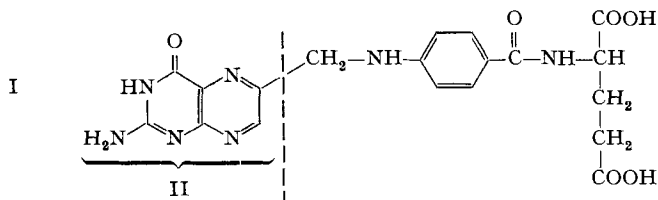


## 153. De la chimie des ptérines

19<sup>e</sup> communication [1]Essai d'interprétation des propriétés chimiques  
des ptérines au moyen de calcul d'orbitales moléculairespar A. Bobst<sup>1)</sup>

(11 V 67)

*I. Introduction.* Des études théoriques ont déjà été effectuées sur le mode d'action de l'acide folique (I) et de ses antimétabolites [2], pour expliquer le fonctionnement du transport de l'unité monocarbonée et le mécanisme d'inhibition de l'acide folique réductase. La formule I montre que le reste de la ptérine (II) est un constituant de



l'acide folique. Il a été récemment reconnu [3] [4] que la ptérine peut jouer un rôle important dans les systèmes d'hydroxylation enzymatiques ou non, et c'est pourquoi une étude théorique des propriétés électroniques des ptérines sous leurs formes resp. aromatique, dihydrogénée et tétrahydrogénée suscite un nouvel intérêt. Les expériences physico-chimiques sur ces composés, rendues parfois difficiles en raison de leur instabilité, ont souvent donné des résultats inattendus. Dans le présent travail on s'est limité à étudier quelques problèmes concernant leurs spectres UV., la localisation du centre le plus basique, et à examiner les propriétés dynamiques des ptérines hydrogénées intervenant dans le système rédox de l'hydroxylation. Les calculs ont été effectués selon une méthode simple qui est le résultat d'un grand nombre d'approximations. Aussi est-il difficile d'attribuer aux résultats ainsi obtenus une valeur absolue; par contre ce procédé permet l'étude des propriétés relatives de composés appartenant à des séries homogènes.

*II. Méthode.* La majorité des calculs a été effectuée par la méthode des orbitales moléculaires, dans l'approximation L.C.A.O. de HÜCKEL. Pour les hétéroatomes on a utilisé les paramètres usuels [5], modifiés toutefois dans le cas où on tenait compte de la nonplanéité de la molécule. Les calculs sur le système  $\sigma$  ont été effectués d'après un procédé du type HÜCKEL, proposé par DEL RE [6] et adapté ensuite aux molécules conjuguées [7]. A titre de comparaison un calcul plus perfectionné de la ptérine a été effectué à l'aide d'une méthode autocohérente semi-empirique avec un jeu d'intégrales précédemment déterminées [8].

<sup>1)</sup> Adresse actuelle: Lawrence Radiation Laboratory, University of California, Berkeley, California 94720, USA.

III. *Quelques aspects de la structure moléculaire et des spectres ultraviolets.* Dans le présent chapitre nous nous intéressons à l'évolution de la position d'absorption ( $\lambda_{max}$ ) des ptérines dans leurs formes neutres ou cationiques. La méthode la plus pratique pour l'étude théorique des transitions électroniques consiste à calculer l'énergie d'excitation de la première transition, correspondant au  $\lambda_{max}$  dans l'approximation L.C.A.O. Dans les systèmes contenant des hétéroatomes, le  $\lambda_{max}$  peut être dû à une transition  $\pi \rightarrow \pi^*$  ou  $n \rightarrow \pi^*$ . Comme dans le cas des purines et pyrimidines d'intérêt biologique, le  $\lambda_{max}$  des ptérines correspond à une transition  $\pi \rightarrow \pi^*$ , ce qui se manifeste premièrement par une grande extinction moléculaire ( $\epsilon_{max} > 1000$ ) et deuxièmement par le fait suivant: On observe qu'une monométhylation de N(3) donne lieu à un effet bathochrome d'environ 13 nm bien que la densité de charge de l'orbitale  $\pi^*$  de N(3) soit pratiquement zéro. C'est pourquoi l'effet bathochrome doit être causé par un haussement de l'orbitale  $\pi$ , diminuant ainsi l'énergie d'excitation de la première transition  $\pi \rightarrow \pi^*$ .

Dans le cas de deux substances très apparentées, on trouve une relation directe entre l'énergie de transition théorique et le  $\lambda_{max}$  (v. tableau 1).

Tableau 1. *Énergie de transition  $\pi \rightarrow \pi^*$  de quelques ptérines*

	$E_{\pi \rightarrow \pi^*}$ ( $\beta$ )	$\lambda_{max}$ (nm) forme neutre	$\epsilon_{max} \cdot 10^{-3}$
Amino-2-oxo-4-dihydro-ptéridine (II) (ptéridine)	1,139 <sup>a)</sup>	339	7,7
Tétrahydro-5,6,7,8-ptéridine (THP)	1,102 <sup>a)</sup> 1,240 <sup>a) b)</sup>	299	8,5
Amino-2-dioxo-4,6-tétrahydroptéridine (xanthoptéridine)	0,801 <sup>a)</sup>	388	3,4
Amino-2-dioxo-4,7-tétrahydroptéridine (isoxanthoptéridine)	1,067 <sup>a)</sup>	343	12,9
Diphényl-6,7-dihydro-5,6-ptéridine (VI)	0,726 <sup>a) c)</sup>	454	4,7
Diphényl-6,7-dihydro-7,8-ptéridine (VII)	0,994 <sup>a) c)</sup>	376	14,5

a) paramètres attribués aux hétéroatomes [5] pour l'intégrale coulombienne  $\alpha$ : ( $\alpha_x = \alpha_0 + \delta_x \beta_0$ )  
 $\delta_{N^5} = 0,4$ ;  $\delta_{N^8} = 1,0$ ;  $\delta_O = 1,2$  pour l'intégrale de résonance  $\beta$ : ( $\beta_{cx} = \eta_{cx} \beta_0$ )  $\eta_{C=N} = 1,0$ ;  
 $\eta_{C-N} = 0,9$ ;  $\eta_{C=O} = 2,0$ .

b) modification des paramètres pour configuration nonplane  $\delta_{N^5} = 1,3$ ;  $\eta_{C-N} = 0,7$ .

c) la contribution des deux groupes phényle est négligée.

Il ne faut cependant pas s'attendre à une relation linéaire rigoureuse entre les énergies de transition  $\pi \rightarrow \pi^*$  et les  $\lambda_{max}$  de composés voisins, compte tenu des nombreuses approximations de la méthode. A titre d'exemple citons une de celles-ci: on a calculé les énergies de transition en admettant l'invariance du système  $\sigma$  et la planéité de tous les cycles. La configuration plane correspond à une hybridation trigonale des cinq azotes, tandis que le pliage des systèmes pyraziniques hydrogénés fait que les azotes 5 et 8 ont tendance à se rapprocher d'un état d'hybridation  $sp^3$ . En conséquence la valeur du coulombien  $\alpha_{N(5)}$  et  $\alpha_{N(8)}$  est augmentée alors que la valeur de l'intégrale de résonance  $\beta$  est diminuée. En se servant des valeurs suivantes:  $\delta_{N(5)}$ ,  $\delta_{N(8)} = 1,3$  et  $\eta = 0,7$ , récemment calculées [9], on obtient pour la tétrahydro-5,6,7,8-ptéridine

une énergie de transition  $\pi \rightarrow \pi^*$  de 1,240  $\beta$ , considérablement supérieure à la valeur calculée précédemment pour un système plan et étant en meilleur rapport avec la ptérine (II). Le  $\lambda_{max}$  de la ptérine correspond à une transition d'énergie de 3,66 eV, et celui de la tétrahydro-5,6,7,8-ptérine, à 4,16 eV. Si on attribue la valeur de 3,26 eV à  $\beta$  [10], la transition  $\pi \rightarrow \pi^*$  de la ptérine de 1,139  $\beta$  correspond à 3,71 eV, et celle de la ptérine tétrahydrogénée de 1,240  $\beta$ , à 4,04 eV, en bon accord avec les données expérimentales.

Le remplacement de l'hydrogène par un méthyle peut être considéré comme perturbant le centre qui porte le substituant. La perturbation (v. tableau 2) a un effet bathochrome plus grand avec le méthyle sur N(3) que sur N(2'). La diminution de l'énergie de transition est le résultat de la perturbation qui affecte l'énergie de la plus haute orbitale occupée (p. h. o. o.) et celle de la plus basse libre (p. b. o. l.).

Tableau 2.  $\lambda_{max}$  de la ptérine et de ses dérivés méthylés resp. en N(2') et N(3), dans leurs formes neutres

	$\lambda_{max}$ (nm)	$\log \epsilon_{max}$
ptérine (II)	339	3,79
N(2')-méthyl-ptérine	346	3,76
N(3)-méthyl-ptérine	353	3,79

On sait qu'une orbitale moléculaire  $Ei$  subit au premier ordre une variation:

$$dEi = (c_r^i)^2 d\alpha_r + 2 c_r^i c_s^i d\beta_{rs} \quad (1)$$

lorsque l'intégrale coulombienne de l'atome  $r$  subit une variation de  $d\alpha_r$ , et lorsque l'intégrale de résonance de la liaison  $rs$  varie de  $d\beta_{rs}$ . Comme le groupe méthyle est un donneur d'électrons, l'effet consiste à diminuer la valeur absolue de la coulombienne tandis que l'intégrale de résonance ne change pas.

Tableau 3. Coefficients de la p.h.o.o. et de la p.b.o.l. des atomes N(2') et N(3) de la ptérine (II) pour les cas A et B

	A		B	
	$\delta_{N(2')} = 1$	$\eta_{N(2')-C(2)} = 0,9$	$\delta_{N(2')} = 1,3$	$\eta_{N(2')-C(2)} = 0,7$
$r$	$c_r$ p. h. o. o.	$c_r$ p. b. o. l.	$c_r$ p. h. o. o.	$c_r$ p. b. o. l.
N(2')	0,349	0,083	0,227	0,074
N(3)	0,196	0,035	0,298	0,003

Le tableau 3 donne la valeur des coefficients de la p. h. o. o. et de la p. b. o. l. de la ptérine (II). En se servant de la formule (1) on devrait s'attendre à un effet de perturbation en position N(2') supérieur à celui observé en N(3) dans le cas A, représentant les valeurs obtenues avec les paramètres d'un groupe aminé plan. Par contre en changeant l'intégrale coulombienne et l'intégrale de résonance d'une façon appropriée (cas B), on obtient comme coefficient  $c_r$  des valeurs qui sont en accord avec les données expérimentales;  $d\alpha_r$  étant une valeur positive, le relèvement de l'énergie de la p. h. o. o. sera plus prononcé lorsqu'on perturbe en position N(3) qu'en N(2'). Comme l'énergie de la p. b. o. l. n'est pas perturbée, la valeur des coefficients correspondants étant minime dans tous les cas, l'énergie de transition  $\pi \rightarrow \pi^*$  sera la plus faible dans le cas

de la méthylation en position N(3). Pour obtenir cette corrélation correcte on a pris comme paramètre pour la valeur du coulombien et du terme non diagonal du groupe amino en position 2, les grandeurs suivantes:  $\delta_{N(2')} = 1,3$  et  $\eta_{N(2')-C(2)} = 0,7$ .

IV. *Localisation du centre le plus basique des ptérines.* Étudions maintenant à l'aide du modèle précédemment déterminé un phénomène difficile à expliquer si l'on considère une représentation trop primitive, à savoir les effets spectroscopiques observés lors de la protonation des ptérines.

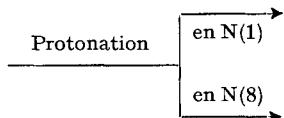
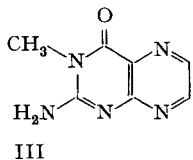
Une amine aromatique, par exemple l'aniline, manifeste dans sa forme protonée un effet hypsochrome. Le déplacement du  $\lambda_{max}$  vers les longueurs d'onde courtes s'explique facilement dans l'approximation de la théorie de résonance (mésomérie). Comme le centre le plus basique de la molécule est dans ce cas sans aucun doute l'azote du groupe amino, le proton se fixera sur sa paire libre d'électrons. La dimension du système conjugué diminue, et d'après une règle empirique de la spectroscopie cela cause l'effet hypsochrome observé. Les calculs dans l'approximation HÜCKEL donnent un accroissement de l'énergie de transition  $\pi \rightarrow \pi^*$  après la protonation, rendant directement compte de l'effet observé. Contrairement aux amines aromatiques, les hétérocycles azotés à caractère aromatique, tels que la quinoléine, manifestent un effet bathochrome en solution acide. Un simple calcul de HÜCKEL permet de trouver un abaissement dans la transition  $\pi \rightarrow \pi^*$  quand on fixe le proton sur l'azote du cycle et en prenant pour valeur de l'intégrale coulombienne celle d'un  $N^+$  [5]. Dans le cas de molécules plus complexes, contenant des azotes dans le cycle et des substituants aminés, le signe de la variation du  $\lambda_{max}$  doit, d'après le raisonnement précédent, permettre de localiser le lieu de protonation. Ainsi dans presque tous les systèmes à quelques exceptions près, ayant un centre basique dans le cycle aromatique et un autre extracyclique, on observe

Tableau 4. *Effet de perturbation par protonation sur l'énergie de transition  $\pi \rightarrow \pi^*$  des composés III et IV*

$$(\delta_{N(2')} = 1,3; \eta_{N(2')-C(2)} = 0,7)$$

$$\lambda_{max} \text{ 353 nm, } \log \epsilon_{max} = 3,79$$

$$E_{\pi-\pi^*} \text{ 1,162 } \beta$$



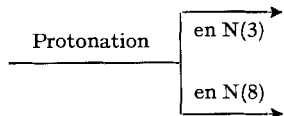
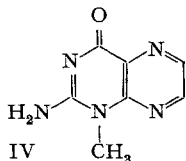
$$\lambda_{max} \text{ 318 nm, } \log \epsilon_{max} = 3,88$$

$$E_{\pi-\pi^*} = 1,162 + d\alpha \quad 0,309 \beta$$

$$E_{\pi-\pi^*} = 1,162 - d\alpha \quad 0,147 \beta$$

$$\lambda_{max} \text{ 327 nm, } \log \epsilon_{max} = 3,93$$

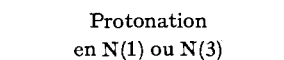
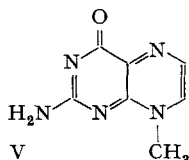
$$E_{\pi-\pi^*} \text{ 1,217 } \beta$$



$$\lambda_{max} \text{ 314 nm, } \log \epsilon_{max} = 3,89$$

$$E_{\pi-\pi^*} = 1,217 + d\alpha \quad 0,220 \beta$$

$$E_{\pi-\pi^*} = 1,217 - d\alpha \quad 0,147 \beta$$



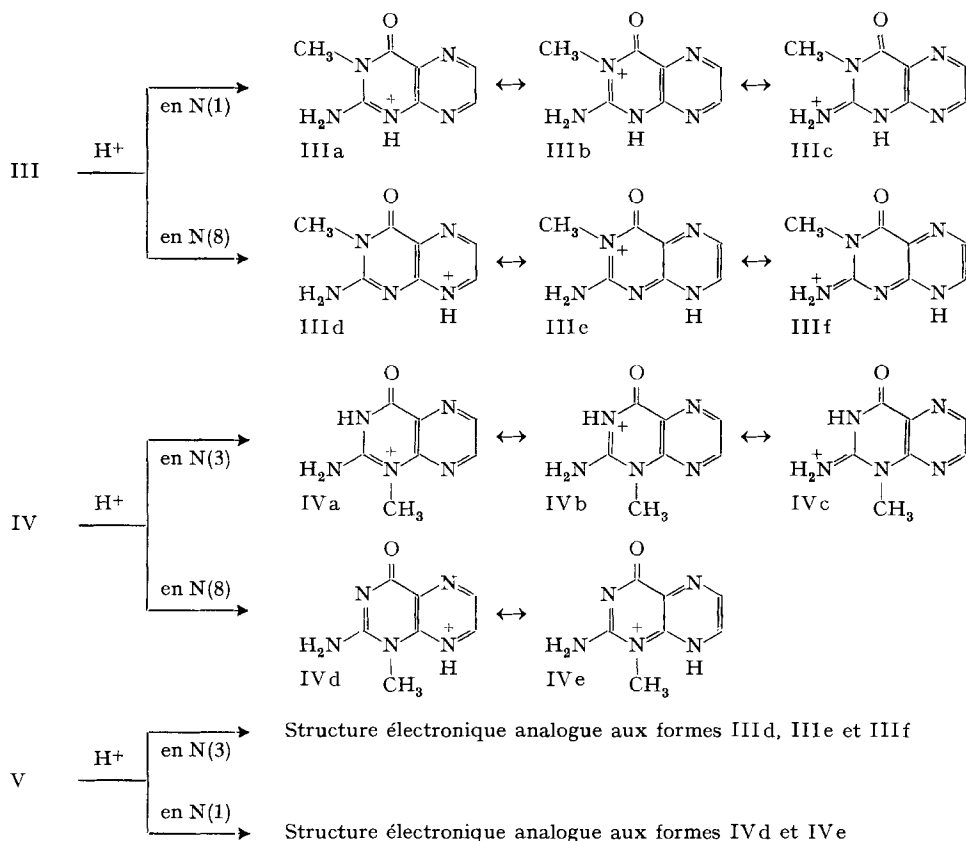
$$\lambda_{max} \text{ 389 nm, } \log \epsilon_{max} = 4,01$$

en milieu acide un effet bathochrome, ce qui démontre que la protonation se fait sur l'azote cyclique. Citons à titre d'exemple l'amino-5- ou l'amino-6-quinoléine [11].

Or l'amino-2-oxo-4-dihydro-3,4-ptéridine (II) présente un effet hypsochrome en milieu acide. D'après le raisonnement classique le proton se fixerait sur le groupe amino-2, comme dans le cas de l'aniline. L'objection principale contre une protonation en position N(2'), basée sur des connaissances empiriques, est que l'on perdrait ainsi la stabilisation due à la mésomérie du système amidinium, qui se forme dans le cas de la protonation en N(1). Mais en effectuant des calculs du type HÜCKEL on arrive à expliquer l'effet spectroscopique à première vue inattendu de la protonation.

Le tableau 4 indique l'effet de la perturbation due à la protonation des centres basiques des composés III et IV sur leur énergie de transition  $\pi \rightarrow \pi^*$ . Les calculs sont effectués avec le jeu de paramètres usuels [5] et en tenant compte de la non-planéité du groupe amino. L'interprétation des résultats se fait à l'aide de l'équation (1). Ne connaissant pas la délocalisation de la charge positive du centre perturbé, on se contente d'augmenter l'intégrale coulombienne d'un facteur  $d\alpha$ . Le résultat qualitatif repose ainsi uniquement sur les coefficients de la p. h. o. o. et de la p. b. o. l. des

Tableau 5. Formes mésomères possédant le poids le plus important des composés III, IV et V dans l'état protoné



molécules dans leur état nonperturbé. Les coefficients indiquent qu'une perturbation en N(1) (molécule III) et en N(3) (molécule IV) augmente l'énergie de transition  $\pi \rightarrow \pi^*$ , ce résultat étant conforme à l'effet observé dans les deux cas. Ne pouvant calculer les énergies de transition en valeur absolue, on se contente de comparer les systèmes électroniques des deux formes dans leur état protoné, à l'aide des formes mésomères possédant le poids le plus important. D'après le tableau 5 on voit que les systèmes électroniques IIIa, IIIb, IIIc et IVa, IVb, IVc se ressemblent, ce que semble vérifier l'analogie des constantes physico-chimiques de leurs spectres. Par contre la perturbation par protonation de la molécule III en N(8) et de la molécule IV en N(8) diminue leur énergie de transition  $\pi \rightarrow \pi^*$ . On peut démontrer expérimentalement qu'une perturbation en position N(8) a un effet bathochrome: le dérivé V, dans la forme protonée, a un  $\lambda_{max}$  de 389 nm, supérieur à celui des formes neutres des dérivés III et IV. En protonant V en N(3) ou en N(1) on obtient, dans la représentation des mésomères, des systèmes électroniques analogues à ceux des molécules III et IV protonées en N(8), qui d'après le calcul de perturbation subissent une diminution de leur énergie de transition  $\pi \rightarrow \pi^*$ . Ainsi à l'aide des données spectroscopiques de quelques ptérides méthylées on peut démontrer qu'il existe un parallélisme entre le changement dans l'énergie de transition  $\pi \rightarrow \pi^*$  due à la protonation et les résultats obtenus par la méthode de perturbation dans la série des ptérides.

Appliquons la méthode précédemment discutée pour déterminer le lieu de protonation dans différents composés apparentés. Dans le tableau 6 on trouve pour chaque composé l'effet spectroscopique observé comparé à l'effet sur l'énergie de transition  $\pi \rightarrow \pi^*$  obtenu en perturbant tous les centres basiques de la molécule. Par convention un déplacement spectroscopique négatif indique un effet hypsochrome, et un déplacement positif, un effet bathochrome. Pour l'estimation du changement dans l'énergie de transition  $\pi \rightarrow \pi^*$   $\Delta E$  – le signe négatif nous donne un accroissement de l'énergie de transition de la molécule perturbée –, on se sert de l'équation (2) qui se trouve dans le tableau 6,  $d\alpha$  étant positif et  $d\beta$  négatif. D'après le signe et la grandeur des valeurs calculées à l'aide des coefficients on voit dans le tableau 6 que le grand effet hypsochrome de 32 nm de la protonation de la ptéridine (II) ne s'explique qu'avec une protonation en position N(1). Dans le cas de la tétrahydroptéridine (THP) on peut éliminer

Tableau 6. Effet de perturbation par protonation sur l'énergie de transition  $E_{\pi-\pi^*}$  des composés II, THP et IX

	Effet spectroscopique observé (nm)	$E_{\pi-\pi^*} - E_{\pi-\pi^*}$ (perturbée) = $\Delta E$			
		$\Delta E = (c_{jr}^2 - c_{ir}^2) d\alpha_r + 2(c_{jr} c_{js} - c_{ir} c_{is}) d\beta_{rs}$ (2)			
		perturbation en position			
		N(2')	N(1)	N(5)	N(8)
		$\Delta E$	$\Delta E$	$\Delta E$	$\Delta E$
Ptéridine (II)	- 32	(- 0,05 $d\alpha$ + 0,08 $d\beta$ )	- 0,31 $d\alpha$	(+ 0,28 $d\alpha$ )	(+ 0,15 $d\alpha$ )
Tétrahydro-5,6,7,8-ptéridine (THP)	- 39	(+ 0,002 $d\alpha$ - 0,13 $d\beta$ )	- 0,10 $d\alpha$	- 0,14 $d\alpha$ + 0,34 $d\beta$	(- 0,02 $d\alpha$ + 0,001 $d\beta$ )
Dihydro-7,8-ptéridine (IX)	+ 39	(- 0,004 $d\alpha$ - 0,06 $d\beta$ )	(- 0,10 $d\alpha$ )	+ 0,11 $d\alpha$	(- 0,005 $d\alpha$ - 0,06 $d\beta$ )

la possibilité d'une protonation en N(2') et en N(8) et il nous reste à considérer les positions N(1) et N(5), donnant par perturbation toutes les deux un accroissement de l'énergie de transition  $\pi \rightarrow \pi^*$ . Comme on ne connaît pas les valeurs absolues de  $d\alpha$  et de  $d\beta$  il est difficile d'attribuer d'une façon univoque le centre le plus basique. La valeur des coefficients semble pourtant suggérer une protonation en N(5). Le grand effet bathochrome dans le cas de la dihydro-7,8-ptérine (IX), qui est caractéristique de ces composés [12] [13], est en accord avec une protonation en N(5).

V. *Propriété électronique de la ptérine (II), calculée par une méthode autocohérente semi-empirique.* On s'est servi d'une méthode dernièrement décrite et appliquée dans la série des pyrimidines et purines [8]. Pour calculer les intégrales coulombiennes bi-centriques  $I_{ppqq}$  il faut connaître la géométrie du composé. Malheureusement elle n'a pas encore été déterminée dans le cas de la ptérine et on a dû la représenter en combinant la partie pyrimidique du chlorhydrate de guanidine avec le noyau pyrazinique de la ptéridine, dont les géométries sont connues par des mesures de diffraction des rayons X. Il est intéressant de comparer les caractéristiques électroniques calculées par cette méthode plus raffinée, avec celles obtenues par la simple méthode de HÜCKEL. Le tableau 7 donne les coefficients de la p. h. o. o. et ceux de la p. b. o. l. avec les deux méthodes. Dans les deux cas la répartition de densité de spin est fort semblable, et il n'y a pas de différence significative dans les charges et indices de liaison. La méthode perfectionnée permet toutefois de distinguer dans la transition spectroscopique entre l'énergie singulet-singulet de 4,480 eV et celle du singulet-triplet de 3,433 eV en donnant cependant des valeurs trop grandes, peut-être dues à une erreur dans la géométrie adoptée pour la ptérine. Rappelons, d'autre part, qu'avec la méthode simple de HÜCKEL, où la géométrie a une importance mineure, on a trouvé un bon rapport entre les énergies de transition  $\pi \rightarrow \pi^*$  observées et calculées.

Tableau 7. Coefficients de la p. h. o. o. et la p. b. o. l. de la ptérine dans la méthode de HÜCKEL et dans celle autocohérente semi-empirique

HÜCKEL (paramètres cf. [5], pour groupe amine: $\delta_{N(2')} = 1,3$ ; $\eta_{N(2')-C(2)} = 0,7$ )			autocohérente semi-empirique (paramètres cf. [8])	
atome	p. h. o. o.	p. b. o. l.	p. h. o. o.	p. b. o. l.
1	0,5599	0,0830	0,4919	0,1173
2	0,2463	-0,2047	0,2204	-0,2271
3	-0,2977	-0,0034	-0,2376	0,0333
4	-0,0942	0,2109	-0,0037	0,2482
5	0,0706	-0,5381	0,1116	-0,5225
6	0,3643	0,2358	0,3452	0,3946
7	0,1263	0,3866	0,1283	0,3266
8	-0,2961	-0,4842	-0,2013	-0,4804
9	-0,3544	0,3253	-0,4016	0,1485
10	-0,1678	0,1182	-0,2706	0,1282
2'	-0,2270	0,0738	-0,2822	0,1001
4'	0,2857	-0,2289	0,3877	-0,2392

VI. *Relation entre les résultats des calculs électroniques et les propriétés dynamiques des ptérines hydrogénées.* Comme dans les cas précédents, on tâchera de se restreindre à la comparaison d'une propriété spécifique de plusieurs composés appartenant à la

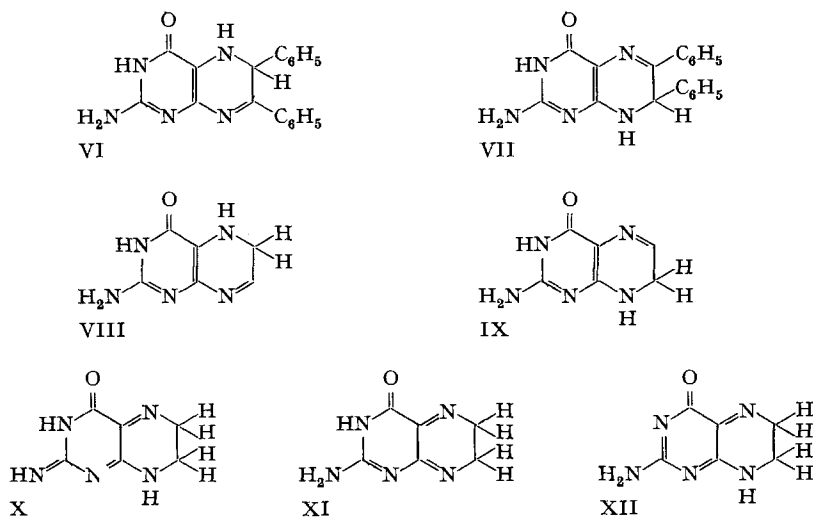
même série. Les valeurs des énergies de résonance de la xanthoptérine, de l'isoxanthoptérine et de leurs dérivés dihydrogénés (v. tableau 8) confirment les observations expérimentales [14], selon lesquelles la réduction de l'isoxanthoptérine (perte d'énergie de résonance de  $0,423 \beta$ ) est infiniment plus difficile que celle de la xanthoptérine (où l'on ne perd que  $0,266 \beta$ ). Quant aux énergies libres des deux formes hydrogénées on voit que la dihydroxanthoptérine est thermodynamiquement plus stable.

Tableau 8. *Énergie de résonance en unités  $\beta$* 

xanthoptérine	3,870	isoxanthoptérine	4,008
dihydro-7,8-xanthoptérine	3,604	dihydro-5,6-isoxanthoptérine	3,585

Considérons un autre phénomène intéressant concernant les dihydroptéridines. Il s'agit de comparer la dihydro-5,6-ptérine (VIII) avec l'isomère IX hydrogéné en 7,8. Pour IX on obtient comme énergie de résonance  $3,52 \beta$  tandis que pour VIII celle-ci vaut seulement  $3,37 \beta$ ; une ptérine hydrogénée en 5,6 devra donc pouvoir se transformer en dihydro-7,8-ptérine. C'est ce qu'on observe en effet avec la diphenyl-6,7-dihydro-5,6-ptérine (VI), qui en présence de  $H^+$  se transpose en diphenyl-6,7-dihydro-7,8-ptérine (VII) [15].

Dans les considérations énergétiques on a négligé jusqu'alors le squelette  $\sigma$ , parce qu'on le considérait comme un facteur constant dans une série de composés. Cette simplification n'est plus possible si on veut comparer les énergies des ptéridines dihydrogénées VIII et IX avec celles des formes quinoïdiques X, XI et XII. Les formules montrent que le nombre de liaisons semblables dans le système  $\sigma$  est différent pour les deux groupes, tandis que les composés du même groupe ne se distinguent pas entre eux en première approximation dans les liaisons  $\sigma$ .



Ainsi si on veut comparer la stabilité de la forme IX avec celle du système quinoïdique X – deux composés n'appartenant pas au même groupe –, on est obligé de faire un calcul qui tient compte de l'énergie totale du système  $\sigma$  et  $\pi$ . C'est ce qui a été fait



pour les deux formes tautomères IX et X d'après un calcul du type HÜCKEL [7], cf. tableau 9.

Tableau 9. *Énergie totale du système  $\sigma$  et  $\pi$  des composés IX, X et THP*

	IX	X	THP
Système $\sigma$	$48 \alpha_H + 42,96 \beta_H$	$50 \alpha_H + 43,54 \beta_H$	$50 \alpha_H + 47,44 \beta_H$
Système $\pi$	$14 \alpha_C + 12,23 \beta_C$	$12 \alpha_C + 10,46 \beta_C$	$14 \alpha_C + 12,65 \beta_C$
	$\alpha_H = \int X_H^a H_{\text{eff}} X_H^a dv$	$\beta_H = \int X_H^a H_{\text{eff}} X_H^b dv$	
	$\alpha_C = \int X_C^a H_{\text{eff}} X_C^a dv$	$\beta_C = \int X_C^a H_{\text{eff}} X_C^b dv$	

N'ayant pas les mêmes unités pour les intégrales du système  $\sigma$  et  $\pi$  il faudrait établir une relation entre les quantités  $\alpha_H$  et  $\alpha_C$  et entre  $\beta_H$  et  $\beta_C$ . Pour les intégrales de résonance on a pu estimer le rapport  $\beta_H/\beta_C$  à l'aide de résultats empiriques [16] et si le nombre des termes  $\alpha_H$  et  $\alpha_C$  est le même pour l'énergie de deux composés à comparer, l'étude de la stabilité des formes tautomères peut se faire grâce à ce seul rapport. Si par contre les intégrales coulombiennes sont en nombre différent, comme dans les deux tautomères IX et X, la comparaison n'est pas possible, puisqu'on ne possède pas de valeur expérimentale du rapport  $\alpha_H/\alpha_C$ . Les valeurs d'énergies calculées séparément pour le système  $\sigma$  et  $\pi$  des formes IX et X nous serviront cependant dans le raisonnement présenté dans le chapitre suivant.

L'estimation de la stabilité des deux formes dihydrogénées IX et X peut se faire par un procédé plus classique. On calcule la différence qui existe entre l'énergie de liaison et l'énergie de résonance pour les deux tautomères. D'après la table donnant les énergies de liaison de PAULING (1940) on trouve que la forme X est de 7,6 Kcal/mole plus stable, tandis que l'énergie de résonance est plus grande de 0,509  $\beta$  dans IX, correspondant à 8,14 Kcal/mole ( $\beta = 16$  Kcal/mole). Ainsi le bilan d'énergie nous montre que la dihydro-7,8-ptérine est du point de vue thermodynamique de 0,54 Kcal/mole plus stable que la forme *para*-quinoïdique, en admettant que la différence d'entropie pour les deux formes soit négligeable. De plus tous les systèmes quinoïdiques X, XI et XII possèdent une énergie de résonance nettement inférieure à celle du produit hydrogéné en 7,8 (cf. tableau 11), de sorte que le bilan d'énergie favorisera la formation de ce dernier. Si au cours d'une réaction chimique un des composés quinoïdiques est formé, celui-ci peut donc se transformer en dihydro-7,8-ptérine, un résultat sur lequel on reviendra dans le chapitre suivant.

#### VII. *Système oxydo-réducteur tétrahydro-5,6,7,8-ptérine (THP)-dihydroptérine.*

On sait depuis peu de temps seulement que les ptérines hydrogénées interviennent dans l'hydroxylation enzymatique [3] ou non enzymatique [4]. On a démontré expérimentalement [3] [4] que la ptérine hydrogénée peut former dans certaines conditions un système oxydo-réducteur réversible, mettant en jeu d'une part la tétrahydroptérine et d'autre part une des formes quinoïdiques X, XI ou XII parmi lesquelles les données spectroscopiques parlent en faveur de la forme X [12]. Il est intéressant d'étudier les propriétés électroniques des formes quinoïdiques et de trouver la raison pour laquelle parmi les ptérines dihydrogénées ce sont elles qui se forment dans un système d'hydroxylation, et non pas la dihydro-7,8-ptérine, pourtant la plus stable du point de vue thermodynamique.

Pour l'énergie totale du système  $\sigma$  et  $\pi$  de la THP, calculée comme pour les formes IX et X, le tableau 9 nous indique que l'oxydation de la THP en dérivé *para*-quinoïdique X implique une modification du système  $\sigma$  plus petite que dans le cas de la formation du produit IX. Comme dans le système  $\sigma$  des modifications sont liées à des changements d'énergie plus grands que s'il s'agissait seulement du système  $\pi$  ( $\alpha_H > \alpha_C$ ,  $\beta_H > \beta_C$ ), il est permis d'admettre qualitativement que la différence de l'énergie libre est plus petite dans le système THP-X que dans THP-IX. Ainsi un équilibre oxydo-réducteur entre la forme oxydée X et la THP est du point de vue énergétique plus probable dans les processus biochimiques que l'autre possibilité.

En considérant seulement les produits dihydrogénés IX et X, d'autres données électroniques montrent également que la forme quinoïdique est la plus favorisée dans le système rédox. Les valeurs p. b. o. l. et p. h. o. o. (v. tableau 10) indiquent que la forme quinoïdique doit être un bon accepteur d'électrons, résultat confirmé par les expériences [17] montrant que le produit oxydé du système rédox est réduit par l'acide ascorbique ou un thiol, tandis que la dihydro-7,8-ptérine ne se laisse que difficilement réduire.

Tableau 10. *Énergie de la p. b. o. l. et p. h. o. o. des produits IX, X et THP en unités  $\beta$* 

	IX	X	THP
p. b. o. l.	-0,740	-0,245	-1,064
p. h. o. o.	0,254	0,539	0,038

Il n'est pas surprenant de constater que le système rédox THP-X se comporte dans la distribution de la p. h. o. o. de THP et de la p. b. o. l. de X comme celui de la chaîne respiratoire, où l'on a trouvé qu'une orbitale libre particulièrement basse est associée à la forme oxydée, et une orbitale occupée particulièrement élevée est associée à la forme réduite [18], favorisant le passage entre formes oxydées et réduites, alors que cela n'est plus le cas entre THP et IX.

Dans les raisonnements on ne s'est servi pour les produits quinoïdiques X, XI et XII que des données électroniques de la forme *para*-quinoïdique X. Comme toutes les formes quinoïdiques se ressemblent en ce qui concerne les propriétés électroniques utilisées, les arguments mentionnés ci-dessus sont valables pour tout le groupe. Toutefois on montrera dans la section suivante que la formation du produit XII n'est pas probable du point de vue cinétique.

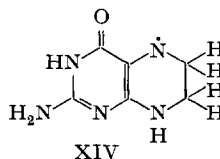
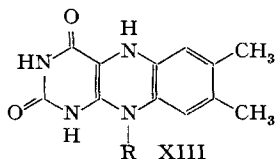
Il est intéressant de mentionner maintenant les résultats des calculs, obtenus avec les formes radicalaires du système rédox des ptérines, formes dont l'existence n'a pas encore été prouvée expérimentalement. Dans le tableau 11 nous donnons, à titre de

Tableau 11. *Énergies de résonance des formes réduites AH<sub>2</sub>, radicalaires neutres AH· et oxydées A, en unités  $\beta$* 

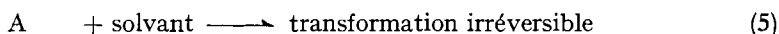
	AH <sub>2</sub>	AH·	A
flavine (XIII)	5,48	6,52	5,60
<i>p</i> -phénylènediamine	2,68	3,19	1,91
THP	3,35	4,13	3,00 X; 3,06 XI; 3,10 XII 3,52 IX; 3,37 VIII

comparaison, l'évolution de l'énergie de résonance de différents systèmes oxydo-réducteurs.

Bien que la flavine dans sa forme réduite ou oxydée ressemble, avec son noyau ptéridinique, au système rédox de la ptérine, son comportement est, du point de vue de l'énergie de résonance, diamétralement opposé. L'oxydation se fait dans le cas de la flavine avec un gain d'énergie de résonance, tandis que la tétrahydroptérine subit l'évolution inverse, se rapprochant du système de la *p*-phénylènediamine.



D'une manière générale la stabilité d'un radical est déterminée par les propriétés thermodynamiques et cinétiques du système représenté par les équations (3), (4) et (5).



Il ne suffit donc pas de connaître les caractéristiques électroniques de la forme  $\text{AH}\cdot$  pour juger de sa stabilité. Ayant besoin de considérer les facteurs thermodynamiques et cinétiques de tout le système (3), (4) et (5), on simplifiera le problème théorique en résolvant un système analogue. Les chiffres du tableau 11 indiquent que les énergies de résonance du système rédox THP-X ressemblent le plus à celles du système de la *p*-phénylènediamine, cette dernière formant des radicaux déjà décrits. Une étude approfondie du système rédox de la *p*-phénylènediamine a mis en évidence que si la stabilité de la forme diiminée est diminuée par une transformation irréversible, la forme radicalaire donne par cet effet indirect l'apparence d'être instable. On a de plus constaté que la durée de vie des radicaux augmentait lorsqu'on remplaçait les hydrogènes des groupes amino par des méthyles, augmentant ainsi la constante d'équilibre de l'équation (3), de sorte que le radical devient observable, bien que sa forme iminée soit fort instable.

Compte tenu de ces éléments il est facile de comprendre pourquoi le système rédox de la tétrahydroptérine avec ses formes quinoidiques très instables ne peut pas donner naissance à un radical de longue durée de vie. D'autre part il est fort probable qu'on puisse observer un produit radicalaire dans des ptérines hydrogénées chez lesquelles l'hydrogène d'un ou plusieurs atomes d'azote est remplacé par des méthyles. Dans la série des tétrahydroptérines méthylées resp. en N(3), N(8), N(2') et N(5), l'effet de la stabilisation doit être maximum dans le dérivé N(5)-méthylé si on considère le tableau

Tableau 12. Différence des énergies de résonance  $\Delta E$  du cation radicalaire  $E_{R^+}$  et de la forme tétrahydrogénée  $E_R$  des ptérines méthylées resp. en N(3), N(8), N(2') et N(5)

	$\text{CH}_3\text{-N}(3)$	$\text{CH}_3\text{-N}(8)$	$\text{CH}_3\text{-N}(2')$	$\text{CH}_3\text{-N}(5)$
$\Delta E = E_{R^+} - E_R$	0,862 $\beta$	0,875 $\beta$	0,876 $\beta$	0,895 $\beta$

12 où on a reporté la différence des énergies de résonance des composés hydrogénés, méthylés dans les positions indiquées, avec celles de leurs formes cationiques correspondantes, résultant de la perte d'un électron.

Signalons enfin que dans le cas de la formation d'un radical cationique, la plus grande densité de spin se trouve en N(5) et que la forme radicalaire neutre XIV possède une densité de spin pratiquement nulle sur l'azote N(3). Ainsi l'enlèvement de l'électron célibataire dans la seconde étape d'oxydation, menant au produit dihydrogéné, n'introduira pas de charge positive en N(3); si bien que la déprotonation de ce centre et la formation du produit XII apparaissent peu probables du point de vue cinétique.

Nous remercions M. J. P. MALRIEU de nombreuses discussions, et M. M. VISCONTINI (Université de Zurich) de l'intérêt qu'il a porté à cette étude. Le travail a bénéficié d'une subvention de la «STIFTUNG FÜR STIPENDIEN AUF DEM GEBIETE DER CHEMIE», et de la CONVENTION N° CR-66-236 de l'INSTITUT NATIONAL DE LA SANTÉ ET DE LA RECHERCHE MÉDICALE (Intergroupe Cancer) conclue avec l'INSTITUT DE BIOLOGIE PHYSICO-CHEMIQUE, auxquelles nous exprimons nos plus vifs remerciements.

#### SUMMARY

HMO and semi-empirical SCF calculations on pterine systems of biochemical interest have been performed. The most basic center of each molecule has been determined by correlating the perturbation effect on the transition energy and the spectroscopic data. Additional calculations attempt to show why the redox-system which interferes in hydroxylation reactions consists of 5,6,7,8-tetrahydropterine and a quinoidic form. Finally the formation of radicals in the oxidation step of hydrogenated pterines is discussed.

Laboratoire de Chimie Quantique,  
Institut de Biologie Physico-chimique  
13, rue P. Curie, Paris 5<sup>e</sup>

#### BIBLIOGRAPHIE

- [1] 18<sup>e</sup> communication: A. EHRENBURG, P. HEMMERICH, F. MÜLLER, T. OKADA & M. VISCONTINI, *Helv. 50*, 411 (1967).
- [2] A. M. PERAULT & B. PULLMAN, *Biochim. biophys. Acta 44*, 251 (1960); *52*, 266 (1961); R. COLLIN & B. PULLMAN, *ibid.* *89*, 232 (1964).
- [3] S. KAUFMAN, *J. biol. Chemistry 234*, 2677 (1959).
- [4] A. BOBST & M. VISCONTINI, *Helv. 49*, 884 (1965).
- [5] B. PULLMAN & A. PULLMAN, «Quantum Biochemistry», Wiley, New York 1963.
- [6] G. DEL RE, *J. chem. Soc. 1958*, 4031.
- [7] H. BERTHOD & A. PULLMAN, *J. Chim. physique 62*, 942 (1965).
- [8] H. BERTHOD, C. GIESSNER-PRETTRE & A. PULLMAN, *Theoret. chim. Acta 5*, 53 (1966).
- [9] J. P. MALRIEU, *J. Chim. phys. 62*, 485 (1965).
- [10] I. ISENBERG & A. SZENT-GYORGY, *Proc. Natl. Acad. Sc. U.S. 45*, 519 (1959).
- [11] J. M. HEARN, R. A. MORTON & J. C. E. SIMPSON, *J. chem. Soc. 1957*, 3329.
- [12] Thèse de doctorat de A. BOBST, Université de Zurich, 1965.
- [13] W. PFLEIDERER & H. ZONDLER, *Chem. Ber. 99*, 3008 (1966).
- [14] M. VISCONTINI & A. BOBST, *Helv. 49*, 1815 (1966).
- [15] M. VISCONTINI & S. HUWYLER, *Helv. 48*, 764 (1965).
- [16] TEIJIRO YONEZAWA, G. DEL RE & B. PULLMAN, *J. chem. Soc. Japan 37*, 985 (1964).
- [17] S. KAUFMAN, *J. biol. Chemistry 236*, 804 (1961).
- [18] A. PULLMAN, *Tetrahedron 19*, 441 (1963).