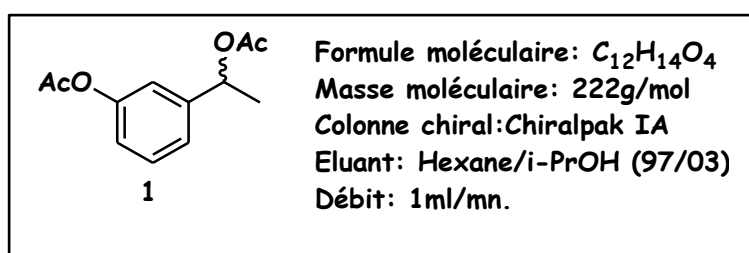
**Rapport frontal :** R<sub>f</sub> = 0,15. **Eluant (v,v):** Ether de pétrole / acétate d'éthyle (80/20).

**HPLC chirale:** Chiralpak OD-H. Débit : 1 ml/min.

**Temps de rétention :** t<sub>R</sub> = 14.52 min, t<sub>S</sub> = 16.48 min.

**Synthèse du rac- 3-(1-Acétoxyéthyl)phényl acétate 1 :**

Le diacétate 1 a été synthétisé par acylation chimique classique du *rac-3- (1-hydroxy-éthyl)phénol 3* (0.138 g, 1 mmol), en utilisant (0.306 g, 3 mmol) d'anhydride acétique, (0.242 g, 2.4 mmol) Et<sub>3</sub>N et quantité catalytique de 4-diméthylaminopyridine (0.024 g, 0.2 mmol) dans 4 ml de CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>. L'acétate (m = 0,177 g) est obtenu pur après le traitement standard avec un rendement de **80%**.

**✚ Caractéristiques spectroscopiques :**

**RMN <sup>1</sup>H (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ (ppm)** = 1.52 (d, J= 6.6 Hz, CH<sub>3</sub>CHO, 3H), 2 (s, CH<sub>3</sub>COCH, 3H), 2.29 (s, CH<sub>3</sub>COPh, 3H), 5.86 (q, J= 6.5 Hz, CH<sub>3</sub>-CH-OAc, 1H), 7-7.35 (m, 4H aromatiques)

**RMN <sup>13</sup>C (75 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ (ppm)** = 21.2, 22.2, 71.7, 119.3, 121.1, 123.6, 129.5, 143.4, 150.8, 169.4, 170.2.

**✚ Caractéristiques chromatographiques :**

**Rapport frontal :** R<sub>f</sub> = 0,8. **Eluant (v,v):** Ether de pétrole / acétate d'éthyle (80/20).

**HPLC chirale:** Chiralpak IA. Eluant : hexane/iPrOH Débit : 1 ml/min.

**Temps de rétention :** t<sub>R</sub> = 14.2, t<sub>S</sub> = 16.8 min.

**Procédure général des résolutions cinétiques enzymatiques:****Hydrolyse alcaline de rac-diacétate 1 via CALB:**

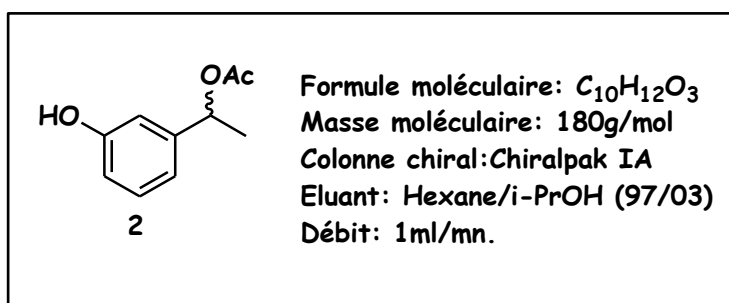
A 1 mmol du diacétate racémique 1 dissous dans un solvant organique, on ajoute une quantité de carbonate de sodium et de lipase **CAL-B**. La suspension a été agitée à 40 ° C pendant le temps indiqué. Le mélange réactionnel a été filtré sur célite et concentré sous vide. Le produit obtenu et le substrat restant ont été séparés par Chromatographie sur gel de silice (éther de pétrole / acétate d'éthyle: 80/20) et analysés par HPLC chirale.

**Alcoolse enzymatique de rac-diacétate 1 via CALB:**

Dans un petit ballon muni d'un barreau aimanté, sont disposés 1mmol du diacétate **1** racémique, 2 équivalents de MeOH, en présence de 40 mg de CAL-B, dans 3 mL de THF. La réaction est menée sous agitation magnétique à 40°C durant 72 heures. On ajoute 60 mg de tamis moléculaire 4Å. Ensuite, les mélanges réactionnels sont filtrés sur célite puis évaporés sous vide. L'avancement des réactions et les excès énantiomériques des acétates résiduels et des alcools obtenus sont déterminés par HPLC. Les rendements chimiques isolés sont évalués après séparation sur colonne de gel de silice avec un mélange d'éluant : Ether de pétrole/acétate d'éthyle (80/20).

**Déacylation enzymatique de rac-diacétate 1 via CALB en présence de Et<sub>3</sub>N:**

Dans un petit ballon muni d'un barreau aimanté, sont disposés 1mmol du *diacétate 1* racémique, 2 équivalents de Et<sub>3</sub>N, en présence de 40 mg de CAL-B, dans 3 mL de THF. La réaction est menée sous agitation magnétique à 40°C durant 72 heures. On ajoute 60 mg de tamis moléculaire 4Å. Ensuite, les mélanges réactionnels sont filtrés sur célite puis évaporés sous vide. Le résultat de la réaction a été contrôlé par CCM et confirmé par RMN Seul le *monoacétate 2* s'est formé. Le mélange réactionnel a été filtré sur célite et concentré sous vide.



✚ Caractéristiques spectroscopiques:

**RMN <sup>1</sup>H (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ (ppm)** 1.52 (d, CH<sub>3</sub>-CH-O, 3H), 2 (s, CH<sub>3</sub>-C=O, 3H), 5.84 (q, J= 6.5 Hz, CH<sub>3</sub>-CH-O, 1H), 6.02 (br, 1H, **OH**), 6.76-7.2 (m<sub>a</sub>, 4H aromatiques). **RMN <sup>13</sup>C (75 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ (ppm)** 21.5, 22.2, 72.6, 113.2, 115, 118.1, 129.9, 143.4, 150, 171.2.

✚ Caractéristiques chromatographiques :

**Rapport frontal :** R<sub>f</sub> = 0,6. **Eluant (v, v):** Ether de pétrole / acétate d'éthyle (80/20).

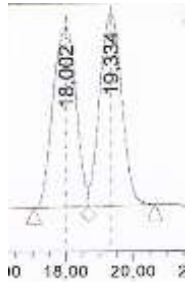
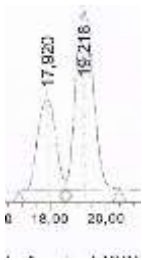
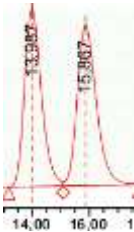
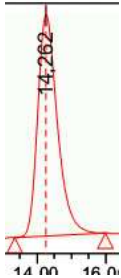
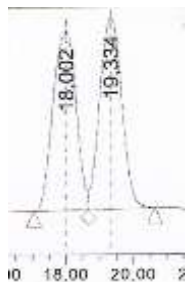
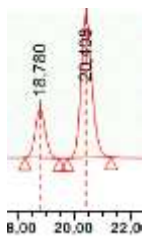
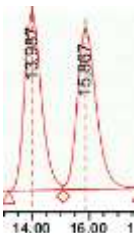
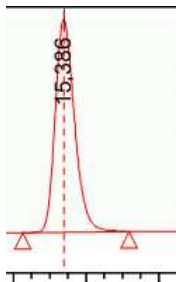
**HPLC chirale:** Chiralpak IA. **Eluant (v, v):** hexane/iPrOH **Débit :** 1 ml/min.

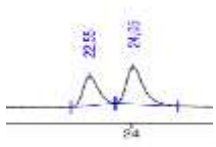

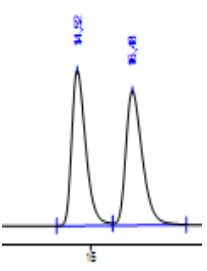
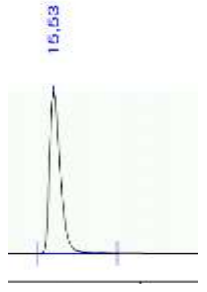
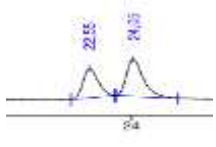
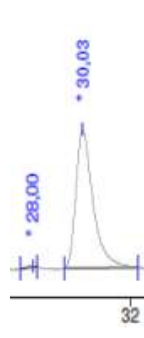
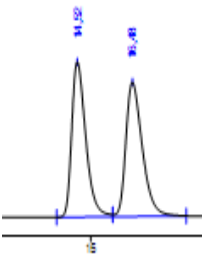

**Temps de rétention :** t<sub>R</sub> = 26.05 min, t<sub>S</sub> = 28.50 min

Acylation enzymatique du 3- (1-hydroxyéthyl) phénol 3 :

L'acylation a été réalisée en utilisant (0,138 g, 1 mmol) de *rac-3-(1-hydroxy-éthyl) phénol 3* et (0,258 g, 3 mmol) d'acétate de vinyle VA dissous dans 3 mL de THF. On a ajouté 40 mg de CAL-B et le mélange a été agité à température ambiante pendant 72h. Après élimination de l'enzyme par filtration et évaporation du solvant, le produit obtenu et le substrat restant ont été séparés par chromatographie flash sur gel de silice (éther de pétrole / acétate d'éthyle: 80/20) et analysés par **HPLC** chirale.

Chromatogrammes de quelques résultats :

Conditions des analyses	Chromatogrammes	
<p><b><u>(S)-2-(1-acétoxyéthyl) phénol 2</u></b></p> <p>HPLC Chirale: colonne <i>Chiralpak IA</i> ;  <math>t_S = 18</math> min, <math>t_R = 19.33</math> min ; Eluant (v,v):  hexane /iPrOH: 97/03; débit: 1mL/min.  <math>ee_S = 33\%</math> (S)-2</p> <p><b><u>(R)-3-(1-hydroxyéthyl) phénol 3</u></b></p> <p>HPLC Chirale: colonne <i>Chiralpak OD-H</i>  <math>t_R = 13.98</math> min, <math>t_S = 15.86</math> min. Eluant (v,v):  heptane/PrOH: 92/08; debit: 1mL/min.  <math>ee &gt; 99\%</math> (R)-3</p> <p><b>Tableau 2 Entrée 6</b></p>	<p><b>rac-2</b></p>  <p><b>(S)-2</b></p> 	<p><b>rac-3</b></p>  <p><b>(R)-3</b></p> 
<p><b><u>(S)-2-(1-acétoxyéthyl) phénol 2</u></b></p> <p>HPLC Chirale: colonne <i>Chiralpak IA</i> ;  <math>t_R = 18</math> min, <math>t_S = 19.33</math> min ; Eluant (v,v):  hexane /iPrOH: 97/03; débit: 1mL/min.  <math>ee_S = 67\%</math> (S)-2</p> <p><b><u>(R)-3-(1-hydroxyéthyl) phénol 3</u></b></p> <p>HPLC Chirale: colonne <i>Chiralpak OD-H</i>  <math>t_S = 13.98</math> min, <math>t_R = 15.86</math> min. Eluant (v,v):  heptane/PrOH: 92/08; debit: 1mL/min.  <math>ee &gt; 99\%</math> (R)-3</p> <p><b>Tableau 2 Entrée 10</b></p>	<p><b>rac-2</b></p>  <p><b>(S)-2</b></p> 	<p><b>rac-3</b></p>  <p><b>(R)-3</b></p> 

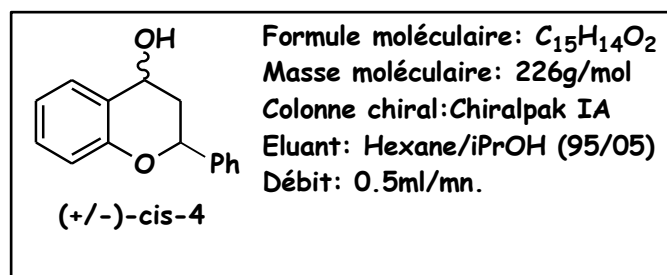
<p><b><u>(S)-2-(1-acétoxyéthyl) phénol 2</u></b></p> <p>HPLC Chirale: colonne <i>Chiralpak IA</i> ;  <math>t_R = 22.55</math> min, <math>t_S = 24.05</math>min ; Eluant (v,v):  hexane /iPrOH: 97/03; débit: 1mL/min.  <math>ee_s = 67\%</math> (S)-2</p> <p><b><u>(R)-3-(1-hydroxyéthyl) phénol 3</u></b></p> <p>HPLC Chirale: colonne <i>Chiralpak OD-H</i>  <math>t_S = 13.98</math>min, <math>t_R = 15.86</math>min. Eluant (v,v):  heptane/PrOH: 92/08; debit: 1mL/min.  <math>ee &gt; 99\%</math> (R)-3</p> <p><b>Tableau 3 Entrée 3</b></p>	<p><b>rac-2</b></p>  <p><b>(S)-2</b></p> 	<p><b>rac-3</b></p>  <p><b>(R)-3</b></p> 
<p><b><u>(S)-2-(1-acétoxyéthyl) phénol 2</u></b></p> <p>HPLC Chirale: colonne <i>Chiralpak IA</i> ;  <math>t_R = 22.55</math> min, <math>t_S = 24.05</math>min ; Eluant (v,v):  hexane /iPrOH: 97/03; débit: 1mL/min.  <math>ee_s = 98\%</math> (S)-2</p> <p><b><u>(R)-3-(1-hydroxyéthyl) phénol 3</u></b></p> <p>HPLC Chirale: colonne <i>Chiralpak OD-H</i>  <math>t_S = 13.98</math>min, <math>t_R = 15.86</math>min. Eluant (v,v):  heptane/PrOH: 92/08; debit: 1mL/min.  <math>ee &gt; 99\%</math> (R)-3</p> <p><b>Tableau 3 Entrée 4</b></p>	<p><b>rac-2</b></p>  <p><b>(S)-2</b></p> 	<p><b>rac-3</b></p>  <p><b>(R)-3</b></p> 

## CHAPITRE V

DERACEMISATION D'ACETATES HETEROAROMATIQUES VIA LE PROCESSUS  
DE STEREOINVERSIONSynthèse des alcools racémiques :

Dans un ballon tricol de 500ml mené d'un réfrigérant, on ajoute à une solution de THF/H<sub>2</sub>O (4/1), 6 équivalents de borohydrure de sodium (NaBH<sub>4</sub> : 20 mmole) ; le mélange est soumis sous agitation magnétique à 0°C. Par la suite on additionne 3 mmole de cétone dans 20 ml de THF à l'aide d'une seringue. L'évolution de la réaction est suivie par chromatographie sur couche mince (CCM) avec un éluant : 80/20 éther de pétrole/acétate d'éthyle.

Dès que le produit de départ est totalement consommé ; ont effectué une hydrolyse du mélange réactionnel avec une solution d'acide chlorhydrique (HCl:1N) lentement à froid. Le mélange est filtré puis partiellement évaporé sous pression réduite. Le résidu (alcool dans la phase aqueuse) est extrait avec l'acétate d'éthyle (3 x 80 ml) la phase organique est lavée par une solution saturé de NaCl, séchée sur sulfate de magnésium (MgSO<sub>4</sub>) puis concentré sous pression réduite.

Cis-2-phényl-4-chromanol 4 :✚ Caractéristiques spectroscopiques:

**RMN <sup>1</sup>H (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ (ppm)** 2.1 (s, 1H, OH) ; 2,2 (m, 1H,-CH<sub>2</sub>-) ; 2.55 (m, 1H,-CH<sub>2</sub>-) ; 5.15 (dd, -CH-OH) ; 5.22 (dd, Ph-CH-O-) 6.9-7.5 (CH aromatiques).

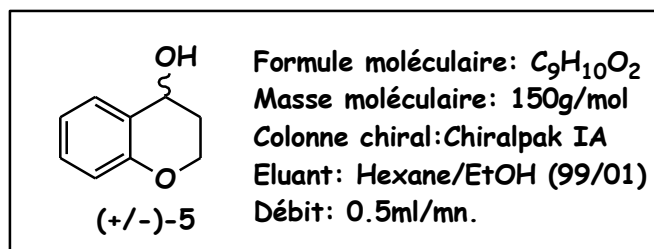
**RMN <sup>13</sup>C (75 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ (ppm)** 30.98; 40.06 ; 65.86 ; 116-129 (C=C aromatiques).

✚ Caractéristiques chromatographiques :

**Rapport frontal** : R<sub>f</sub> = 0,20. **Eluant (v,v)**: Ether de pétrole / acétate d'éthyle (80/20).

**HPLC chirale**: Chiralpak IA. **Eluant (v,v)** : hexane/EtOH **Débit** : 0.5ml/min

**Temps de rétention** : t<sub>S</sub> = 36.80 min, t<sub>R</sub> = 43.00 min.

2,3-Dihydro-4-Chroménol « 4-Chromanol » 5 :✚ Caractéristiques spectroscopiques:

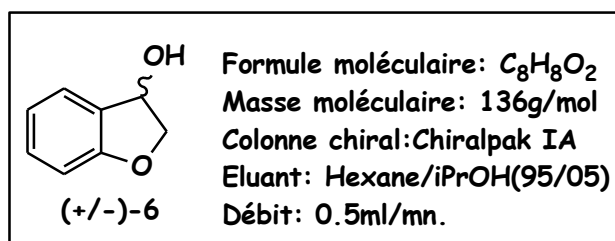
**RMN  $^1H$  (300 MHz,  $CDCl_3$ )  $\delta$  (ppm)** 1,8 (s, 1H, OH) ; 2,1 (m, O-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>) ; 4,3 (m, O-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>) ; 4,8 (m, CH<sub>2</sub>-CH-OH) ; 6,8-7,5 (CH aromatiques). **RMN  $^{13}C$  (75 MHz,  $CDCl_3$ )  $\delta$  (ppm)** 30; 61; 63; 115-155 (C=C aromatiques).

✚ Caractéristiques chromatographiques :

**Rapport frontal** : R<sub>f</sub> = 0,17. **Eluant (v,v)**: Ether de pétrole / acétate d'éthyle (80/20).

**HPLC chirale**: Chiralpak IA. **Eluant (v,v)** : hexane/EtOH **Débit** : 0.5ml/min

**Temps de rétention** : t<sub>R</sub> = 12,55 min, t<sub>S</sub> = 12,15 min.

2,3-Dihydro-benzofuran-3-ol 6 :✚ Caractéristiques spectroscopiques:

**RMN  $^1H$  (300 MHz,  $CDCl_3$ )  $\delta$  (ppm)**: 2.24 (s, 1H, OH); 4.39 (dd, 1H, CH<sub>2</sub>); 4.48 (m, 1H, CH<sub>2</sub>); 5.28 (d, 1H, HO-C-H); 6.85 -7.43(CH aromatiques)..

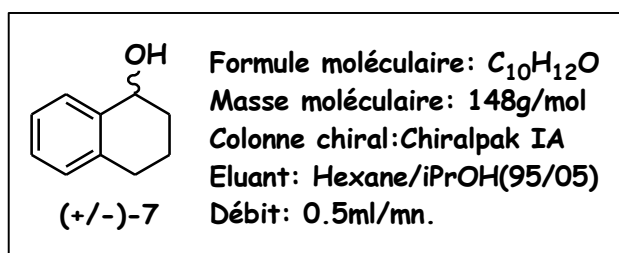
**RMN  $^{13}C$  (75 MHz,  $CDCl_3$ )  $\delta$  (ppm)**: 72.2, 78.2, 110.6, 121.1, 125.5, 128.3, 130.8, 160.2.

✚ Caractéristiques chromatographiques :

**Rapport frontal** : R<sub>f</sub> = 0,15. **Eluant (v,v)**: Ether de pétrole / acétate d'éthyle (80/20).

**HPLC chirale**: Chiralpak IA. **Eluant (v,v)** : Hexane/ iPrOH **Débit** : 0.5ml/min.

**Temps de rétention** : t<sub>R</sub> = 16.85 min, t<sub>S</sub> = 18.46 min.

1, 2, 3, 4-tétrahydronaphthalèn-1-ol 7 :✚ Caractéristiques spectroscopiques:

**RMN  $^1H$  (300 MHz,  $CDCl_3$ )  $\delta$  (ppm)** 1,5 (m, 2H, HOCH-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-); 1,9 (m, 2H, HOCH-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-); 2,3 (s, HO); 2,8 (m, 2H, HOCH-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-); 4,7 (q, 1H, HOCH-CH<sub>2</sub>-); 7,1-7,4 (CH aromatiques).

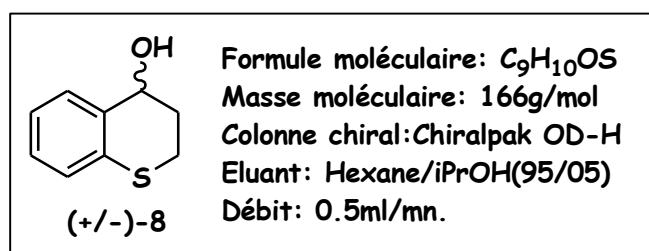
**RMN  $^{13}C$  (75 MHz,  $CDCl_3$ )  $\delta$  (ppm)** 20; 30 ; 34; 68; 125-130 (-C=C aromatiques).

✚ Caractéristiques chromatographiques :

**Rapport frontal :** R<sub>f</sub> = 0,21. **Eluant (v,v):** Ether de pétrole / acétate d'éthyle (80/20).

**HPLC chirale:** Chiralpak IA. **Eluant (v,v) :** Hexane/ iPrOH **Débit :** 0.5ml/min.

**Temps de rétention :** t<sub>R</sub> = 8,78 min, t<sub>S</sub> = 9,26 min

2,3-dihydrothiochromèn-4-ol (le 4-thiochromanol) 8 :✚ Caractéristiques spectroscopiques:

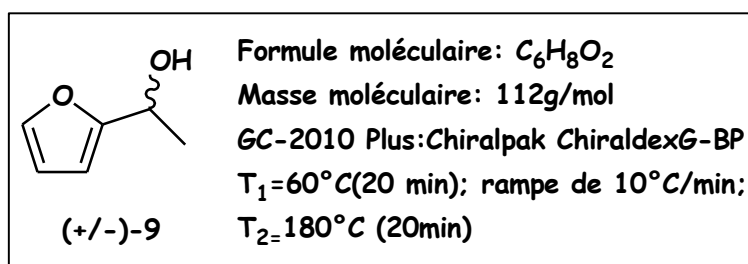
**RMN  $^1H$  (300 MHz,  $CDCl_3$ )  $\delta$  (ppm)** 2,2 (s, 1H, OH); 2,1 (m, 2H, S-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>); 4,3 (m, 2H, S-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>); 4,9 (m, 1H, CH<sub>2</sub>-CH-OH); 6,8-7,4 (CH aromatiques). **RMN  $^{13}C$  (75 MHz,  $CDCl_3$ )  $\delta$  (ppm)** 21; 40; 63; 115-155(-C=C aromatiques).

Caractéristiques chromatographiques :

**Rapport frontal :** R<sub>f</sub> = 0,18. **Eluant (v,v):** Ether de pétrole / acétate d'éthyle (80/20).

**HPLC chirale:** Chiralpak IA. **Eluant (v,v) :** Hexane/ iPrOH **Débit :** 0.5ml/min

**Temps de rétention :** t<sub>R</sub> = 13.02 min, t<sub>S</sub> = 13.83 min.

1-(furan-2-yl) éthanol 9 :✚ Caractéristiques spectroscopiques:

**RMN <sup>1</sup>H (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ (ppm)** 1,5 (d, 3H, -CH<sub>3</sub>); 3 (s, -OH); 4,9 (q, -CH-CH<sub>3</sub>); 6,19 (t, -C-CHCH-); 6,25 (q, -C-CH-CH-); 7,4 (m, -CH-CH-O-). **RMN <sup>13</sup>C (75 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ (ppm)** 21; 63; 105; 110; 141,8; 157,6.

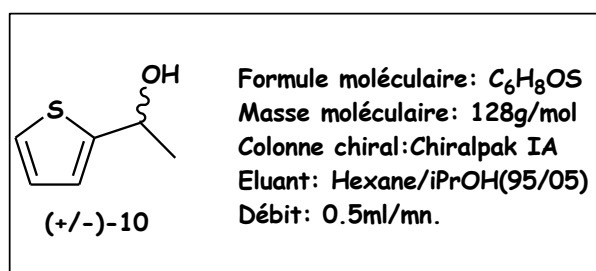
✚ Caractéristiques chromatographiques :

**Rapport frontal** : R<sub>f</sub> = 0,20. **Eluant (v,v)**: Ether de pétrole / acétate d'éthyle (80/20).

**CPG chirale** GC-2010 Plus: Chiralpak ChiraldexG-BP

**Méthode** : T<sub>1</sub>=60°C (20 min); rampe de 10°C/min; T<sub>2</sub>=180°C (20min)

**Temps de rétention** t<sub>R</sub> = 23.46 min, t<sub>S</sub> = 24.22 min.

1-(thiophène-2-yl)-éthanol 10:✚ Caractéristiques spectroscopiques:

**RMN <sup>1</sup>H (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ (ppm)** 1,5 (d, 3H, -CH<sub>3</sub>); 2,55 (s, -OH); 5,1 (q, -CH-CH<sub>3</sub>); 7 (m, -CCH-CH-); 7,25 (m, -CH-CH-S-). **RMN <sup>13</sup>C (75 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ (ppm)** 25,2; 66; 123; 124,4; 126,6; 149,9.

✚ Caractéristiques chromatographiques :

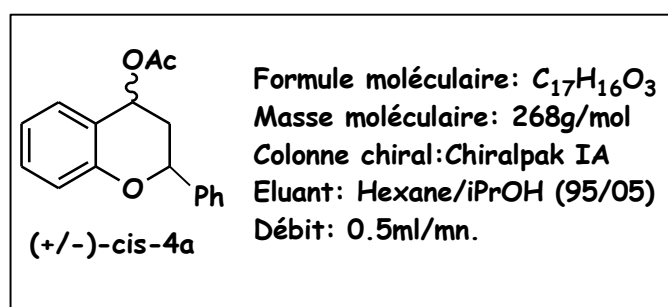
**Rapport frontal** : R<sub>f</sub> = 0,25. **Eluant (v,v)**: Ether de pétrole / acétate d'éthyle (80/20).

**HPLC chirale**: Chiralpak IA. **Eluant (v,v)** : Hexane/ iPrOH **Débit** : 0.5ml/min.

**Temps de rétention** : t<sub>R</sub> = 8.38 min, t<sub>S</sub> = 8.80 min.

**Procédure générale d'acylation chimique des alcools racémiques :**

Dans un petit ballon ; on additionne à 1mmole d'alcool, 0,1mmole de diméthylaminopyridine (DMAP) dans 4ml d'éther anhydre et 1,2mmole de triméthylamine ( $\text{NEt}_3$ ) ; puis on ajoute goutte à goutte 1,5mmole d'anhydride acétique. La réaction se déroule sous agitation magnétique à température ambiante. L'évolution de la réaction est suivie par chromatographie sur couche mince (CCM). Lorsque l'acylation est totale, le mélange est dilué dans l'éther et lavé successivement avec une solution de HCl 1N (2x3ml), ensuite avec une solution saturée de  $\text{NaHCO}_3$  (2x3ml) et enfin avec une solution saturée de NaCl (5ml). La phase organique est séchée sur de sulfate de magnésium ( $\text{MgSO}_4$ ) filtré et concentrée Les acétates obtenus sont les suivants :

**Cis-phényl-2-chroman-4-yl acétate 4a :****Caractéristiques spectroscopiques:**

**RMN  $^1\text{H}$  (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  (ppm)** 2.19 (s, 3H, OC- $\underline{\text{C}}\text{H}_3$ ) ; 2.15 (m, 1H, - $\text{C}\text{H}_2$ -) ; 2.67 (m, 1H, - $\text{C}\text{H}_2$ -) ; 5.25 (dd,  $J$  2,11Hz, - $\underline{\text{C}}\text{H}$ -O) ; 6.24 (dd,  $J$  6, 10 Hz, Ph- $\underline{\text{C}}\text{H}$ -O-) 6.9-7.5 (CH aromatiques).

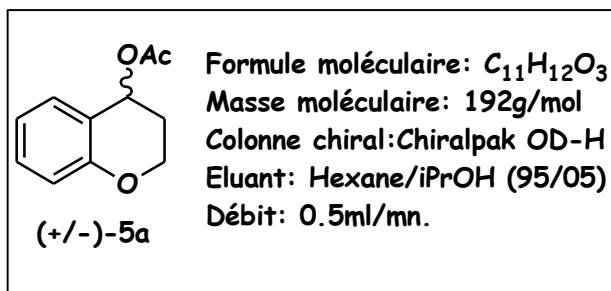
**RMN  $^{13}\text{C}$  (75 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  (ppm)** 21.19; 35.6 ; 67.52 ; {117, 120, 126, 127, 128.2, 128.6 129, 140, 155}(C=C- aromatique), 171.

**Caractéristiques chromatographiques :**

**Rapport frontal :**  $R_f = 0,40$ . **Eluant (v,v):** Ether de pétrole / acétate d'éthyle (80/20).

**HPLC chirale:** Chiralpak IA. **Eluant (v,v) :** hexane/EtOH **Débit :** 0.5ml/min

**Temps de rétention :**  $t_s = 12,92$ . min,  $t_R = 14,10$  min.

Chroman-4-yl acétate 5a :✚ Caractéristiques spectroscopiques:

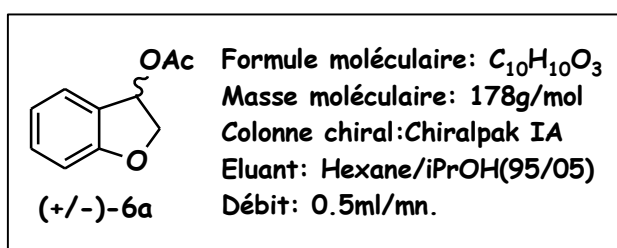
**RMN  $^1H$  (300 MHz,  $CDCl_3$ )  $\delta$  (ppm)** 2 (s, 3H,  $CHOH-CH_2-CH_2$ ), 4,3 (m, 2H,  $CH_2-CH_2$ ), 5,9 (t, 1H,  $CH_2-CH-OH$ ), 6,9- 7,3(CH Aromatique). **RMN  $^{13}C$  (75 MHz,  $CDCl_3$ )  $\delta$  (ppm)** 21, 28, 62, 65, {117, 120, 130, 155}(C=C- aromatique), 170.

✚ Caractéristiques chromatographiques :

**Rapport frontal :**  $R_f = 0,8$ . **Eluant (v,v):** Ether de pétrole / acétate d'éthyle (80/20).

**HPLC chirale:** Chiralpak OD-H. **Eluant (v,v) :** Hexane/ iPrOH **Débit :** 0.5ml/min.

**Temps de rétention :**  $t_S = 19.23$  min,  $t_R = 22.93$  min.

2,3-Dihydro-benzofuran-3-yl acétate 6a :✚ Caractéristiques spectroscopiques:

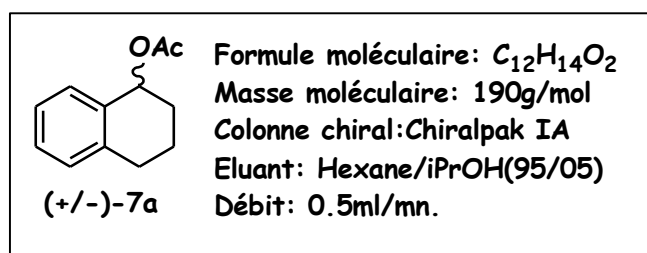
**RMN  $^1H$  (300 MHz,  $CDCl_3$ )  $\delta$  (ppm)** 2. (s, 3H,  $OOCC-CH_3$ ); 4.5 (dd, 1H,  $CH_2$ ); 4.6 (dd, 1H,  $CH_2$ ); 5.28 (dd, 1H,  $O-C-H$ ); 6.24 -7.48. **RMN  $^{13}C$  (75 MHz,  $CDCl_3$ )  $\delta$  (ppm)** 21, 74.22, 75.9; 110; 121; 126; 131; 160; 170.

✚ Caractéristiques chromatographiques :

**Rapport frontal :**  $R_f = 0,6$ . **Eluant (v,v):** Ether de pétrole / acétate d'éthyle (80/20).

**HPLC chirale:** Chiralpak IA. **Eluant (v,v) :** Hexane/ iPrOH **Débit :** 0.5ml/min.

**Temps de rétention :**  $t_R = 12.18$  min,  $t_S = 12.75$  min

1,2,3,4-tetrahydronaphthalèn-1-yl acétate 7a:✚ Caractéristiques spectroscopiques:

**RMN  $^1H$  (300 MHz,  $CDCl_3$ )  $\delta$  (ppm)** (ppm): 1,9 (m, 2H, AcOCH-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-); 2 (m, 2H, AcOCH-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-); 2,1 (s, 3H, CH<sub>3</sub>-C=O) 2,6 (m, 2H, AcOCH-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-); 6,1 (q, 1H, AcOCH-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-); 7,4 (CH aromatiques).

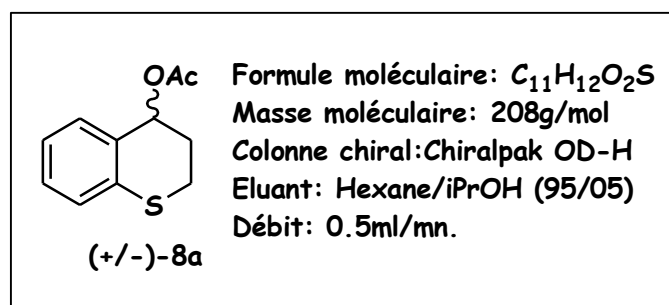
**RMN  $^{13}C$  (75 MHz,  $CDCl_3$ )  $\delta$  (ppm)** 18; 21; 30; 70; {125-130}(C=C- aromatique); 169 (C=O).

✚ Caractéristiques chromatographiques :

**Rapport frontal :** R<sub>f</sub> = 0,71. **Eluant (v,v):** Ether de pétrole / acétate d'éthyle (80/20).

**HPLC chirale:** Chiralpak IA. **Eluant (v,v) :** Hexane/ iPrOH **Débit :** 0.5ml/min.

**Temps de rétention :** t<sub>R</sub> = 8.78 min, t<sub>S</sub> = 9.26.mi

Thiochroman-4-yl acétate 8a:✚ Caractéristiques spectroscopiques:

**RMN  $^1H$  (300 MHz,  $CDCl_3$ )  $\delta$  (ppm)** 2,1 (s, 3H), 2, (q, 2H, CHOH-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>), 4,3 (m, 2H, -CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-S), 6 (t, 1H, CH<sub>2</sub>-CH-OH); 6,8-7,4(CH aromatique)

1H), 7-7,3 (CH aromatique) **RMN  $^{13}C$  (75 MHz,  $CDCl_3$ )  $\delta$  (ppm)** 21,44 ; 27,91 ; 61, 63 ; {124 ; 126 ; 128 ; 130 ; 131 ; 134}(-C=C- aromatiques) ; 170.

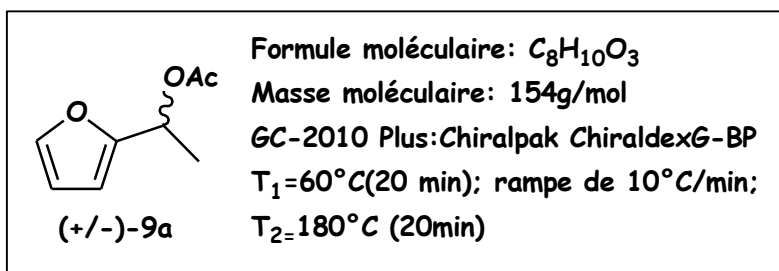
✚ Caractéristiques chromatographiques :

**Rapport frontal :** R<sub>f</sub> = 0.75. **Eluant (v,v):** Ether de pétrole / acétate d'éthyle (80/20).

**HPLC chirale:** Chiralpak OD-H. **Eluant (v,v) :** Hexane/ iPrOH **Débit :** 0.5ml/min.

**Temps de rétention** :  $t_S = 25.15$  min,  $t_R = 31.65$  min

1-(fur-2-yl)éthyl acétate 9a:



**Caractéristiques spectroscopiques:**

**RMN  $^1H$**  (300 MHz,  $CDCl_3$ )  $\delta$  (ppm) 1,6 (d, 3H), 2 (s, 3H), 5,9 (q, 1H), 6,3 (m, 2H), 7,4 (dd, 1H) **RMN  $^{13}C$**  (75 MHz,  $CDCl_3$ )  $\delta$  (ppm) 21,44 ; 21,74 ; 27,91 ; 68 ; 124 ; 126 ; 128 ; 130 ; 131 ; 134 ; 170.

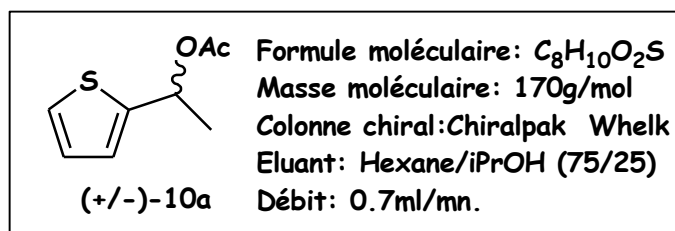
**Caractéristiques chromatographiques :**

**Rapport frontal** :  $R_f =$  . **Eluant** (v,v): Ether de pétrole / acétate d'éthyle (80/20).

**GC chirale**: GC-2010 Plus: Chiralpak ChiraldexG-BP.  $T_1 = 60^\circ C$  (20 min); rampe de  $10^\circ C/min$ ;  $T_2 = 180^\circ C$  (20min)

**Temps de rétention** :  $t_S = 24.41$  min,  $t_R = 25.21$  min.

1-(thiophen-2-yl) éthyl acétate 10a :



**Caractéristiques spectroscopiques:**

**RMN  $^1H$**  (300 MHz,  $CDCl_3$ )  $\delta$  (ppm) 1,6 (d, 3H), 2 (s, 3H), 6,1 (q, 1H), 6,9 (dd, 1H), 7 (d, 1H), 7,2 (d, 1H) **RMN  $^{13}C$**  (75 MHz,  $CDCl_3$ )  $\delta$  (ppm) 21,3; 22; 67,5; 77,1; 125,2; 125,3; 126,6; 144,4; 170.

**Caractéristiques chromatographiques :**

**Rapport frontal** :  $R_f =$  . **Eluant** (v,v): Ether de pétrole / acétate d'éthyle (80/20).

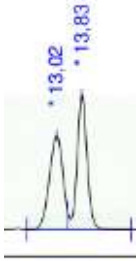
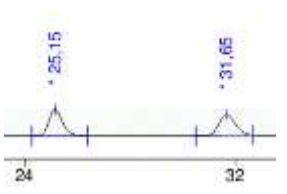

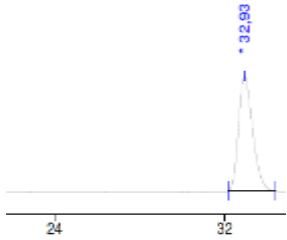
**HPLC chirale**: Chiralpak Whelk. **Eluant** (v,v) : Hexane/ iPrOH **Débit** : 0.7ml/min.

**Temps de rétention** :  $t_S = 6.38$  min,  $t_R = 7.78$  min.

**Dédoublement cinétique enzymatique par hydrolyse dans un milieu nonconventionnel**

A 1 mmol d'acétate racémique dissous dans un solvant organique, on ajoute une quantité de carbonate de sodium et de lipase **CAL-B**. La suspension a été agitée à 40 ° C pendant le temps indiqué. Le mélange réactionnel a été filtré sur célite et concentré sous vide. Le produit obtenu et le substrat restant ont été séparés par Chromatographie sur gel de silice (éther de pétrole / acétate d'éthyle: 80/20) et analysés par HPLC chirale.

**Chromatogrammes de quelques résultats :**

<i>Conditions des analyses</i>	<i>Chromatogrammes</i>	
<p><b><u>Thiochroman-4-yl acétate 8a</u></b></p> <p>HPLC Chirale: colonne <i>Chiralpak OD-H</i></p> <p><math>t_R = 13.02</math> min, <math>t_S = 13.83</math> min. Eluant (v,v): n-hexane/iPrOH: 95/5; débit: 0.5mL/min.</p> <p>ee =98 %. (<i>S</i>)-<b>8a</b></p> <p><math>[\alpha]_D^{20} = -213</math> (c0.5 , CHCl<sub>3</sub>)</p>	<p><b>rac-8a</b></p> 	<p><b>rac-8</b></p> 
<p><b><u>2,3-dihydrothiochromèn-4-ol (le 4-thiochromanol) 8 :</u></b></p> <p>HPLC Chirale: colonne <i>Chiralpak OD-H</i></p> <p><math>t_S = 25.15</math> min, <math>t_R = 31.65</math> min. Eluant (v,v): n-hexane/iPrOH: 95/5; débit: 0.5mL/min</p> <p>ee &gt; 99%. (<i>R</i>)-<b>8</b></p> <p><math>[\alpha]_D^{20} = +125</math> (c0.3 , CHCl<sub>3</sub>).</p>	<p><b>(S)-8a</b></p> 	<p><b>(R)-8</b></p> 

**1-(fur-2-yl)éthyl acétate 9a:**

**GC-2010 Plus:** Chiralpak Shimadzu Chiraldex G-BP (30m, 0.25mm, 0.12um) colonne, Méthode : 60°C pdt 20 min; rampe de 10°C/min; 180°C pdt 20min température injecteur et détecteur : 220°C, gaz vecteur Hydrogène, vitesse linéaire du gaz vecteur : 40cm/s

$t_S = 23.45$  min,  $t_R = 24.03$ min.

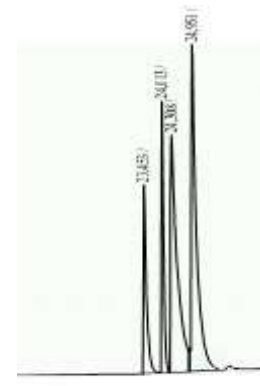
ee = 97%. **(S)-9a**

$[\alpha]_D^{25} = -129.2$  (c 0.2, CHCl<sub>3</sub>).

**1-(furan-2-yl) éthanol 9 :** même conditions

$t_S = 24.3$  min,  $t_R = 24.95$  min.

ee = 99%. **(R)-9**

**rac-9 et rac-9a****(S)-9a****rac-9 et rac-9a****(R)-9****1-(thiophen-2-yl) éthyl acétate 10a :**

HPLC Chirale: colonne Chiralpak IA

$t_R = 8.38$  min,  $t_S = 8.80$  min. Eluant (v,v): n-hexane/iPrOH: 95/5; débit: 0.5mL/min.

ee > 99%. **(S)-10a**

$[\alpha]_D = -69.7$  (c 0.2, CHCl<sub>3</sub>).

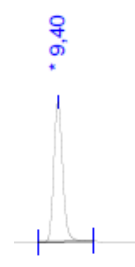
**1-(thiophèn-2-yl)-éthanol 10:**

HPLC Chirale: colonne Chiralpak Whelk

$t_S = 6.38$  min,  $t_R = 7.78$  min. Eluant (v,v): n-hexane/iPrOH: 75/25; débit: 0.7mL/min.

ee >99%. **(R)-10**

$[\alpha]_D = +29$  (c 0.2, CHCl<sub>3</sub>)



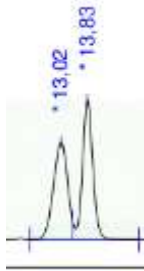
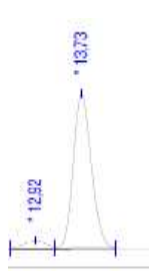
**rac-10a****(S)-10a****rac-10****(R)-10**

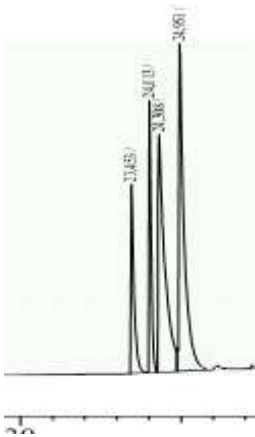

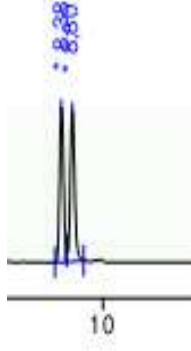
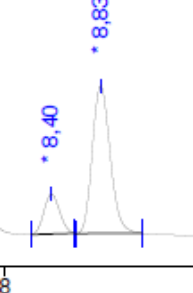
**Déracémisation des acétates par combinaison de la réaction d'hydrolyse enzymatique avec une inversion de configuration selon le protocole de Mitsunobu :**

Les acétates sont hydrolysés selon le mode opératoire mis au point et après le temps indiqué, le mélange réactionnel est filtré. La triphényle phosphine 0.628 g (2.4 mmols, 1.2 éq), l'acide acétique 0.144 g (2.4 mmols, 1.2 éq), sont directement ajoutés au filtrat. Le mélange réactionnel obtenu est refroidi à environ 0°C, à l'aide d'un bain de glace, et 0.48 g (2.4 mmols, 1.2 éq) de diisopropylazodicarboxylate (DIAD) est ajouté, goutte à goutte, sous agitation vigoureuse durant 20 minutes. Le DIAD (de couleur jaune) est instantanément décoloré au fur et à mesure de son addition progressive.

Le mélange est par la suite amené à une température ambiante et son agitation est maintenue pendant une durée de 24 heures. Le milieu réactionnel est concentré et le produit obtenu est repris dans l'éther. On observe alors la précipitation du produit de réduction du DIAD et de l'oxyde de PPh<sub>3</sub> formé. Après filtration et évaporation sous vide, le résidu récupéré est chromatographié sur gel de silice en utilisant un mélange (éther de pétrole/acétate d'éthyle : 80/20) pour obtenir un seul énantiomère c'est l'acétate de configuration (S).

**Chromatogrammes de quelques résultats :**

<i>Conditions des analyses</i>	<i>Racémique</i>	<i>(S)-acétate</i>
<p><b><u>1,2,3,4-tetrahydronaphthalèn-1-yl acétate 7a:</u></b>            HPLC Chirale: colonne <i>Chiralpak IA</i>  <math>t_R = 8.78</math> min, <math>t_S = 9.26</math>. Eluant (v,v):            hexane/iPrOH: 95/05; débit: 0.5mL/min.  <b>ee = 89.5% (S)-7a</b></p>		
<p><b><u>Thiochroman-4-yl acétate 8a</u></b>            HPLC Chirale: colonne <i>Chiralpak OD-H</i>  <math>t_R = 13.02</math> min, <math>t_S = 13.83</math> min. Eluant (v,v): n-hexane/iPrOH: 95/5; débit: 0.5mL/min.  <b>ee = 88 % (S)-8a</b></p>		

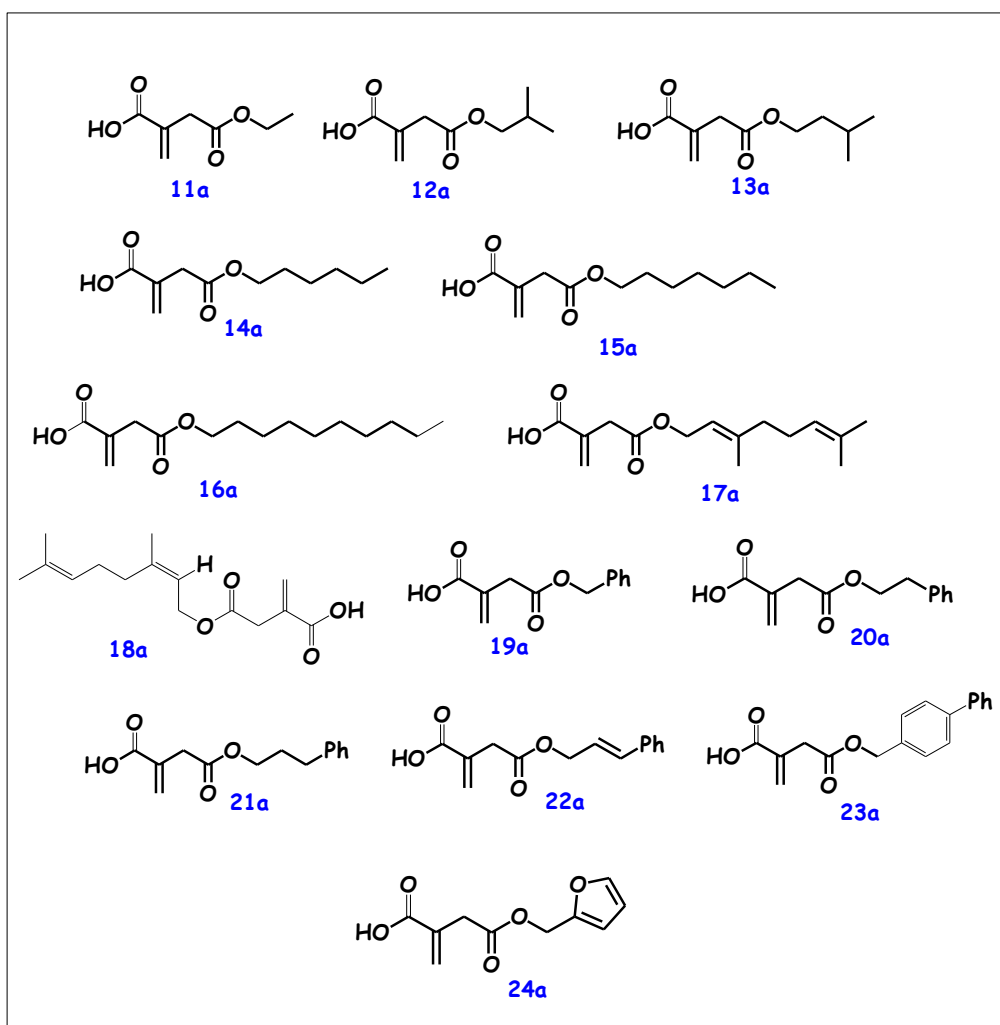
<p><u><b>1-(fur-2-yl)éthyl acétate 9a:</b></u></p> <p>GC-2010 Plus: <i>Chiralpak</i> Shimadzu Chiraldex colonne G-BP( 30m , 0.25mm ,0.12um )</p> <p><math>t_R = 23.45</math> min, <math>t_S = 24.03</math> min</p> <p><b>ee = 51%</b> (<i>S</i>)-<b>9a</b></p>		
<p><u><b>1-(thiophen-2-yl) éthyl acétate 10a :</b></u></p> <p>HPLC Chirale: colonne <i>Chiralpak IA</i></p> <p><math>t_R = 8.38</math> min, <math>t_S = 8.80</math> min. Eluant (v,v): n- hexane/iPrOH: 95/5; debit: 0.5mL/min.</p> <p><b>ee = 62%</b> (<i>S</i>)-<b>10a</b></p>		

## CHAPITRE VI

## ACYLATION ENZYMATIQUE DE L'ANHYDRIDE ITACONIQUE

**Acylation enzymatique de l'anhydride itaconique avec les alcools primaires :**

La réaction d'ouverture d'anhydride est effectuée suivant le mode opératoire suivant : pour 1 mmole d'anhydride itaconique, on ajoute 1 équivalent d'alcool, en présence de 300mg de *PSL*, dans 5 ml de TBME. La réaction est menée sous agitation magnétique à température ambiante durant 24 heures.



Mono-4-Ethyl itaconate 11a

**RMN <sup>1</sup>H (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ (ppm)** 1.28 (t, 3H, CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>); 3.33 (s, 2H, CH<sub>2</sub>-C=); 4.17 (q, 2H, CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>); 5.83 (s, 1H, C=CH<sub>2</sub>); 6.46 (s, 1H, C=CH<sub>2</sub>); 09.88 (s, 1H, OH) **RMN <sup>13</sup>C (75 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ (ppm)** 14.2; 37.5; 61.2; 130.9; 133.5; 170.8; 171.7. **HRMS: m/z = 181.048**

Mono-4-isobutyl itaconate 12a

**RMN <sup>1</sup>H (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ (ppm)** 0.93 (d, 6H, CH<sub>3</sub>-CH-CH<sub>3</sub>); 1.93 (m, 1H, CH<sub>3</sub>-CH-CH<sub>3</sub>); 3.36 (s, 2H, OOC-CH<sub>2</sub>-C=); 3.88 (d, 2H, O-CH<sub>2</sub>CH); 5.83 (s, 1H, C=CH<sub>2</sub>); 6.46 (s, 1H, C=CH<sub>2</sub>); 11.2 (s, 1H, OH) **RMN <sup>13</sup>C (75 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ (ppm)** 19.1; 27.8; 37.5; 37.7; 71.2; 130.8; 133.5; 170.8; 171.8. **HRMS: m/z = 209.0792**

Mono-4-Isoamyl itaconate 13a

**RMN <sup>1</sup>H (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ (ppm)** 0.93 (d, 6H, CH<sub>3</sub>-CH-CH<sub>3</sub>); 0.51 (q, 2H, CH-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>); 1.67 (m, 1H, CH<sub>2</sub>-CH(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>); 3.34 (s, 2H, OOC-CH<sub>2</sub>-C=); 4.13 (d, 2H, O-CH<sub>2</sub>CH); 5.82 (s, 1H, C=CH<sub>2</sub>); 6.45 (s, 1H, C=CH<sub>2</sub>); 10 (s, 1H, OH). **RMN <sup>13</sup>C (75 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ (ppm)** 22.3; 24.9; 34.; 37.3(d); 63.7; 130.6; 133.5; 170; 171. **HRMS: m/z = 223.0952**

Mono-4-Hexyl itaconate 14a

**RMN <sup>1</sup>H (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ (ppm)** 0.90 (t, 3H, CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>); 1.28 (m, 6H, CH<sub>2</sub>-(CH<sub>2</sub>)<sub>3</sub>-CH<sub>3</sub>); 1.62 (m, 2H, O-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-(CH<sub>2</sub>)<sub>3</sub>-CH<sub>3</sub>); 3.33 (s, 2H, OOC-CH<sub>2</sub>-C=); 4.15 (q, 2H, O-CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>); 5.82 (s, 1H, C=CH<sub>2</sub>); 6.45 (s, 1H, C=CH<sub>2</sub>); 09 (s, 1H, OH). **RMN <sup>13</sup>C (75 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ (ppm)** 14.1; 22.6; 25.6; 28.6; 31.5; 37.5; 65.4; 130.7; 133.6; 170.8; 171.5. **HRMS: m/z = 237.1102**

Mono-4-Heptyl itaconate 15a

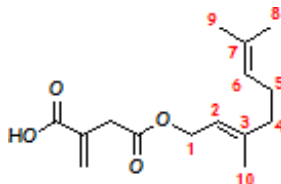
**RMN <sup>1</sup>H (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ (ppm)** 0.89 (t, 3H, CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>); 1.30 (m, 8H, O-CH<sub>2</sub>-(CH<sub>2</sub>)<sub>4</sub>-CH<sub>3</sub>); 1.6 (m, 2H, CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-O); 3.33 (s, 2H, CH<sub>2</sub>-C=); 4.11 (t, 1H, O-CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>); 5.84 (s, 1H, C=CH<sub>2</sub>); 6.47 (s, 1H, C=CH<sub>2</sub>); 8.3 (s, 1H, OH). **RMN <sup>13</sup>C (75 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ (ppm)** 14; 22.5; 25.7; 28.5; 28.8; 31.7; 37.3; 65.2; 130.6; 133.3; 170.6; 171.5. **HRMS: m/z = 251.259.**

Mono-4-Décyl itaconate 16a

**RMN <sup>1</sup>H (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ (ppm)** 0.8 (t, 3H, CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>); 1.30 (m, 14H, OCH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-(CH<sub>2</sub>)<sub>8</sub>-CH<sub>3</sub>); 1.6 (m, 2H, CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-O); 3.33 (s, 2H, OOCCH<sub>2</sub>-C=); 4.09 (t, 1H, O-CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>); 5.82 (s,

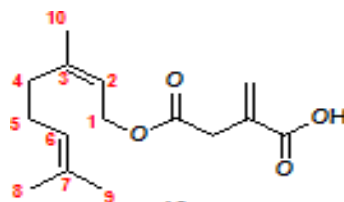
1H, C=CH<sub>2</sub>); 6.45 (s, 1H, C=CH<sub>2</sub>). *RMN*<sup>13</sup>C (75 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ (ppm) 14; 22; 25; 28; 29.22; 29.3; 29.51; 29.53; 31; 37; 65; 130; 133; 170; 171. *HRMS*: *m/z* = 293.1730

#### Mono 4-géranyl Itaconate 17a:



*RMN*<sup>1</sup>H (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ (ppm) 1.61 (s, H, =CC<sub>8</sub>H<sub>3</sub>); 1.7 (s, 6H, C<sub>9</sub>H<sub>3</sub>, C<sub>10</sub>H<sub>3</sub>); 2(m, 4H, C<sub>4</sub>H<sub>2</sub>-C<sub>5</sub>H<sub>2</sub>); 3.35 (s, 2H, CH<sub>2</sub>-C=); 4.64 (d, 2H, O-C<sub>1</sub>H<sub>2</sub>CH); 5.33 (t, 1H, C=C<sub>6</sub>H-CH<sub>2</sub>) 5.35 (q, 1H, CH=C<sub>2</sub>H-CH<sub>2</sub>); 5.84 (s, 1H, C=CH<sub>2</sub>); 6.48 (s, 1H, C=CH<sub>2</sub>). *RMN*<sup>13</sup>C (75 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ (ppm) 14; 22; 25; 28; 29.22; 29.3; 29.51; 29.53; 31; 37; 65; 130; 133; 170; 171. *HRMS*: *m/z* = 289.1408.

#### Mono 4-Néronyl Itaconate 18a:



*RMN*<sup>1</sup>H (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ (ppm) 1.61 (s, H, =CC<sub>8</sub>H<sub>3</sub>); 1.69 (s, H, =CC<sub>9</sub>H<sub>3</sub>). 1.78 (s, 3H, C<sub>10</sub>H<sub>3</sub>); 2.11 (m, 4H, C<sub>4</sub>H<sub>2</sub>-C<sub>5</sub>H<sub>2</sub>); 3.35 (s, 2H, CH<sub>2</sub>-C=); 4.61 (d, 2H, O-C<sub>1</sub>H<sub>2</sub>CH); 5.1 (m, 1H, C=C<sub>6</sub>H-CH<sub>2</sub>); 5.35 (t, 1H, CH=C<sub>2</sub>H-CH<sub>2</sub>); 5.84 (s, 1H, C=CH<sub>2</sub>); 6.48 (s, 1H, C=CH<sub>2</sub>). *RMN*<sup>13</sup>C (75 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ (ppm) 14; 22; 25; 28; 29.22; 29.3; 29.51; 29.53; 31; 37; 65; 130; 133; 170; 171. *HRMS*: *m/z* = 289.1408.

#### Monobenzyl Itaconate 19a

*RMN*<sup>1</sup>H (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ (ppm) 3.42 (s, 2H, -CH<sub>2</sub>-COO); 5.18 (s, 2H, -COO-CH<sub>2</sub>), 5.86 (s, 1H, CH<sub>2</sub>=C), 6.50 (s, 1H, CH<sub>2</sub>=C), 7.35 (m, 5H, Ar-CH<sub>2</sub>); 10.3 (s, 1H, COOH). *RMN*<sup>13</sup>C (75 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ (ppm) 37.4, 66.9; 128.3; 128.4; 128.7; 131; 133; 135; 170.5; 171.7. *HRMS*: *m/z* = 243.0641.

Mono-2-Phényléthyl Itaconate 20a

**RMN <sup>1</sup>H (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ (ppm)**, 2.96 (t, 2H, *J* = 7, -CH<sub>2</sub>-Ar); 3.35 (s, 2H, -CH<sub>2</sub>-COO); 4.34 (t, 2H, *J* = 7, COO-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-Ar), 5.82 (s, 1H, CH<sub>2</sub>=C), 6.48 (s, 1H, CH<sub>2</sub>=C); 7.25 (m, 5H, Ar-H), 11.9 (s, 1H, OH). **RMN <sup>13</sup>C (75 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ (ppm)** 34.9; 37.2; 65.5; 126.5; 128.5; 128.9; 131; 133; 135; 170; 171. **HRMS: *m/z* = 257.0787**

Mono-3-phényléthyl itaconate 21a

**RMN <sup>1</sup>H (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ (ppm)**, 1.98 (m, 2H, *J* = 7, -CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-Ar); 2.7 (t, 2H, CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-Ar) 3.37 (s, 2H, -CH<sub>2</sub>-COO); 4.15 (t, 2H, *J* = 7, COO-CH<sub>2</sub>-(CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>-Ar), 5.85 (s, 1H, CH<sub>2</sub>=C), 6.49 (s, 1H, CH<sub>2</sub>=C); 7.25 (m, 5H, Ar-H), 8.6 (s, 1H, OH) **RMN <sup>13</sup>C (75 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ (ppm)** 30; 32; 37; 64; 126.5; 128.5; 130; 131; 141; 170; 171. **HRMS: *m/z* = 271.0940.**

Mono But-1-ényl-benzene itaconate 22a

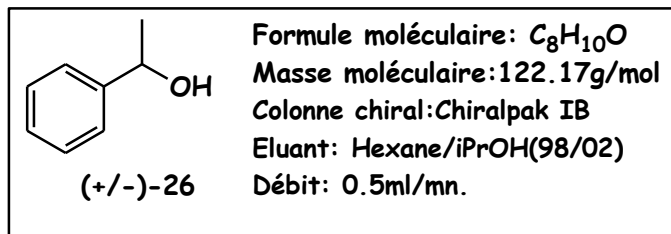
**RMN <sup>1</sup>H (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ (ppm)** 3.4 (s, 2H, -CH<sub>2</sub>-COO); 4.7 (t, 2H, *J* = 7, COO-CH<sub>2</sub>-CH=CH-Ar), 5.85(s, 1H, CH<sub>2</sub>=C), 6.31 (m, 1H, CH=CH-Ph) 6.49 (s, 1H, CH<sub>2</sub>=C); 6.6 (d, 1H, CH=CH-Ph) 7.36(m, 5H, Ar-H). **RMN <sup>13</sup>C (75 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ (ppm)** 37.3; 65; 122.8; 126.6; 127; 128.6; 130.9; 133; 134.3; 136; 170.4; 171.3. **HRMS: *m/z* = 269.0781**

Mono Biphényl-4-yl-méthanyl itaconate 23a

**RMN <sup>1</sup>H (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ (ppm)** 3.4 (s, 2H, -CH<sub>2</sub>-COO); 5.21 (s, 2H, COO-CH<sub>2</sub>-Ph), 5.84 (s, 1H, CH<sub>2</sub>=C); 6.48 (s, 1H, CH<sub>2</sub>=C), 7.47-7.68 (m, 9H, Ar-H) **RMN <sup>13</sup>C (75 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ (ppm)** 37.1; 58.5; 110(d); 131(t); 133(d); 143; 149; 170; 171. **HRMS: *m/z* = 319.0928.**

Mono 4-furan-2-yl-méthyl Itaconate 24a

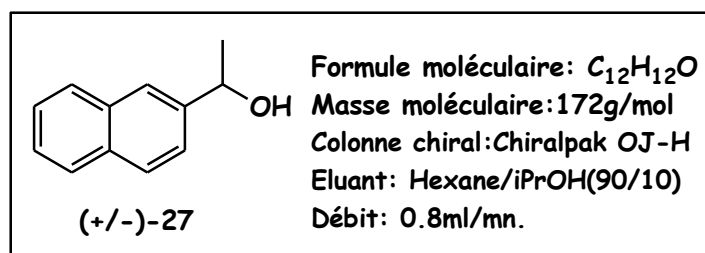
**RMN <sup>1</sup>H (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ (ppm)** 3.38 (s, 2H, -CH<sub>2</sub>-COO); 5.12(s, 2H, *J* = 7, COO-CH<sub>2</sub>-CH=), 5.85(s, 1H, CH<sub>2</sub>=C), 6.37 (m, 1H, CH=CH) 6.42 (m, 1H, CH=CH) 6.49 (s, 1H, CH<sub>2</sub>=C); 7.43 (, 1H, CH=CH-O). **RMN <sup>13</sup>C (75 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ (ppm)** 37; 58.5; 100.5; 100.8; 131; 133; 143; 149; 170; 171. **HRMS: *m/z* = 233.0421.**

Acylation enzymatique de l'anhydride itaconique avec les alcools secondaires :▪ Les alcools commerciaux :Le 1-phényléthanol 26 :✚ Caractéristiques chromatographiques :

**Rapport frontale :**  $R_f = 0.52$ . **Eluant (v,v):** Ether de pétrole / Acétone (90/10).

**HPLC chirale:** Chiralpak IB. **Eluant (v,v) :** Hexane/ iPrOH **Débit :** 0.5ml/min.

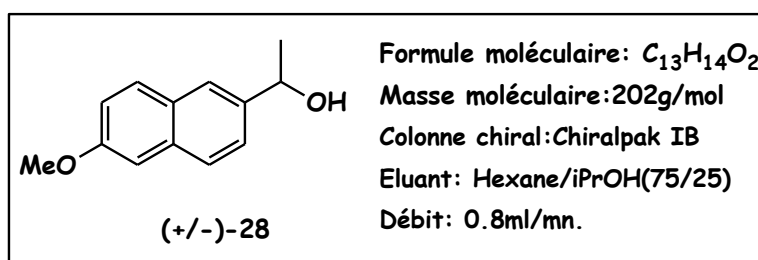
**Temps de rétention :**  $t_R = 26,35$ min,  $t_S = 30,43$  min.

Le 1-(naphthalén-1-yl) éthanol 27:✚ Caractéristiques chromatographiques :

**Rapport frontal :**  $R_f = 0.29$ . **Eluant (v,v):** cyclohexane/acétate d'éthyle (80/20).

**HPLC chirale:** Chiralpak OJ-H. **Eluant (v,v) :** Hexane/ iPrOH **Débit :** 0.8ml/min.

**Temps de rétention :**  $t_S = 20,26$  min,  $t_R = 26,58$ min.

Le 1-(6-méthoxynaphthalén-2-yl) éthanol 28:

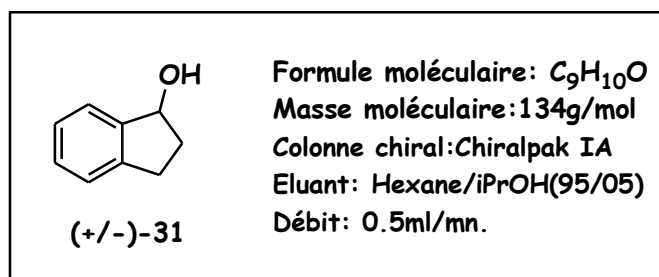
✚ Caractéristiques chromatographiques :

**Rapport frontal :**  $R_f = 0.15$ . **Eluant (v,v):** Ether de pétrole / Acétone (90/10).

**HPLC chirale:** Chiralpak IB. **Eluant (v,v) :** Hexane/ iPrOH **Débit :** 0.8ml/min.

**Temps de rétention :**  $t_S = 6,54\text{min}$ ,  $t_R = 7,46.\text{min}$

Le 2,3-dihydro-1H-indan-1-ol 31:



Caractéristiques chromatographiques :

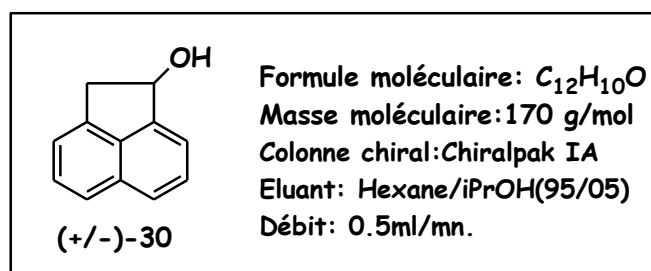
**Rapport frontal :**  $R_f = 0.13$ . **Eluant (v,v):** cyclohexane/acétate d'éthyle (80/20).

**HPLC chirale:** Chiralpak IA. **Eluant (v,v) :** Hexane/ iPrOH **Débit :** 0.5ml/min.

**Temps de rétention :**  $t_S = 16.68\text{ min}$ ,  $t_R = 20.07\text{min}$ .

▪ Les alcools synthétisés :

1, 2-dihydroacénaphthylén-1-ol 30 :



✚ Caractéristiques spectroscopiques:

**RMN  $^1H$  (300 MHz,  $CDCl_3$ )  $\delta$  (ppm)** 2 (s, OH), 3.26 (dd, 1H), 3.82 (dd, 1H), 5.74 (dd, 1H), 7.32- 7.79 (m, H aromatiques). **RMN  $^{13}C$  (75 MHz,  $CDCl_3$ )  $\delta$  (ppm)** 41,9;74,4; 119,8; 120,3; 122,7; 125; 128,1; 137,1 ; 141,5; 145,7.

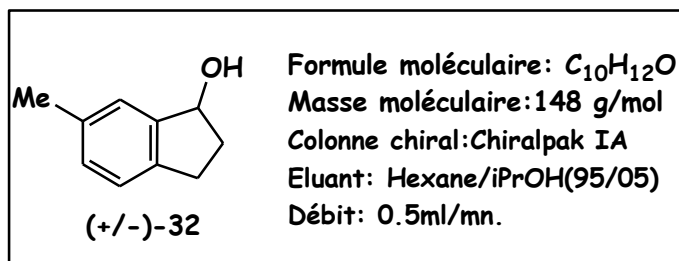
✚ Caractéristiques chromatographiques :

**Rapport frontal :**  $R_f = 0.12$ . **Eluant (v,v):** cyclohexane/acétate d'éthyle (80/20).

**HPLC chirale:** Chiralpak IA. **Eluant (v,v) :** Hexane/ iPrOH **Débit :** 0.5ml/min.

**Temps de rétention** :  $t_R = 25,81$  min,  $t_S = 27,71$  min.

### 6-Méthyl-indan-1-ol 32 :



#### Caractéristiques spectroscopiques:

**RMN  $^1H$  (300 MHz,  $CDCl_3$ )  $\delta$  (ppm)** 1.95 (m, 1H), 2.41 (s, 3H), 2.49 (m, 1H) ; 2.79 (m, 1H), 3.03 (m, 1H) ; 5.21 (t, 1H), 7.09- 7.25 (m, H aromatiques). **RMN  $^{13}C$  (75 MHz,  $CDCl_3$ )  $\delta$  (ppm)** 21,2; 29,3; 36,1; 77 ; 124,7; 129,1(d); 136,3(d); 140,2; 145,1.

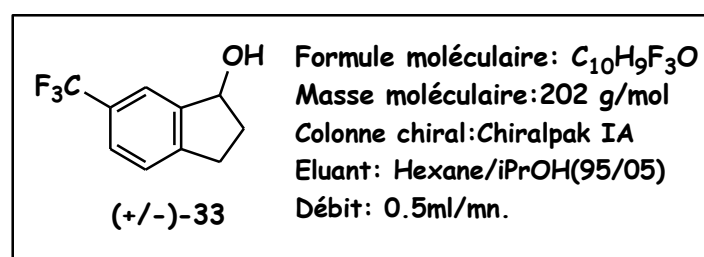
#### Caractéristiques chromatographiques :

**Rapport frontal** :  $R_f = 0.12$  .**Eluant (v,v)**: cyclohexane/acétate d'éthyle (80/20).

**HPLC chirale:** Chiralpak IA. **Eluant (v,v)** : Hexane/ iPrOH **Débit** : 0.5ml/min.

**Temps de rétention** :  $t_S = 17,63$  min,  $t_R = 18,96$ min.

### 6-Trifluorométhyl-indan-1-ol 33 :



#### Caractéristiques spectroscopiques:

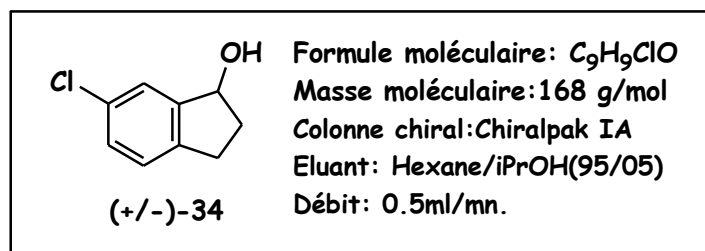
**RMN  $^1H$  (300 MHz,  $CDCl_3$ )  $\delta$  (ppm)** 1.98 (m, 1H), 2.2 (s, OH), 2.5 (m, 1H) ; 3.03 (m, 2H) ; 5.26 (t, 1H), 7.34- 7.67 (m, H aromatiques). **RMN  $^{13}C$  (75 MHz,  $CDCl_3$ )  $\delta$  (ppm)** 29,3; 35,9; 78 ; 121,2(d); 125,3; 145,6; 147,3.

#### Caractéristiques chromatographiques :

**Rapport frontal** :  $R_f = 0.14$  .**Eluant (v,v)**: cyclohexane/acétate d'éthyle (80/20).

**HPLC chirale:** Chiralpak IA. **Eluant (v,v)** : Hexane/ iPrOH **Débit** : 0.5ml/min.

**Temps de rétention** :  $t_S = 14,30$  min,  $t_R = 16,38$ .min.

6-Chloro-indan-1-ol 34 :✚ Caractéristiques spectroscopiques:

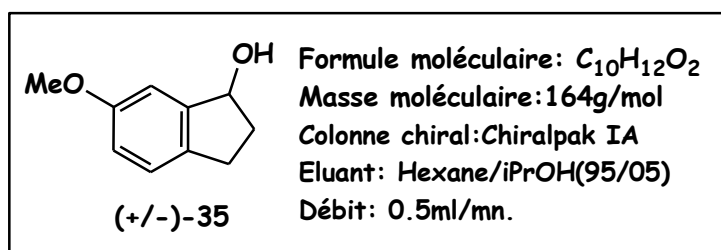
**RMN  $^1H$  (300 MHz,  $CDCl_3$ )  $\delta$  (ppm)** 1.94 (m, 1H), 2.2 (s, OH), 2.5 (m, 1H) ; 2.77 (m, 1H) ; 3 (m, 1H) 5.19 (t, 1H), 7.15- 7.36 (m, H aromatiques). **RMN  $^{13}C$  (75 MHz,  $CDCl_3$ )  $\delta$  (ppm)** 21 ; 36,2; 77,9 ; 124,4; 125,9; 128,3; 132,3 ; 141,6 ; 146,9.

✚ Caractéristiques chromatographiques :

**Rapport frontal :**  $R_f = 0.12$  .**Eluant (v,v):** cyclohexane/acétate d'éthyle (80/20).

**HPLC chirale:** Chiralpak IA. **Eluant (v,v) :** Hexane/ iPrOH **Débit :** 0.5ml/min.

**Temps de rétention :**  $t_S = 30,41$ min,  $t_R = 21,92$  min.

6-Méthoxy-indan-1-ol 35 :✚ Caractéristiques spectroscopiques:

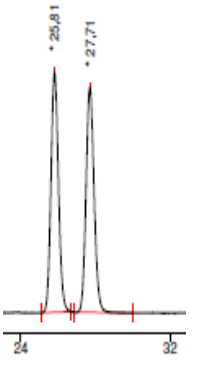
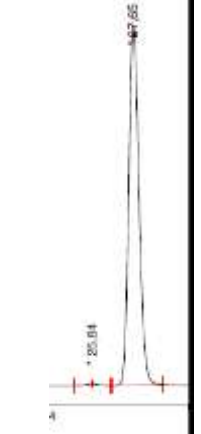
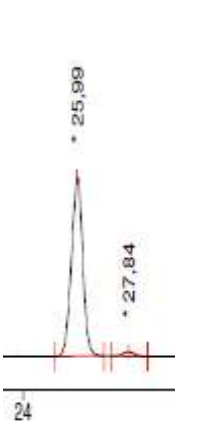


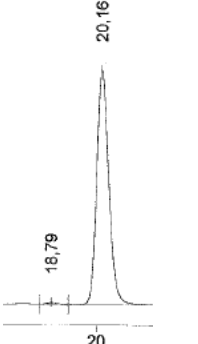

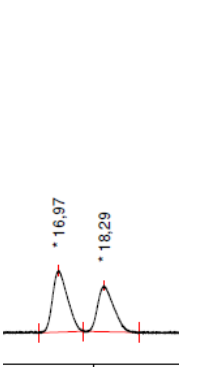
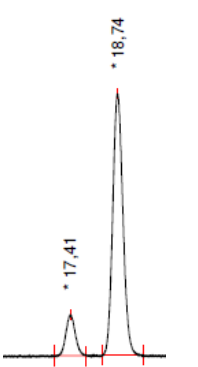
**RMN  $^1H$  (300 MHz,  $CDCl_3$ )  $\delta$  (ppm)** 1.71 (s, OH), 1.96 (m, 1H), 2.5 (m, 1H); 2.77 (m, 1H) ; 3 (m, 1H) ; 3 (s, 3H) 5.23 (t, 1H), 6.83-7.15(m, H aromatiques). **RMN  $^{13}C$  (75 MHz,  $CDCl_3$ )  $\delta$  (ppm)** 28,9 ; 36,6; 55,5; 77,4 ; 108,8; 115; 125,5 ; 135 ; 146,3 ; 159.


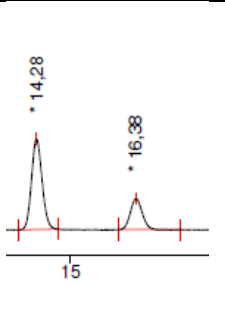
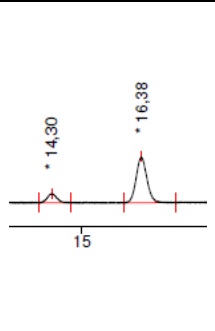
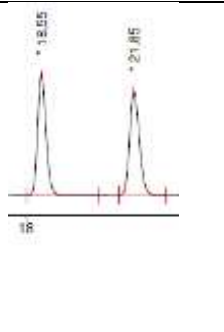
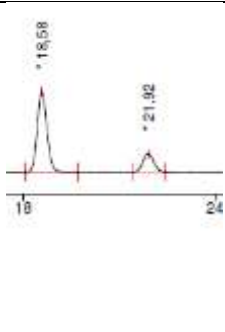
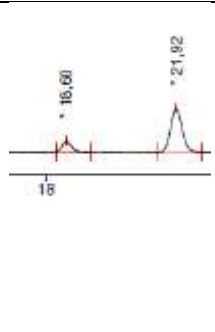
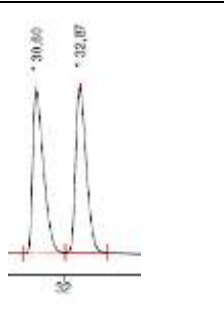
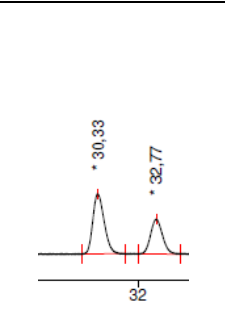
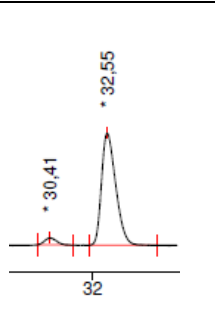
✚ Caractéristiques chromatographiques :

**Rapport frontal :**  $R_f = 0.15$  .**Eluant (v,v):** cyclohexane/acétate d'éthyle (80/20).

**HPLC chirale:** Chiralpak IA. **Eluant (v,v) :** Hexane/ iPrOH **Débit :** 0.5ml/min.

**Temps de rétention :**  $t_S = 30,60$  min,  $t_R = 32,87$ .min.

<i>Conditions des analyses</i>	<i>Racémique</i>	Alcool non réagi (S)	Alcool réagi (R)
<p><b><u>1, 2-dihydroacénaphthylén-1-ol 30 :</u></b>            HPLC Chirale: colonne <i>Chiralpak IA</i>  <math>t_{R} = 25.81</math> min, <math>t_{S} = 27.71</math>. Eluant (v,v):            hexane/iPrOH: 95/05; débit:            0.5mL/min.  <b><math>ee_{S} = 99\%</math> (S)-30</b>  <b><math>ee_{P} = 95\%</math> (R)-30</b></p>			
<p><b><u>Le 2,3-dihydro-1H-indan-1-ol 31:</u></b>            HPLC Chirale: colonne <i>Chiralpak IA</i>  <math>t_{S} = 18.68</math> min, <math>t_{R} = 20.07</math>. Eluant (v,v):            hexane/iPrOH: 95/05; débit:            0.5mL/min.  <b><math>ee_{S} = 81\%</math> (S)-31</b>  <b><math>ee_{P} = 98\%</math> (R)-31</b></p>			
<p><b><u>6-Méthyl-indan-1-ol 32 :</u></b>            HPLC Chirale: colonne <i>Chiralpak IA</i>  <math>t_{S} = 17.63</math> min, <math>t_{R} = 18.96</math>. Eluant (v,v):            hexane/iPrOH: 95/05; débit:            0.5mL/min.  <b><math>ee_{S} = 12\%</math> (S)-32</b>  <b><math>ee_{P} = 75\%</math> (R)-32</b></p>			

<p><b><u>6-Trifluorométhyl-indan-1-ol 33 :</u></b></p> <p>HPLC Chirale: colonne <i>Chiralpak IA</i></p> <p><math>t_S=14.35</math> min, <math>t_R= 16.31</math>. Eluant (v,v):</p> <p>hexane/iPrOH: 95/05; débit:</p> <p>0.5mL/min.</p> <p><b><math>ee_S = 45\%</math> (<i>S</i>)-33, <math>ee_P = 70\%</math> (<i>R</i>)-33</b></p>			
<p><b><u>6-Chloro-indan-1-ol 34 :</u></b></p> <p>HPLC Chirale: colonne <i>Chiralpak IA</i></p> <p><math>t_S=18.55</math> min, <math>t_R= 21.85</math>. Eluant (v,v):</p> <p>hexane/iPrOH: 95/05; débit:</p> <p>0.5mL/min.</p> <p><b><math>ee_S = 59\%</math> (<i>S</i>)-32, <math>ee_P = 71\%</math> (<i>R</i>)-34</b></p>			
<p><b><u>6-Méthoxy-indan-1-ol 35 :</u></b></p> <p>HPLC Chirale: colonne <i>Chiralpak IA</i></p> <p><math>t_S=30.8</math> min, <math>t_R= 32.87</math>. Eluant (v,v):</p> <p>hexane/iPrOH: 95/05; débit:</p> <p>0.5mL/min.</p> <p><b><math>ee_S = 24\%</math> (<i>S</i>)-35, <math>ee_P = 90\%</math> (<i>R</i>)-35</b></p>			



**REFERENCES**  
**BIBLIOGRAPHIQUES**

1. J. E. Noroski, D.J. Mayo, M. Moran., *J. Pharm. Biomed. Anal.*, **1995**, 13, 45.
2. (a) H. B. Kagan, *L'actualité chimique*, **2003**, 11, 10-14 ; (b) H. Kagan, M. Tabart, *L'Act. Chim.*, 2015, 393-394, 31-38.
3. (a) J. Seyden-Penne, *Synthèse et Catalyse Asymétriques*, 1994, Inter Edition / CNRS; (b) H.U. Blaser, *Fis. Rend. Acc. Lincei.*, **2013**, 24, 213–216.
4. P. T. Anastas, J. C. Warner, *Green Chemistry: Theory and Practice*, Oxford University Press: New York, **1998**, p.30. By permission of Oxford University Press from ACS Green Chemistry Institute Webpage.
5. (a) F. Hasan, A. Ali Shah, A. Hameed, *Enzyme and Microbial Technology*, **2006**, 39, 235-251; (b) C. Wandrey, A. Liese, D. Kihumbu, *Organic Process Research & Development*, 4, **2000**, 286-290 ; (c) A. Houde, A. Kademi, D. Leblanc, *Applied Biochemistry & Biotechnology*, **2004**, 118, 155-170.
6. (a) S.C. Stinson, *Chem. Engineering new* **2001**, 79, 79. (b) R. N. Patel; *Biocatalysis in the pharmaceutical and Biotechnology Industry*. CRC Press, **2007**.
7. J. Desmeules *Pharma-Flash*, **2006**, 33, 7-10.
8. (a) C. Rabiller, « stéréochimie et chiralité en chimie organique », De Boeck & Larquier, s.a, **1999**. (b) R.A. Sheldon, in *chirotechnology*, Marcel Dekker, New York, **1993**.
9. (a) K. Joeger, T. Eggert, *Cun. Opin. Biotechnol.* **2002**, 13, 390; (b) A. Schmid, F. Hollman, J.B. Park, B. Bühler, *Curr. Opin. Biotechnol.* **2002**, 13, 359.
10. Réf 4: P.T. Anastas, J.C. Warner *Green Chemistry: Theory and Practice*, Oxford University Press: New York, **1998**, p.30. By permission of Oxford University Press from ACS Green Chemistry Institute Webpage.
11. (a) H. Kagan, M. Tabart, *L'Act. Chim.*, **2015**, 393-394, 31-38 (b) A. M. Rouhi, *Chem. Eng. News*, **14 June 2004**, 47-62; (c) K. Faber, *Biotransformations in Organic Chemistry*; Springer-Verlag: Berlin, **2011**.
12. (a) K. Joeger, T. Eggert, *Cun. Opin. Biotechnol.* **2002**, 13, 390; (b) A. Schmid, F. Hollman, J.B. Park, B. Bühler, *Curr. Opin. Biotechnol.* **2002**, 13, 359.
13. T.P. Dang., Kagan H.B., *J. Chem. Soc. Chem. Comm.*, **1971**, 481.
14. (a) W. S. Knowles, M. J. Sabacky, B. D. Vineyard, D. J. Weinkauff, *J. Am. Chem. Soc.*, **1975**, 97, 2567. (b) H.-U. Blaser, F. Spindler, M. Studer, *Appl. Catal. A: General*;

- 2001**, 221, 119-143. (c) H. -U. Blaser, A. Indolese, A. Schnyder, *Current Science*, **2000**, 78, 1336-1344.
15. (a) R. Noyori, H. Takaya, *Acc. Chem. Res.*, **1990**, 23, 345 ; (b) T. Ohkuma, M. Kitamura, R. Noyori, *Catalytic Asymmetric Synthesis*, 2nd ed., I. Ojima, VCH, Weinheim, **2000**, Chapt. 1.4.
16. R. Noyori; T. Ikeda, T. Ohkuma, M. Widhalm, M. Kitamura., *J. Am. Chem. Soc.* **1989**, 111, 9134.
17. Réf 2 : H. B. Kagan ; L'Actualité Chimique, novembre-décembre **2003**, 10-14.
18. B. Cornils, W.A. Herrmann, *Applied Homogeneous Catalysis with Organometallic Compounds*, **1996**, 1, 29.
19. X. Wang, & S. L. Buchwald. *Journal of the American Chemical Society*, **2011**, 133(47), 19080-19083.
20. B.M. Trost, J. Dumas, M. Villa, *J. Am. Chem. Soc.*, **1992**, 114, 9836.
21. (a) C. Aubert, O. Buisine, M. Malacria, *Chem. Rev.*, **2002**, 102, 813 ;(b) E.I. Negishi, C. Copéret, S. Ma, S.Y. Liou, F. Liu, *Chem. Rev.*, **1996**, 96, 365.
22. (a) E. M. Simmons, A. R. Hardin, X. Guo, R. Sarpong, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2006**, 47, 6650. (b) E. M. Simmons, R. Sarpong, *Org. Lett.*, **2006**, 8, 2883.
23. B. M. Trost, G. A. Doherty, *J. Am. Chem. Soc.*, **2000**, 122, 3801.
24. J. W. Dankwardt, *Tetrahedron Lett*, **2001**, 42, 5809.
25. R. Noyori, *Asymmetric catalysis in organic synthesis* Wiley, New York, **1994**
26. M. Karpf., & U. Zutter, Production of oxetanones. Eur. Pat. Appl. EP, **1991**, 443449(A2).
27. (a) S. Zeror, J. Collin, J-C. Fiaud, L. Aribi-Zouiouèche, *J. Mol. Cata A: Chemical.*, **2006**, 256, 85-89. (b) M. Boukachabia, L. Aribi-Zouiouèche, O. Riant. *J. Organometal. Chem.*, **2018**, 868, 95-101.
28. (a) A. M. Klivanov, G. Küchner, Enzymatic production of 2-halopropionic acids, **1986**, US patent 4, 601, 987 in Massachusetts Institute of Technology. (b) A. M. Klivanov, *Trends Biochem. Sci.*, **1989**, 14, 141-144.
29. C. Vollhardt, « *Traité de Chimie organique* », DeBoeck université, Traduit par P. Depovere, 2ème édition, Bruxelles, **1994**.
30. R. A. Copeland; « *Enzymes: A Practical introduction to structure, Mechanism, and Data Analysis* ». 2<sup>ème</sup> édition., Wiley-VCH, Inc. **2000**, 62, 149, 175.
31. S. H. Krishna, *Biotechnol. Adv.*, **2002**, 20, 239-267.

32. (a) S. Piccicuto, C. Blecker, J. C. Brohée, A. Mbampara, G. Lognay, C. Deroanne, M. Paquot, M. Marlier, *Agron. Soc. Environ.*, **2001**, 5(4), 209–219 ; (b) A. J. J. Straathof., S. Panke., A. Schmid, *Current Opinion in biotechnology.*, **2002**, 13(6), 548-556.
33. Guerrand, David. "Lipases industrial applications: focus on food and agroindustries." (2017): D403.
34. S.D. Shinde, G.D. Yadav, *Process Biochem.* **2015**, 50, 230–236.
35. A. Singh, Y. Goel, A.K Rai, U.C. Banerjee, *J. Mol. Catal. B.* **2013**, 86, 99–104.
36. J. J. Cui, M. Tran-Dubé, H. Shen, M. Nambu, P. P. Kung, M. Pairish, & M. McTigue, *Journal of medicinal chemistry*, **2011**, 54(18), 6342-6363.
37. P. P. Kung, C. Martinez, & J. Tao, **2008**, *U.S. Patent No. 7,465,842*. Washington, DC: U.S. Patent and Trademark Office.
38. J. Mangas-Sánchez, M. Rodríguez-Mata, E. Busto, V. Gotor-Fernández & V. Gotor., *The Journal of Organic chemistry*, **2009**, 74(15), 5304-5310.
39. (a) S. Ahuja, *Chiral Separations: Application and Technology*, American Chemical Society, **1997**; (b) K. Buchholz, V. Kasche, U.T. Bornscheuer. *Biocatalysts and Enzyme Technology*, Weinheim: Wiley-VCH Verlag GmbH, **2005**; (c) J. P. Rasor, Voss E. *Appl. Catal. A: Gen.*, **2001**, 221, 145-158; (d) M.C. Hillier, P.J. Reider *Drug discovery today*, **2002**, 7, 303-314.
40. L. Pasteur; *Ann, Chim et Phys.*, **1848**, 24, 442.
41. (a) H. Pellissier, *Tetrahedron.*, **2003**; 59, 8291–8327. (b) Martin-Matute, Jan-E Bäckvall, *Curr. Opin. Chem. Bio*; **2007**; 11; 226-232.
42. H.B. Kagan, J.C. Fiaud. *Kinetic Resolution, Topics in Stereochemistry*. E.L. Eliel, S.H. Wiley & Sons, Inc. New-York. **1988**, 18, 249-330.
43. C.S. Chen, Y. Fujimoto, G. Girdaukas, C. Sih, *J. Am. Chem. Soc.*, **1982**, 104, 7294.
44. V. Prelog. *Pure Appl. Chem.*, **1964**, 9, 119.
45. T. Lee, R. Sakowicz, V. Martichonoc, J.K. Hogan, M. Gold, J.B. Jones. *Acta Chem. Scand.* **1996**, 50, 697.
46. P.A. Fitzpatrick, A.M. Klivanov. *J. Am. Chem. Soc.*, **1991**, 113, 3166.
47. K. Lemke, M. Lemke, F. Theil, *J. Org. Chem.*, **1997**, 62, 6268. (b) K. Naemura, R. Fukuda, M. Konishi, K. Hirose, Y. Tobe. *J. Chem. Soc., Perkin Trans.*, **1994**, 1253. (c) J.M. Moreno, A. Samoza, C. del Campo, E.F. Liama, J.V. Sinisterra. *J. Mol. Catal. A: Chem.*, **1995**, 95, 179–192.
48. R.J. Kazlauskas, A.N.E. Weissfloch, A.T. Rappaport, L.A. Cuccia, *J. Org. Chem.* **1991**, 56, 2656–2665.

49. P. Borowiecki, I. Justyniak, Z. Ochal, *Tetrahedron: Asymmetry*, **2017**, 28, 1717-1732.
50. M. Tosa, S. Pilbak, P. Moldovan, C. Paizs, G. Szatzker, G. Szakacs, L. Poppe, *Tetrahedron: Asymmetry*, **2008**, 19(15), 1844-1852.
51. L. Schönstein, E. Forró, & F. Fülöp, *Tetrahedron: Asymmetry*, **2013**, 24, 202–206.
52. W. Li, Z. Lin, L. Chen, X. Tian, Y. Wang, S. H. Huang, & R. Hong, *Tetrahedron Letters*, **2016**, 57, 603-606.
53. O. V. Kucher, A. O. Kolodyazhnaya, O. B. Smolii, A. I. Boiko, V. S. Kubyskin, P. K. Mykhailiuk, A. A. Tolmachev, *Tetrahedron: Asymmetry*, **2014**, 25(6), 563-567.
54. A. M. Klivanov, *Chemtech*, **1986**, 16, 354-359.
55. M. Merabet-Khelassi, L. Aribi-Zouiouche, O. Riant, *Tetrahedron: Asymmetry*, **2008**, 19(20), 2378-2384.
56. P. Borowiecki, M. Fabisiak, Z. Ochal, *Tetrahedron*, **2013**, 69, 4597-4602.
57. (a) H. R. Hobbs, N. R. Thomas, *Chem. Rev.*, **2007**, 107, 2786. (b) Matsuda, T.; Watanabe, K.; Harada, T.; Nakamura, K.; Arita, Y.; Misumi, Y.; Ichikawa, S.; Ikariya, T. *Chem. Commun.* **2004**, 2286. (c) Matsuda, T. *J. Biosci. Bioeng.* **2013**, 115, 233.
58. T. Itoh, Biotransformation in Ionic Liquid. In *Future Directions in Biocatalysis*; Matsuda, T., Ed.; Elsevier Science B.V.: Amsterdam, **2007**; pp 3–20. Chapter 1.
59. J. M. DeSimone, W. Tumas, *Green Chemistry Using Liquid and Supercritical Carbon Dioxide*; Oxford University Press: New York, **2003**.
60. (a) A. Ghanem, *Tetrahedron*, **2007**, 63, 1721-1754; (b) T. Matsuda, T. Harada, K. Nakamura, T. Ikariya, *Tetrahedron: Asymmetry*, **2005**, 16, 909-915; (c) M. Albrycht, P. Kielbasinski, J. Drabowicz, M. Mikolajczyk, T. Matsuda, T. Harada, K. Nakamura, *Tetrahedron: Asymmetry*, **2005**, 16, 2015-2018.
61. J. Zhang, Y. Li, W. Qian, L. Zhang, F. Li, P. Chen, & L. Wang, *Green Chemistry Letters and Reviews*, **2018**, 11(3), 224-229.
62. Rocha, Ângelo, et al, *Chem. Sus. Chem.* **2017**, 10, 296-302.
63. Shan Chen, Fuyan Liu, Kuan Zhang, Hansheng Huang. *Tetrahedron Letters*. **2016**, 57, 5312–5314
64. E. Tadashi, K. Masafumi, K. Toshinobu, S. Takashi. *Tetrahedron: Asymmetry*, **2003**, 14, 3943-3947.
65. H. Hanefeld, *Org. Biomol. Chem*, **2003**, 1, 2405-2415.
66. (a) M. Degueil-Castaing, B. De Jeso, S. Drouillard; *Tetrahedron Letters*, **1987**, 28, 953-954; (b) Y.F. Wang, C.H. Wong, *J. Org. Chem*, **1988**, 53, 3129.
67. D. Bianchi, P. Cesti, E. Battistel; *J. Org. Chem.*, **1988**, 53, 5531.

68. M. Kawasaki, M. Goto, S. Kawabata, T. Kometani; *Tetrahedron: Asymmetry.*, **2001**, 12, 585-596.
69. N. Bouzemi, H. Debbeche, L. Aribi-Zouioueche, J.C. Fiaud; *Tetrahedron Letters*. **2004**, 45, 627-630.
70. S. Sezer, E. Sahin, C. Tanyeli, *Tetrahedron: Asymmetry.*, **2010**, 21(4), 476-485.
71. C. Paizs, M. Tosa, V. Bodai, G. Szakacs, I. Kmech, B. Simandi, C. Majdik, L. Novak, F-D. Irimie, L. Poppe, *Tetrahedron: Asymmetry*, **2003**, 14, 1943-1949.
72. J.C. Fiaud, R. Gil, J.Y. Legros, L. Aribi-Zouioueche, W. A. König, *Tetrahedron Lett.* **1992**, 33, 6967 -6970.
73. H. Debbeche, M. Toffano, J. C. Fiaud, & L. Aribi-Zouioueche, *Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic*, **2010**, 66, 319-324.
74. N. Melais, M. Boukachabia, L. Aribi-Zouioueche, O. Riant. *Bioprocess Biosyst Eng*, **2015**, 38, 1579-1588.
75. S. Matsumura, T. Okamoto, K. Tsukada, T. Toshima, *Macromol. Rapid Commun.*, **1998**, 19, 295-298.
76. Y. Soeda, T. Okamoto, K. Toshima, S. Matsumura ; *Macromol. Biosci.*, **2002**, 2, 429-436.
77. J. M Longo, A. M. DiCiccio, & Coates, G. W. (). *Journal of the American Chemical Society*, **2014**, 136, 15897-15900.
78. P. A. Wilbon, J. L N. R Swartz, Meltzer, J. P. Brutman, M. A. Hillmyer, & J. E. Wissinger, *Chemistry & Engineering*, **2017**. 5(10), 9185-9190.
79. T. Itoh, Y. Hiyama, A. Betchaku, H. Tsukube; *Tetrahedron Letters*, **1993**, 34, 2617-2620.
80. A. M. Foley et al. / *Tetrahedron: Asymmetry*. **2017**, 28, 1144–1153.
81. H. Yamamoto, Y. Takagi, T. Oshiro, et al. *The Journal of Organic Chemistry*, **2014**, 79, 8850-8855.
82. M. Bolduc, J. Bergeron, A. Michaud, N. Pelchat, P. Morin, M. Dasser, R. Chênevert, *Tetrahedron:Asymmetry*, **2012**, 23, 428-433.
83. L. M Solano, N. M. Lourenço, *Química Nova*, **2015**, 38(2), 285-287.
84. N. Ríos-Lombardia, V. Gotor-Fernandez, V. Gotor, *J. Org. Chem.* **2011**, 76, 811–819.

85. (a) G. Obame, P. Bremond, C. Pannecouque, G. Audran, *Synthesis*. **2013**;45:2612. (b) G. Obame, H. Pellissier, N. Vanthuynne, J-B. Bongui, G. Audran, *Tetrahedron Lett.* **2011**;52: 1082. (c) Takeyuki Suzuki, *Tetrahedron Letters*, **2017**, 58, 4731–4739.
86. D. Acetti, E. Brenna, C. Fuganti,; F.G. Gatti, S. Serra, *Tetrahedron Lett.* **2009**, 50, 2249.
87. R. Ostaszewski, D. E. Portlock, A. Fryszkowska, K. Jeziorska, *Pure Appl. Chem.*, **2003**, 75, 413.
88. M. Merabet-Khelassi, Z. Houiene, L. Aribi-Zouiouche, O. Riant, *Tetrahedron: Asymmetry*, **2012**, 23, 828.
89. Z. Houiene , M. Merabet-Khelassi , N. Bouzemi , O. Riant , L. Aribi-Zouiouche, *Tetrahedron: Asymmetry.*, **2013**, 24, 290–296.
90. A. Alalla, M. Merabet-Khelassi, Olivier Riant, Louisa Aribi-Zouiouche, *Tetrahedron: Asymmetry*, **2016**, 27, 1253-1259.
91. FZ. Belkacemi, M. Merabet-Khelassi, L. Aribi-Zouiouche, O. Riant. *Tetrahedron: Asymm.* **2017**; 28:1644.
92. A. Zaïdi, M. Merabet-Khelassi, L. Aribi-Zouiouche. *Catal. Lett.*, **2015**; 145 :1054.
93. M. Merabet-Khelassi, A. Zaidi, & L. Aribi-Zouiouche, *Enzyme and microbial technology*, **2017**, 107, 1-6.
94. U. Chandrasekhar Reddy | Muraleedharan K. Manheri, *Chirality*. **2019**; 1–12.
95. Réf 54: (a)A. M. Klivanov, *Chemtech.*, 1986, 16, 354-359 ; (b) C. E. Humphrey, M. Ahmed, A. Ghanem, N. J. Turner, *Synthetic Methods.*, 2014, 123-160.
96. (a) H. Stercher, K. Faber, *Synthesis*, Janvier **1997**, 1-16; (b) U. T. Strauss, U. F. Felfer, K. Faber, *Tetrahedron: Asymmetry*, **1999**, 10, 107-117; (c) K. Faber, *Chem. Eur. J.*, **2001**, 7, 5005-5010.
97. (a) N. J. Turner, *Current Opinion in Biotechnology*, **2003**, 14, 401-406; (b) J H. Schrittwieser, J. Sattler, V. Resch, F G. Mutti, W. Kroutil; *Current Opinion in Chemical Biology*, **2011**, 15, 249-256. (c) A. Kamal, M. A. Azhar, T. Krishnaji, M. H. Malik, S. Azeza, *Coordination Chemistry Reviews*, **2008**, 569-592. (d) Turner, N. J. Deracemisation methods. *Current opinion in chemical biology*, **2010**, 14(2), 115-121(e) Réf 95 (b): Humphrey, Cara E., Ahmed, Marwa, Ghanem, Ashraf.: *Synthetic Methods*, 2014, p. 123-160. (f) Verho, Oscar, and Jan-E. Bäckvall, *Journal of the American Chemical Society*, **2015**, 137(12), 3996-4009. (g) Z. S. Seddigi, M. S.

- Malik, S. A. Ahmed, A. O. Babalghith, & A. Kamal, *Coordination Chemistry Reviews*, **2017**, 348, 54-70.
- 98.** F. J. Quijada, V. Gotor, F. Rebolledo; *Organic Letters*, **2010**, 12, 3602-3605.
- 99.** B. Schnell, K. Faber, W. Kroutil, *Adv. Synth. Catal.*, **2003**, 345, 653-666.
- 100.** U. T. Strauss, K. Faber, *Tetrahedron: Asymmetry*, **1999**, 10, 4079-4081.
- 101.** (a) Y. Blum, D. Czarkie, Y. Rahamim, & Y. Shvo, *Organometallics*, **1985**, 1459-1461. (b) Y. Shvo, D. Czarkie, Y. Rahamim, & D. F. Chodosh, *J. Am. Chem. Soc.*, **1986**, 108, 7400-7402. (c) K. Bogár, J.-E. Bäckvall; *Tetrahedron: Letters*, **2007**, 48, 5471-5474. (d) A. Díaz-Rodríguez, I. Lavandera, & V. Gotor, *Current Green Chemistry*, **2015**, 2, 192-211.
- 102.** A. L. E. Larsson, B. A. Persson, J. E. Bäckvall; *Angew. Chem. Int. Ed.*, **1997**, 36, 1211
- 103.** M. Merabet-Khelassi, N. Vriamont, L. Aribi-Zouieueche, O. Riant; *Tetrahedron: Asymmetry*, **2011**, 22, 1790-1796.
- 104.** S. Agrawal, E. Martínez-Castro, R. Marcos, B. Martín-Matute, *Organic Letters*, **2014**, 16, 2256-2259.
- 105.** S. Akai, R. Hanada, N. Fujiwara, Y. Kita, M. Egi *Org Lett*, **2010**; 12; 4900-4903.
- 106.** J. V. Allen, J. M. J. Williams; *Tetrahedron: Letters*, **1996**, 37, 1895-1862.
- 107.** K. P. J. Gustafson, R. Lihammar, O. Verho, K. Engström, J.-E. Bäckvall, *J. Org. Chem.* **2014**, 79, 3747-3751.
- 108.** M. Schober, P. Gadler, T. Knaus, H. Kayer, R. Birner-Grünberger, C. Gully, K. Faber, *Organic letters*, **2011**, 13, 4296-4299.
- 109.** C. E. Paul, I. Lavandera, V. Gotor-Fernandez, W. Kroutil, & V. Gotor, *Chem. Cat. Chem.*, **2013**, 5, 3875.
- 110.** C. Magallanes-Noguera, M. M. Ferrari, M. Kurina-Sanz, A. A. Orden; *Journal of Biotechnology*, **2012**, 160, 189-194.
- 111.** E. W. Hafner and D. Wellner, *Proc. Nat. Acad. Sci.*, **1971**, 68, 987-991.
- 112.** F. D. Nasário, T. Cazetta, P. J. Moran, & J. A. R. Rodrigues, *Tetrahedron: Asymmetry*, **2016**, 27, 404-409.
- 113.** Y. P. Xue, C. Wang, D. C. Wang, Z. Q. Liu, & Y. G. Zheng, **2018**, 186(3), 563-575.
- 114.** T. Danda, T. Nagatomi, A. Maehara, T. Umemura, *Tetrahedron*, **1991**, 47, 8701-8716.
- 115.** A. Wallner, H. Mang, S. M. Glueck, A. Steinreiber, S. F. Mayer, K. Faber, *Tetrahedron: Asymmetry*, **2003**, 14, 2427-2432.
- 116.** Y. Shimotori, & T. Miyakoshi, *Synthetic Communications*, **2009**, 39, 1570-1582.

117. T. de Sousa Fonseca, M. R. da Silva, M. D. C. F. de Oliveira, T. L. G. de Lemos, R. de Araújo Marques, & M. C. de Mattos, *Applied. Catalysis. A: General*, **2015**, 492, 76-82.
118. (a) G. Carrea, S. Riva, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2000**, 39, 2226. (b) Réf 11(c): K. Faber, “ Biotransformations in Organic Chemistry”, 6th ed.; Springer-Verlag: Berlin Heidelberg, 2011
- 119.(a) Bhardwaj, Kamal Kumar, Gupta, Reena. *Journal of Oleo Science*, **2017**, 66, 1073. (b) Agustian, Joni, Kamaruddin, Azlina Harun, et Bhatia, Subhash. *Process Biochemistry*, **2010**, 45, 1587.(c) Simon, Robert C., Mutti, Francesco G., et Kroutil, Wolfgang. *Drug Discovery Today: Technologies*, **2013**, 10, 37-44.
120. (a) Gotor-Fernández, Vicente, Brieva, Rosario, et Gotor, Vicente. *Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic*, **2006**, 40, 111. (b) Ref 97(c): Kamal, Ahmed, Azhar, M. Ameruddin, Krishnaji, Tadiparthi, et al. *Coordination Chemistry Reviews*, **2008**, 252, 569-592. (c) U. T. Bornscheuer, G. W. Huisman, R. J. Kazlauskas, et al. . *Nature*, **2012**, 485, 185-194.
121. (a) P. T. Anastas , N. Eghbali, *Chem. Soc. Rev.*, **2010**, 39, 301-312; (b) B. M. Trost, *Science* ,**1991**, 1471-1477, *Angew. Chem. Int. Ed.* **1995**, 107, 285-307.
- 122.(a) Schmid A, Dordick JS, Hauer B, Kiener A, Wubbolts M, Witholt B. Industrial biocatalysis today and tomorrow. *Nature*. **2001**, 409 (6817), 258-268. (b) RN. Patel , *Organic Synthesis Using Biocatalysis..*; **2016**: 339; 411.
123. (a) D. Lee, C.L. Williamson, L. Chan, M.S. Taylor, *J. Am. Chem. Soc.* **2012**; 134; 8260. (b) T. Yasmin, T. Jiang, B. Han, *Catal. Lett.* **2007**, 116, 46. (c) B. Ren, M. Rahm, X. Zhang, Y. Zhou, H. Dong, *J. Org. Chem.* **2014**, 79, 8134.
124. K. Jing, R. Duan, J. Sun, S. Wang, Y. Lu, *Adv. Mater. Res.* **2013**, 12, 690–693.
125. (a) F. Theil, J. Weidner, S. Ballschuh, A. Kunath, H. Schick, *J. Org. Chem.* **1994**, 59, 388. (b) C. Oger, Z. Marton, Y. Brinkmann, V. Bultel-Ponce, T. Durand, M. Graber, J.M. Galano, *J. Org. Chem.* **2010**, 75,1892. (c) V. Framis, F. Camps, P. Clapes, *Tetrahedron Lett.* **2004**; 45; 5031. (d) V.S. Meena, U.C. Banerjee, *Monatsh. Chem.* **2012**; 143; 951.
- 126.(a) Do-Min Lee, Jong-Cheol Lee, Nakcheol Jeong and Kee-In Lee, *Tetrahedron: Asymmetry*. **2007**, 18, 2662–2667. (b) A Mathes et MMiacrhtaienl K F. Pub. No.: US **2010/0168229** (c) Marco Wieser, Hirotaka Furukawa, Hiroshi Morita, Toyokazu Yoshida and Toru Nagasawa, *Tetrahedron: Asymmetry*, **1999**, 10, 1627–1630.

- 127.(a)** Dalko, Maria. U.S. Patent Application No 14/007,853, 29 mars **2012**. **(b)** Mathes, Christian, Michael Foulkes, Martin Kesselgruber. U.S. Patent No. 8,415,508. 9 Apr. **2013**. **(c)** DIVI, Murali Krishna Prasad, RAO, Padakandla Gundu, RAO, Bolneni Nageswara, *et al.* U.S. Patent No 8,455,692, 4 juin **2013**.
- 128.** O. Kirk, M.W. Christensen, *Org. Process Res. Dev.* **2002**, 6, 446-451.
- 129.** E.M. Anderson, K.M. Larsson, O. Kirk, *Biocatal. Biotransform.* **1998**, 16, 181-204.
- 130.(a)** V. Gotor-Fernandez, R. Brieva, V. Gotor, *J. Mol. Catal. B: Enz.* **2006**, 40, 111-120, **(b)** V. Gotor-Fernandez, E. Busto, V. Gotor, *Adv. Synth. Catal.* **2006**, 348, 797-812.
- 131.(a)** SV. Pawar, GD. Yadav, D. Ganapati. *J Ind Eng Chem.* **2015**, 31,335. **(b)** LC. Bencze, C. Paizs, MI. Toşa, FD. Irimie, *Tetrahedron: Asymm.* **2011**, 22; 675-683.
- 132. (a)** K. Han, C. Kim, J. Park, MJ. Kim. *J. Org. Chem.* **2010**; 75; 3105. **(b)** Fuchs M, Koszelewski D, Tauber K, Kroutil W, Faber K. *Chem. Comm.* **2010**; 46; 5500. **(c)** PC. Yan, GL. Zhu, Xie JH, Zhang XD, Zhou QL, Li YQ, Shen WH, Che DQ. *Process Res. Dev.* **2013**; 17; 307.
- 133. (a)** RK. Pandey, PK. Upadhyay, P. Kumar, *Tetrahedron Lett.* **2003**, 44, 6245. **(b)** JF. McGarrity, A. Zanotti-Gerosa *Tetrahedron: Asymmetry.* **2010**; 21; 2479. **(c)** S. Dai, G. LI, W. Zhang, C. Zhang, X. Song, D. Huanget. *Catalyst. Chem. Lett.* **2017**, 46, 740.
- 134. Réf 128(b):** Mathes, Christian, Michael Foulkes, and Martin Kesselgruber. Process for the preparation of optically active compounds using transfer hydrogenation. U.S. Patent No. 8,415,508. 9 Apr. **2013**.
- 135. Réf 133(c) :** PC. Yan, GL. Zhu, Xie JH, Zhang XD, Zhou QL, Li YQ, Shen WH, Che DQ. *Process Res. Dev.* **2013**; 17; 307.
- 136. Réf 112:** F. D. Nasário, , T. Cazetta, , P. J. Moran, & J. A. R. Rodrigues, *Tetrahedron: Asymmetry*, **2016**, 27, 404-409.
- 137. Réf 134(c) :** S. Dai, G. LI, W. Zhang, C. Zhang, X. Song, D. Huanget, *Chem. Lett.* **2017**, 46, 740.
- 138. (a)** GW. Breton, *J. Org. Chem.*, **1997**, 62, 8952. **(b)** S. Yamada, T. Sugaki, K. Matsuzaki, *J. Org. Chem.*, **1996**; 61; 5932
- 139. (a)** Arunkumar K, Reddy MA, Kumar TS, Kumar BV, Chandrasekhar KB, Kumar PR, Pal M. *J. Org. Chem.* **2010**; 6; 1174. **(b)** Mangas-Sánchez J, Rodríguez-Mata M, Busto E, Gotor-Fernández V, Gotor V. *J. Org. Chem.* **2009**; 74; 5304.

140. (a) Raza S, Fransson L, Karl H. *Protein Sci.* **2001**; 10, 329. (b) Réf 130: EM. Anderson, KM. Larsson, O. Kirk, *Biocatal. Biotransfor.* **1998**; 16; 181. (c) A. Idris, A. Bukhari, *Biotechnol. Adv.*, **2012**, 30, 550.
141. (a) B. Danieli, M. Luisetti, G. Sampognaro, G. Carrea, S. Riva, *J. Mol. Catal. B: Enzym.* **1997**, 3, 193. (b) Virsu P, Liljeblad A, Kanerva A, Kanerva LT. *Tetrahedron: Asymmetry.* **2001**; 12; 2447.
142. T. Miyazawa, M. Yamamoto, H. Danjo, *Biotechnol. Lett.* **2013**; 35, 625.
143. C.R. Johnson, S.J. Bis; *Tetrahedron Lett*, **1992**, 33, 7287.
144. J. Drouin, J. Costante, E. Guibé-Jampel, *J.Chem. Educ.* **1997**, 74, 992.
145. <http://www.rcsb.org/pdb/>
146. Réf 88: M. Merabet-Khelassi, Z. Houiene, L. Aribi-Zouioueche, O. Riant, *Tetrahedron: Asymmetry*, **2012**, 23, 828.
147. Réf 89: Z. Houiene, M. Merabet-Khelassi, N. Bouzemi, O. Riant, L. Aribi-Zouioueche, *Tetrahedron: Asymmetry.*, **2013**, 24, 290–296.
- 148.<sup>1</sup> Réf 90: A. Alalla, M. Merabet-Khelassi, Olivier Riant, Louisa Aribi-Zouioueche, *Tetrahedron: Asymmetry*, **2016**, 27, 1253-1259.
149. Réf 91: FZ. Belkacemi, M. Merabet-Khelassi, L. Aribi-Zouioueche, O. Riant. *Tetrahedron: Asymm.* **2017**; 28:1644.
150. VL. Nevers, Z. Marton, S. Lamare, K. Hult, M. Graber, *J. Mol. Catal. B: Enzym.* **2009**; 59; 90.
151. Réf 92 : A. Zaïdi, M. Merabet-Khelassi, L. Aribi-Zouioueche, *Catal. Lett.* **2015**; 145 ; 1054.
152. Réf 93: M. Merabet-Khelassi, A. Zaïdi, L. Aribi-Zouioueche, *Enzyme Microb. Tech.* **2017**; 107:1
153. (a) CC. Gruber, I. Lavandera, K. Faber, W. Kroutil. *Adv. Synth. Catal.* **2006**; 348; 1789-1805; (b) O. Pàmies, J-E. Bäckvall. *Curr. Opin. Biotech.* **2003**; 14; 407; (c) JH. Schrittwieser, B. Groenendaal, V. Resch, D. Ghislieri, et al, *Angew. Chem. In. Ed.* **2014**; 53, 3731.
154. Réf 134(b): JF. McGarrity, A. Zanotti-Gerosa, *Tetrahedron: Asymmetry.* **2010**, 21, 2479.
155. MR Farlow, J L.Cummings, *Am. J. Med.* **2007**; 120; 388.

156. (a) N. Bouzemi, L. Aribi-Zouioueche, J-C. Fiaud. *Tetrahedron: Asymmetry*, **2006**, 17, 797-800. **Réf 91**: Z. Houiene , M. Merabet-Khelassi , N. Bouzemi , Olivier Riant , L. Aribi-Zouioueche, *Tetrahedron: Asymmetry*, **2013**, 24, 290–296.
- 157.(a) T. H. K. Thvedt, E. Fuglseth, E. Sundby, B. H. Hoff, *Tetrahedron*, **2010**, 66, 6733-6743. (b) E. Warmerdam, J. Brussee, C.G. Kruse, A van der Gen, *Tetrahedron*, **1993**, 49, 1063–1070.
158. **Réf 91**: Z. Houiene , M. Merabet-Khelassi , N. Bouzemi , Olivier Riant , L. Aribi-Zouioueche, *Tetrahedron: Asymmetry*, **2013**, 24, 290–296.
159. (a) M. Fujio, J.R. Keeffe, R.A. More O’Ferrall, A.C. O’Donoghue *J. Am. Chem. Soc.*, **2004**, 126, 9982-9992. (b) V. Stepanenko, W. Correa, M. Ortiz-Marciales, *Tetrahedron: Asymmetry*, **2009**, 20, 2659–2665. (c) F. Mohamed, A. Megeed, E. Badr, M. Azaam, G. El-Hiti, *Bioorg. Med. Chem.*, **2012**, 20, 2252-2258.
160. (a) B.G.Davis, V. Boyer, *Nat. Prod. Rep.*, **2001**, 18, 618-640. (b) A. Ghanem, H.Y. Aboul-Enein, *Tetrahedron: Asymmetry*, **2004**, 15, 3331–3351.
161. (a) K. C. Majumdar, & S. K. Chattopadhyay, (Eds.).*Heterocycles in natural product synthesis*. John Wiley & Sons. **2011**. (b) K. Jones, J.J. Mohan, L.C. Xavier, T.J. Blacklock, D.J. Mathre, P.E. Sohar, T. Turner Jones, R. Reamer, R.A. Roberts, F.E.J.J. Grabowski, *J. Org. Chem.***1991**, 56, 763-769.
162. (a) D. F. Birt, S. Hendrich, W. Wang, *Pharmacology & therapeutics*, **2001**, 90, 157–177. (b) D. Sarkar, S. Behera, S. Ashe, B. Nayak, S. K. Seth, *Tetrahedron*. **2017**, 73, 7200-7209.
163. L. Feng, M. M. Maddox, M. Z. Alam, L. S. Tsutsumi, G. Narula, D. F. Bruhn, Y. C. Tse-Dinh, *J. Med. Chem.* **2014**, 57, 8398–8420.
164. (a) P. G. Pietta, Flavonoids as antioxidants, *J. Nat. Prod.* **2000**, 63, 1035–1042; (b) R. J. Nijveldt, E. van Nood, D. E. C. van Hoorn, P. G. Boelens, K.van Norren,; P.A.M van Leeuwen,. *Am. J. Clin. Nutr.*, **2001**, 74, 418-425.
165. Boykin D. W., Kumar A., Spychala J., Zhou M., Lombardy R. J.,6 Wilson W. D., Dykstra C. C., Jones S. K., Hall J. E, *J. Med.Chem.*, **1995**, 38, 912-916.
166. Pour M., Spulak M., Buchta V., Kubanov P., Voprsalova M., Wsol V., Fakova H., Koudelka P., pourova H., Schiller R., *J. Med. Chem.* **2001**, 44, 2701-2706.
167. Mortensen D. S., Rodriguez A. L., Carlson K. E., Sun J., Katzenellenbogen B. S., Katzenellenbogen J. A., *J. Med. Chem.* **2001**, 44, 3838-3848.
168. J. R. Cashman, S. Ghirmai, *Bioorg Med Chem.* **2009**, 7, 6890.

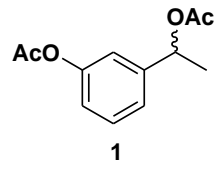
169. R.S. Keri, et al. "Chromones as a privileged scaffold in drug discovery: A review." *European journal of medicinal chemistry*, **2014**, 78, 340-374.
170. K.R. Haapala, et al. *Journal of Manufacturing Science and Engineering*, **2013**, 135, 041013.
171. (a) H. Pellissier, *Tetrahedron*, **2008**, 64, 1563-1601. (b) O. Verho, and Jan-E. Bäckvall, *Journal of the American Chemical Society*, **2015**, 137, 3996-4009. (c) AS de Miranda, LSM Miranda, Roma de Souza. *Biotechnology advances*, **2015**, 33, 372-393. (d) Z.S. Seddigi, M.S. Malik, S.A. Ahmed, A.O. Babalghith, , & A. Kamal, *Coordination Chemistry Reviews*, **2017**, 348, 54-70.
172. (a) J.H. Lee, K. Han, M. J. Kim, & J. Park, *European Journal of Organic Chemistry*, **2010**, 6, 999-1015. (b) H.L.Liu, T. Anthonsen, *Chirality*, **2002**, 14, 25-27. (c) N. Bouzemi I. Grib, Z. Houiene, L. Aribi-Zouioueche, *Catalysts*, **2014**, 4, 215-225. (d) **Réf 157**: N. Bouzemi, L.Aribi-Zouioueche, J.C.Fiaud, *Tetrahedron:Asymmetry*, **2006**, 17, 797-800. (e) Tarcila Cazetta, Paulo J.S. Moran, J. Augusto R. Rodrigues, *Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic*, **2014**, 109, 178-183.
173. (a) A. E. Nibbs, K. A. Scheidt, *Eur. J. Org. Chem.* **2012**, 449; (b) L. Meng, Wang, J. *Synlett.*, **2016**, 27, 656.
174. M. Bennamane, S. Zeror, L. Aribi-Zouioueche. *Biocatalysis and Biotransformation*, **2014**, 32, 327-332
175. M. Bennamane, S. Zeror, L Aribi-Zouioueche. *Chirality*, **2015**, 27, 205-210.
176. Zhao, Dongbing, Bernhard Beiring, and Frank Glorius. *Angewandte Chemie International Edition*. **2013**, 52, 8454-8458.
177. M. Boukachabia, L. Aribi-Zouioueche, and O. Riant. *Journal of Organometallic Chemistry*, **2018**, 868, 95-101.
178. T. Izumi, T. Hino, A. Kasahara *J Chem Soc Perkin Trans.* **1992**, 1, 1265-1267.
179. T. Todoroki, A. Saito and A. Tanaka, *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, **2002** , 66, 1772-1774.
180. C. Tanyeli, A.S. Demir, A.H. Arkin, I.M. Akhmedov, *Enantiomers*, **1997**, 2, 433.
181. P. Holmberg, J. Karlsson, A. Gogoll, *Tetrahedron: Asymmetry*; **2005**, 16, 2397-2399.
182. **Réf 74** : N. Melais, M. Boukachabia, L. Aribi-Zouioueche, et al. *Bioprocess and biosystems engineering*, **2015**, 38, 1579-1588.
183. **Réf 90**: M. Merabet-Khelassi, Z. Houiene, L. Aribi-Zouioueche, O. Riant, *Tetrahedron: Asymmetry*, **2012**, 23, 828.

184. Zisis, Themistoklis, et al. *Biochemistry*, **2015**, 545, 969-997.
185. (a) **Réf 157** : N. Bouzemi, L. Aribi-Zouioueche, J-C. Fiaud. *Tetrahedron: Asymmetry*, **2006**, 17, 797-800. (b)**Réf 89** : Z. Houiene, M. Merabet-Khelassi, N. Bouzemi, Olivier Riant, L. Aribi-Zouioueche, *Tetrahedron: Asymmetry*, **2013**, 290–296
186. T. H. K. Thvedt, E. Fuglseth, E. Sundby, B. H. Hoff, E, *Tetrahedron*, **2010**, 66, 6733-6743.
187. E. Warmerdam, J. Brussee, C.G. Kruse, A. van der Gen, *Tetrahedron*, **1993**, 49, 1063–1070.
188. K. P. Dhake, D. D. Thakare, B. M. Bhanage, *Flavour Fragr. J.* **2013**, 28, 71–83.
189. **Réf 66**: M. Degueil-Castaing, B. De Jeso, S. Drouillard, B. Maillard ; *Tetrahedron Lett.* **1987**, 28, 953.
190. (a) Y. Terao, K. Tsuji, M. Murata, K. Achiwa, T. Nishio, N. Watanabe, K. Seto ; *Chem. Pharm. Bull.*, **1989**, 37, 1653–1655; (b) **Réf.72**: J.-C. Fiaud, R. Gil, J.-Y. Legros, L. Aribi-Zouioueche, W. A. Köenig ; *Tetrahedron Lett.*, **1992**, 33, 6967–6970; (c) A. L. Gutman, D. Brenner, A. Boltanski ; *Tetrahedron : Asymmetry*, **1993**, 4, 839-844. ; (d) **Réf 69** : N. Bouzemi, H. Debbeche, L. Aribi-Zouioueche, J.-C. Fiaud ; *Tetrahedron Lett.*, **2004**, 45, 627–630. (e) **Réf 73** : H. Debbeche., M. Toffano., J-C. Fiaud. L. Aribi-Zouioueche. ; *Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic*; **2010**; 66, 319–324.
- 191.**Réf 4**: P. T. Anastas, J. C. Warner, *Green Chemistry: Theory and Practice*, Oxford University Press: New York, **1998**, p.30. By permission of Oxford University Press from ACS Green Chemistry Institute Webpage
- 192.B. J. Nikolau, M. A. D. N. Perera, L. Brachova, B. Shanks. *Plant J.* **2008**, 54, 536–545.
193. Y. Jiang, A. J. J. Woortman, G. O. R. Alberda van Ekenstein, D. M. Petrović, K. Loos. *Biomacromolecules*, **2014**, 15, 2482.
- 194.T. Werpy, G. Petersen. Top Value Added Chemicals From Biomass, Volume 1 – Results of Screening for Potential Candidates From Sugars and Synthesis Gas, Report No. NREL/TP-510–35523; National Renewable Energy Laboratory, Golden, CO (**2004**).
195. M. Winkler, T. M. Lacerda, F. Mack, M. A. R. Meier. *Macromolecules.*, **2015**, 48, 1398.

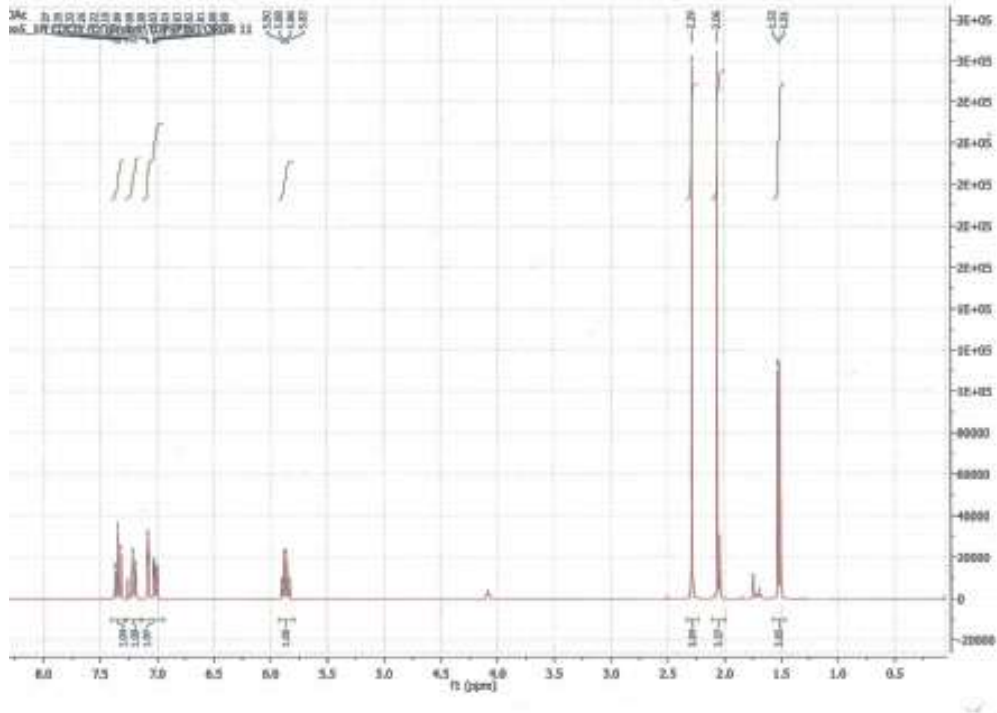
196. (a) Weastra, WP 8.1. Determination of market potential for selected platform chemicals: Itaconic acid, Succinic acid, 2,5-Furandicarboxylic acid, **Weastra, SRO.2012**.(b) T. Willke and K. D. Vorlop, *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, **2001**, 56, 289–295.
197. W. P. Dijkman, D. E. Groothuis, M. W. Fraaije. *Angew. Chem. Int.Ed.* **2014**, 53, 6515.
198. (a) A. Pellis, L. Corici, L. Sinigoï, N. D’Amelio, D. Fattor, et al. *Green Chem.*, **2015**, 17, 1756–1766. (b) J. Dai, S. Ma, X. Liu, L. Han, Y. Wu, X. Dai and J. Zhu, *Prog. Org. Coat.*, **2015**, 78, 49–54.(c) L. Corici, A. Pellis, V. Ferrario, C. Ebert, S. Cantone and L. Gardossi, *Adv. Synth. Catal.*, **2015**, 357, 1763–1774. (d) T. J. Farmer, J. H. Clark, D. J. Macquarrie, J. K. Ogunjobi and R. L. Castle, *Polym. Chem.*, **2016**, 7, 1650–1658.
199. T. J. Farmer, R. L. Castle, J. H. Clark and D. J. Macquarrie, *Int. J. Mol. Sci.*, **2015**, 16, 14912–14932.
200. T. Robert, S. Friebel. *Green Chem.* **2016**, 18, 2922.
201. Réf 200(c) : L. Corici, A. Pellis, V. Ferrario, C. Ebert, S. Cantone, L. Gardossi. *Adv. Synth. Catal.* **2015**, 357, 1763.
202. C. Hoffmann, M. C. Stuparu, A. Daugaard, A. Khan. *J. Polym. Sci. A.*, **2015**, 53, 745.
203. S. Kobayashi, H. Uyama, *Makromol. Chem. Rapid Commun.* **1993**, 14, 841-844.
204. H. Debbeche, M. Toffano, E. Kolodziej, J. C. Fiaud, & L. Aribi-Zouïouche, *European Polymer Journal*, **2012**, 48(7), 1323-1328.
205. Gonzalo, et al. *The Journal of organic chemistry*, **2003**, 68, 3333-3336.
206. Yi Jiang, Katja Loos, *Polymers* **2016**, 8, 243.
207. (a) J.M.G. Cowie, Z. Haq, *British Polym. J.* **1977**, 9, 241-245. (b) I. Katime, A. Madoz, & J. L. Velada, *Thermochimica Acta*, **1993**, 220, 91-101. J.(c) M. Novotny, A. Hrabálek, B. Januřsová, J. Novotny, K. Vávrová, *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2009**, 19, 344–347.
208. R. Wang, J. MA, X. Zhou, et al. *Macromolecules*, **2012**, 45, 6830-6839.
209. I. Katime, M. Ana, and J. L. Velada. *Thermochimica Acta.* **1991**, 189, 25-35.
210. J. V. Richard, C. Delaite, G. Riess, & A. S. Schuller, *Thermochimica Acta*, **2016**, 623, 136-143.
211. P. Ferraboschi, S. Casati, P. Grisenti, E. Santaniello, *Tetrahedron*, **1994**, 50, 3251-3258.

- 212.** (a) K. Yamamoto, T. Nishioka, J. Oda, Y. Yamamoto, *Tetrahedron Lett.* **1988**, 29, 1717. (b) Ozegowski, R.; Kunath, A.; Schick, H. *Tetrahedron: Asymmetry*.**1995**, 6, 1191. (c) I. Atodiresei, I. Schiffers, and C. Bolm. *Chem. Rev.* **2007**, 107, 5683-5712.
- 213.** (a) S-C. Stinson, Chiral drugs. *Chemical and engineering News*, **1992**, 46-79; (b) X. Lin, X. Dai, Z. Mao, Y. Wang, *Tetrahedron: Asymmetry*, **2009**, 65,1763-1766 ; (c) M. Assie, J-Y. Legros, J. C. Fiaud, *Tetrahedron: Asymmetry*, **2005**, 16, 1183-1187; (d) J-Y. Legros, M. Toffano, J. C. Fiaud, *Tetrahedron*, **1995**, 51, 3235-3246.
- 214.** T. Nishikawa, M. Yoshikai, K. Obi, M. Isobe, *Tetrahedron Letters*, **1994**, 35, 7997-8000.
- 215. Réf 74 :** N. Melais, M. Boukachabia, L. Aribi-Zouiouche, O. Riant. *Bioprocess Biosyst Eng*, **2015**, 38, 1579-1588.
- 216.**S. Jammer, D. Rizkov, F. Gelman, , O. Lev. *Environmental Science: Processes & Impacts*, **2015**, 17, 1370-1376.

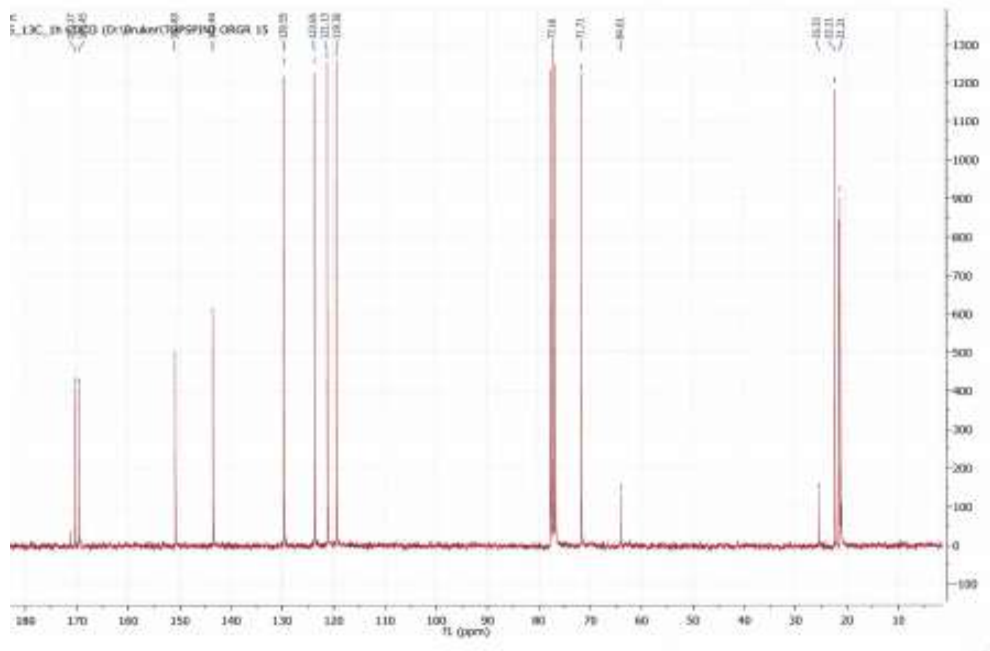


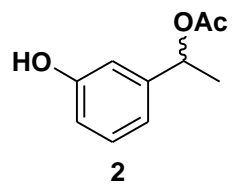


RMNH<sup>1</sup>

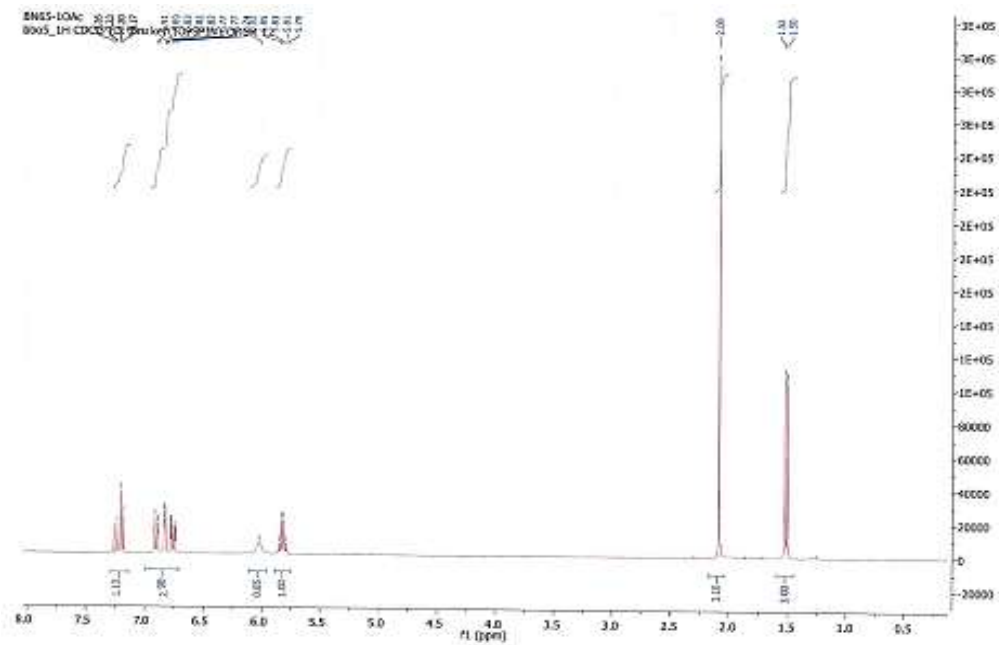


RMN<sup>13</sup>C

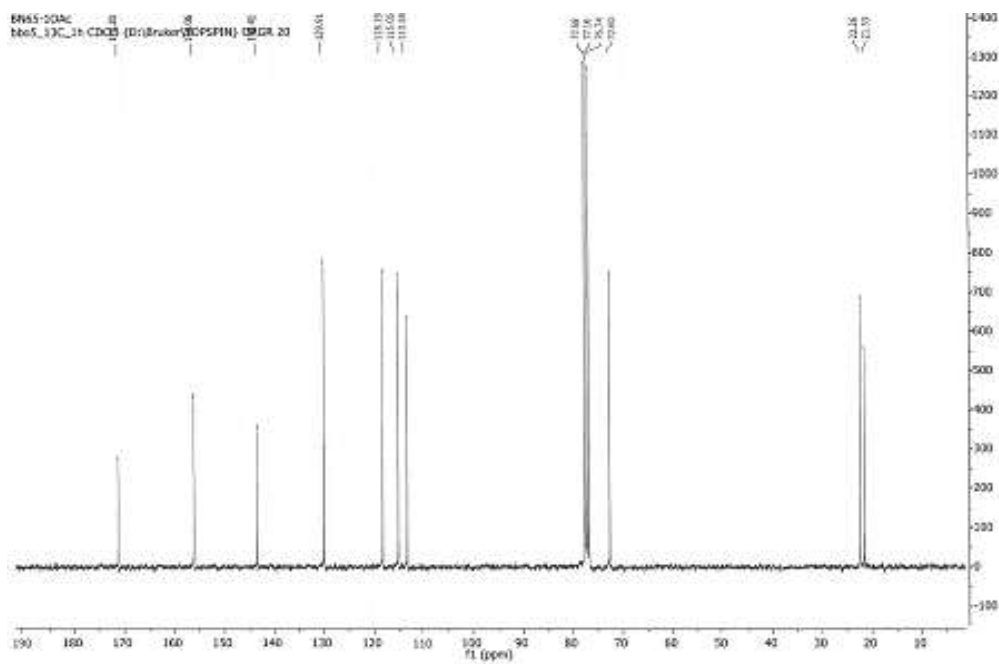


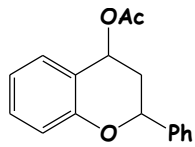


**RMN H<sup>1</sup>**



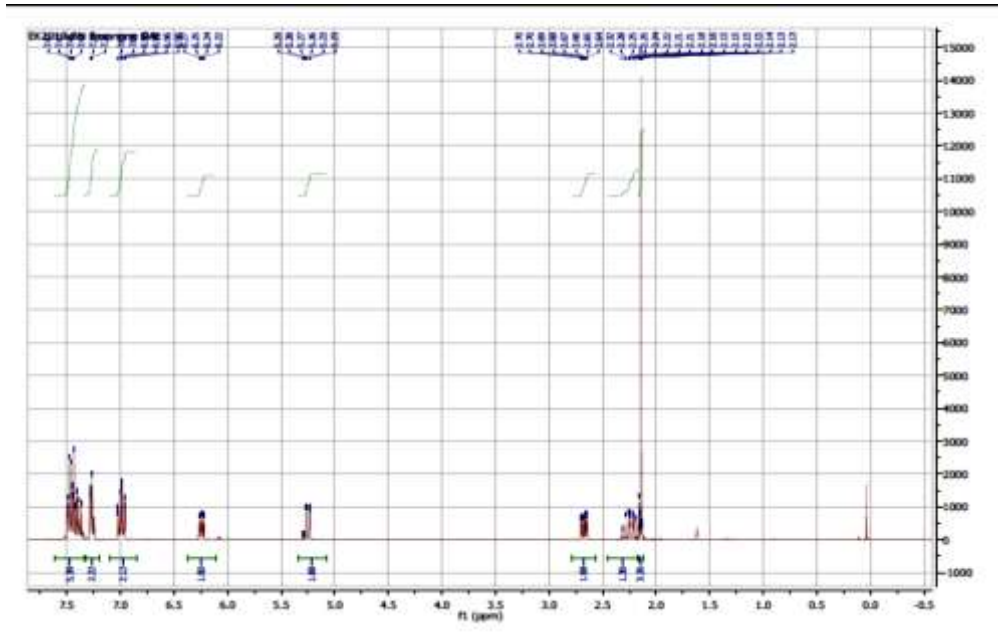
**RMN C<sup>13</sup>**



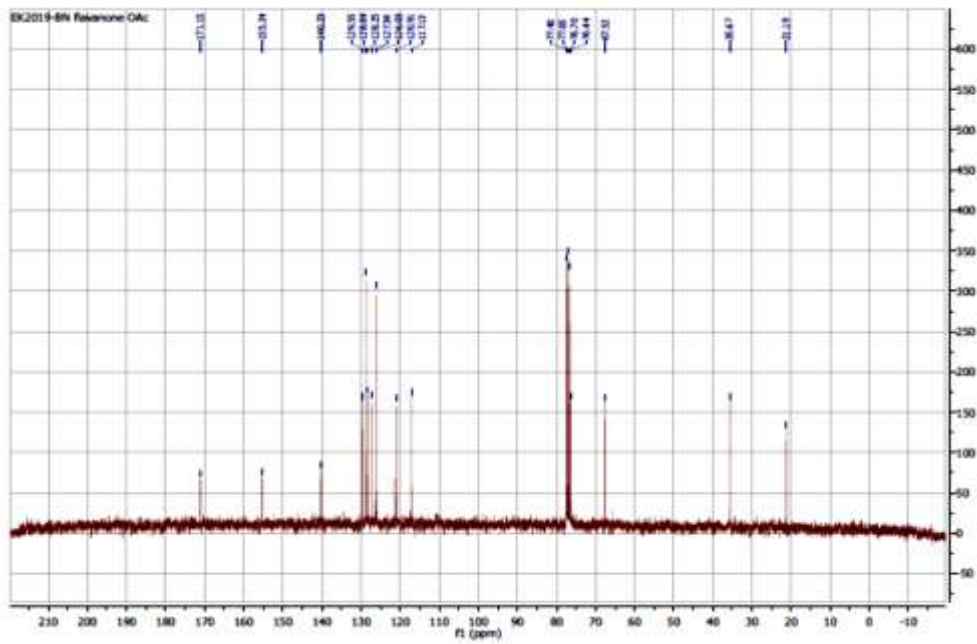


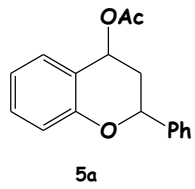
4a

RMN<sup>1</sup>H

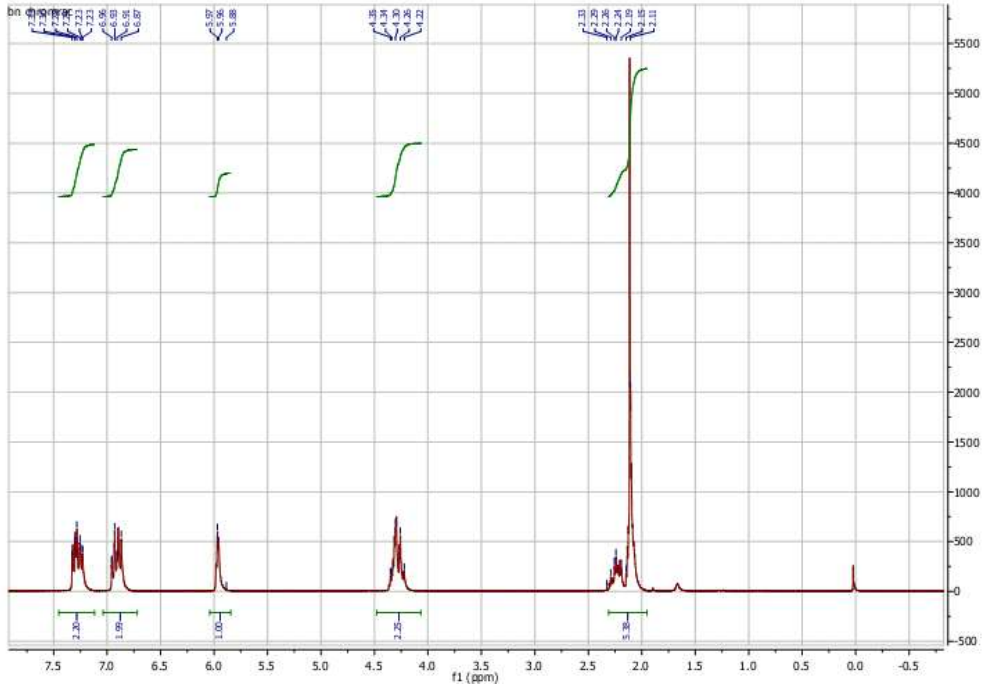


RMN C13

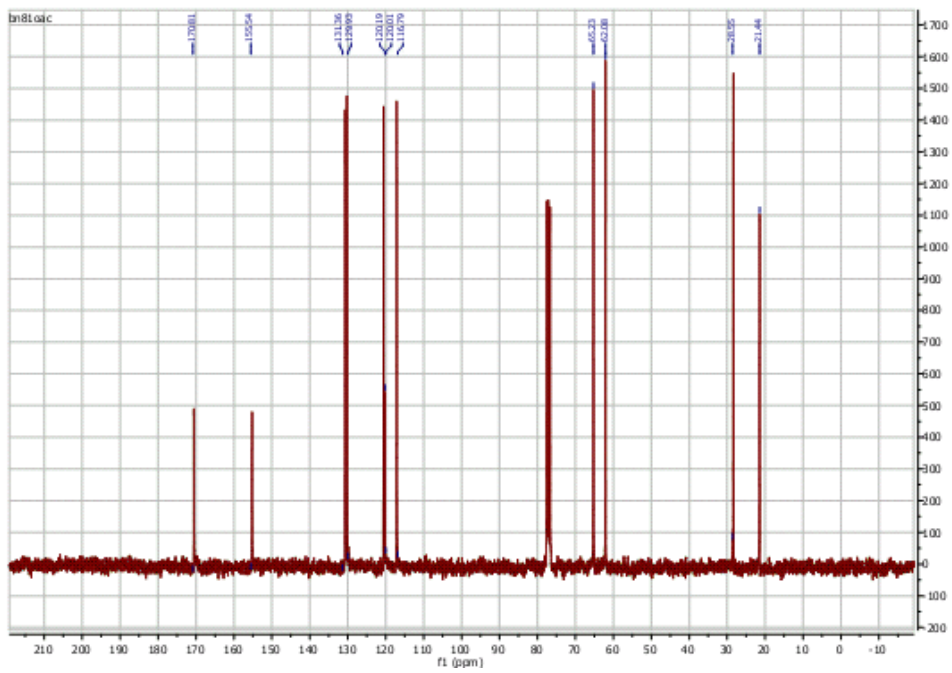


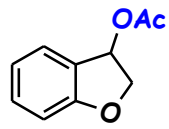


RMN H<sup>1</sup>



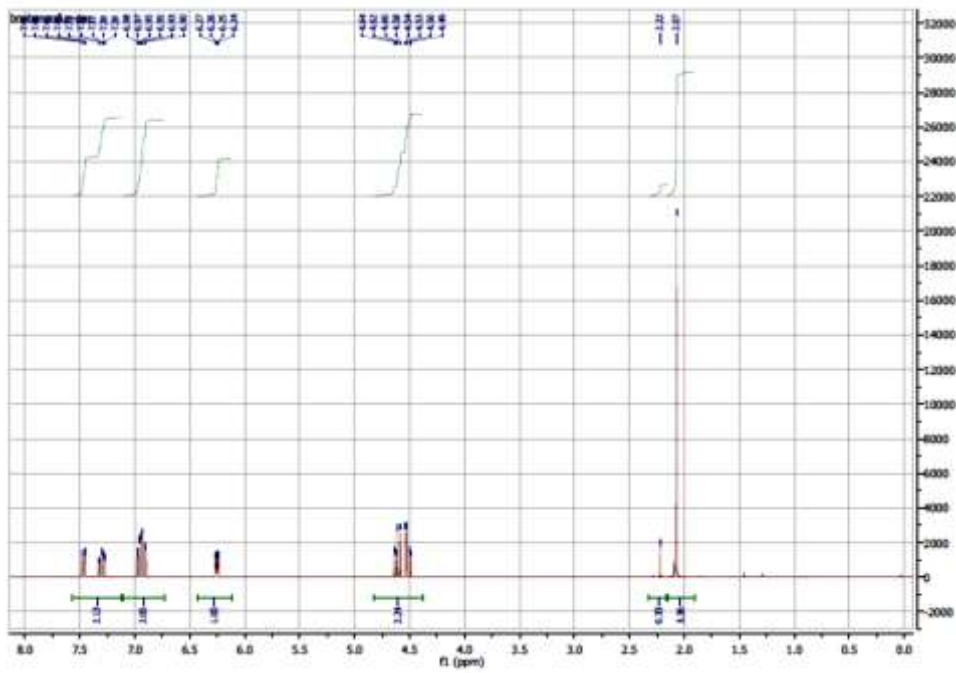
RMN C13



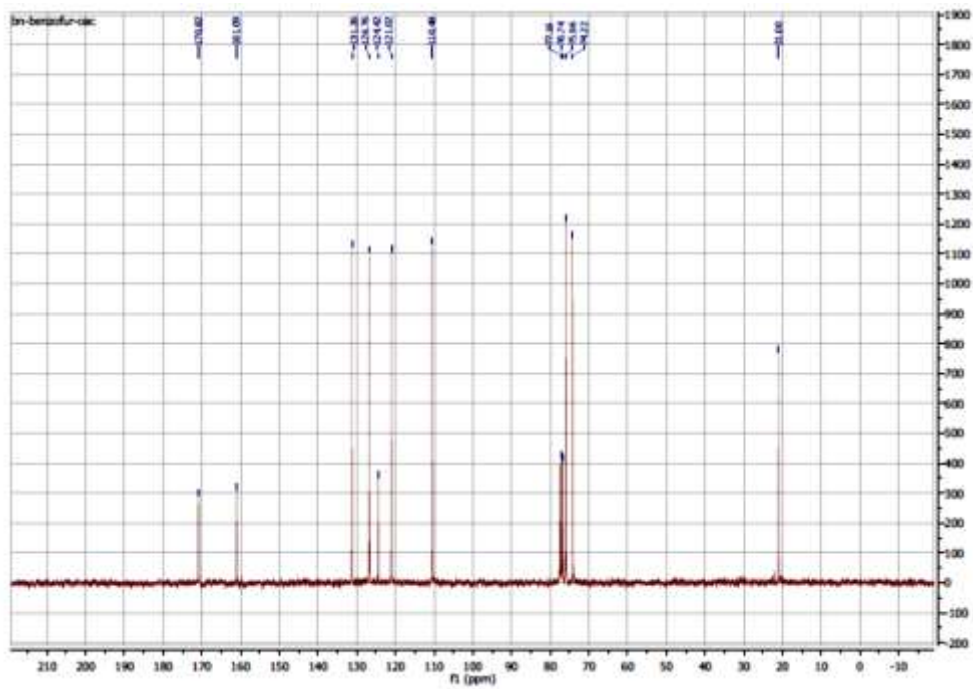


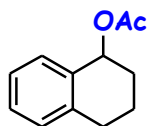
(+/-)-6a

RMN H<sup>1</sup>



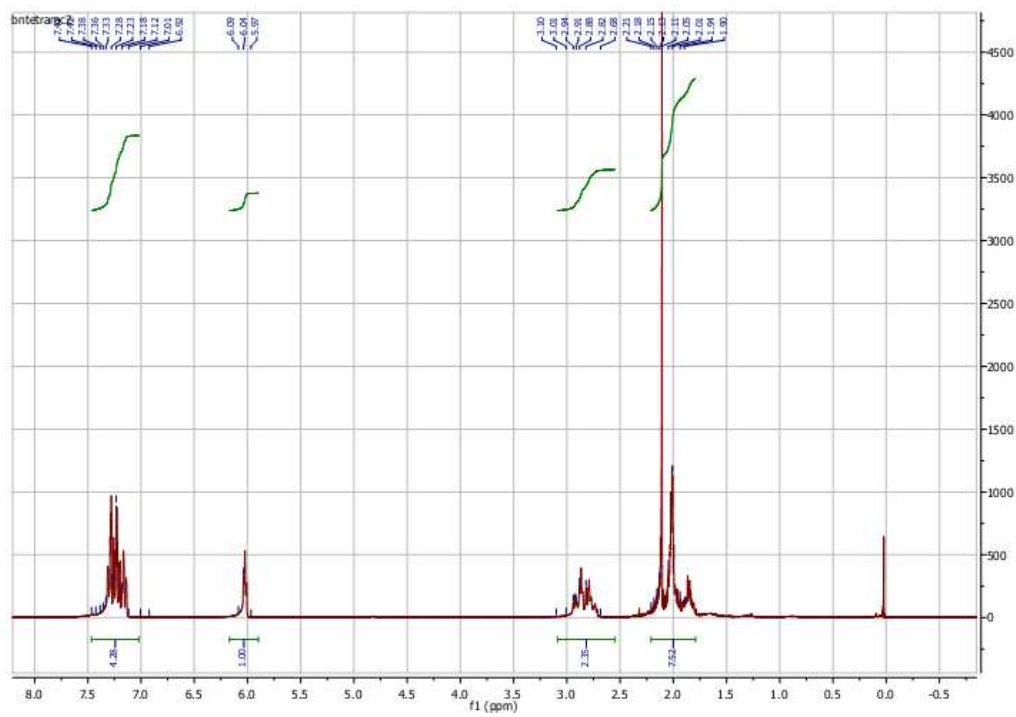
RMN C13



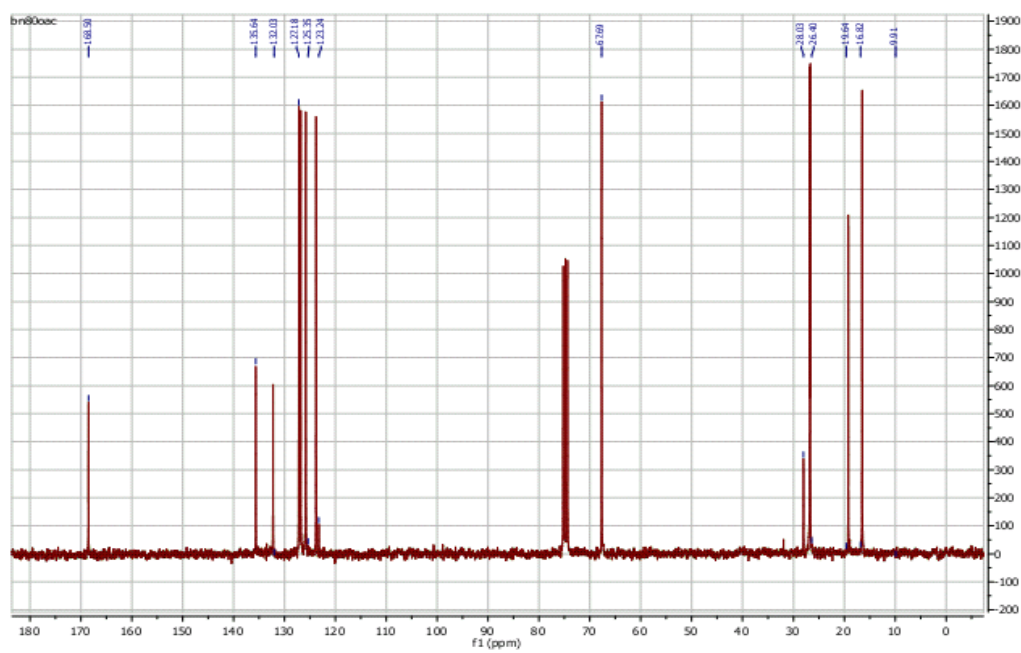


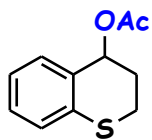
(+/-)-7a

### RMN H<sup>1</sup>



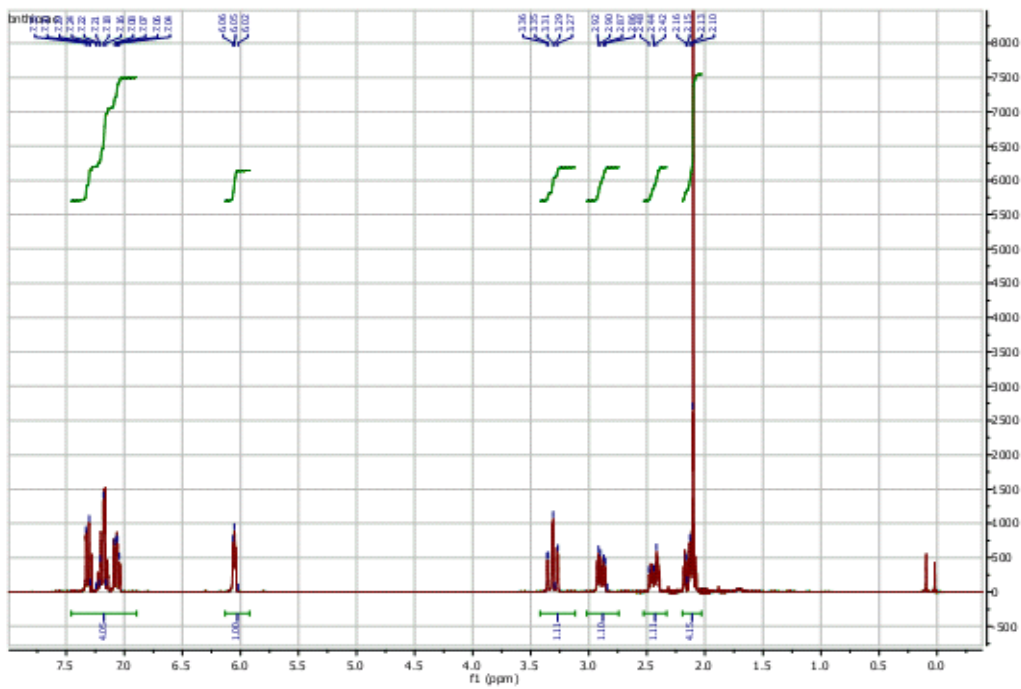
### RMN C13



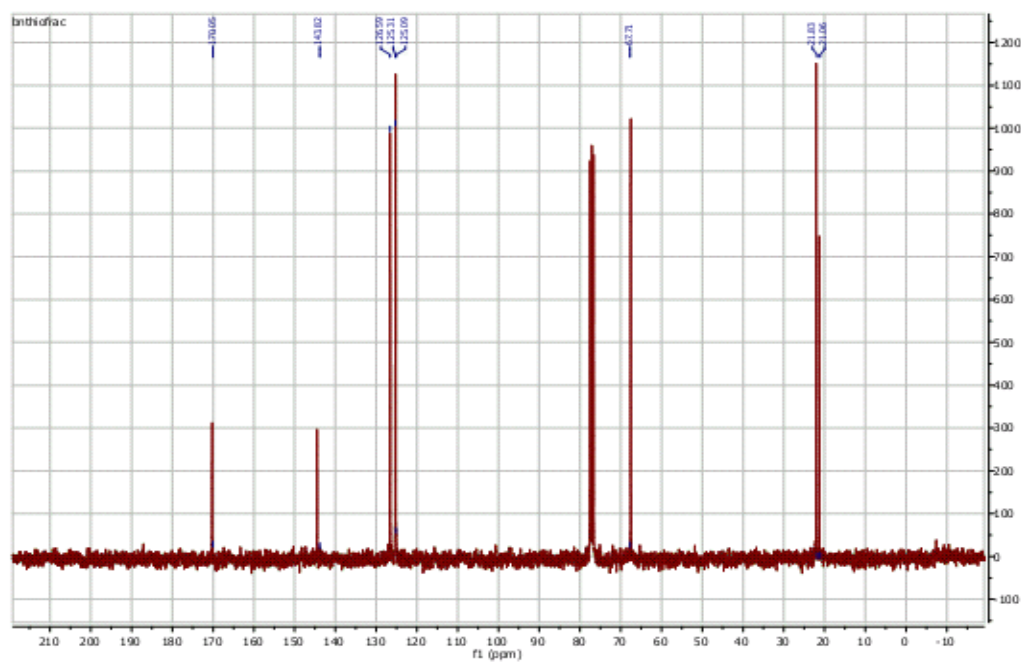


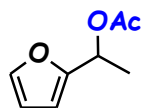
(+/-)-8a

RMN H<sup>1</sup>



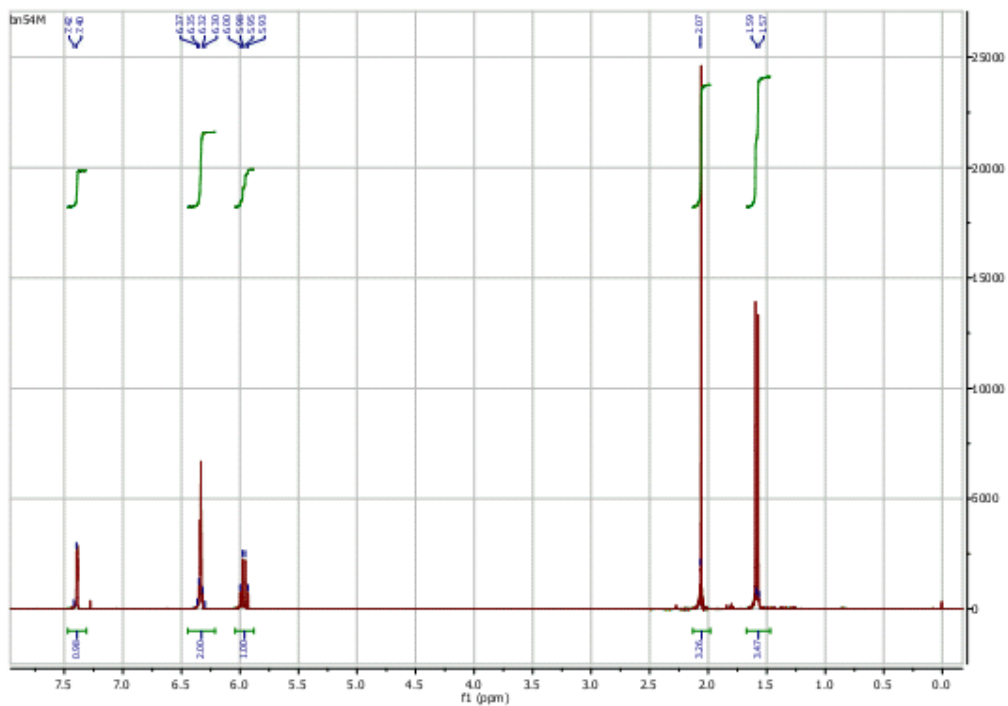
RMN C13





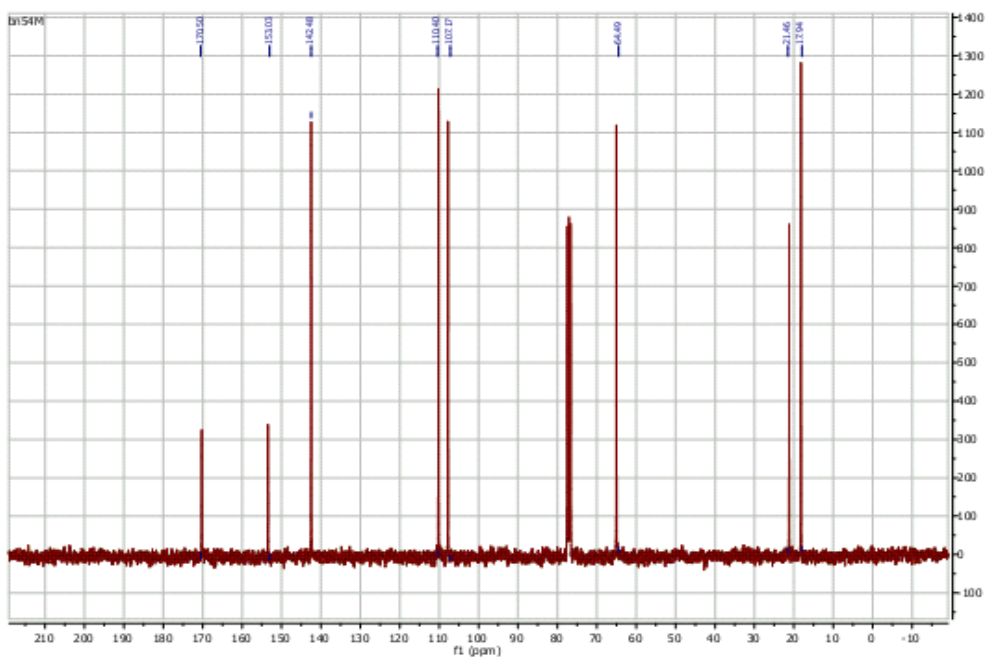
(+/-)-9a

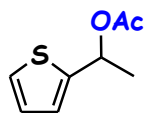
RMN H<sup>1</sup>



RMN H<sup>1</sup>

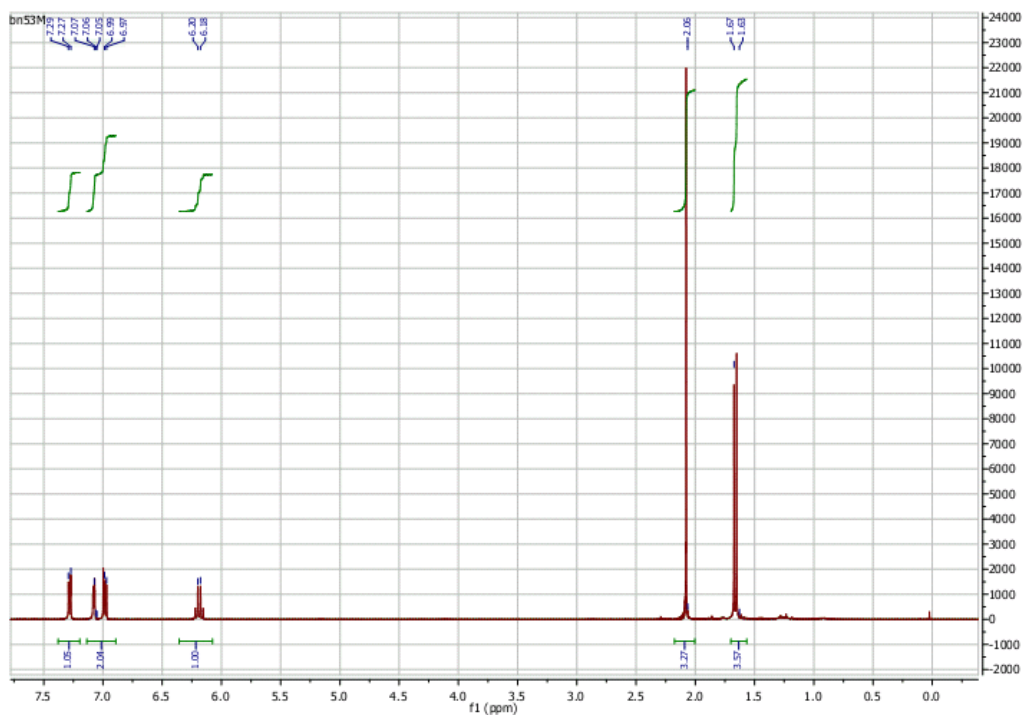
RMN C13



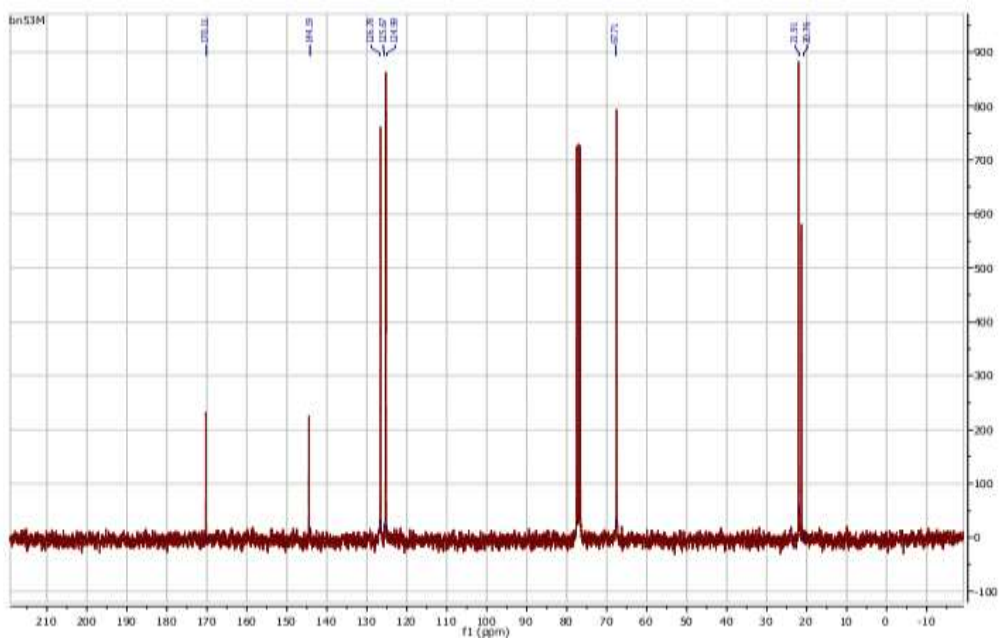


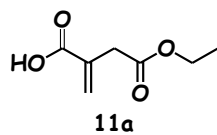
(+/-)-10a

### RMN H<sup>1</sup>

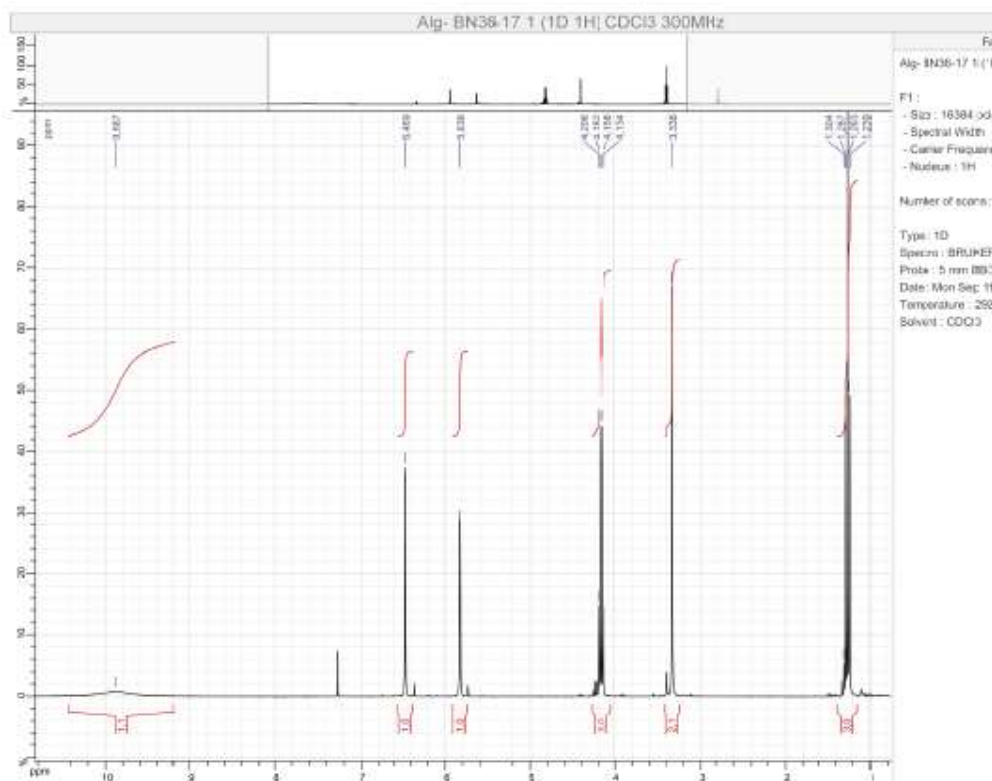


### RMN C13

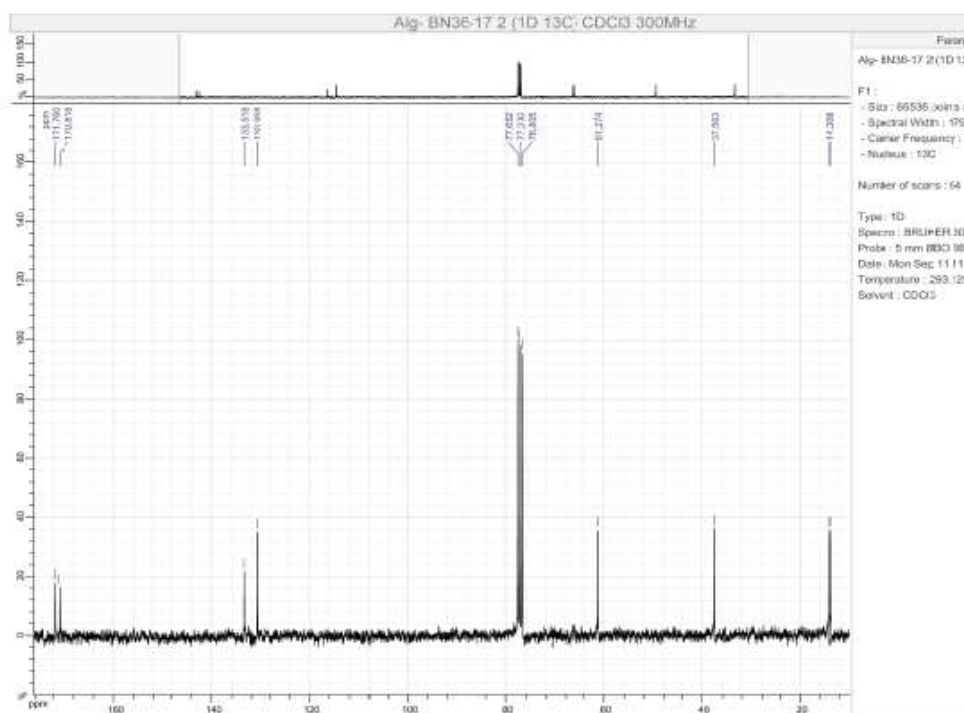




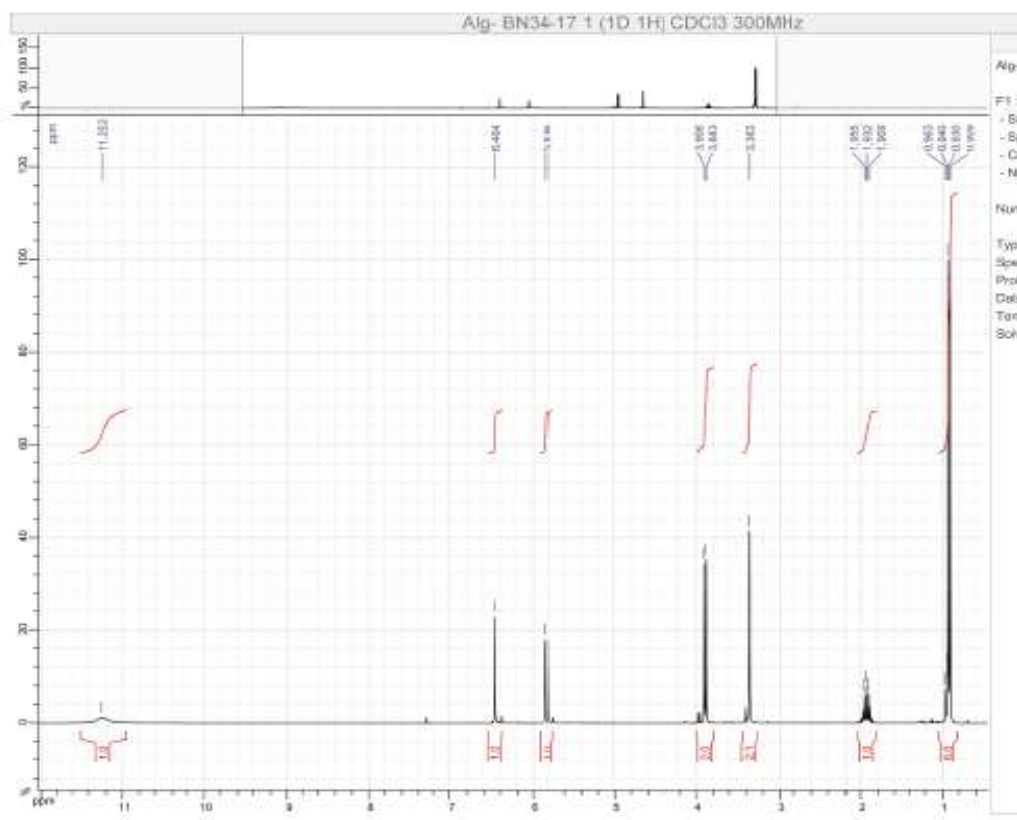
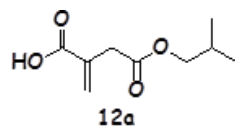
### RMN H<sup>1</sup>



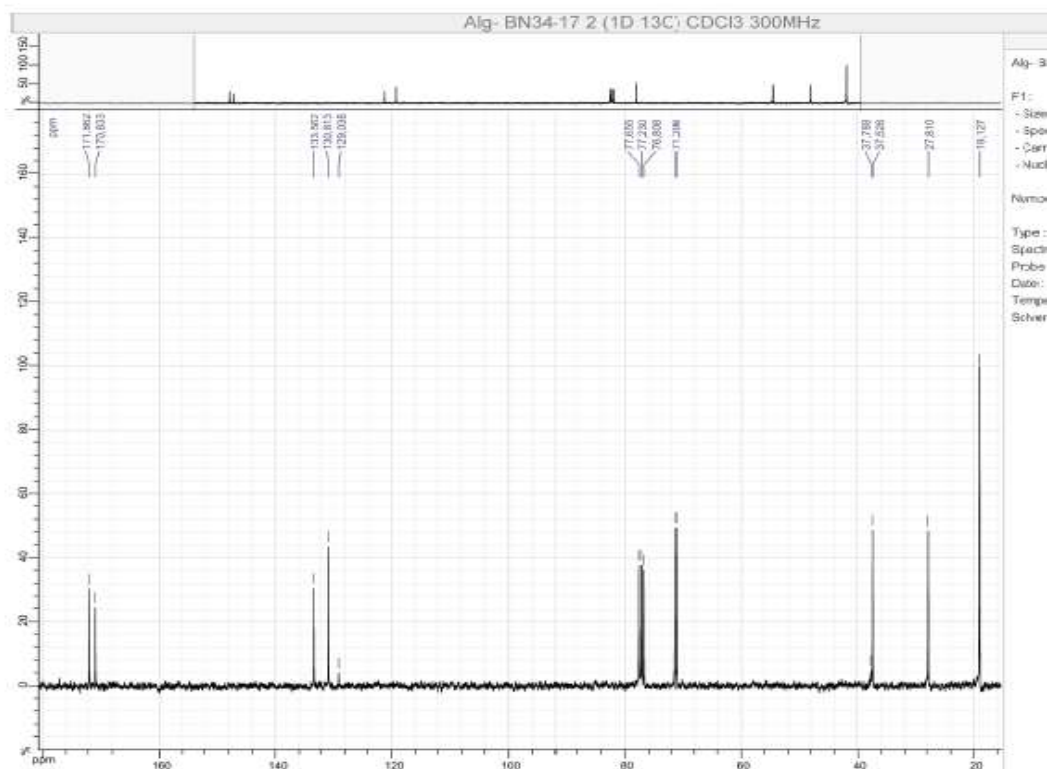
### RMN C13

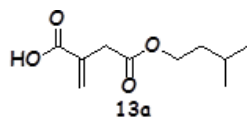


RMN H<sup>1</sup>

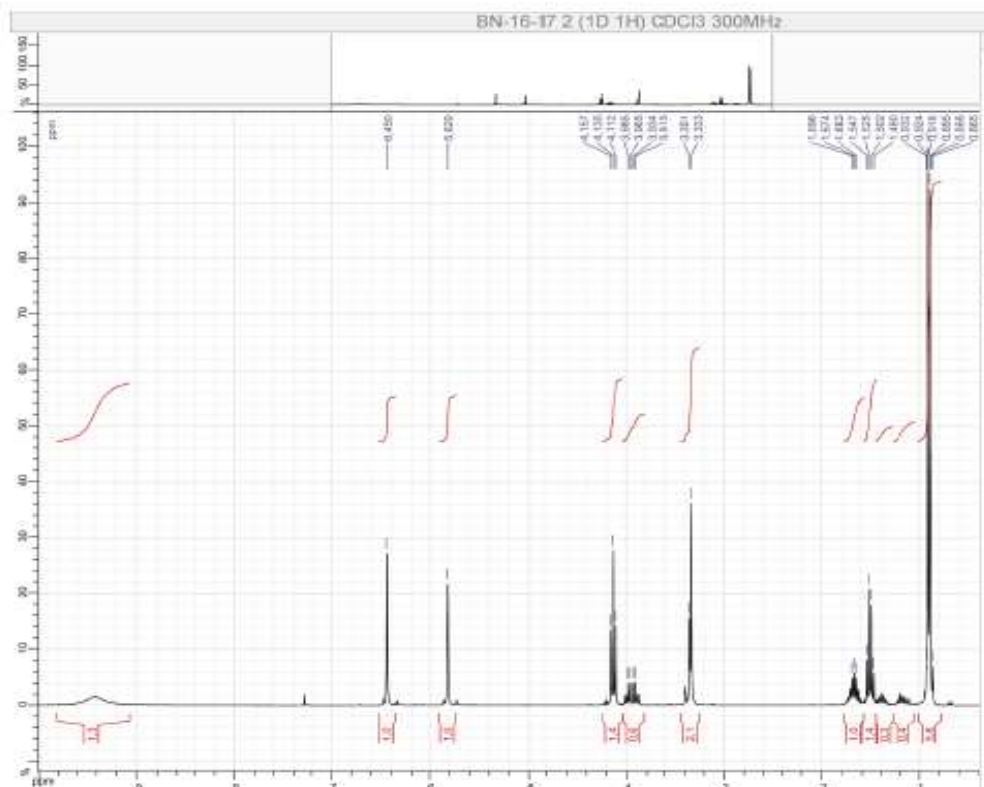


RMN C13

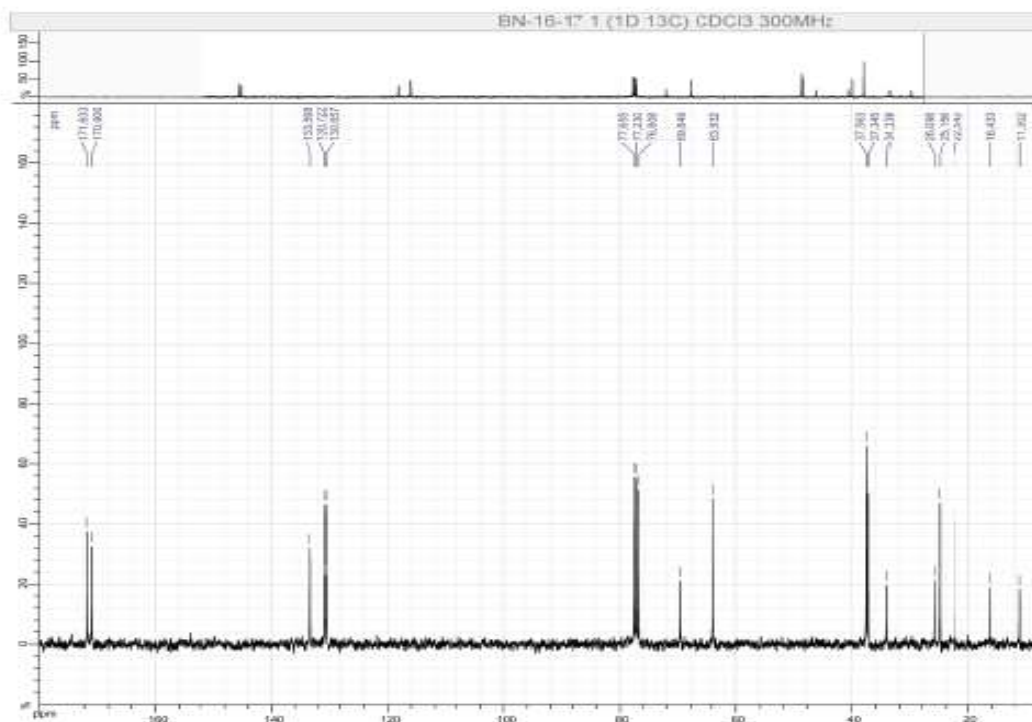


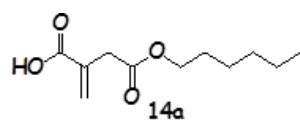


RMN H<sup>1</sup>

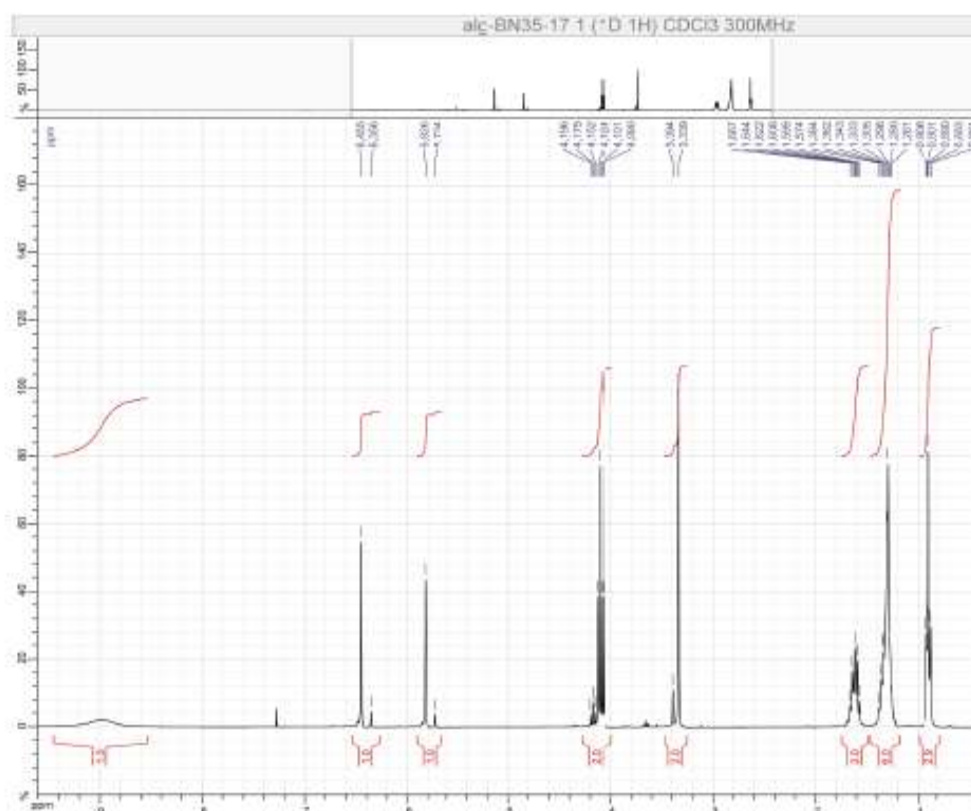


RMN C13

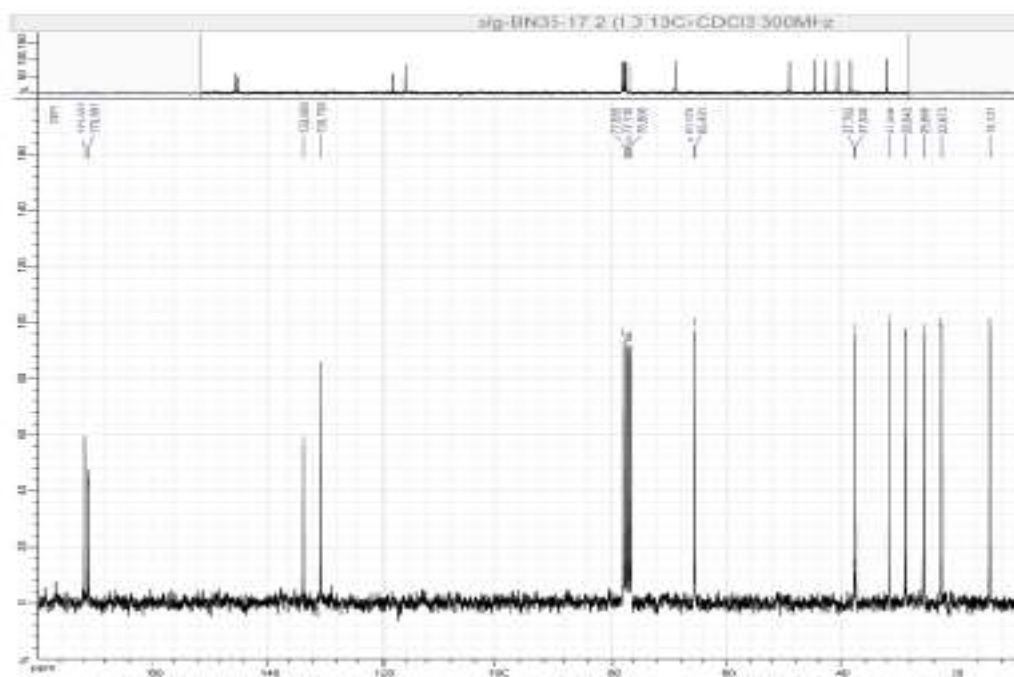


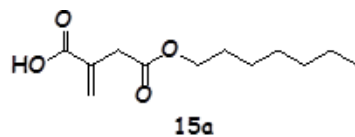


RMN H<sup>1</sup>

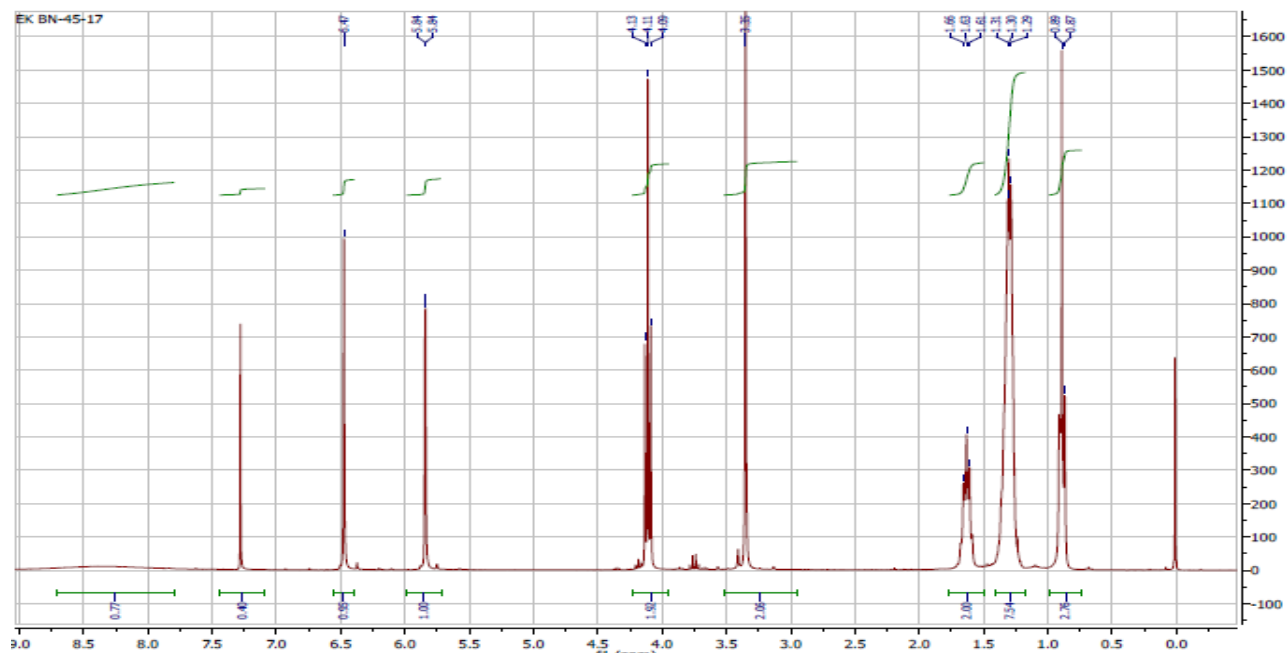


RMN C13

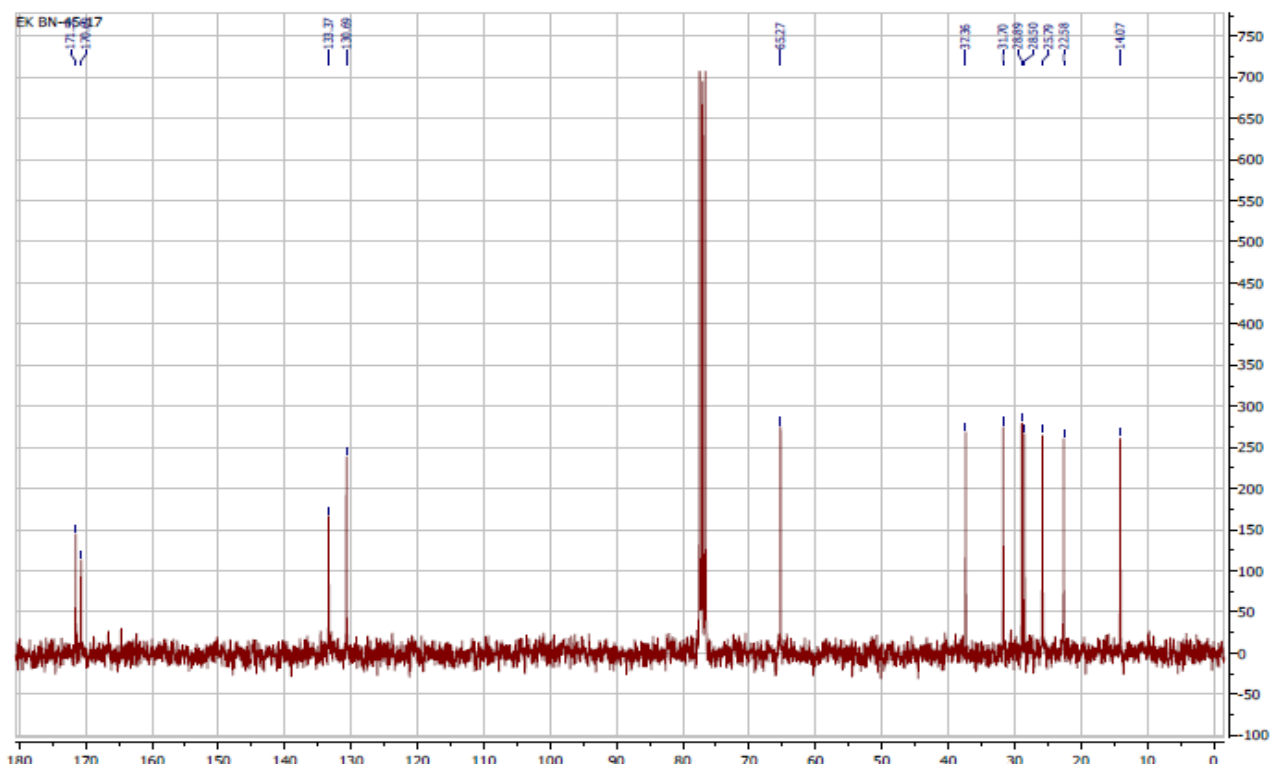


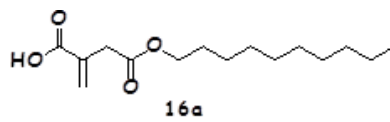


### RMN H<sup>1</sup>

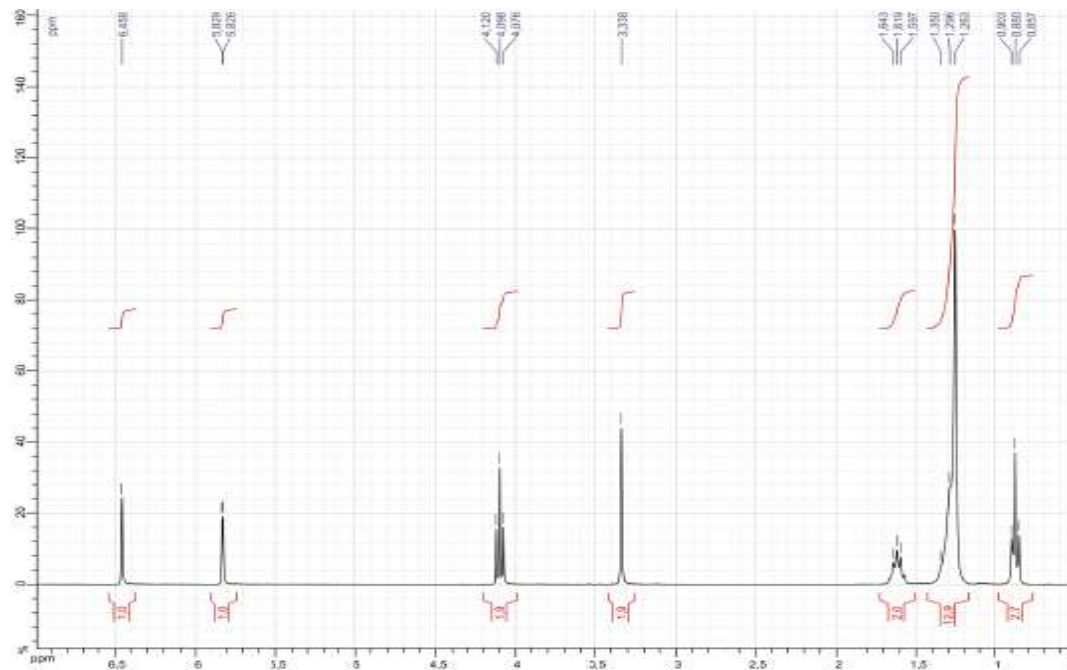


### RMN C13

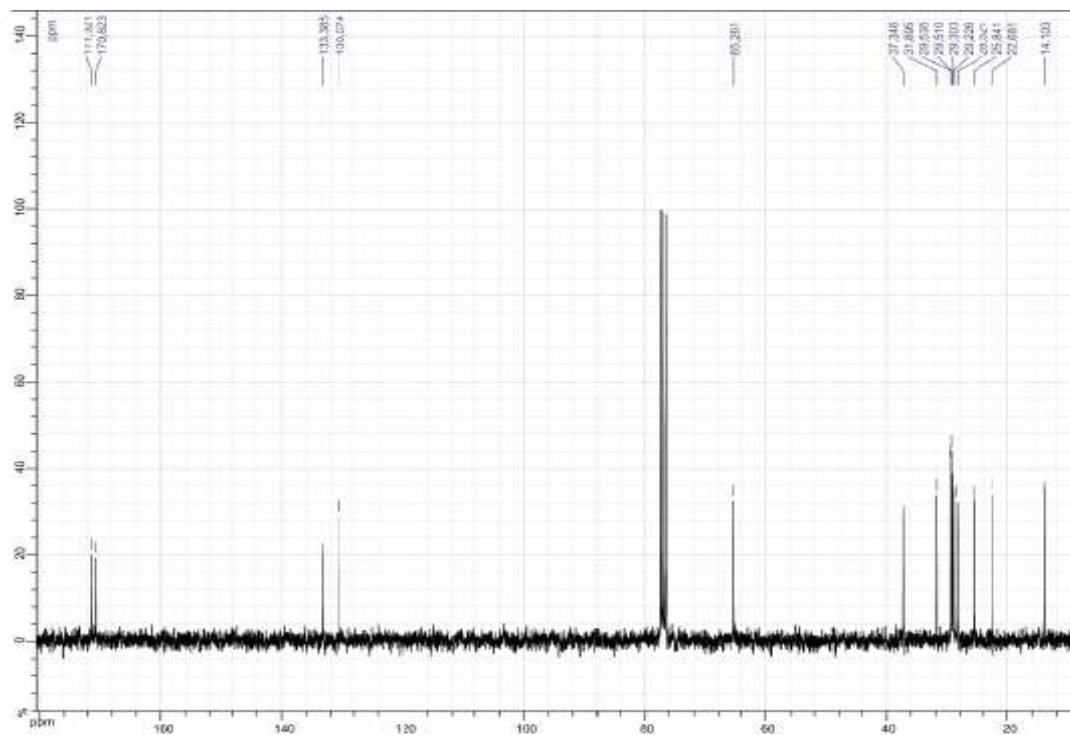


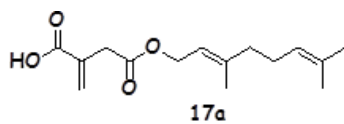


### RMN H<sup>1</sup>

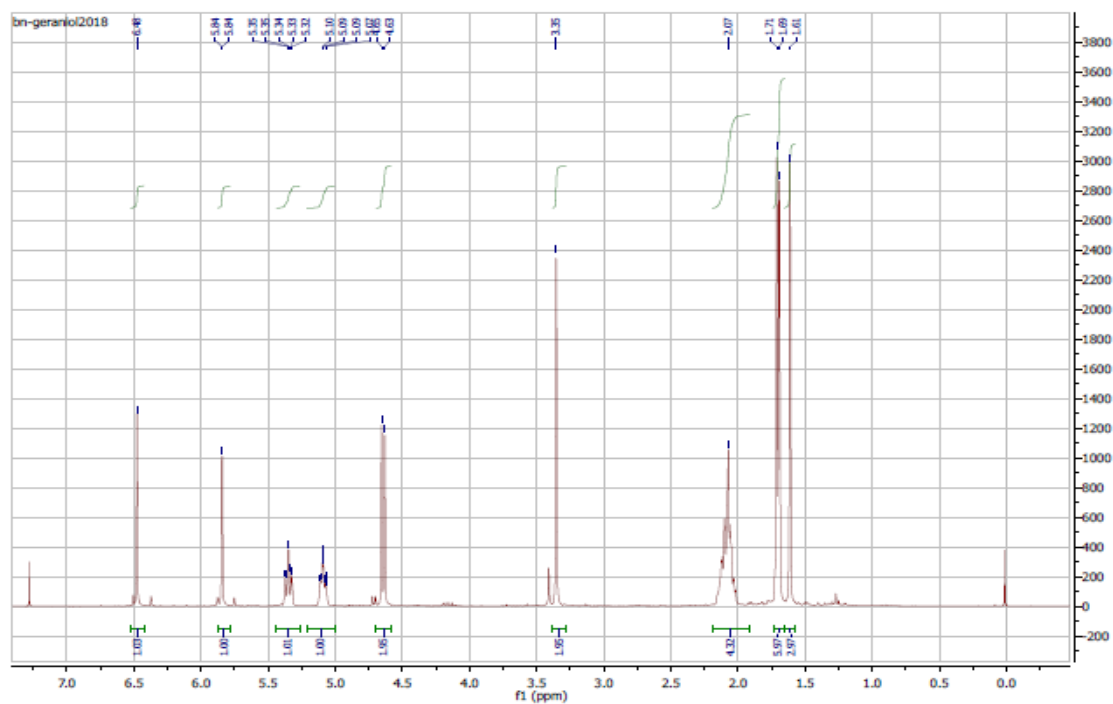


### RMN C13

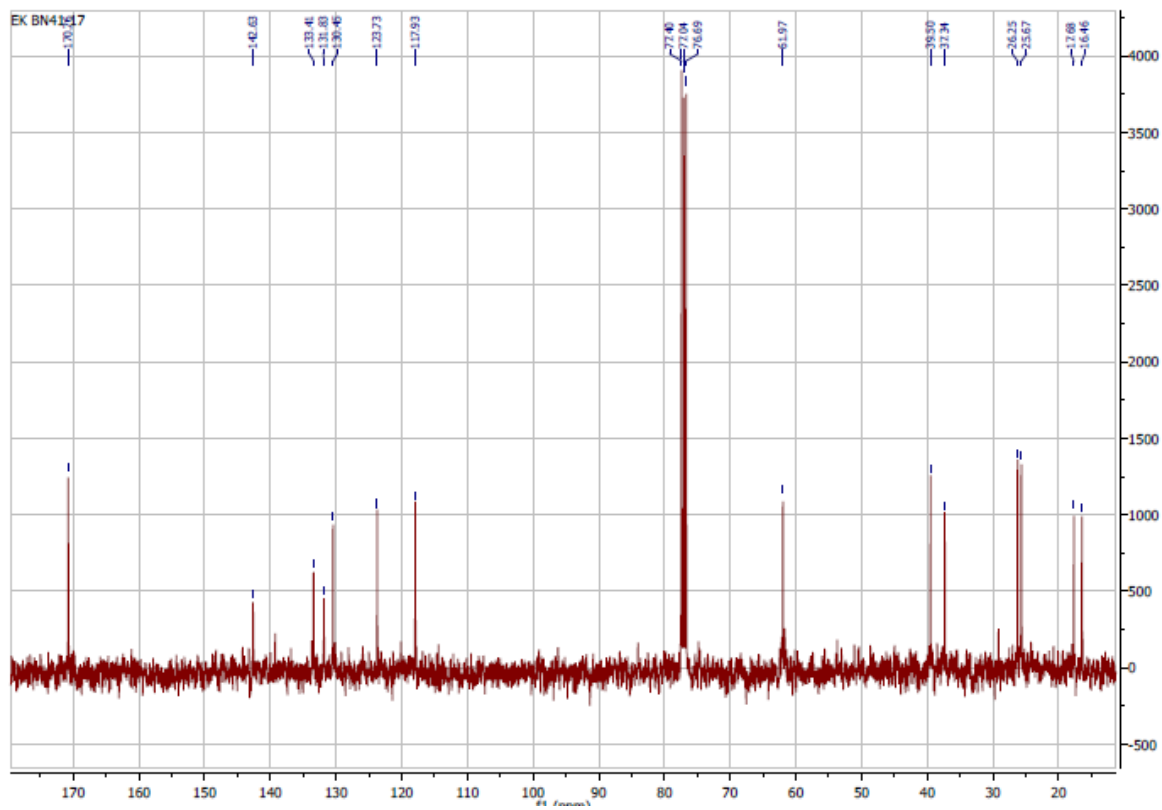


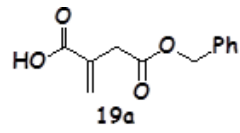


### RMN H<sup>1</sup>

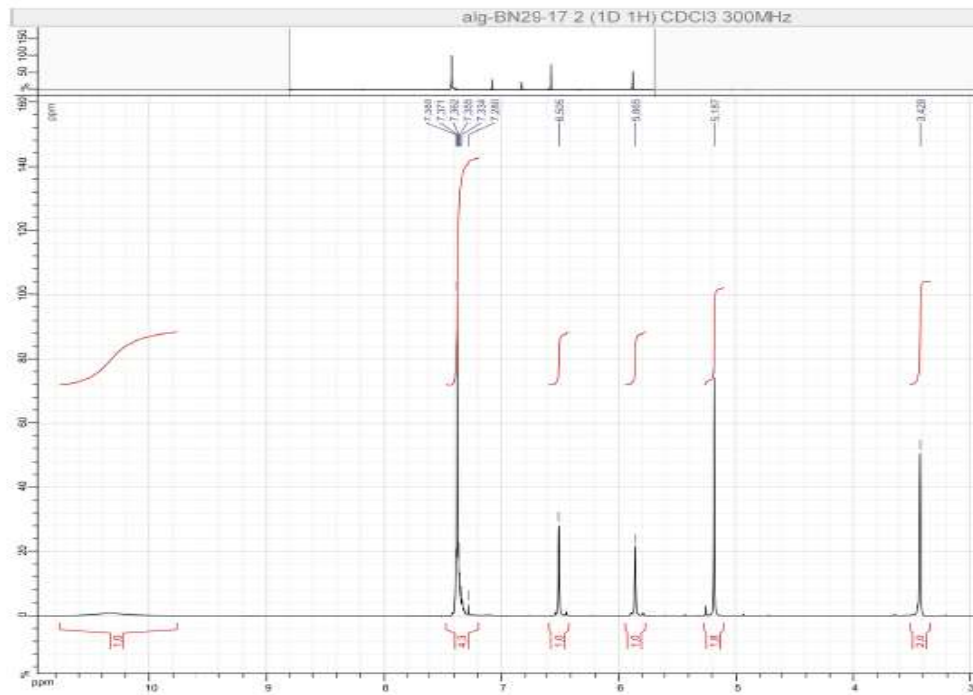


### RMN C13

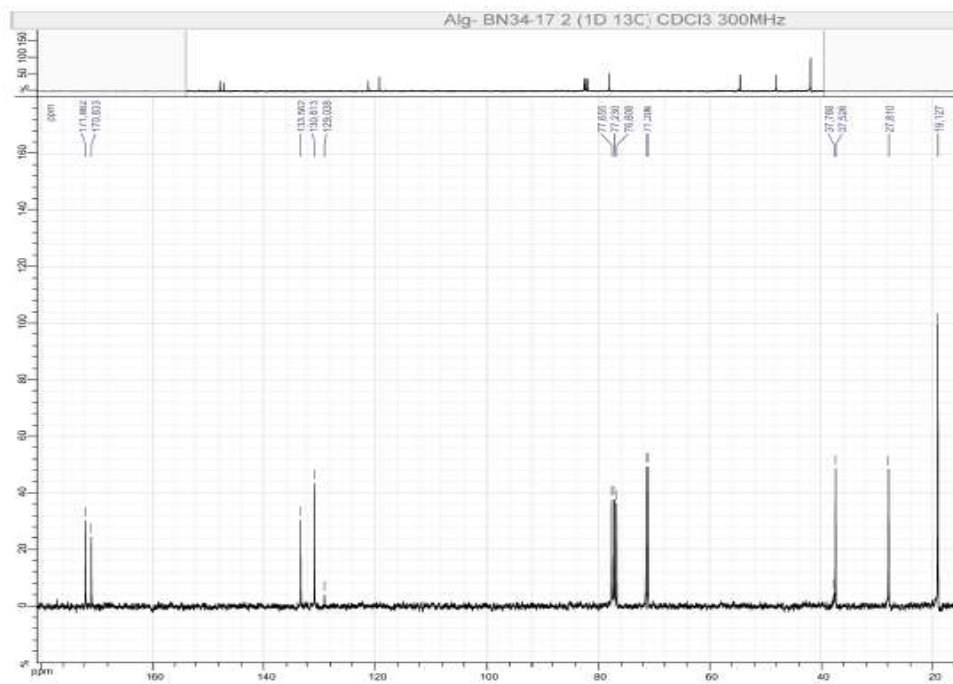


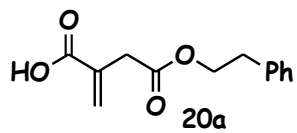


RMN H<sup>1</sup>

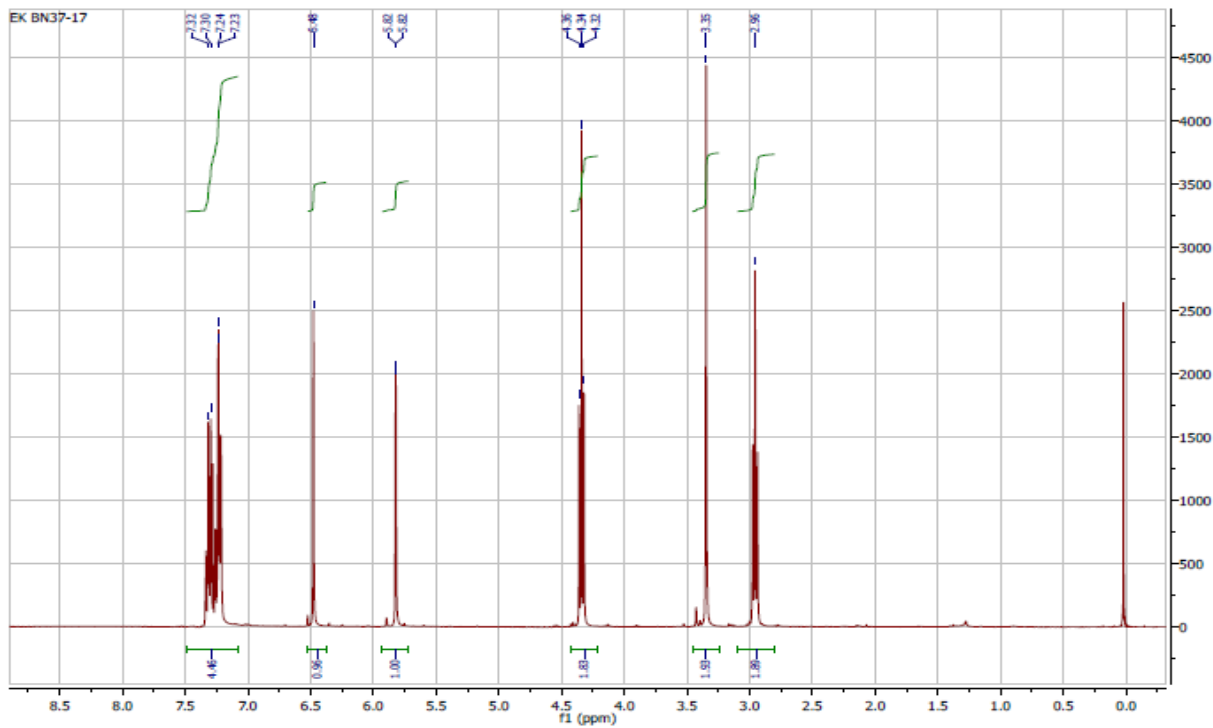


RMN C13

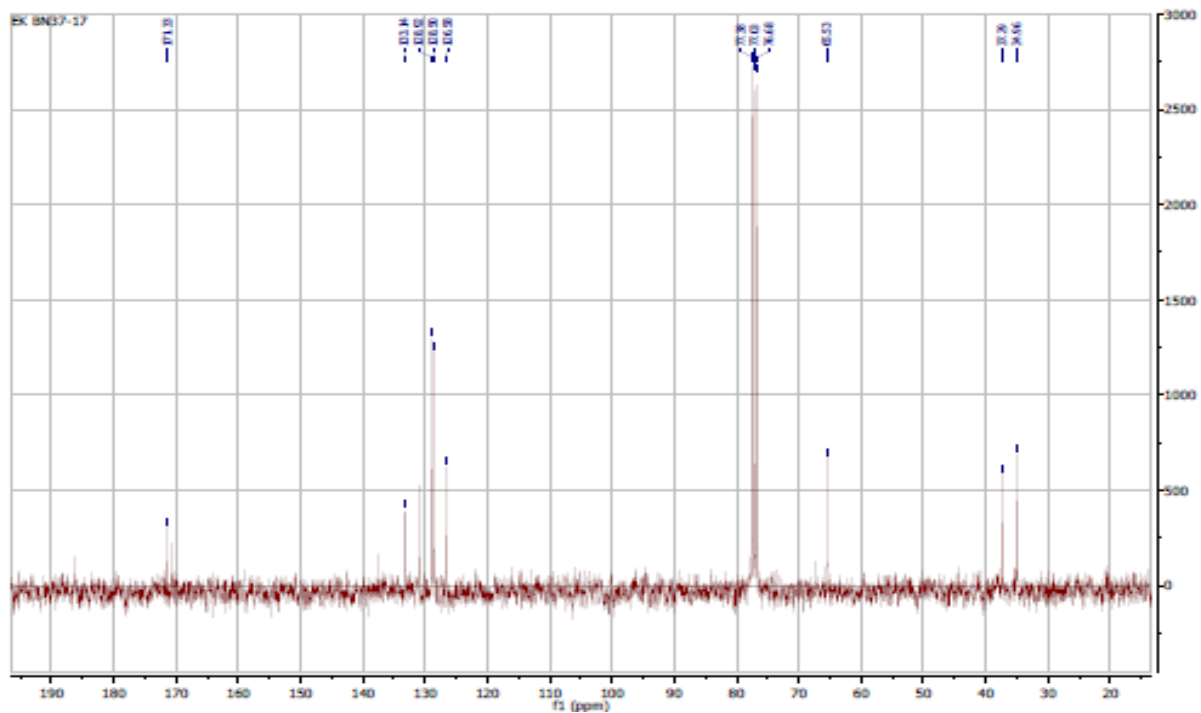


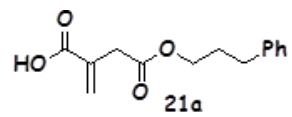


### RMN H<sup>1</sup>

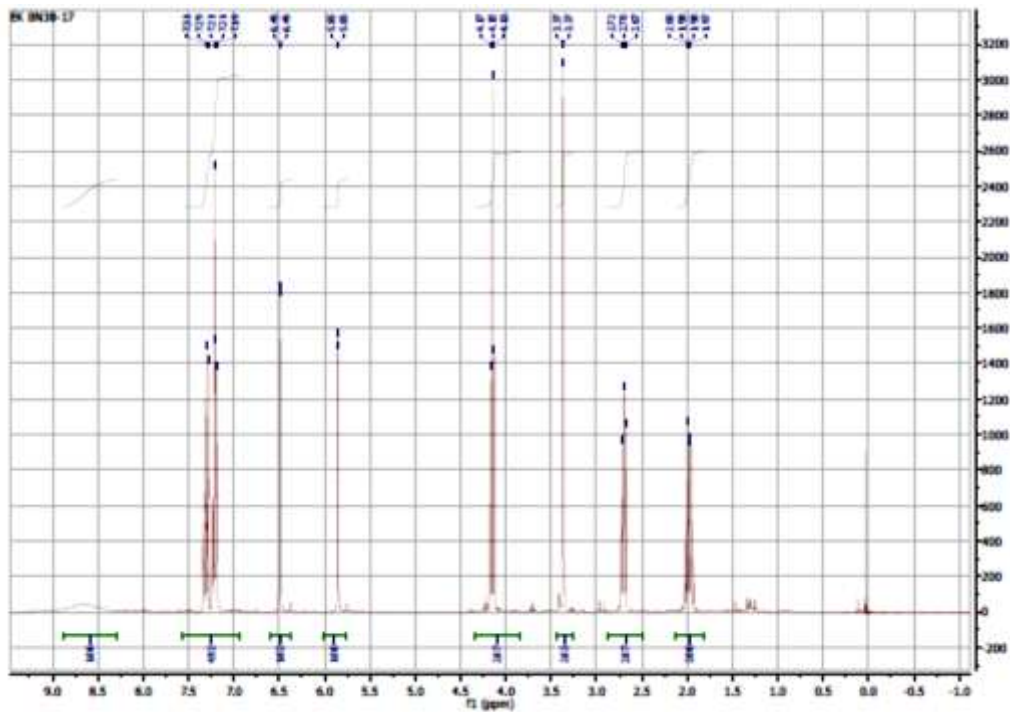


### RMN C13

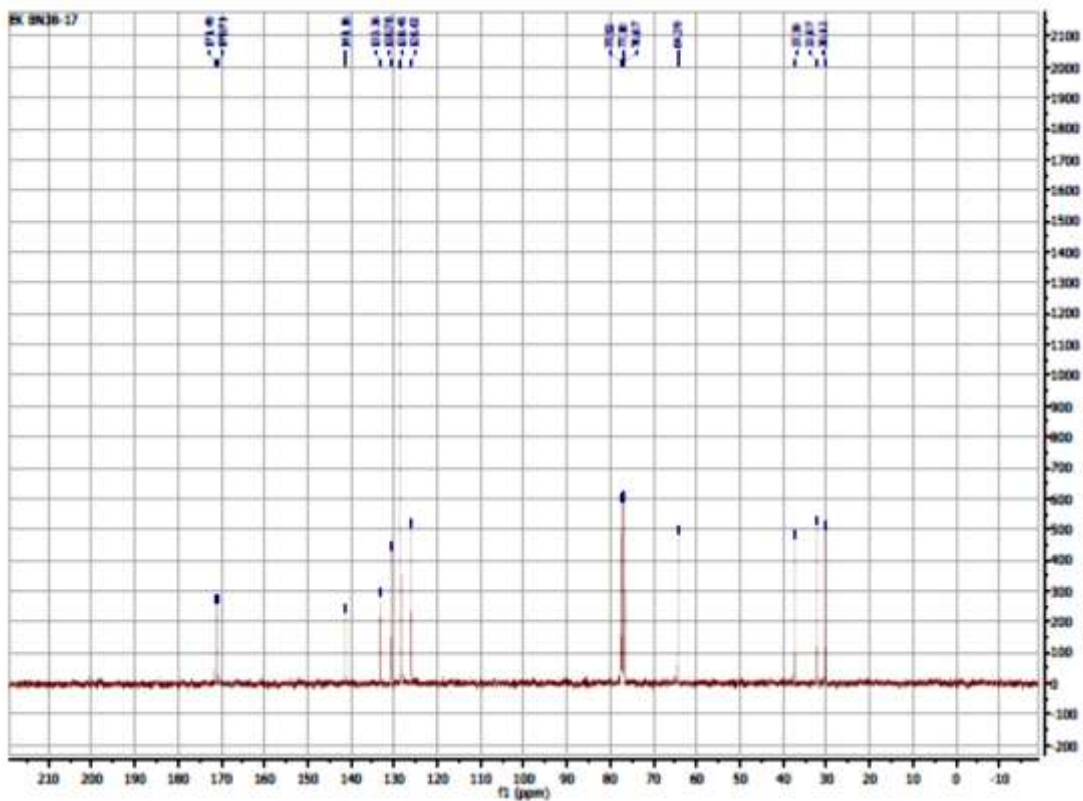


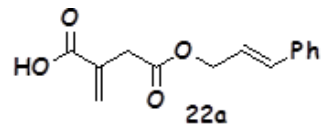


RMN H<sup>1</sup>

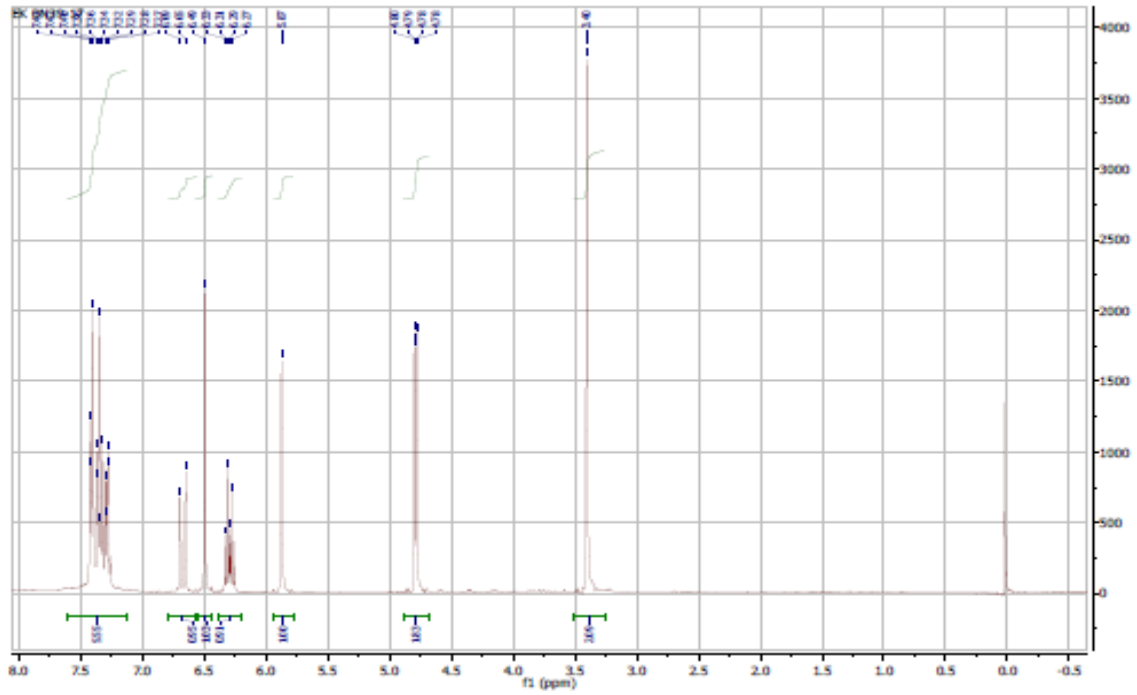


RMN C13

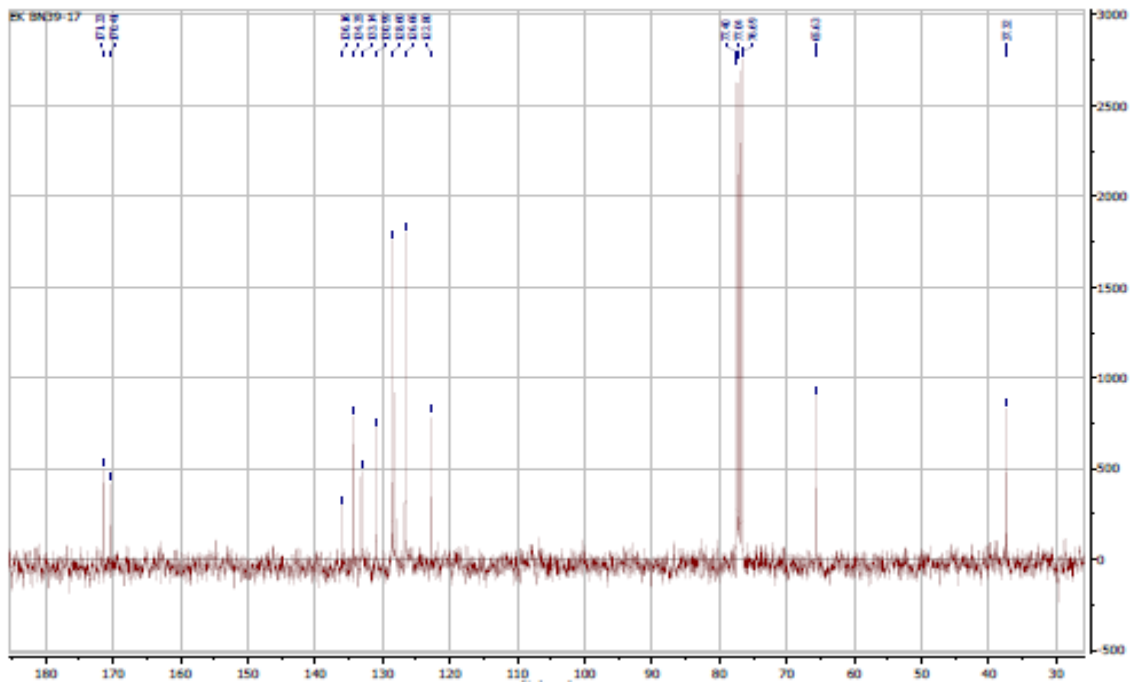


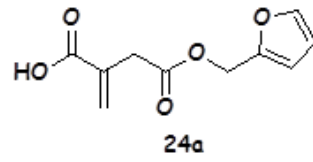


RMN H<sup>1</sup>

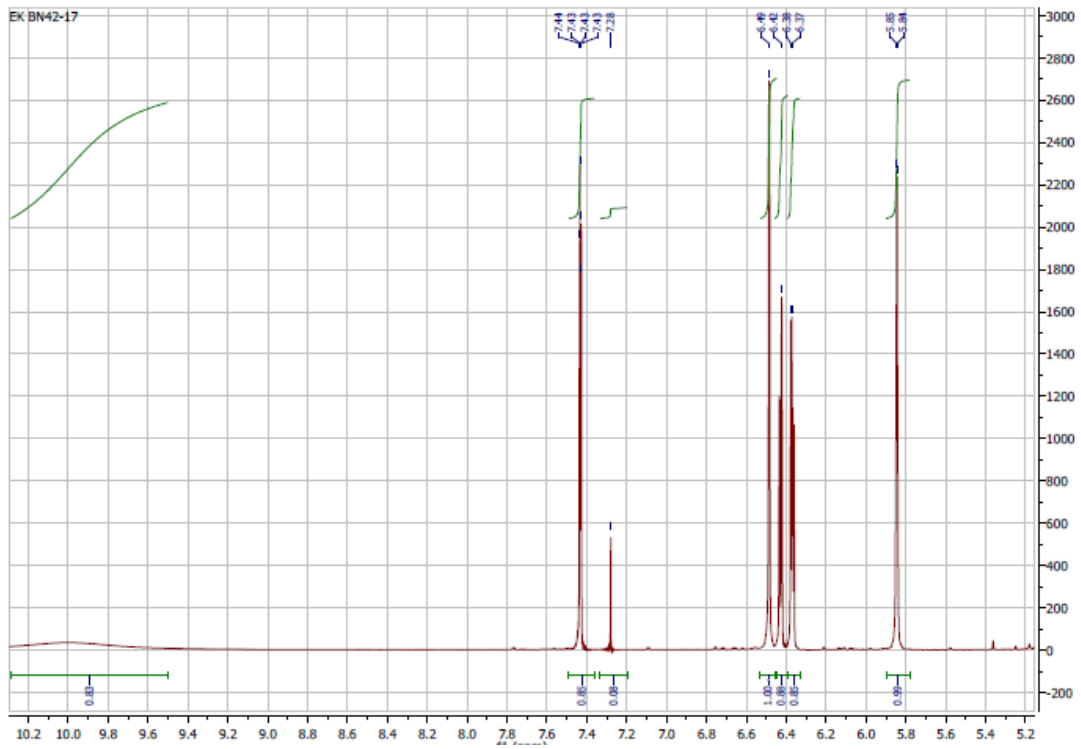


RMN C13





### RMN H<sup>1</sup>



### RMN C13

