

182. Recherches sur la biochimie des champignons inférieurs VI.

Sur une synthèse de la fumigatine

par Théodore Posternak et Hans W. Ruelius.

(13 IX 43)

On désigne sous le nom de fumigatine un pigment qu'*Anslow* et *Raistrick*¹⁾ isolèrent pour la première fois de certaines cultures d'*Aspergillus fumigatus*, et qui représente la 3-oxy-4-méthoxy-2,5-toluquinone VI. D'autres espèces d'*Aspergillus fumigatus* produisent un pigment différent, la spinulosine, qui est étroitement apparentée d'ailleurs à la fumigatine, car elle en représente un dérivé hydroxylé: la 3,6-dioxy-4-méthoxy-2,5-toluquinone²⁾.

La fumigatine et la spinulosine sont remarquables parmi les autres pigments de champignons inférieurs par la simplicité de leur constitution. En outre, ces composés nous ont intéressés en raison de leur parenté évidente de constitution avec la phoenicine³⁾ que nous avons étudiée auparavant: ces pigments sont en effet tous trois des dérivés de la toluquinone. A l'époque où nous entreprîmes ce travail, une bonne synthèse de la spinulosine avait déjà été décrite⁴⁾. La synthèse de la fumigatine par contre n'avait pas encore été effectuée; elle était d'autant plus désirable que la préparation biochimique du pigment est assez malaisée. Comme nous avons besoin d'une certaine quantité de fumigatine pour diverses recherches biochimiques, nous en avons élaboré une synthèse qui a fait l'objet d'une communication préliminaire⁵⁾. Presque simultanément *Baker* et *Raistrick*⁶⁾ décrivaient une autre synthèse de la fumigatine basée sur un principe différent. Comme les circonstances nous ont empêchés de poursuivre notre collaboration, nous nous sommes décidés à publier les détails expérimentaux de notre travail, bien que les rendements de certaines de nos opérations soient probablement encore susceptibles d'amélioration.

Nous sommes partis de l'aldéhyde 3,5-dioxy-4-méthoxy-benzoïque I qui avait été préparé en 1928 par *Mauthner*⁷⁾. Cet aldéhyde a été hydrogéné catalytiquement en présence de noir de palladium dans l'acide acétique glacial; il se produit ainsi une consommation de 2 mol. d'hydrogène et on obtient avec un bon rendement le

¹⁾ Biochem. J. **32**, 687 (1938).

²⁾ *Anslow* et *Raistrick*, Biochem. J. **32**, 2288 (1938).

³⁾ *Th. Posternak, H. W. Ruelius* et *J. Tcherniak*, Helv. **26**, 2031 (1943).

⁴⁾ *Anslow* et *Raistrick*, Biochem. J. **32**, 803 (1938).

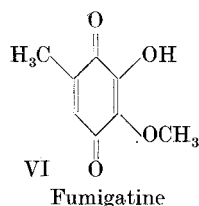
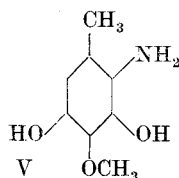
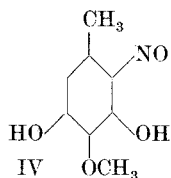
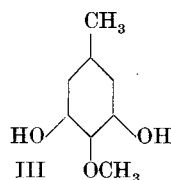
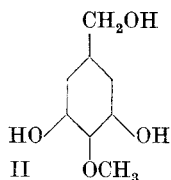
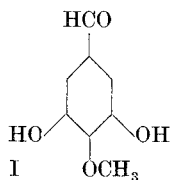
⁵⁾ C. r. Soc. Phys. et Hist. nat. Genève **58**, 223 (1941); C. **1943**, I, 622.

⁶⁾ Soc. **1941**, 670.

⁷⁾ J. pr. [2] **119**, 307 (1928).

3,5-dioxy-4-méthoxy-toluène III. Ajoutons que si l'on effectue la réduction en présence d'oxyde de platine en solution alcoolique, il ne se fixe qu'une seule molécule d'hydrogène et l'on obtient l'alcool 3,5-dioxy-4-méthoxy-benzylique II. Ce dernier, hydrogéné en présence de noir de palladium dans l'acide acétique glacial, se transforme à son tour, par intervention d'une molécule d'hydrogène, en 3,5-dioxy-4-méthoxy-toluène III.

Le 3,5-dioxy-4-méthoxy-toluène ainsi obtenu possède approximativement le p. de f. indiqué par *Schultes*¹⁾ (138°) pour un produit retiré du goudron de houille et auquel il attribue précisément cette constitution. La substance se laisse facilement nitroser par une molécule de nitrite d'amyle; on obtient ainsi, par l'intermédiaire de son sel de potassium, le 2-nitroso-3,5-dioxy-4-méthoxy-toluène IV. Ce dernier a été transformé par hydrogénation catalytique ou encore par action du dithionite de sodium ($\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_4$) en amine correspondante V qui n'a pas été isolée en raison de son altérabilité. Par oxydation des sels du produit brut au moyen du chlorure de fer(III) dans les conditions décrites dans la partie expérimentale, on obtient un composé $\text{C}_8\text{H}_8\text{O}_4$ répondant forcément à la formule VI (3-oxy-4-méthoxy-2,5-toluquinone) et ayant toutes les propriétés de la fumigatine à laquelle il est certainement identique.



Partie expérimentale.

Préparation de l'aldéhyde 3,5-dioxy-4-méthoxy-benzoïque.

Cette substance a été préparée en principe par la méthode de *Mauthner*²⁾. On a obtenu d'abord d'après *E. Fischer*, *M. Bergmann* et *W. Lipschitz*³⁾ l'acide 4-monométhyl-gallique. La carbo-méthoxylation en a été effectuée avec un rendement de 85% d'après les indications de *Mauthner*.

Chlorure de l'acide 3,5-dicarbo-méthoxy-4-méthyl-gallique. La chloruration au moyen du pentachlorure de phosphore telle qu'elle a été décrite par *Mauthner* ne nous a pas donné de résultats satisfaisants. Il est préférable d'opérer au moyen du chlorure de thionyle:

¹⁾ B. 69, 1873 (1936).

²⁾ J. pr. [2] 119, 307 (1928).

³⁾ B. 51, 53 (1918).

8,8 gr. d'acide 3,5-dicarbométhoxy-4-méthyl-gallique ont été chauffés pendant 25 minutes à 80° avec 27 cm³ de chlorure de thionyle pur. L'excès de réactif a été chassé dans le vide à 45°. Le résidu a été repris par une petite quantité de benzène qu'on a évaporée de nouveau dans le vide et cette opération a été répétée 5 fois jusqu'à disparition presque complète de l'odeur du chlorure de thionyle. Le résidu dissous dans un peu de benzène à été précipité sous forme de cristaux blancs par l'éther de pétrole. 8 gr. (rendement 85%) fondant à 60,5—62,5°.

Aldéhyde 3,5-dioxy-4-méthoxy-benzoïque. La réduction d'après *Rosenmund* du chlorure d'acide précédent a été effectuée dans les conditions indiquées par *Mauthner*. Pour la suite, il est à recommander de partir d'un aldéhyde carbométhoxylé fraîchement préparé. On le saponifie dans les conditions indiquées par *Mauthner*. Le produit brut de saponification a été repris par l'éther acétique; on traite à chaud par le noir animal et on filtre. Par addition d'éther de pétrole on précipite d'abord des résines; le liquide décanté fournit par une nouvelle addition d'éther de pétrole des cristaux du produit cherché (p. de f. 148—150°). Le point de fusion de la substance obtenue de cette manière est supérieur de près de 10° à celui qu'indique *Mauthner* (139—140°).

Alcool 3,5-dioxy-4-méthoxy-benzylrique.

160 mgr. d'aldéhyde 4-méthyl-gallique sont dissous dans 5 cm³ d'alcool absolu; on agite dans une atmosphère d'hydrogène en présence de 15 mgr. d'oxyde de platine. Consommé 27,5 cm³ H₂ (20°; 714 mm.); calculé 28,8 cm³. On évapore ensuite l'alcool dans le vide; on obtient ainsi des cristaux incolores fondant à 172—174°. La substance a été purifiée par recristallisation dans l'éther anhydre, par extraction au micro-*Slotta*: poudre microcristalline fondant à 176° (120 mgr.; rendement 74%). Par sublimation dans le vide poussé (0,002 mm.; température du bain 140—150°) on obtient des petits cubes fondant à 177—178°.

3,595 mgr. subst. ont donné 7,400 mgr. CO₂ et 1,840 mgr. H₂O

C ₈ H ₁₀ O ₄	Calculé C 56,44	H 5,93%
Trouvé „	56,40	„ 5,72%

La substance est très soluble déjà à froid dans l'alcool, dans le méthanol et dans l'éther acétique; elle est assez soluble dans l'eau froide et peu soluble dans le benzène, le chloroforme, l'éther de pétrole et l'éther sulfurique anhydre.

3,5-Dioxy-4-méthoxy-toluène.

84 mgr. d'aldéhyde 4-méthyl-gallique sont dissous dans 2 cm³ d'acide acétique glacial. On hydrogène en présence de 15 mgr. de noir de palladium *Schering-Kahlbaum*. Consommé 28,5 cm³ H₂ (24,5°; 709 mm.); calculé 26,2 cm³. Par évaporation dans le vide sur la potasse caustique solide, on obtient des aiguilles incolores (77 mgr.) fondant à 125—129°. Recristallisé dans l'eau, le produit fond à 134—135° (50 mgr.; rendement 65%). Pour l'analyse, la substance a été sublimée dans le vide poussé (0,002 mm.; bain extérieur à 80—85°); elle fond alors à 135—136°.

3,855 mgr. subst. ont donné 8,810 mgr. CO₂ et 2,275 mgr. H₂O

4,035 mgr. subst. ont donné 6,140 mgr. AgI

C ₈ H ₁₀ O ₃	Calculé C 62,31	H 6,54	OCH ₃ 20,13%
Trouvé „	62,33	„ 6,60	„ 20,10%

Le produit est très soluble dans l'alcool et dans l'eau chaude, assez soluble dans l'alcool froid et dans le benzène chaud, peu soluble dans l'eau froide et dans l'éther de pétrole. Sa solution aqueuse ou alcoolique donne en présence de chlorure de fer(III) dilué une coloration bleu-clair fugace.

H. Schultes¹⁾ a décrit un éther monométhylque du 5-méthylpyrogallol fondant à 138° qui est sans doute identique à notre produit.

Hydrogéné dans les conditions qui viennent d'être décrites, l'alcool 3,5-dioxy-4-méthoxy-benzylque consomme une molécule d'hydrogène et se transforme lui-aussi, avec un rendement presque quantitatif, en 3,5-dioxy-4-méthoxy-toluène (identité établie par le p. de f. du mélange).

2-Nitroso-3,5-dioxy-4-méthoxy-toluène.

100 mgr. de 3,5-dioxy-4-méthoxy-toluène sont dissous à chaud dans 0,1 cm³ d'alcool absolu. Par refroidissement brusque, il se sépare des très petits cristaux qui se redissolvent facilement après addition de 0,34 cm³ de potasse alcoolique 2-n. On refroidit cette solution dans la glace et on l'additionne, en agitant, de 0,2 cm³ d'une solution alcoolique de nitrite d'amyle refroidie dans la glace et contenant 4,5 gr. de nitrite d'amyle fraîchement distillé dans 10 cm³. Après quelques minutes, la réaction se déclenche et il se produit une cristallisation massive. Après un séjour d'une demi-heure à la glacière, on essore la poudre cristalline jaune qu'on lave à l'alcool et à l'éther anhydres. 125 mgr.; rendement 87 %.

Le sel potassique a été dissous dans 0,6 cm³ d'eau tiède; on ajoute 0,4 cm³ H₂SO₄ 2-n; il se sépare une huile qui cristallise après quelques instants en plaquettes. 82 mgr.; rendement rapporté au dioxytoluène: 69 %. Le produit a été recristallisé dans le benzène; pour l'analyse, on l'a encore purifié par sublimation dans le vide poussé (0,002 mm.; bain extérieur à 80°); il fond alors à 118° (déc.).

3,890 mgr. subst. ont donné 0,2646 cm³ N₂ (24°; 728 mm.)

C₈H₉O₄N Calculé N 7,65 Trouvé N 7,49%

Réduction du 2-nitroso-3,5-dioxy-4-méthoxy-toluène et oxydation en fumigatine.

Nous avons effectué cette réduction par hydrogénation catalytique ou encore par action du dithionite de sodium (Na₂S₂O₄). L'amine ainsi formée a peu de tendance à la cristallisation; il en est de même de ses sels. Le produit est en outre très altérable. Nous nous sommes décidés alors à oxyder directement en quinone l'amine brute impure. Seul le chlorure de fer(III) fournit un résultat positif si on l'emploie en grand excès et si l'on extrait immédiatement au chloroforme la fumigatine formée, de manière à la soustraire à l'action de l'excès d'oxydant.

¹⁾ B. 69, 1873 (1936).

a) 50 mgr. de 2-nitroso-3,5-dioxy-4-méthoxy-toluène sont suspendus dans 2 cm³ d'eau. On hydrogène en présence de 10 mgr. d'oxyde de platine. Consommé 19 cm³ H₂ (22°; 707 mm.); calculé 17 cm³. On introduit ensuite 0,27 cm³ H₂SO₄ 2-n et on essore rapidement sur un filtre de verre fritté. On concentre ensuite aussi rapidement que possible dans le vide, dans un courant d'hydrogène. Malgré toutes les précautions prises, le liquide se colore en jaune. Lorsque le volume est réduit à environ 0,3 cm³, on ajoute d'un seul coup 0,8 cm³ de chlorure de fer(III) 2,3-n. Au bout de quelques instants, il se dépose des cristaux rouge-brun; on extrait alors immédiatement, à deux reprises, au chloroforme. Par évaporation spontanée du dissolvant, on obtient 27 mgr. de cristaux rouge-brique fondant à 102—108° (ramollissement à partir de 85°). Le produit est purifié par recristallisation dans l'éther de pétrole (extraction au micro-*Slotta*; 5 mgr. restent insolubles); il fournit ainsi 17 mgr. fondant après suintement à 110—112°. Par des sublimations dans le vide poussé (0,002 mm.; bain extérieur 85°), le p. de f. s'élève à 113—113,5° et reste ensuite constant.

3,530 mgr. subst. ont donné 7,395 mgr. CO₂ et 1,530 mgr. H₂O

2,390 mgr. subst. ont donné 3,400 mgr. AgI

C ₈ H ₈ O ₄	Calculé	C 57,12	H 4,80	OCH ₃ 18,46%
	Trouvé	„ 57,13	„ 4,85	„ 18,79%

Dans d'autres expériences, le dérivé nitrosé a été hydrogéné en présence de deux équivalents d'acide sulfurique.

b) Nous avons également réduit le sel de potassium du dérivé nitrosé par le dithionite de sodium. 55 mgr. de sel potassique brut et 1,1 gr. de dithionite de sodium (Na₂S₂O₄) ont été dissous dans 7 cm³ d'eau et chauffés à reflux pendant 4 heures¹⁾. La solution se décolore très rapidement; après refroidissement, on acidifie par l'acide sulfurique à 10% en évitant un excès (début de virage au rouge congo) et on extrait dix fois à l'éther. La solution étherée a été séchée sur du sulfate de sodium anhydre et évaporée dans le vide dans un courant d'hydrogène. Le résidu (environ 0,2 cm³) a été oxydé par 0,25 cm³ FeCl₃ 2,3-n; il se produit une cristallisation. Par extraction au chloroforme, on obtient 20 mgr. de fumigatine très impure qui, après recristallisation dans l'éther de pétrole, ont fourni 12 mgr. de produit purifié.

La fumigatine obtenue au cours de ces divers essais a toutes les propriétés indiquées par *Raistrick* et *Anslo*²⁾: aiguilles brun-marron très solubles dans l'alcool, l'éther et le chloroforme, peu solubles dans l'eau et encore moins solubles dans l'éther de pétrole; elles se dissolvent en violet dans le carbonate de sodium.

Genève, Laboratoire de Chimie organique et inorganique de l'Université.

¹⁾ Par cette ébullition prolongée, l'amine formée sous l'action du dithionite est désaminée, par hydrolyse, en dihydro-fumigatine qu'on oxydéra ensuite en fumigatine.

²⁾ Biochem. J. **32**, 687 (1928). *Raistrick* et *Anslo* avaient d'abord attribué un p. de f. de 116° à la fumigatine naturelle, mais dans une publication plus récente *Baker* et *Raistrick* (Soc. **1941**, 660) indiquent un p. de f. de 114° (chauffe lente) très voisin de celui que nous avons observé (113—113,5°).