

MICROFICHE ETABLIE A PARTIR DE  
L'UNITE DOCUMENTAIRE  
N

جديدة منجزة حسب الوثيقة  
رقم :

93

390

ROYAUME DU MAROC

المملكة المغربية

المركز الوطني للتوثيق  
CENTRE NATIONAL DE DOCUMENTATION

SERVICE DE REPROGRAPHIE  
ET IMPRIMERIE

B-P 826 RABAT



مصلحة الطباعة والتصوير  
ص.ب 826 الرباط

F

1

33-0399

المستلزمات المستوردية

## Valorisation de quelques cétones monoterpéniques par bioconversion

M. ISMAILI-ALAOUI\*<sup>♦</sup>, D. BUISSON\*\*, B. BENJILALI\* & R. AZERAD\*\*

(Reçu le 12/05/1992 ; Accepté le 28/06/1992)

29 1101 93

93-390

## ملخص

بحثاً عن احسن السبل لا ستغلال بعض المواد الطبيعية قمنا خلال هذا البحث بمحاولة تحويل ثلاثة مواد طربينية إلى بدائل ذات قيمة اقتصادية احسن. اثنان من هذه المواد مستخرجة من نباتات عطرية مغربية شائعة، البيليكون الموجب المستخرج من زيت فليو *Mentha pouliot* و الالفاتيجون المكون الرئيسي لزيت أحد الأ صناف الكميائية للشايح الأ بيض . أما ثالث هذه المواد فهو المونطون السالب المعروف لدى الكثير من أصناف النعناع . و قد ركزنا عملنا علي التحويل بالطرق البيولوجية مستعملين عدة أصناف من الفطريات المصنفة في خزائن عالمية و أخرى عزلت من الوسط الطبيعي في مختبرنا. و قد اتضح أن أحد أصناف الاسبرجيلوس *Aspergillus sp* المعزول محليا أكثر فاعلية فيما يتعلق بالإيدركسيلاسيون Hydroxylation و قد تمكنا في بحثنا هذا إلى تحويل هذه الئسطونات الطربينية إلى مستحضرات ذات تركيب كيميائي جد دقيق و خالص يصعب على الكمياء الكلاسيكية إنتاجها . هذه المستحضرات قد تجد استعمالات أساسية في صناعة المواد العطرية أوكمواد أولية للصناعات الكميائية أو الطبية الدقيقة.

الكلمات المفتاحية : مواد طربينية - نباتات عطرية البيليكون - زيت فليو

## Résumé

Dans le cadre de la valorisation de substances naturelles, nous avons essayé dans ce travail la bioconversion de deux monoterpénoïdes issus de plantes aromatiques marocaines : la R (+) pulégone extraite de l'huile essentielle de *Mentha pulegium* et l' $\alpha$ -thujone constituant majoritaire de l'essence d'*Artemisia herba-alba*. Par la même occasion, une troisième cétone monoterpénique, la (-) menthone, intermédiaire dans la biosynthèse du menthol a été étudiée. Plusieurs souches de champignons filamenteux ont été testées à cette fin. Un *Aspergillus sp.* isolé au laboratoire de l'IAV Hassan II, Rabat est particulièrement actif pour des hydroxylations régiosélectives. Les produits obtenus ont été caractérisés par RMN ( $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$ ) et spectrométrie de masse. Les voies et les mécanismes impliqués dans la formation des différents dérivés ont été élucidés.

Mots clés: Huiles essentielles - R (+) Pulégone - (-) Menthone -  $\alpha$ -Thujone - Sélection de souches - *Aspergillus sp.* - Hydroxylation régiosélective - Voies métaboliques - RMN - Spectrométrie de masse

## Summary

During the course of our studies of the biotransformation of R (+) pulegone, (-) menthone and  $\alpha$ -thujone the main compounds extracted from *Mentha pulegium* and artemisia essential oils, we have screened a number of fungi strains obtained from international collections or isolated from natural biotopes. This work showed that among several isolated strains, a particular one (*Aspergillus sp.*) was able to hydroxylate this terpenoids into new regioselectively hydroxylated compounds, identified and characterized by  $^1\text{H}$ - and  $^{13}\text{C}$ -NMR and mass spectroscopy. The pathways of diferents metabolisms has been shown .

Key words: Essential oils - R (+) Pulegone - (-) Menthone -  $\alpha$ -Thujone Strains screening - Hydroxylation - Pathway - *Aspergillus sp.* - RMN Mass spectroscopy

\* Département de Chimie-Biochimie Alimentaire, Institut Agronomique et Vétérinaire Hassan II, BP.: 6202, Rabat, Maroc

\*\* Département de Chimie et Biochimie Pharmacologiques et Toxicologiques, URA 400 CNRS, Université R. Descartes, 45 rue des Saints-Pères, 75270, Paris Cédex 06

♦ A qui toute correspondance doit être adressée

## INTRODUCTION

Au cours de ces dernières années, les bioconversions ont suscité un grand intérêt dans le domaine de la préparation des molécules biologiquement actives grâce aux systèmes biologiques simples qu'elles utilisent (1;2;3;4).

Le terme bioconversion correspond aux transformations "ponctuelles" d'un substrat (naturel ou de synthèse) par des cellules microbiennes, végétales ou par leurs enzymes. Ces réactions ont l'avantage d'être réalisées dans des conditions douces (pH proche de la neutralité, température ambiante, aération modérée, etc).

Ainsi, les bioconversions ont constitué, il y a déjà longtemps, le moyen le plus facile, le moins coûteux et le moins polluant, pour la préparation de molécules biologiques avec des stéréospécificités recherchées (1). En effet, il est parfaitement connu que pour les substances dites biologiquement actives (médicaments, phéromones, insecticides, arômes, etc) les propriétés sont souvent dues à un seul stéréoisomère, (les) autre(s) peuvent avoir un effet indésirable (3).

Les biotransformations ont l'avantage, par rapport à la synthèse organique par voie chimique, de conduire à un seul énantiomère en une seule étape et avec de bons rendements.

La métabolisation des cétones monoterpéniques (1), bien que très étudiée chez l'animal (5-10), n'a suscité que peu de travaux chez les microorganismes. Il s'agit pourtant de terpènes facilement accessibles, peu coûteux, possédant souvent un ou plusieurs centres asymétriques et dont la bioconversion par les microorganismes pourrait donner lieu à la préparation de métabolites sélectivement oxygénés, d'activité pharmacologique potentielle ou utilisable comme synthons asymétriques (1;2;3;4;5;6;11).

Dans le cadre de la valorisation des terpènes extraits à partir de certaines huiles essentielles marocaines, nous avons entrepris une sélection de souches de champignons filamenteux provenant de collections internationales ou isolés à partir de biotopes naturels (12;13) pour la recherche de voies de bioconversion de ces produits en dérivés plus intéressants (synthons chiraux).

Nous rapportons dans ce travail les résultats obtenus dans la bioconversion oxydative de la R (+)-*1*, l' $\alpha$ -thujone **8** et des résultats préliminaires obtenus pour la (-)-menthone **10**.

## MATÉRIEL ET MÉTHODES

### • Les souches testées

À partir du soucier de l'URA 400 du CNRS à Paris, nous avons sélectionné des souches issues de collections internationales (tableau I) connues pour leurs propriétés hydroxylantes ou/et réductrices.

Tableau I. Liste des souches de collections internationales testées pour leur pouvoir de bioconversion des monoterpénoïdes

Souches	Origine
<i>Mucor plumbeus</i>	CBC.110-16
<i>Curvularia lunata</i>	NRRL 2380
<i>Cylindrocarpon gracile</i>	MMP.1197
<i>Geotricum candidum</i>	CBS 238.76
<i>Rhizopus arrhizus</i>	ATCC 11145
<i>Sporotricum exile</i>	KCF
<i>Bauveria sulferesens</i>	-
<i>Mortierella isabellina</i>	MMP 108

ATCC American Type-Culture Collection, Rockville, Md USA  
CBS Central Bureau voor Schimmelcultures, Baarn, Netherlands  
NRRL Northern Regional Research Laboratory, Peoria 111 USA  
MMP Mycothèque du Muséum d'Histoire Naturelle, Paris  
KCF Mme KERGOMARD, Laboratoire de Chimie Organique, Biologique Clermond-Ferrand

Par ailleurs, nous avons isolé un *Aspergillus* sp. à partir du biotope naturel (infusion de *Mentha pulegium*) suivant la technique décrite par ISMAILI-ALAOUI *et al.* (12).

### • Préparation des souches pour la bioconversion

Pour avoir des spores viables capables de donner un mycelium "forme végétative", les souches doivent être repiquées sur un milieu de culture solide spécifique: glucose (20 g/l); peptone pancréatique (5 g/l); extrait de levure (5 g/l); extrait de malt (5 g/l); agar (20 g/l).

La germination des spores "repiqués" débute généralement entre 19 et 36h. La sporulation commence généralement entre 72 et 96h. Les spores sont ensuite récupérées soit dans de l'eau physiologique (NaCl à 0,9% soit dans une émulsion de Tween 80 à 1%).

Après dénombrement par hématimétrie à l'aide d'une cellule de Thomas on prélève un volume de la suspension des spores qu'on ajoute à un milieu de culture synthétique liquide: glucose (30 g/l) K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> (2 g/l), KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> (1 g/l), corn steep (10 g/l), Mg<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 7H<sub>2</sub>O (0,5 g/l), Na<sub>2</sub>NO<sub>3</sub> (2 g/l), FeSO<sub>4</sub> 7H<sub>2</sub>O (0,02 g/l) et KCl (0,5 g/l). Le volume de la suspension des spores est déterminé de telle sorte que dans le milieu de culture on ait entre 107 et 108 spores par litre. On laisse le mycélium se développer dans un incubateur agité (200 tours/min) pendant 72h à 27°C, puis on procède à la bioconversion proprement dite.

## • Essai de bioconversion

Deux méthodes sont utilisées: la bioconversion en masse ou dans un tampon.

Dans le premier cas, après développement du mycélium dans le milieu liquide on ajoute le substrat à transformer. La biomasse est ensuite incubée dans un incubateur agité par un mouvement de giration, avec une vitesse de rotation de 200 tours/mn à 27°C.

Dans le deuxième cas, le mycélium développé dans le milieu de croissance liquide est filtré sur papier filtre (Watman n° 7) ou sur la gaze. Le mycélium ainsi récupéré est remis en suspension dans un tampon phosphate ( $K_2HPO_4$ ,  $KH_2PO_4$ ) 0,3M pH 7. On ajoute le substrat à raison de 0,5 g/l, ensuite, le milieu est incubé dans les mêmes conditions (27°C, 200 tr/mn).

Le volume de bioconversion utilisé est variable selon l'objectif fixé: dans le cas d'une sélection de souches, on utilise généralement des petits volumes (50-100 ml) alors que dans le cas des manipulations préparatives, on utilise des volumes assez importants (500-1000 ml, dans des erlenmeyers de 1 000 et 2 000 ml respectivement).

La biotransformation du substrat est suivie par des prélèvements réguliers d'un aliquot qu'on extrait avec l'acétate d'éthyle. Après filtration et séparation du mycélium, le filtrat est soumis aux analyses chromatographiques.

## • Analyses chromatographiques

Pour le suivi de la biotransformation, nous avons utilisé deux techniques d'analyse chromatographique: la chromatographie sur couche mince (CCM) et la chromatographie en phase gazeuse (CPG).

Pour la chromatographie sur couche mince, nous avons utilisé des plaques silicagel Merck 60 F-259 (0,25 mm d'épaisseur) et un système d'élution composé du mélange (cyclohexane/acétate d'éthyle 7/3 V/V). La détection est effectuée sous une lampe UV à 254 nm.

L'analyse par chromatographie en phase gazeuse a été réalisée sur deux colonnes capillaires différentes. Une BP10 (OV1701) 0,25 mm de diamètre intérieur x 20 m de long montée sur un appareil Varian modèle 3 700. La deuxième est une DB wax (0,25 mm de diamètre x 30 m) montée sur un appareil Shimadzu. L'hydrogène est utilisé comme gaz vecteur avec une pression en tête de colonne de 1 bar. La détection est assurée par un détecteur à ionisation de flamme. Les températures de l'injecteur et du détecteur sont fixées à 200°C et 220°C respectivement. Celle de la

colonne est programmée comme suit: T1= 125°C pendant 12 mn puis on monte à raison de 5°C /mn jusqu'à 200°C.

## • Séparation des produits majoritaires de la bioconversion

À la fin de l'incubation, on sépare le mycélium par filtration de la culture entière, sur papier filtre (Watman n°7) ou sur la gaze. Le mycélium est rincé plusieurs fois avec le solvant d'extraction. Le filtrat obtenu est saturé avec du NaCl puis extrait avec l'acétate d'éthyle (4 x 100 ml) dans une ampoule à décanter. Les fractions organiques rassemblées sont déshydratées sur sulfate de sodium ou de magnésium ( $Na_2SO_4$  ou  $MgSO_4$ ) puis concentrées à l'aide d'un évaporateur rotatif. Le concentré est soumis aux analyses chromatographiques pour purification et séparation des produits majoritaires.

Deux techniques chromatographiques ont été utilisées: la chromatographie sur couche mince (CCM) préparative et la chromatographie sur colonne de silice à moyenne pression.

Dans le premier cas, nous avons utilisé des plaques CCM préparatives de type Merck de 2 mm d'épaisseur prêtes à l'emploi. La phase mobile est un mélange acétate d'éthyle/cyclohexane (4/6 V/V). Pour la détection, nous avons utilisé une lampe UV (254 nm) dans une atmosphère d'iode. Les spots détectés sont récupérés dans l'éther. Après filtration, ce dernier est évaporé.

Dans le cas de la chromatographie sur colonne de silice à moyenne pression, nous avons utilisé le même système d'élution. Les analyses sont réalisées sous une pression de 4 à 6 bars grâce à une pompe Duramat CFG. Le fractionnement de l'effluent est assuré à l'aide d'un collecteur de type Gilson FC-200.

## RÉSULTATS ET DISCUSSION

### • Bioconversion de la R (+)-pulégone

Une sélection préliminaire (tableau II) a montré une capacité générale des champignons filamenteux à métaboliser activement la pulégone à faible concentration (0,5 g/litre). De plus fortes concentrations sont généralement toxiques, sauf pour une souche d'*Aspergillus* sp. (A. sp.) isolée d'une infusion de menthe (12) et qui peut accepter une concentration de l'ordre de 1,5 g/litre. À cette concentration, la pulégone est totalement métabolisée en 10 jours environ, avec la formation d'un petit nombre de produits 2-5. Ces produits détectés par CPV (figure 1) et CCM peuvent être facilement séparés par flash-chromatographie avec un rendement global (masse des

métabolites récupérés par rapport à la masse du substrat n'excédant pas 50%.

La structure des produits a été déterminée par ( $^1\text{H}$ -RMN), ( $^{13}\text{C}$ -RMN) (tableaux III et IV) et par spectrométrie de masse (figures 2 et 3) et correspond, pour certains d'entre-eux, à des métabolites de la pulégone déjà observés chez l'animal (7;8;9) avec une oxydation supplémentaire sur le carbone n° 10 de l'isopropyle.

La configuration absolue du produit principal 2 n'a pas pu pour l'instant être déterminée, en raison de sa transformation très facile en pipériténone 3.

Tableau II. Biotransformation de la R (+)-pulégone par les souches les plus actives

Souches	Durée de l'incubation (jours)	Produits observés (%)*				
		1	2	3	4	5
<i>Aspergillus</i> sp.**	7	2,5	58	10	4	5
<i>Curvularia lunata</i> NRRL 2380	5	2	3	18	-	-
<i>Rhizopus arrhizus</i> ATCC 1145	7	7	45	11	9	5
<i>Sporitrichum exile</i> KCF	15	7	4,5	32	-	9
<i>Mucor plumbeus</i> CBS 110-16	11	12	30	8	14	-
<i>Mortierella isabellina</i> MMP 108	10	39	37	6	-	18

\* % Chromatographique du produit concerné dans le milieu de bioconversion déterminé sur une colonne capillaire DBWax

\*\* Souche isolée dans le laboratoire de l'IAV Hassan II en cours d'identification

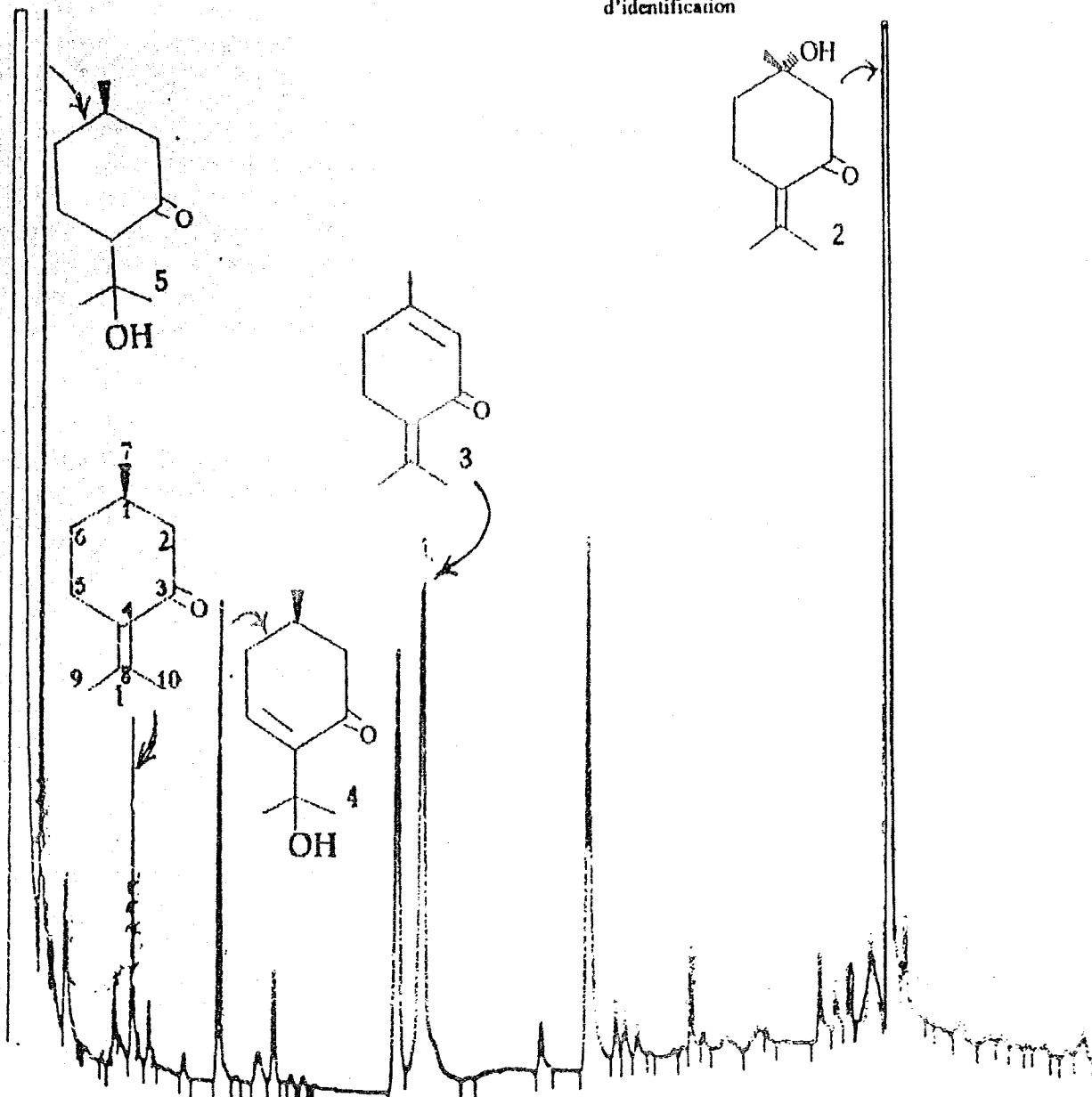


Figure 1. Chromatogramme des métabolites de la R (+) pulégone par *Aspergillus* sp. séparés sur capillaire DBWAX (0,25 mm x 30 m); 125°C (12 min.); puis 5°C/min. jusqu'à 180°C.

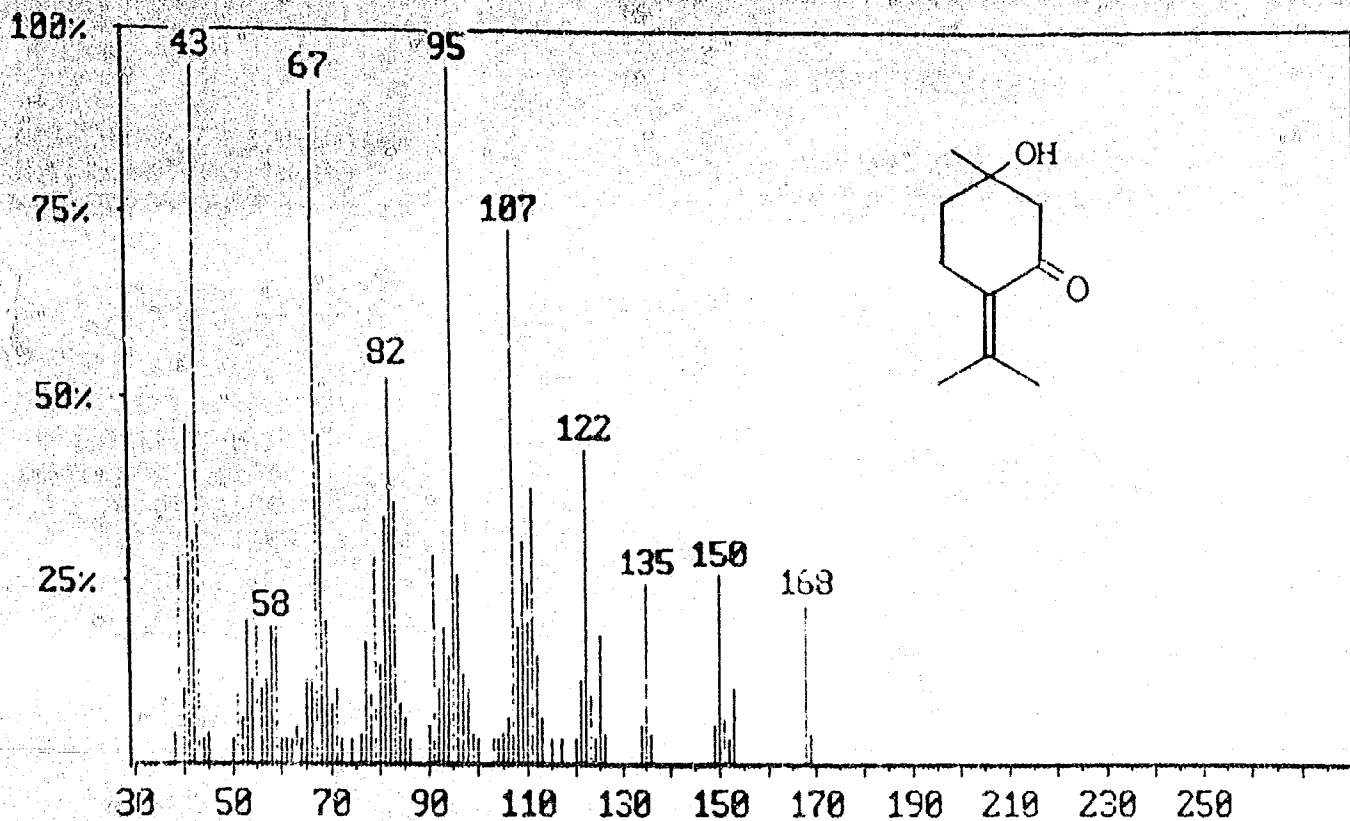


Figure 2. Spectre de masse du métabolite majoritaire de la R (+) pulégone hydroxy-1-pulégone

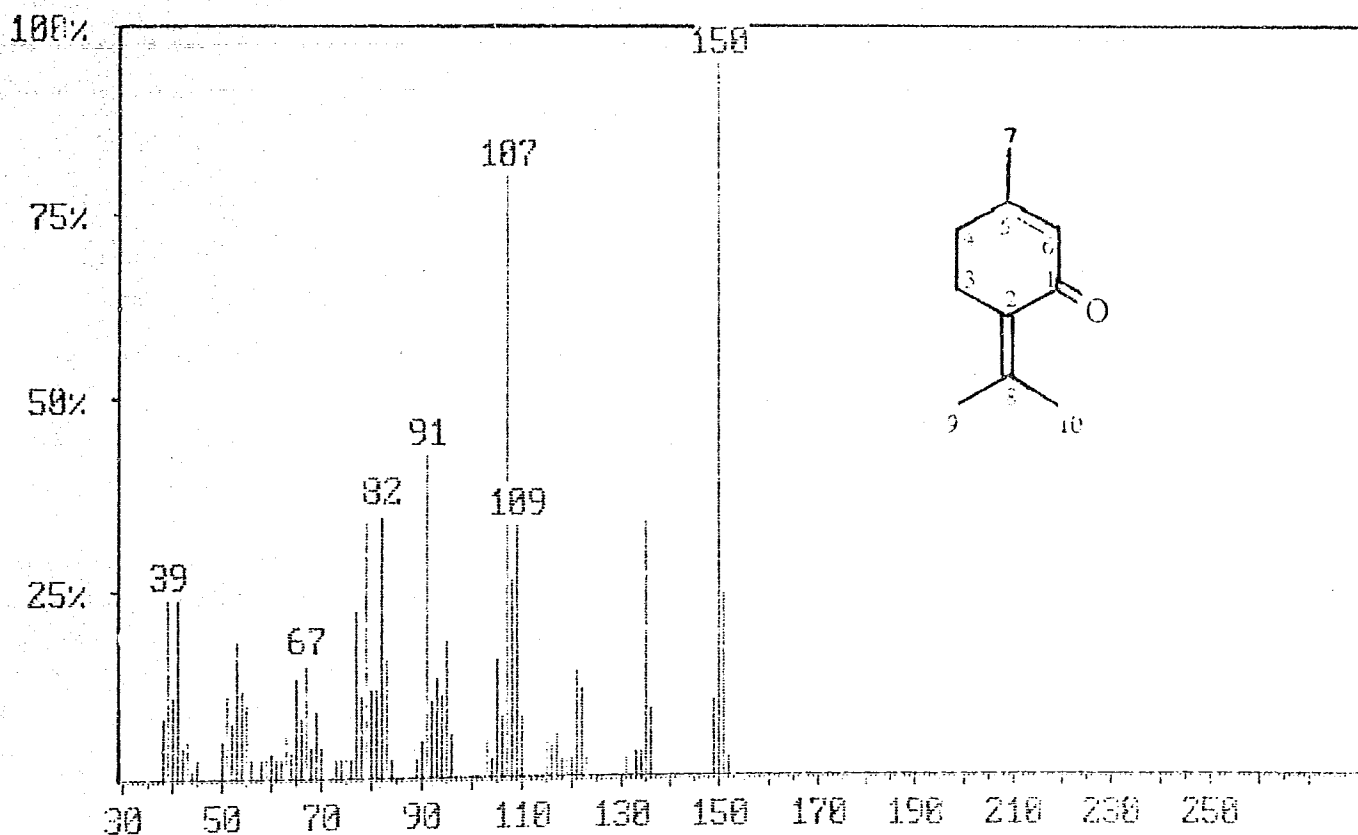
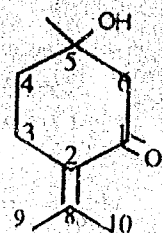


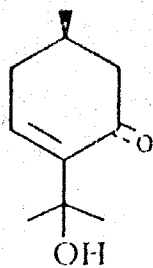
Figure 3. Spectre de masse de la pipériténone

Tableau III. (<sup>1</sup>H-RMN). Déplacements chimiques des métabolites de la R (+) Pulégone

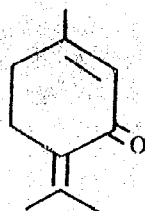


δ (ppm) (CDCl<sub>3</sub>, TMS)

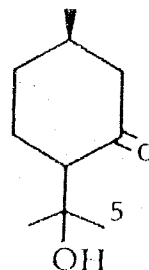
3.04 (1H, br.s, OH), 2.40 (4H, m, 2-CH<sub>2</sub>), 1.88 et 1.70 (6H, 2s, 9- et 10-CH<sub>3</sub>), 1.80 (2H, m, CH<sub>2</sub>), 1.20 (3H, s, 7-CH<sub>3</sub>)



6.8 (1H, dd, J<sub>3,4</sub> = J<sub>3,6</sub> = 6 Hz, 3-CH), 4.38 (1H, br.s., OH), 2.46 et 2.12 (H, 2m, 5-? et 6-CH<sub>2</sub>), 1.36 (6H, s, 9- et 10-CH<sub>3</sub>), 1.02 (3H, d, J<sub>7,5</sub> = 6 Hz, 7-CH<sub>3</sub>)

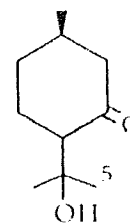
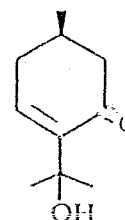
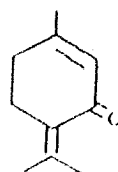
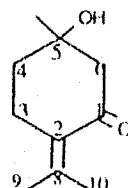


5.86 (1H, q, J<sub>6,7</sub> = 1.5 Hz, 6-CH), 2.63 et 2.26 (4H, 2t, J = 6.5 Hz, 3- et 4-CH<sub>2</sub>), 2.07 (3H, s, 7-CH<sub>3</sub>), 1.90 et 1.83 (6H, 2s, 9- and 10-CH<sub>3</sub>)



3.95 (1H, br.s, OH), 2.32 (1H, CH), 1.86 et 1.95 (3H, 2m, 3 CH), 1.50 et 1.35 (2H, 2m, 2CH), 1.19 et 1.18 (6H, 2s, 9- et 10-CH<sub>3</sub>), 1.00 (3H, d, J<sub>7,5</sub> = 6.5 Hz, 7-CH<sub>3</sub>)

Tableau IV. (<sup>13</sup>C-RMN) Déplacements chimiques des métabolites de la R (+) pulégone



N° C

(R)-Pulégone

Pipériténone

Métabolite de la (R)-Pulégone

Métabolite de la (R)-Pulégone

δ (ppm) (CDCl<sub>3</sub>)

N° C	(R)-Pulégone	Pipériténone	Métabolite de la (R)-Pulégone	Métabolite de la (R)-Pulégone
1	201,1	196,7	202,3	215,1
2	131,7	167,3	130,4	58,8
3	28,5	27,9	24,9	28,7
4	32,9	31,9	36,9	33,9
5	31,4		71,6	35,5
6	50,7	129,0	55,8	51,5
7	21,7		29,3	22,2
8	140,8		143,2	71,3
9	22,7	23,8	23,0	28,7*
10	21,8	22,9	22,3	25,6*

\* Attributions pouvant être interverties

#### • Éluclation du schéma métabolique de la R(+) pulégone

La figure 4 résume la filiation métabolique proposée pour les différents produits ainsi caractérisés. Les alcools tertiaires 4 et 2 dérivent d'une hydroxylation directe ne passant pas par l'époxyde 6. En fait, cet époxyde n'est pas détecté dans le milieu de bioconversion de la pulégone. Par ailleurs, la bioconversion dans les mêmes conditions du mélange d'époxydes cis et trans 6 conduit très lentement au diol 7, à l'exclusion des produits de transformation de la pulégone. L'isomère cis n'est pas métabolisé.

#### • Bioconversion de la (-)-menthone

De la même manière, l'incubation prolongée de la (-)-menthone 10 avec *Aspergillus* sp. ou *Mortierella isabellina* MPP 108 fournit (figure 5) à côté du métabolite principal 12 correspondant à l'hydroxylation habituelle (pied du méthyle) un nouveau produit hydroxylé 11 (hydroxylation en α du carbonyle). Cette structure est établie par RMN (tableau V). Mais, la configuration absolue du carbone (2R ou 2S) reste à établir.

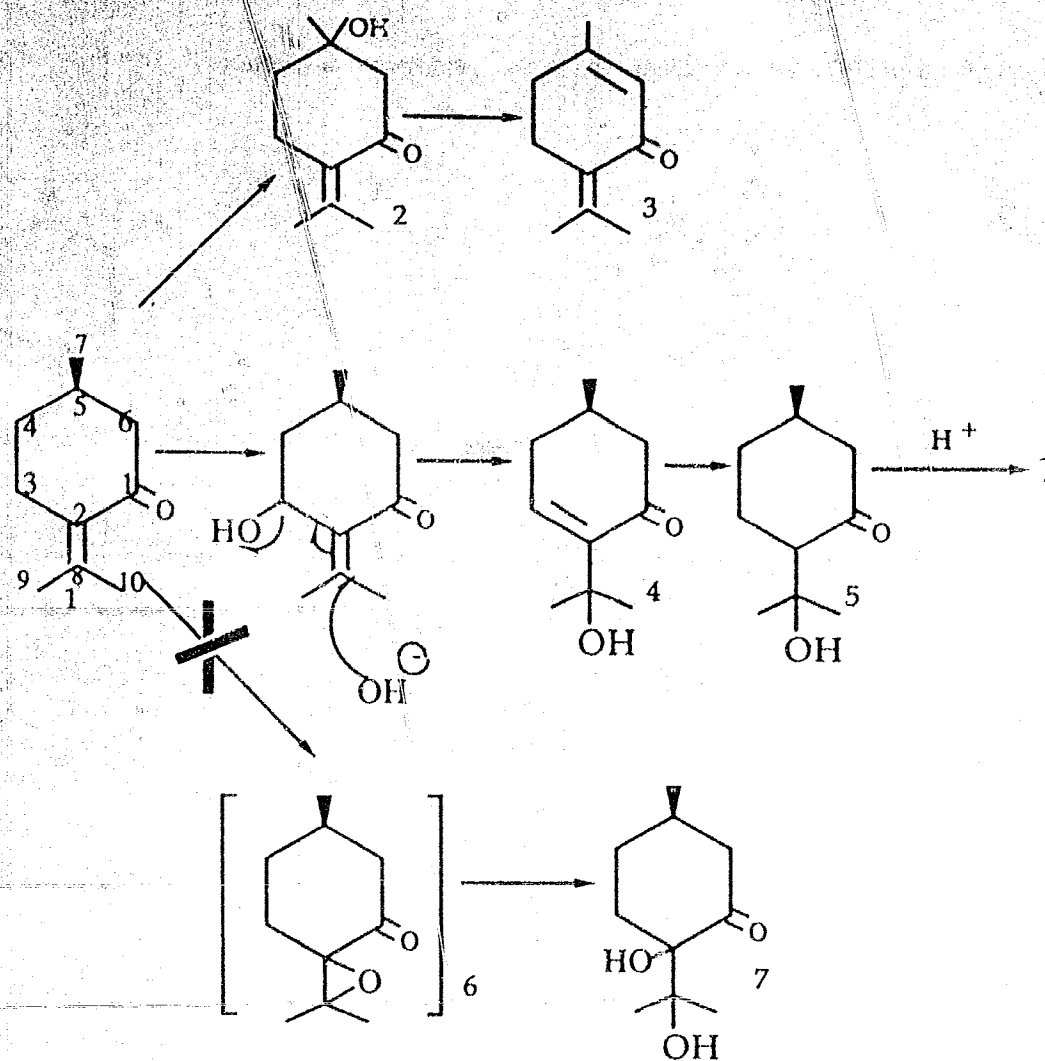


Figure 4. Schéma de bioconversion de la R (+) pulégone par *Aspergillus* sp.

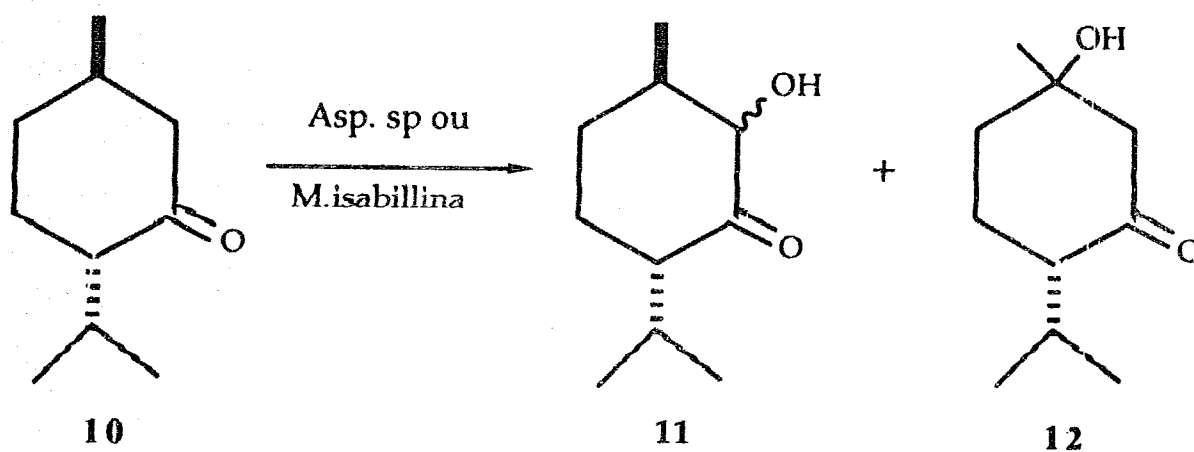


Figure 5. Schéma de la biotransformation de la (-)-menthone par *Aspergillus* sp. et *Mortierella Isabellina* MMP 108



Tableau V. (<sup>13</sup>C. RMN): Déplacements chimiques des métabolites de la Menthone et des produits apparentés

N° C	Menthone (14)	Menthol	(-)-Menthone	Métabolite de la (-)-Menthone
δ (ppm) (CDCl <sub>3</sub> )				
1	29,9	70,9	212,1	214,7
2	44,1	50,4	55,8	56,4
3	29,9	23,5	27,8	24,0*
4	33,1	35,0	33,9	25,6*
5	35,7	31,9	35,4	38,5
6	33,1	45,6	50,8	75,9
7	22,5	22,3	22,2	20,8
8	35,7	25,8	25,8	28,0
9	19,4	21,0*	21,1	20,7

\* Attributions pouvant être interverties

### • Bioconversion de l'α-thujone

L'α-thujone 8 (en mélange 65/35 avec son isomère cis, la β-thujone) fournit dans les mêmes conditions avec la même souche en 12 jours d'incubation (figure 6), 56% d'un produit principal, purifié par chromatographie à moyenne pression et identifié par RMN (tableaux VI et VII) et spectrométrie de masse (figure 7) comme étant le produit d'hydroxylation 9.

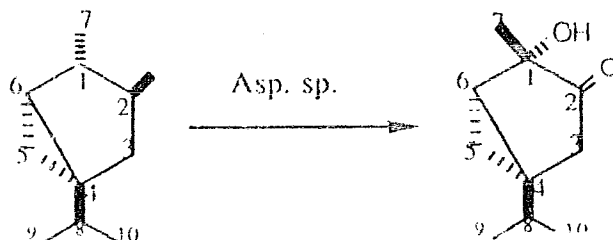
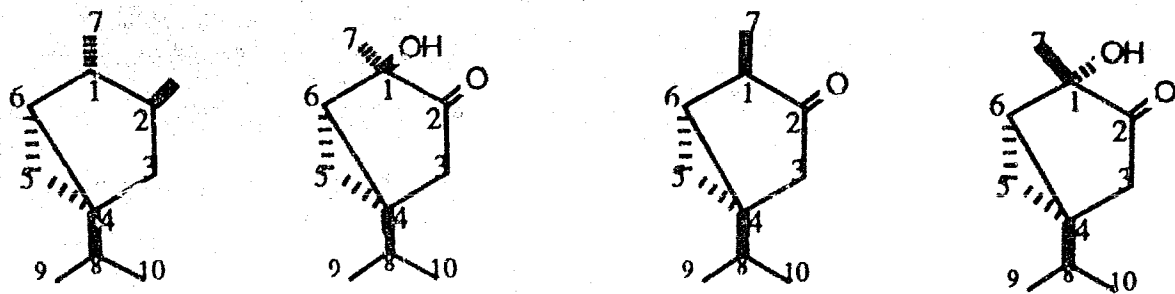


Figure 6. Biotransformation de l'α-thujone par *Aspergillus* sp.

Tableau VI. <sup>1</sup>H RMN: Déplacements chimiques de l'α -thujone et du métabolite majoritaire

δ (ppm) (CDCl <sub>3</sub> , TMS)	
	<p>2,56 (1H, dd, <math>J_{3\beta,3\alpha} = 18,7</math> Hz, <math>J_{3\beta,5\text{exo}} = 2,5</math> Hz, <math>J_{3\beta,1\alpha} = 1</math> Hz, H-3β), 2,20 (1H, br. q, <math>J_{1\alpha,7} = 7,5</math> Hz, H-1α), 2,04 (1H, d, <math>J_{3\alpha,3\beta} = 18,7</math> Hz, H-3α), 1,33 (1H, m, <math>J = 6,8</math> Hz H-8), 1,13 (3H, d, <math>J_{7,1\alpha} = 7,5</math> Hz, 7-CH<sub>3</sub>), 1,06 (1H, dd, <math>J_{6\beta,5\text{endo}} = 4</math> Hz, <math>J_{6\beta,5\text{exo}} = 8</math> Hz, H-6β), 0,98 and 0,93 (6H, 2d, <math>J = 6,8</math> Hz, 9- and 10-CH<sub>3</sub>), 0,73 (1H, ddd, <math>J_{5\text{exo},5\text{endo}} = 5,5</math> Hz, <math>J_{5\text{exo},6\beta} = 8</math> Hz, <math>J_{5\text{endo},5\text{exo}} = 5,5</math> Hz, <math>J_{5\text{endo},6\beta} = 4</math> Hz, H-5endo)</p>
	<p>2,62 (1H, dd, <math>J_{3\beta,3\alpha} = 18</math> Hz, <math>J_{3\beta,5\text{exo}} = 2,5</math> Hz, H-3β), 2,15 (1H, d, <math>J_{3\alpha,3\beta} = 18</math> Hz, H-3α), 1,40 (2H, m, H-8 and H-6), 1,31 (3H, s, 7-CH<sub>3</sub>), 0,96 and 0,90 (6H, 2d, <math>J = 6,5</math> Hz, 9- and 10-CH<sub>3</sub>), 0,67 (1H, dt, <math>J_{5\text{exo},5\text{endo}} = 7</math> Hz, <math>J_{5\text{exo},6\beta} = 7</math> Hz, <math>J_{5\text{exo},3\beta} = 2,5</math> Hz, H-5exo), 0,29 (1H, dd, <math>J_{5\text{endo},5\text{exo}} = 7</math> Hz, <math>J_{5\text{endo},6\beta} = 4</math> Hz, H-5endo)</p>

Tableau VII. (<sup>13</sup>C. RMN). Déplacements chimiques de composés voisins et du métabolite majoritaire de (-)-*α*-thujone



N° C                      Isothujol (14)                      Sabinènehydrate                      (-) *α*- Thujone                      Métabolite de la (-) Thujone

δ (ppm) (CDCl<sub>3</sub>)

1	42,4	80,6	47,4	79,6
2	77,0	36,7	-	217,5
3	36,8	26,0	- 39,7	37,9
4	30,1	34,7	-	26,8
5	11,0	13,3	13,7	15,4
6	26,8	34,4	32,9	32,5
7	16,0	25,0	20,0	25,8
8	33,2	32,2	25,5	29,0
9	19,8	20,0*	19,7*	19,5*
10	19,8	20,1*	18,2*	19,6*

\* Attributions pouvant être interverties

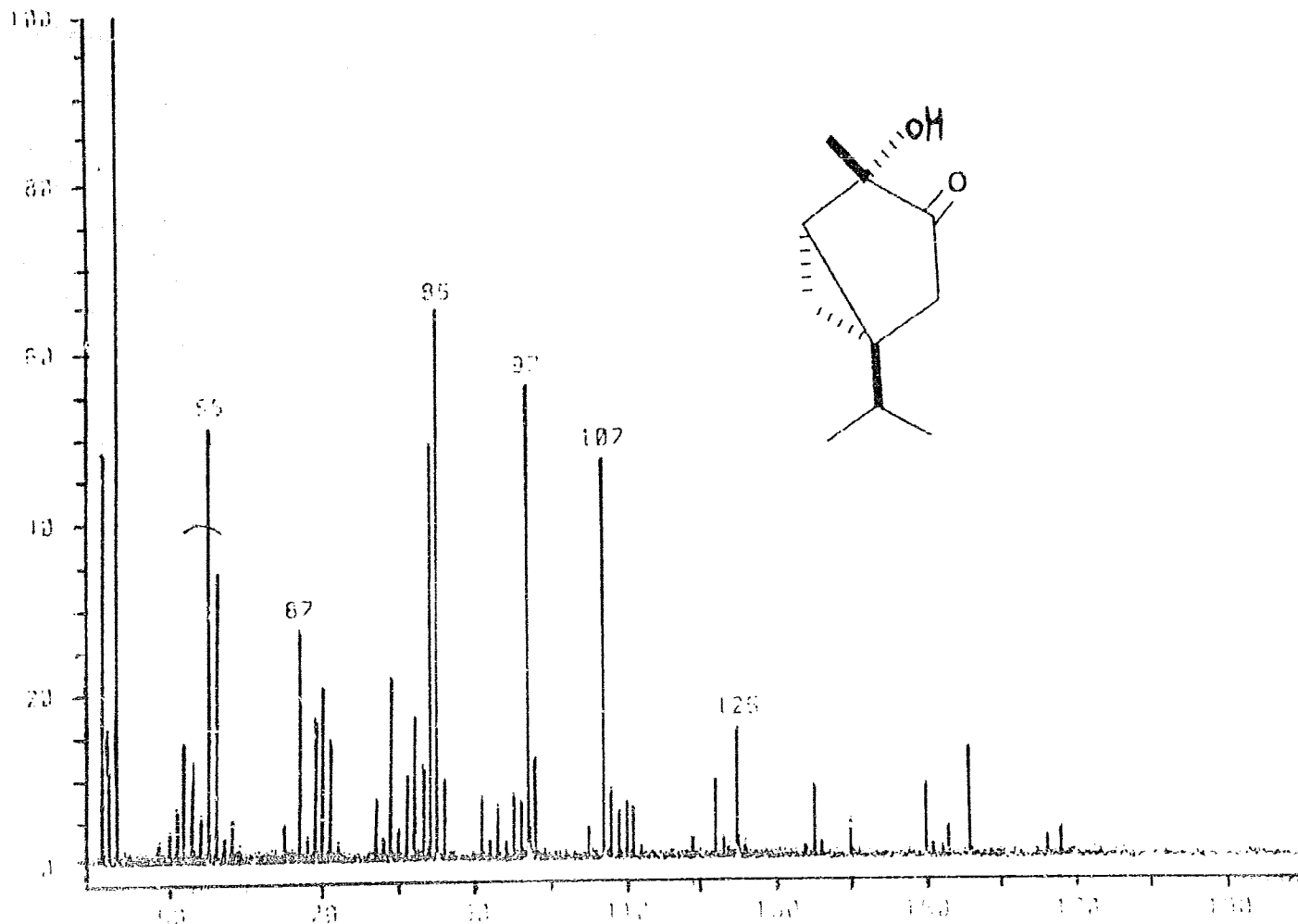


Figure 7. Spectre de masse du constituant majoritaire de l'(-)-*α*-thujone

## CONCLUSION

La métabolisation aisée des cétones monoterpéniques par *Aspergillus* sp. permet, malgré la volatilité élevée des substrats et de certains des produits, la préparation en quantités préparatives de nouvelles molécules hydroxylées pouvant être utilisées dans divers domaines de la chimie fine, parfumerie ou agro-alimentaire ou comme synthons asymétriques. La capacité particulière de ce microorganisme à hydroxylar au pied d'un méthyle pour fournir un alcool tertiaire asymétrique pourrait être exploitée sur des cyclanones non terpéniques méthyl-substituées.

## RÉFÉRENCES

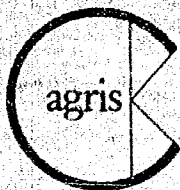
- (1) KRASNOBAJEV V. (1984)  
"In Biotechnology, a Comprehensive Treatise."  
Vol. 6a, Biotransformations, pp. 31-77, K. KIESLICH Ed.,  
Verlag Chemie, Weinheim
- (2) ROZAZZA J.P. (1982)  
Microbial transformation of bioactive compounds  
Vol 1 and 2 CRC, Press Boca Raton, FL (USA)
- (3) VEZINA C. (1987)  
In Basic biotechnology  
Ed. John BULLOCK, 463-481
- (4) YAMADA H. & S. SHIMUZU (1988)  
Microbial and Enzymatic process for production of biological and chemically useful compounds  
Angew. Chem, Int. Ed. Eng. 623
- (5) SANTHANAKRISHNAN T.S. (1984)  
Biohydroxylation of terpenes in mammals  
Tetrahedron, 40, 3597-3609
- (6) VENTURA P., R. PELLEGGATA, M. SCHIAVI & S. SERAFINI (1986)  
Metabolism of trans-sabinol in the rat  
Xenobiotica, 16, 317-323
- (7) GORDON W.P., A.J. FORTE, R.J. MCMURTRY, J. GAL & S.D. NELSON (1982)  
Hepatotoxicity and pulmonary toxicity of pennyroyal oil and its constituent terpenes in the mouse  
Toxicol. Appl. Pharmacol., 65,413-424
- (8) GORDON W.P., A.C. HUITRIC, C.L. SETH, R. McCLANAHAN & S.D. HET NELSON (1987)  
Metabolism of the abortifacient terpene, (R)- pulegone, to a proximate toxin, menthofuran.  
Drug Metabolism and Disposition, 15, 589-594
- (9) MOORTHY B., P. MADYASTHA & K.M. MADYASTHA (1989)  
Metabolism of monoterpene ketone, R (+) pulégone a hepato-toxin in rat  
Xenobiotica, 19, 217-224
- (10) ISHIDA T., M. TOYOTA & M. ASAKAWA (1989)  
Terpenoid biotransformation in Mammals V. Metabolism of (+) citronellal, (+,-)-7-hydroxycitronellal, Citral, (-)-Perillaldehyde, (-)-myrtenol, Cuminaldehyde, Thujone and (+) carvone in Rabbit  
Xenobiotica, 19, 843-855
- (11) LAMARE V. & R. FURSTOSS (1990)  
Microbiological transformations of sesquiterpenes  
Tetrahedron, 46, 4109-4132
- (12) ISMAILI-ALAOUI M., B. BENJILALI & R. AZERAD (1989)  
"Screening de moisissures capables de transformer la R (+) pulégone et/ou la (-) menthone, 57ème congrès de l'ACFAS, 15-19 Mai, UQAM  
Montreal, Canada
- (13) ISMAILI-ALAOUI M., B. BENJILALI, D. BUISSON & R. AZERAD (1992)  
Biotransformation of terpenic compounds fungi  
I. Metabolism of R(+) pulegone  
Tetrahedron letters 17 (33) 2349-2353
- (14) JAUTELAT M. (1970)  
In "13C-NMR Spectra of Natural Products"  
Proc. Nat. Acad. Sci., 65 288
- (15) BREITMAIER E. & W. VOELTER (1987)  
In "Carbon-13 NMR Spectroscopy", VCH  
Weinheim, 3rd ed., p. 328

33-0390

37644

# BORDEREAU D'ENTREE DES DONNEES

AGRIS Formulaire 1 (Rev. 5)F



001 

C	F	ADRES	NUMERO DE SERIE
NA	3	000	RS

 TRN

002 

Numero de bordereau	1
Nombre total de bordereaux	1

 003 

REVISION	RETRAIT
R	W

 004 

NOUVEAU	SUBSTITUE	SUPRIME
N	C	D

 005 

RN du document affecté									
------------------------	--	--	--	--	--	--	--	--	--

006 

TRADUCT.	GENERIC
T	/

 007 

RN ou TRN de relation									
-----------------------	--	--	--	--	--	--	--	--	--

008 

(PRINCIPALE)	(SECONDAIRES)	CODE PAYS
F60		

 / 

ENTREE REGIONALE	
------------------	--

TYPE BIBLIOGRAPHIQUE: 

MONOGRAPH.	MORNE	DESSIN	FILM	CLASSE OU ATLAS	ENREGISTR. SONORE	ART. PUBL. SERIE	BREVET	RAPPORT	SUPPORT INFORMATIQ.
B	C	D	F	G	H	I	P	R	T

NIVEAU BIBLIOGR.: 

ANALYTIQUE	MONOGRAPH.	TRAITÉ	SERIE	COLLECTIF
A	M	S	C	

INDICATEUR BIBLIOGRAPHIQUE: 

REUNION	DICIONNAIRE	NUMERIQUE	NUMERIQUE	DISSERTATION	LEGISLATION	BIBLIOGRAPH.	CARTE	RESUME	NON CONVENTION	STATUTS
K	L	N	U	W	Z	Y	E	V	R	

1 009 **A** Utiliser un bordereau pour chaque niveau bibliographique A, M ou C, cerclé en 008, en partant du niveau le plus spécifique (c'est-à-dire la gauche) et reporter le code correspondant en 009. Pour le niveau bibliographique S, utiliser la section 2 du bordereau. Pour les descripteurs AGROVOC, les termes d'indexation du vocabulaire local et les résumés utiliser les sections 3 à 5 au verso.

NIVEAU		Données (à dactylographier)
Auteur (s) / Personne physique (Affiliation (s))	100	Ismaili-Alaoui, M.; Benjilali, B. (Institut Agronomique et Vétérinaire Hassan 2, Rabat (Maroc). Dept. de Chimie-Physico-chimie); Buisson, D.; Azorad, R.
Collectivité(s) auteur(s)	110	
Titre universitaire	111	
Titre anglais	200	[Valorization of some monoterpenic cetonas by bio-conversion]
	201	
Réunion	210	
	211	
	213	
Titre original (Translit.)	230	Valorisation de quelques cetonas monoterpéniques par bioconversion
	231	
Edition (N°)	250	
No. Rapport/brevet	300	
Nos. secondaires	310	
ISBN/IPC	320	
Adresse bibliographique	401	
	402	
	403	
Collation	500	
Langue (s) du texte	600	(Fr)   Résumés (Ar, Em, Fr)
Notes	610	7 tableaux, 7 figs, 15 ref.

2 009 **S**

NIVEAU		Données (à dactylographier)
Titre de publication en série	230	Actes de 2 <sup>e</sup> conférence agronomique et vétérinaire Hassan 2 (Marrakech)
	231	Région Sévère et Techniques d'adaptation à la sécheresse
ISSN	320	ISSN 0751-0466
Date de publication	403	(1972)
Collation	500	v. 10(2) pp. 5-14
Notes	610	

Sections 3 à 5 au verso

3

009 9 / EN 009 9 / ES 009 9 / FR

Code de langue des descripteurs (à compléter obligatoirement celui qui s'applique)

Descripteurs AGROVOC pour l'index matriciel dans Agric/7          Autres descripteurs AGROVOC	Entête 800	Donnée (à dactylographier)  <b>CETONE; MONOTERPENOIDE; BIOCONVERSION;</b> (PRIMAIRE)  (Séparer les descripteurs par un point virgule (;) et un espace. Faire précéder les propositions de nouveaux descripteurs par un point d'interrogation (?))  /  (laisser un espace après la barre oblique (/))
Commentaires sur les descripteurs existants ou proposés	810	

4

009 9 /

Code de langue des termes d'indexation

Termes d'indexation du vocabulaire local	820	
--	-----	--

5

009 X / FR

Code de langue du résumé

Langue du résumé en clair	850	
Résumé	860	Présentation des résultats obtenus à partir des essais relatifs à la bioconversion oxydative de deux monoterpénoïdes issus des plantes aromatiques médicinales: la R(+)-pulegone extraite de l'huile essentielle de Mentha sylvestris et d'α-thujone constituant majoritairement l'essence de la menthe herbacée alba; ainsi qu'une présentation des résultats préliminaires obtenus avec la (-)-menthone 10.

**FIN**

النهاية

**14**

مشاهد

**VUES**