

73. De la chimie des ptérides

4^{me} communication¹⁾

Obtention et caractérisation de l' amino-2-dihydroxy-6,8-dihydro-7,10-ptéridine et de la diamino-2,8-hydroxy-6-dihydro-7,10-ptéridine

par M. Viscontini et M. Piraux²⁾

(18 I 62)

C. VAN BAALEN & H. S. FORREST³⁾ décrivant l'hydrogénation catalytique de l' amino-2-hydroxy-6-ptéridine (I) ont signalé que la réoxydation au bioxyde de manganèse et en présence d'ammoniaque du produit tétrahydrogéné II aboutissait à la formation d'une ptéride à laquelle ils attribuèrent la structure d'une diamino-2,8-hydroxy-6-ptéridine (X). La même année, décrivant la réoxydation à l'air et en présence d'ammoniaque de cette même ptéride tétrahydrogénée II, nous annonçons de notre côté l'isolement d'une nouvelle ptéride à laquelle nous attribuons, en raison de son analyse élémentaire et de son spectre UV. (Fig. 1), la structure d'une amino-2-dihydroxy-6,8-dihydro-7,10-ptéridine (VI)⁴⁾. Depuis lors une comparaison des deux substances avait pu nous faire croire à leur identité car elles montrent le même comportement chromatographique et possèdent les mêmes spectres UV.⁵⁾

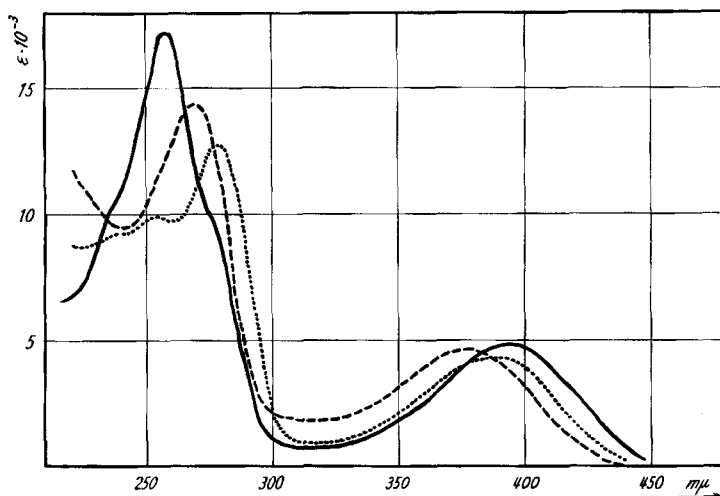


Fig. 1. Spectre UV. de l' amino-2-dihydroxy-6,8-dihydro-7,10-ptéridine (VI) et de la diamino-2,8-hydroxy-6-dihydro-7,10-ptéridine (V)

----- pH 1 pH 4,2 à 7,5 ——— pH 13

¹⁾ 3^e Communication: H. S. FORREST *et al.*, *Helv.* 43, 1005 (1960).

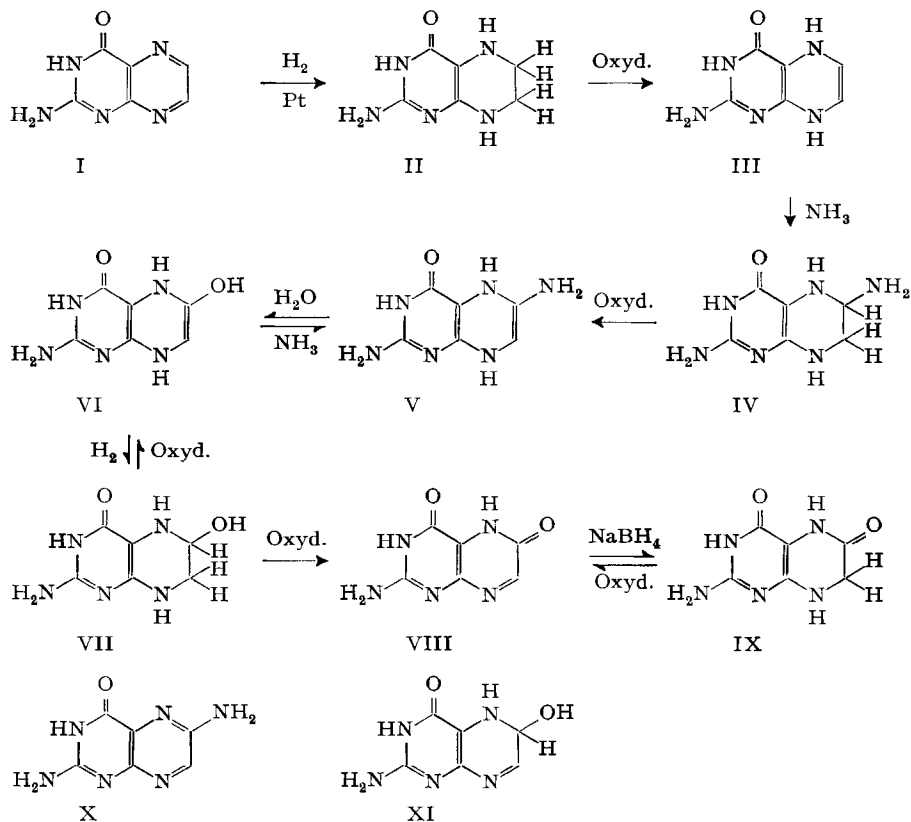
²⁾ Chargé de Recherches du Fonds National Belge de la Recherche Scientifique.

³⁾ *J. Amer. chem. Soc.* 81, 1770 (1959).

⁴⁾ M. VISCONTINI & H. R. WEILENMANN, *Helv.* 42, 1854 (1959).

⁵⁾ Nous remercions M. le Prof. H. S. FORREST qui a bien voulu mettre à notre disposition quelques milligrammes de son produit synthétique.

Or FORREST a signalé la présence de cette ou de ces ptérides chez *Drosophila melanogaster* et chez deux algues bleues, *Anacystis nidulans* et *Nostoc muscorum*³⁾; de même NAWA l'a ou les a obtenues après oxydation de la sépiaptéridine par le periodate de sodium, oxydation suivie d'un traitement à 80° par l'ammoniaque⁶⁾. L'importance de cette ou de ces ptérides est donc indéniable et il nous semblait nécessaire de savoir quelle pouvait être leur structure exacte. En vue de résoudre le problème nous avons repris l'étude de ces produits.



Une première indication peut être tirée de la comparaison des analyses élémentaires publiées par FORREST³⁾ et par nous-mêmes⁴⁾.

FORREST	C 40,3	H 3,12	N 43,7%
nous-mêmes (trois préparations différentes)	,, 39,77; 40,26; 39,92	,, 4,08; 4,23; 4,65	,, 39,09; 39,69; 40,09%

Comme on peut le constater aussitôt les teneurs en azote du produit de FORREST d'une part et de notre produit d'autre part, sont fort différentes; d'un autre côté les teneurs en azote de nos trois préparations diffèrent sensiblement les unes des autres. Ces fortes variations font penser à l'existence possible de deux ptérides très facilement transformables l'un dans l'autre en solution aqueuse, dont l'une aurait été isolée par

⁶⁾ S. NAWA, Bull. chem. Soc. Japan 33, 1555 (1960).

FORREST, et l'autre, par nous-mêmes. Dans le présent travail nous établissons qu'il en est effectivement ainsi et que les deux produits sont d'une part la amino-2-dihydroxy-6,8-dihydro-7,10-ptéridine (VI) comme nous l'avions déjà supposé, et d'autre part la diamino-2,8-hydroxy-6-dihydro-7,10-ptéridine (V).

L'existence de ces deux produits est facile à vérifier: la ptérine isolée après réoxydation de la tétrahydroptéridine II et recristallisée de l'ammoniaque possède six atomes d'azote et un seul d'oxygène; cette même ptérine recristallisée d'une solution aqueuse neutre ou basique rigoureusement privée de NH_3 , possède alors cinq atomes d'azote et deux d'oxygène. Des recristallisations successives en présence ou en absence de NH_3 montrent qu'on passe sans difficulté d'un produit à l'autre et on comprend ainsi que les spectres UV. et les chromatographies sur papier des deux substances soient identiques. Ces expériences montrent en outre que les deux ptérines possèdent le même degré d'oxydation qu'il nous faut maintenant déterminer, et qu'elles possèdent soit une structure aromatique, comme par exemple la formule X proposée par FORREST, soit une structure dihydrogénée, comme par exemple la formule VI proposée par nous-mêmes.

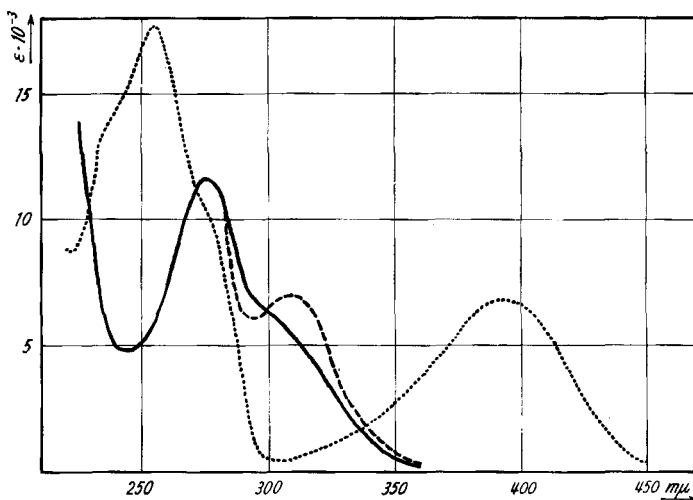


Fig. 2. Spectres UV. de la xanthoptérine réduite par NaBH_4

Xanthoptérine pH 13 dihydro-9,10-xanthoptérine ----- pH 3 ——— pH 13

Si on cherche à réduire la ptérine à cinq atomes d'azote et deux d'oxygène, on constate que NaBH_4 est sans action; dans les mêmes conditions la xanthoptérine (VIII) est réduite (Fig. 2), se transformant en dihydroxanthoptérine déjà obtenue par réduction catalytique⁷⁾ et dont la synthèse totale montre de manière univoque qu'il s'agit de la dihydro-9,10-xanthoptérine (IX)⁸⁾. La réoxydation à l'air de cette dihydroxanthoptérine IX ne donne que de la xanthoptérine (VIII). Si par contre, on effectue une réduction catalytique de la ptérine à cinq atomes d'azote et deux d'oxygène, une molécule d'hydrogène est fixée sur une double liaison et on obtient un

⁷⁾ B. L. O'DELL *et al.*, J. Amer. chem. Soc. 69, 250 (1947).

⁸⁾ W. R. BOON & T. LEIGH, J. chem. Soc. 1957, 1497; G. B. ELION & G. H. HITCHINGS, J. Amer. chem. Soc. 74, 3877 (1952).

dérivé dihydrogéné dont le spectre UV. correspond exactement à celui de la dihydro-9,10-xanthoptérine (IX) bien que les deux produits soient différents (Fig. 3). La réoxydation à l'air de cette ptérine réduite conduit à une forte proportion de xanthoptérine (VIII), à côté d'une certaine proportion de ptérine I et de produit de départ. Cette expérience ne trouve d'explication que si la ptérine à cinq atomes d'azote et deux d'oxygène, par ailleurs relativement stable, est elle-même une dihydroxanthoptérine, isomère de l'instable dihydro-9,10-xanthoptérine (IX). Des deux structures VI und XI qui entrent en ligne de compte nous avons choisi pour notre produit celle de la dihydro-7,10-xanthoptérine (VI) en raison de la relative stabilité des pyrazines et des pyridines para-dihydrogénées. Ainsi se trouve confirmée la structure VI que nous avions proposée et on en conclut que, recristallisée de l'ammoniaque, la ptérine VI se transforme en diamino-2,8-hydroxy-6-dihydro-7,10-ptérine (V).

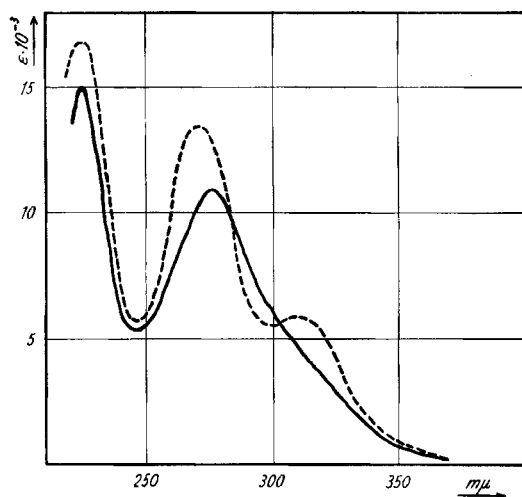


Fig. 3. Spectre UV. des produits de réduction catalytique des ptéridines V et VI
 ----- pH 3 ————— pH 13

Les propriétés physico-chimiques de la dihydro-7,10-xanthoptérine (VI) correspondent à celles qu'on peut attendre du fait de sa structure. Par mesures spectrophotométriques on trouve qu'elle possède 2 pK, l'un de 2,78, un peu plus basique que celui de la ptérine I (2,51) et l'autre de 8,62, bien moins acide que le pK correspondant (8,02) de la même ptérine I. Des mesures effectuées dans notre laboratoire selon la même méthode et non encore publiées montrent pour la xanthoptérine l'existence de 3 pK respectivement de 2,65, 6,2 et 9,6. On voit donc que chez la dihydro-7,10-xanthoptérine, comme il était à prévoir, la forte acidité (pK 6,2) de la xanthoptérine a disparu et que le produit est un peu plus basique que la ptérine I, en bon accord avec la valeur du point isoélectrique mesuré vers pH 8.

Un dernier point reste à discuter, celui de la formation de la dihydro-7,10-xanthoptérine (VI). Dans notre premier travail⁴⁾ nous avons supposé que cette ptérine prenait naissance par addition nucléophile des éléments de l'eau sur une double liaison (8, 9 ?) de la dihydroptérine III. Or dans le présent travail nous avons pu nous per-

suader que NH_3 est nécessaire pour la formation de la ptérine VI; ceci nous amène à supposer que ce sont les éléments de NH_3 et non ceux de H_2O qui subissent l'addition nucléophile sur la double liaison de la ptérine III. On obtient ainsi la diamino-tétrahydro-ptéridine IV, qui ultérieurement oxydée à l'air se transforme en diamino-2,8-hydroxy-6-dihydro-7,10-ptéridine (V), ensuite hydrolysée en dihydro-7,10-xanthoptérine (VI).

Au point de vue chimique les doubles liaisons 9,10 de la xanthoptérine et 8,9 de la diamino-dihydro-ptéridine V sont susceptibles de nombreuses réactions d'addition nucléophile. Cette importante propriété dont l'application a conduit à la synthèse de l'érythroptérine et de l'ékaptérine⁹⁾, fera l'objet d'un prochain mémoire.

Les analyses ont été effectuées dans notre laboratoire de microanalyse sous la direction de M. FROHOFER que nous remercions de son travail méritoire. Nous remercions aussi le FONDS NATIONAL SUISSE DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE de l'aide matérielle mise à notre disposition.

Partie expérimentale. – *Diamino-2,8-hydroxy-6-dihydro-7,10-ptéridine (V) et amino-2-dihydroxy-6,8-dihydro-7,10-ptéridine (VI)*. 1 g d' amino-2-hydroxy-6-ptéridine est hydrogéné dans une solution de NaOH 0,1N en présence de 150 mg de PtO_2 comme catalyseur. Après l'hydrogénation, qui demande plusieurs heures la solution est filtrée, neutralisée à l'acide acétique puis additionnés d'ammoniaque concentrée jusqu'à obtention d'une solution 0,1N, en ammoniac. On abandonne la solution à l'air pendant plusieurs jours en suivant par chromatographie sur papier l'apparition des ptéridines de réoxydation. Lorsque la concentration des produits à fluorescence verte a atteint son maximum on sépare la diamino-dihydro-ptéridine V des ptéridines qui l'accompagnent, par des chromatographies successives sur colonnes de cellulose pulvérisée en se servant alternativement d'eau et d'ammoniaque concentrée comme solvant. L'ammoniaque concentrée présente l'avantage de ne pas décomposer la ptéridine V et de séparer la xanthoptérine VIII qui prend toujours naissance pendant la réoxydation à l'air de la ptéridine tétrahydrogénée V. On obtient ainsi 50 mg du produit V cristallisé.

$\text{C}_8\text{H}_8\text{ON}_6$	Calc. C 40,0	H 4,48	N 46,65%
(180,17)	Tr. . .	., 40,46	., 5,17
			., 46,51%

En recristallisant la ptéridine V de l'eau sans NH_3 on retrouve le produit VI que nous avons déjà décrit dans notre précédente publication⁴⁾, mais à l'état plus pur.

$\text{C}_8\text{H}_7\text{O}_2\text{N}_5$	Calc. C 39,78	H 3,89	N 38,66%
(181,16)	Tr. . .	., 40,47	., 4,79
			., 38,61%

Le poids moléculaire mesuré par cryoscopie dans l'acide formique a été trouvé égal à 141, ce qui exclut pour le produit VI une structure dimère¹⁰⁾. Les deux produits V et VI possèdent des spectres UV. indiscernables l'un de l'autre et les mêmes Rf dans les 7 solvants que nous avons essayé :

Solvants	Rf de V et de VI
H_2O	0,24
$\text{NH}_4\text{Cl}-\text{H}_2\text{O}$ (3%)	0,25
NH_4OH conc.	0,70
Propanol/ NH_4OH 1% (2/1)	0,20
Propanol/Acétate d' NH_4 1% (2/1)	0,30
Butanol/ $\text{CH}_3\text{COOH}/\text{H}_2\text{O}$ (20/3/7)	0,21
Pyridine/Acétate d'éthyle/ H_2O (4/3/3)	0,60

Spectres UV. et pK des ptéridines V et VI. Les pK ont été déterminés par la méthode spectrophotométrique dans onze solutions tampon¹¹⁾.

Réduction de la xanthoptérine (VIII). La xanthoptérine se laisse réduire indifféremment par l'hydrogène en présence de Pt ou par NaBH_4 . Dans les deux cas on obtient la même dihydro-

⁹⁾ M. VISCONTINI & H. STIERLIN, Helv. 44, 1783 (1961).

¹⁰⁾ Nous remercions M. TRABER, de notre Institut qui a bien voulu effectuer cette mesure.

¹¹⁾ A. V. WILLI, Helv. 37, 602 (1954).

7,10-xanthoptérine déjà décrite⁷⁾). Par réoxydation de cette dihydroxanthoptérine à l'air on n'obtient que de la xanthoptérine, caractérisée par son spectre et les Rf dans les solvants habituels.

Réduction des ptérides V ou VI. La ptérine VI est stable vis-à-vis de NaBH_4 . La réduction réussit par contre avec l'hydrogène en présence de Pt: 10 mg de ptérine V ou VI sont dissous dans 5 ml de NaOH 0,04N, puis hydrogénés en présence de 20 mg de PtO_2 préalablement réduits. La réduction est terminée en 10 min après absorption d'une mol. d' H_2 . Le produit hydrogéné VII obtenu est incolore et à fluorescence bleue. Son spectre UV. et celui de la dihydro-7,10-xanthoptérine (IX) sont pratiquement superposables (Fig. 3).

Le produit VII est extrêmement instable. Par réoxydation à l'air il fournit un peu d'amino-2-hydroxy-6-ptérine (I), de l'amino-2-dihydroxy-6,8-dihydroxy-7,10-ptéridine (VI) et en majeure partie de la xanthoptérine (VIII). Ces trois produits ont été caractérisés, après séparation, à l'aide de la chromatographie sur papier dans les solvants habituels; de plus la xanthoptérine a été caractérisée par son spectre UV.

RÉSUMÉ

La réoxydation à l'air et en présence de NH_3 de l'amino-2-hydroxy-6-tétrahydro-7,8,9,10-ptéridine (II) fournit en premier lieu la diamino-2,8-hydroxy-6-dihydro-7,10-ptéridine (V) qui s'hydrolyse en milieu aqueux pour donner l'amino-2-dihydroxy-6,8-dihydro-7,10-ptéridine (VI). Les deux produits ont été isolés à l'état pur, caractérisés et leur structure a pu être démontrée.

Zurich, Institut de chimie organique
de l'Université

74. Stoffwechselprodukte von Actinomyceten

35. Mitteilung¹⁾

Über die Konstitution der Makrotetrolide Monactin, Dinactin und Trinactin

von J. Beck, H. Gerlach, V. Prelog und W. Voser

(18. I. 62)

Bei der Bereitstellung grösserer Mengen von Nonactin, welche für die Aufklärung seiner Konstitution und die Bestimmung seiner Konfiguration²⁾ notwendig waren, wurden Nonactin-haltige Rohprodukte aus den Kulturen gewisser Streptomyceten-Stämme³⁾ mit Hilfe der Dünnschichtchromatographie an Kieselgel⁴⁾ untersucht. Es konnte dabei festgestellt werden, dass diese Rohprodukte neben Nonactin weitere Stoffwechselprodukte in Mengen enthalten, welche mit denjenigen des Nonactins vergleichbar waren. Drei davon liessen sich durch Chromatographie an Kieselgel in reinem Zustand erhalten. Die Analysen sowie die IR.- und NMR.-Spektren und be-

¹⁾ 34. Mitt.: Helv. 45, 590 (1962).

²⁾ J. DOMINGUEZ, J. D. DUNITZ, H. GERLACH & V. PRELOG, Helv. 45, 129 (1962). Über Untersuchungen, welche zur Bestimmung der Konfiguration der Nonactinsäure und der Homononactinsäure ausgeführt wurden, werden wir in einer späteren Mitteilung berichten.

³⁾ Es handelt sich um die Stämme ETH. A 7796, A 9828, A 23112. Über die Zuordnung dieser Stämme und über das Verhältnis der einzelnen Homologen in Kulturen unter verschiedenen Züchtungsbedingungen wird in einem anderen Zusammenhang berichtet.

⁴⁾ E. STAHL, Chemiker Ztg. 82, 323 (1958), Arch. Pharm. 292/64, 411 (1959).