

## 168. De la chimie des Ptérides

7<sup>e</sup> communication<sup>1)</sup>

### Obtention de dimères à partir de ptérides hydrogénées

par M. Viscontini et M. Piraux<sup>2)</sup>

Dédiée à M. le Professeur F. LEUTHARDT à l'occasion de son 60<sup>e</sup> anniversaire

(27 IV 63)

Lors de la 2<sup>e</sup> communication sur la chimie des ptérides, nous annonçons que la réoxydation à l'air de la ptéride tétrahydrogénée I fournissait entre autres produits une substance avec un spectre UV. très caractéristique, ne se laissant éluer des chromatogrammes que par l'ammoniaque, dont les solutions orangées présentaient une intense fluorescence jaune-vert et qui pouvait fort bien être une ptéride dimère étant donné les faibles R<sub>f</sub> qui la caractérisaient dans tous les solvants<sup>3)</sup>.

Au cours de nos récents travaux sur cette même tétrahydroptéride I nous avons entrepris une étude systématique de ce dimère et les résultats obtenus font l'objet de la présente communication.

Nous avons soumis à une réoxydation prolongée (3 à 4 semaines) la tétrahydroptéride I en prenant bien soin d'alcaliniser la solution avec de l'ammoniaque, condition nécessaire pour la formation de la *p*-dihydro-7,10-amino-8-ptéride (II), produit de départ de toute dimérisation. Un inventaire chromatographique des substances formées après cette oxydation met en évidence 2 produits, A et B, dont les solutions ammoniacales orangées possèdent l'intense fluorescence jaune-vert dont nous venons de parler, et deux autres substances, C et D, dont les solutions ammoniacales jaunes présentent une intense fluorescence verte. Seule la substance A a pu être obtenue pure en quantité appréciable (3 à 4 dizaines de mg). Malheureusement ces minimes quantités de ptéride, dont l'isolement met en jeu de grandes quantités d'eau et de cellulose en poudre, s'enrichissent de tous les métaux qui se trouvent à l'état de traces dans les solvants et forment avec eux des complexes si stables qu'il est ensuite impossible de les en débarrasser. Les analyses élémentaires, déjà délicates par elles-mêmes, sont faussées par la présence de ces métaux; toutefois la meilleure analyse du produit A que nous avons obtenue présentait des valeurs si semblables à celles de la *p*-dihydroxanthoptéride que l'idée de la formation de A par oxydation désaminative de II s'imposa à notre esprit. De fait, dans nos mains, l'oxydation au permanganate de la ptéride II donna régulièrement naissance à une ou plusieurs des substances A, B, C ou D, suivant les conditions de la réaction.

Les spectres UV. de A et B d'une part (Fig. 1), de C et D d'autre part (Fig. 2) sont si proches à tous points de vue, et les propriétés chimiques de ces deux paires de produits si semblables, que nous les tenons pour deux couples d'isomères, sup-

<sup>1)</sup> 6<sup>e</sup> communication: M. VISCONTINI, L. MERLINI et W. v. PHILIPSBORN, *Helv.* 46, 1181 (1963).

<sup>2)</sup> Chargé de Recherches du FONDS NATIONAL BELGE DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE.

<sup>3)</sup> M. VISCONTINI & H. R. WEILENMANN, *Helv.* 42, 1854 (1959).

position renforcée par la facile transformation des ptérides A et B l'une dans l'autre et l'obtention de C ou D à partir de A ou B.

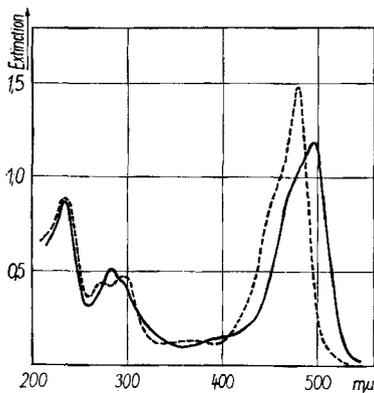


Fig. 1. Dimères A et B

----- pH 2 ——— pH 12

Spectres UV.

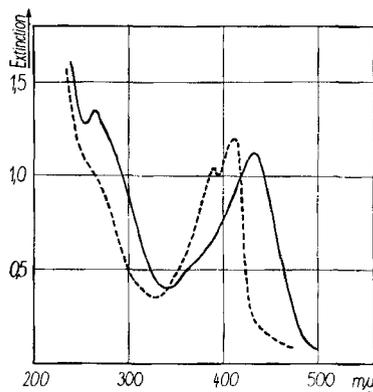


Fig. 2. Dimères C et D

----- pH 2 ——— pH 12

Pour démontrer que tous ces produits étaient bien des dimères, nous avons oxydé les ptérides A, B et C à l'aide de  $\text{KMnO}_4$ . L'oxydation de A et de B fournit la ptéride III, l'acide ptéride-carboxylique-8 (IV) et le dimère C; l'oxydation du dimère C fournit elle aussi l'acide ptéride-carboxylique-8 (IV). Ceci prouve que le carbone 8 d'une moitié d'un dimère doit être lié au carbone 8 de l'autre moitié et non au carbone 9 ou à un atome d'azote. Il faut aussi admettre que les dimères C et D représentent une forme oxydée des dimères A et B, auxquels on pourrait attribuer une structure «dihydrogénée» tandis que C et D posséderaient une double liaison supplémentaire dans chacun des noyaux ptéridiques qui les composent.

Quant à la cause de l'isomérisation rencontrée chez ces dimères, il est bien difficile de donner actuellement une réponse précise à cette question. On peut penser à une isomérisation géométrique dont la nature resterait encore à déterminer; nous laissons donc ouvertes les structures des produits A, B, C et D, et c'est pourquoi, dans les formules que nous donnons, nous n'indiquons pas l'emplacement des doubles liaisons des cycles pyraziniques.

Il nous faut enfin signaler un autre cas de formation de deux dimères à partir de la xanthoptéridine substituée. Nous avons déjà mentionné cette formation lors de l'addition nucléophile de l'ion  $\text{CN}^-$  sur le carbone 9 de la xanthoptéridine<sup>4</sup>). Les spectres UV. de ces deux nouveaux dimères, E et F (Fig. 3), sont semblables et ressemblent à ceux des dimères C et D, avec un déplacement bathochrome de 20 mμ environ du dernier maximum. Ce déplacement correspond à l'introduction d'une nouvelle conjugaison exocyclique dans la molécule de xanthoptéridine.

Les  $R_f$  de tous ces dimères (v. partie expérimentale) montrent un parallélisme frappant entre paires d'isomères: dans chaque paire l'une des substances migre bien

<sup>4</sup>) M. VISCONTINI & M. PIRAUX, Helv. 45, 1000 (1962).

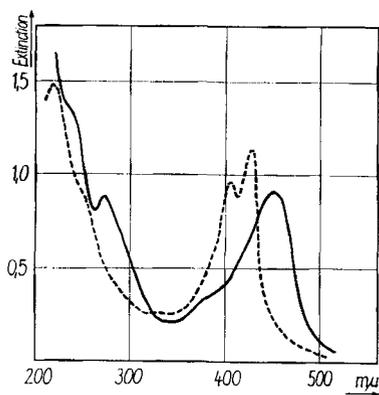
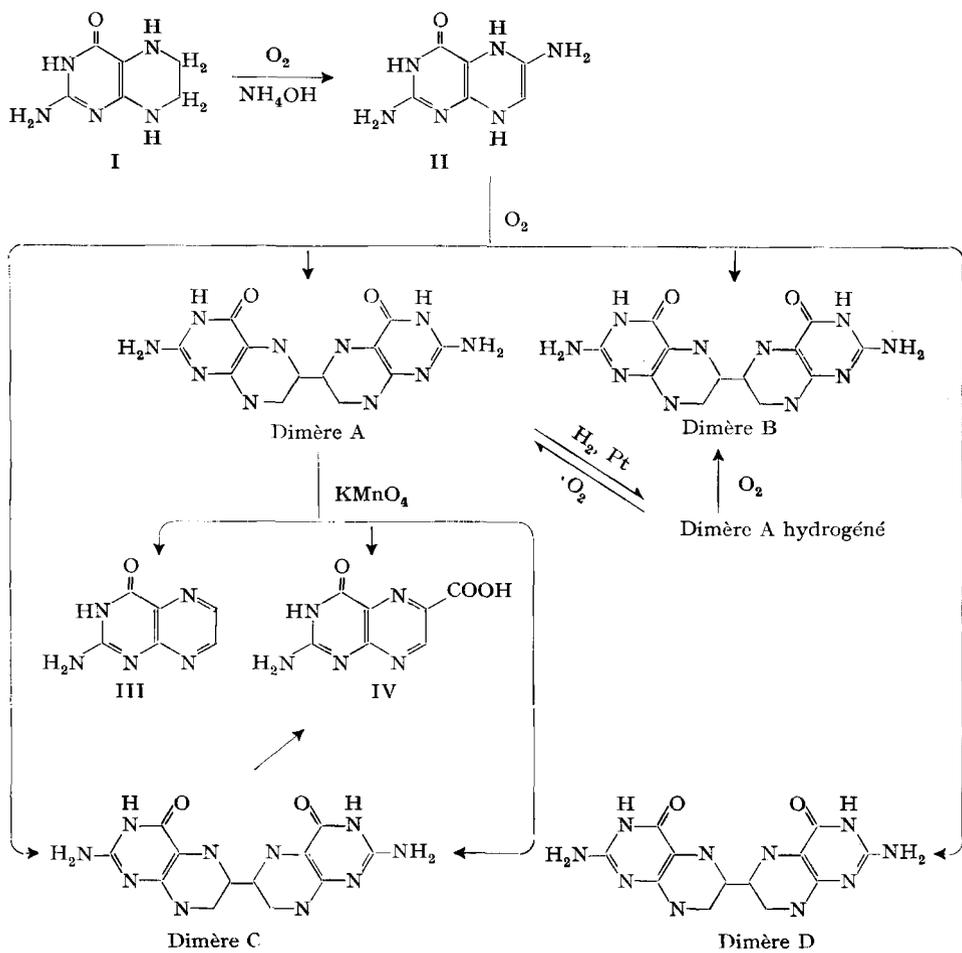


Fig. 3. Spectres UV. des dimères E et F  
 ----- pH 2    ——— pH 12



plus lentement que l'autre, tout particulièrement en milieu aqueux. Cette propriété pourrait peut-être aider à déterminer la nature de l'isomérisation des ptéridines dimères.

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

**Partie expérimentale.** — *Obtention directe des dimères A, B, C et D.* Après réoxydation à l'air de la tétrahydroptéridine I comme nous l'avons déjà décrit<sup>5)</sup>, les 4 dimères ci-dessus sont purifiés par chromatographie sur colonne de cellulose à l'aide d'eau, de propanol et d'ammoniaque concentrée comme solvants. Les dimères se laissent facilement localiser en raison de leur intense fluorescence. Par réoxydation de 1 g de tétrahydroptéridine I on obtient 5 mg du dimère A, 1 mg de son isomère B, 10 mg de dimère C et 0,5 mg de son isomère D.

Pour l'analyse, A a été dissous dans le minimum d'ammoniaque concentrée, puis on a laissé NH<sub>3</sub> s'évaporer à l'air libre. Le dimère précipite lentement sous forme de microcristaux brun-rouge. Le produit a été séché 5 h à 80°/0,1 Torr.

(C<sub>6</sub>H<sub>6</sub>O<sub>2</sub>N<sub>5</sub>)<sub>2</sub> (360,30) Calc. C 39,98 H 3,35 N 38,90% Tr. C 41,13 H 3,67 N 39,39%

L'échantillon renfermait environ 20% de cendres, aussi l'analyse doit-elle être interprétée avec toutes les réserves d'usage. Elle donne néanmoins un aperçu de la composition élémentaire du dimère, d'autant plus que toutes les autres analyses aboutissaient à des valeurs fort proches de celles que nous publions.

*Oxydation permanganique des dimères A et B.* A une solution de 2 à 3 mg de dimère dans 5 ml d'eau rendue alcaline par la soude caustique on ajoute lentement à froid une solution très diluée de KMnO<sub>4</sub> en évitant d'en mettre un gros excès. Au bout de quelques heures l'excès de KMnO<sub>4</sub> est réduit à l'hydrogénosulfite de sodium et MnO<sub>2</sub> est filtré puis lavé avec un peu d'eau alcaline. Toutes les solutions obtenues sont neutralisées à l'acide acétique puis chromatographiées sur colonne de cellulose de 1 cm de diamètre. On peut ainsi isoler et caractériser la ptéridine III, l'acide ptéridinecarboxylique-8 (IV) et le dimère C.

*Oxydation permanganique du dimère C.* Après l'oxydation conduite comme ci-dessus, on peut isoler et caractériser l'acide ptéridinecarboxylique-8 (IV).

*Réduction catalytique du dimère A.* 5 mg de dimère A sont dissous dans 5 ml de NaOH 0,04N puis réduits en présence de 10 mg de PtO<sub>2</sub>. Coloration et fluorescence disparaissent lentement mais complètement, bien qu'aucune absorption d'hydrogène ne puisse être mesurée. Dès le contact avec l'oxygène atmosphérique la solution reprend sa couleur et sa fluorescence. A la chromatographie sur papier on met en évidence dans la solution un mélange des dimères A et B.

*Dimères E et F.* Ces deux dimères sont obtenus après réaction de KCN sur la xanthoptéridine, comme nous l'avons déjà décrit. On les isole par chromatographie sur colonne de poudre de cellulose, avec de l'eau et de l'ammoniaque concentrée comme éluants. Le dimère F prend aussi naissance lorsqu'on oxyde à l'aide de KMnO<sub>4</sub> la dihydro-7,10-cyano-9-xanthoptéridine<sup>5)</sup>.

*Rf des dimères*

Dimères	Solvants						
	1	2	3	4	5	6	7
A	0,20	0,03	0,20	0,02	0,04	0,02	0,20
B	0,73	0,08	0,51	0,02	0,04	0,02	0,15
C	0,04	0,	0,04	0,	0,	0,	0,10
D	0,10	0,	0,10	0,	0,	0,	0,10
E	0,01	0,	0,03	0,	0,	0,	0,09
F	0,22	0,	0,16	0,	0,	0,	0,18

*Solvants:* 1. H<sub>2</sub>O; 2. NH<sub>4</sub>Cl à 3%; 3. NH<sub>4</sub>OH conc.; 4. propanol/NH<sub>4</sub>OH à 1% (2:1); 5. propanol/acétate de NH<sub>4</sub> à 2% (1:1); 6. butanol/CH<sub>3</sub>COOH/H<sub>2</sub>O (20:3:7); 7. pyridine/acétate d'éthyle/H<sub>2</sub>O (4:3:3).

<sup>5)</sup> M. VISCONTINI & M. PIRAUX, *Helv.* 45, 615 (1962).

## RÉSUMÉ

Par oxydation de ptérines auxquelles est attribuée, à titre d'hypothèse de travail, la structure de ptérines *para*-dihydrogénées, on obtient 3 paires de ptérines probablement dimères.

Institut de Chimie Organique de l'Université, Zurich

## 169. Synthese von Zwischenprodukten für den Aufbau corticotrop wirksamer Polypeptide

### V. Derivate des Pentapeptids H·Val-Lys-Val-Tyr-Pro·OH ( $\beta^{20-24}$ -Corticotropin) und des diastereoisomeren Peptids H·Val-lys-Val-Tyr-Pro·OH<sup>1)</sup> 2)

von R. Schwyzer, B. Riniker und H. Kappeler

(11. V. 63)

Für die Synthese des corticotrop hochwirksamen Tetracosapeptides  $\beta^{1-24}$ -Corticotropin<sup>3) 4)</sup> wurde das Pentapeptid-Derivat IX, H·Val-Lys(BOC)-Val-Tyr-Pro·OBu<sup>t</sup>, verwendet, welches die Aminosäuresequenz 20–24 des  $\beta$ -Corticotropins<sup>5)</sup> umfasst. Dieses Derivat haben wir auf verschiedenen Wegen aufgebaut, welche hier ausführlich beschrieben werden sollen<sup>6)</sup>.

<sup>1)</sup> IV. Mitteilung: W. RITTEL, Helv. 45, 2465 (1962).

<sup>2)</sup> Die abgekürzte Formulierung folgt den Vorschlägen des 5. Europ. Peptidsymposiums (Oxford, Sept. 1962; Publikation in Vorbereitung). Aminosäuren werden mit drei Buchstaben ihres Trivialnamens abgekürzt (in dieser Arbeit bedeutet zusätzlich: Großschreibung  $\equiv$  natürliche Konfiguration, Kleinschreibung  $\equiv$  unnatürliche [D-] Konfiguration am  $\alpha$ -C-Atom). Aminosäurereste werden durch Anfügen von Bindestrichen (oder Punkten) gekennzeichnet: ein Strich rechts bedeutet Fehlen von Hydroxyl an der  $\alpha$ -COOH-Gruppe, ein Strich links bedeutet Fehlen eines Wasserstoffatoms an der  $\alpha$ -NH<sub>2</sub>-Gruppe (z. B. H<sub>2</sub>NCH<sub>2</sub>CO–NHCH<sub>2</sub>COOH = Gly-Gly oder H·Gly-Gly·OH). Das Fehlen dieser Partikel an entsprechenden Funktionen der Aminosäureseitenkette wird durch einen oben (oder unten) gerichteten Strich angedeutet; gegebenenfalls können Substituenten an Seitenkettenfunktionen auch in Klammern nach dem Symbol für die Aminosäure erscheinen: CH<sub>3</sub>CO·NH·CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH(NH<sub>2</sub>)COOH

Ac  
|  
= Lys oder Lys(Ac). Substituenten werden wie folgt symbolisiert: Z- = Carbobenzyoxy; Ac- = Acetyl; BOC- = *t*-Butyloxycarbonyl; -OBu<sup>t</sup> = *t*-Butoxy.

<sup>3)</sup> H. KAPPELER & R. SCHWYZER, Helv. 44, 1136 (1961).

<sup>4)</sup> R. SCHWYZER in «Protides of the Biological Fluids (PEETERS Ed.)», Elsevier, Amsterdam 1961, S. 27; R. SCHWYZER, A. COSTOPANAGIOTIS & P. SIEBER, Chimia 16, 295 (1962); R. SCHWYZER & H. KAPPELER, Helv. 46, 1550 (1963).

<sup>5)</sup> R. G. SHEPHERD, S. D. WILLSON, K. S. HOWARD, P. H. BELL, D. S. DAVIES, S. B. DAVIS, E. A. EIGNER & N. E. SHAKESPEARE, J. Amer. chem. Soc. 78, 5067 (1956).

<sup>6)</sup> Seit unserer ersten, vorläufigen Mitteilung<sup>3)</sup> haben sich auch andere Autoren mit dieser Peptidsequenz beschäftigt; H·Val-Lys(BOC)-Val-Tyr-Pro·NH<sub>2</sub> wurde kürzlich von K. STURM, R. GEIGER & W. SIEDEL, Chem. Ber. 96, 609 (1963), beschrieben; Z-Val-Lys(TOS)-Val-Tyr-Pro·OBZL sowie das freie Pentapeptid wurden von J. RAMACHANDRAN & C. H. LI, J. org. Chemistry 28, 173 (1963), hergestellt.