

197. Recherches dans la série des cyclitols XXV.

Synthèse de méso-inositol marqué à un emplacement déterminé par du ^{14}C . Préparation du ms-inositol-[2- ^{14}C]

par Th. Posternak, W. H. Schopfer et R. Huguenin.

(27 VIII 57)

Il est inutile d'insister longuement sur l'intérêt que présente, pour des recherches chimiques ou biochimiques, la préparation de méso-inositol marqué par des isotopes. Il y a deux ans, nous avons obtenu, par deutériation d'un inosose, de l'inositol contenant du deutérium à un emplacement déterminé¹⁾). Pour diverses recherches, il est toutefois indispensable de disposer d'un cyclitol contenant du carbone radioactif. Dans la littérature se trouvent exposés deux principes de synthèse complète utilisables pour l'obtention de méso-inositol marqué par du ^{14}C .

1° Par réaction entre l'oxyde de carbone et le potassium métallique, il se forme entre autres de l'hexaphénate de potassium²⁾³⁾). L'hexaphénol, ou encore la tétrahydroxy-quinone⁴⁾ qui prend facilement naissance à ses dépens, fournissent par hydrogénation catalytique, dans certaines conditions, un mélange d'où l'on peut retirer du méso-inositol⁵⁾⁶⁾⁷⁾). En utilisant du ^{14}CO , on obtiendrait ainsi un cyclitol *uniformément marqué*. Avec J. Deshusses, nous avons entrepris cette synthèse lorsque parut un mémoire de F. Weygand & E. Schulze⁸⁾ décrivant la préparation du méso-inositol radioactif par la voie indiquée.

2° Pour diverses recherches métaboliques et purement chimiques, il serait nécessaire d'utiliser du ms-inositol contenant l'isotope à un emplacement déterminé de sa molécule. Sa préparation est réalisable par une suite de réactions observées par J. M. Grosheintz & H. O. L. Fischer⁹⁾¹⁰⁾ d'une part, par Th. Posternak¹¹⁾ d'autre part.

1) Th. Posternak, W. H. Schopfer & D. Reymond, *Helv.* **38**, 1283 (1955).

2) J. U. Lerch, *Liebigs Ann. Chem.* **124**, 20 (1862).

3) R. Nietzki & T. Benkiser, *Ber. deutsch. chem. Ges.* **18**, 499, 1833 (1885).

4) La tétrahydroxy-quinone s'obtient également à partir du glyoxal⁶⁾.

5) H. Wieland & R. S. Wishart, *Ber. deutsch. chem. Ges.* **47**, 2082 (1914).

6) R. Kuhn, G. Quadbeck & E. Röhm, *Liebigs Ann. Chem.* **565**, 1 (1949).

7) S. J. Angyal & D. J. McHugh, *Chemistry and Ind.* **1955**, 947.

8) *Z. für Naturforschung* **11b**, 370 (1956).

9) *J. Amer. chem. Soc.* **70**, 1476 (1948).

10) *J. Amer. chem. Soc.* **70**, 1479 (1948).

11) *Helv.* **33**, 1601 (1950).

Grosheintz & Fischer firent réagir le nitrométhane avec l'aldo-5-O-isopropylidène-1,2-D-xylo-pentofuranose (II) obtenu par oxydation du mono-acétone-D-glucose I au moyen du tétra-acétate de plomb ou de l'acide periodique. Il se forme ainsi un mélange, sous forme de dérivés isopropylidène-1,2, de nitro-6-désoxy-6-D-glucose (III) et de nitro-6-désoxy-6-L-idose (IV)⁹). Sous l'action des alcalis, les deux nitro-désoxy-aldoes III et IV se cyclisent avec une facilité remarquable; chacun d'eux fournit un même mélange optiquement inactif contenant entre autres trois nitro-désoxy-inositols¹⁰). La composition de ce mélange dépend du pH du milieu de réaction. D'après les auteurs, il s'établirait un équilibre entre les nitro-aldoes et les nitro-désoxy-inositols conformément aux formules III, IV, VI et VII. Théoriquement, on pourrait s'attendre à la présence de 8 nitro-désoxy-inositols (2 racémiques et 4 substances à molécule symétrique) différant par les configurations de 3 carbones asymétriques; en réalité on n'a pu retirer que 3 composés formés, semble-t-il, en quantité prépondérante: les nitro-désoxy-inositols «I», «II» et «III».

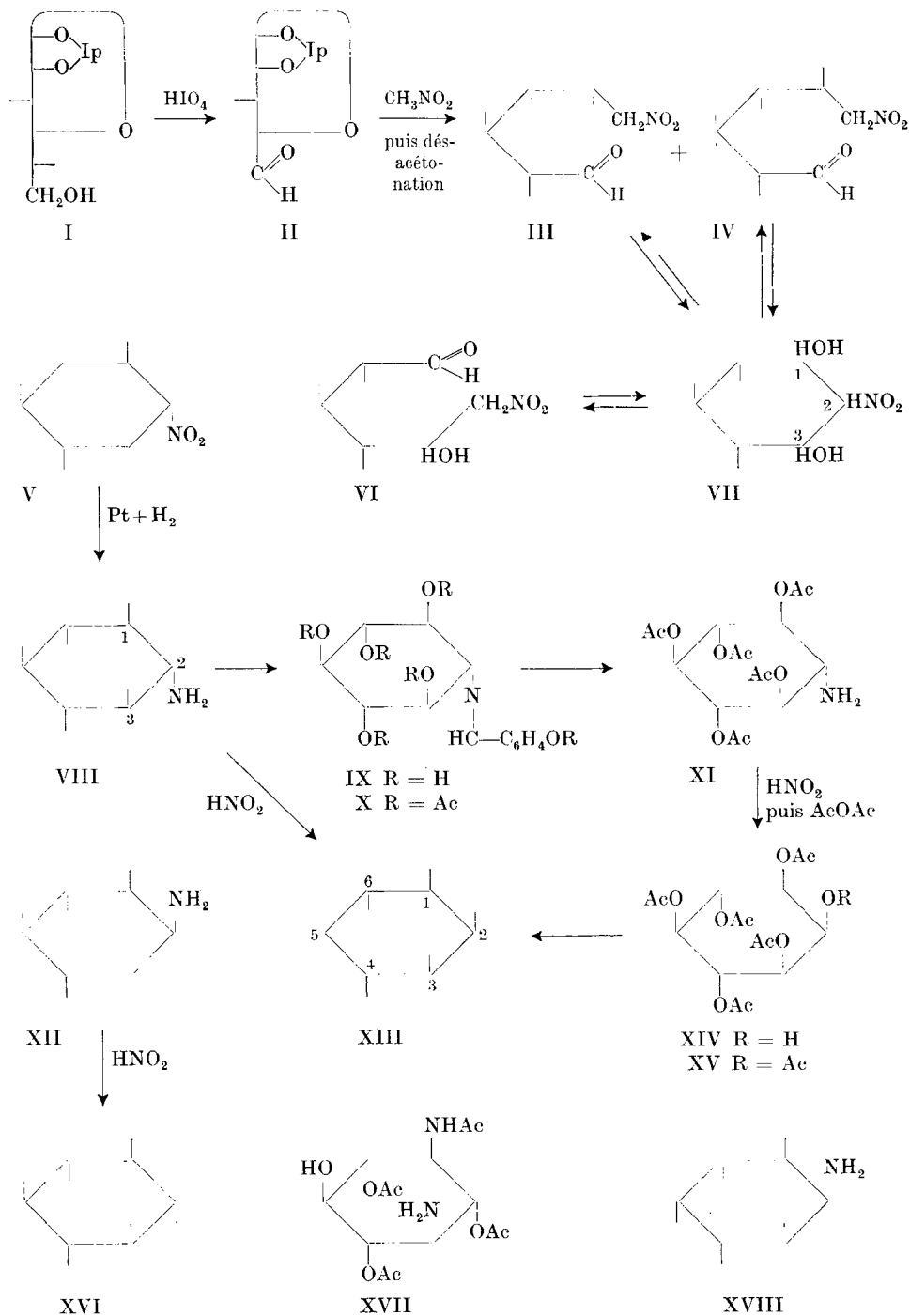
*Th. Posternak*¹¹) montra par la suite que l'amino-désoxy-inositol obtenu par réduction du nitro-désoxy-inositol «III» répond à la formule VIII (inosamine SB, scyllo-inosamine). D'autre part, sous l'action de l'acide nitreux, cette amine fournit, entre autres, du méso-inositol XIII¹¹) résultant d'une inversion de *Walden*.

On voit que, par emploi de nitrométhane radioactif, il se formerait ainsi du ms-inositol marqué en position 2. D'autre part, en utilisant un aldéhyde II préparé à partir de glucose contenant l'isotope en l'une des positions 1, 2, 3, 4 ou 5, on obtiendrait finalement des variétés de ms-inositol marquées resp. en 3, en 4, en 5, en 6 ou en 1. On peut ainsi théoriquement, à supposer que l'on dispose de glucose radioactif convenable, obtenir à volonté un cyclitol marqué spécifiquement en l'un des 6 emplacements possibles de la molécule.

Dans le présent article, nous décrivons la synthèse du ms-inositol-[2-¹⁴C].

Le nitrométhane radioactif nécessaire se prépare en traitant du nitrite d'argent par de l'iodure de méthyle-¹⁴C¹²). La réaction avec l'aldéhyde II nécessite un grand excès de nitrométhane comme l'avaient déjà indiqué *Grosheintz & Fischer*⁹). Nous avons dû alors procéder de la manière suivante: le nitrométhane non transformé a été récupéré par distillation et mis à réagir avec une nouvelle quantité d'aldéhyde II. Cette suite d'opérations a été répétée 15 fois en diluant 8 fois pour finir avec du nitrométhane non radioactif. Le rendement radiochimique est, dans ces conditions, de 27%; on pourrait bien entendu l'augmenter en répétant encore les opérations avec le nitrométhane récupéré.

¹²) *J. C. Sowden*, *J. biol. Chemistry* **180**, 55 (1949).



Pour la préparation du nitro-désoxy-scyllitol V (nitro-désoxy-inositol «III») on a opéré directement avec le mélange des nitro-désoxy-aldoes III et IV sans chercher à les séparer. Le dérivé nitré V a fourni avec un rendement quantitatif, par hydrogénation catalytique en présence de PtO_2 , la scyllo-inosamine (VIII).

Le rendement en ms-inositol obtenu par désamination nitreuse de l'amine VIII n'est que de 10–15%¹³⁾, les produits de réaction étant constitués essentiellement par des substances réductrices. Nous avons constaté qu'il est très avantageux de bloquer préalablement par acétylation les groupes OH de la substance VIII. La O-penta-acétyl-scylo-inosamine (XI) a été préparée d'après *L. Anderson & H. A. Lardy*¹³⁾ par condensation de l'amine VIII avec l'aldéhyde salicylique suivie d'acétylation et ensuite de traitement ménagé, par l'acide chlorhydrique, de l'acétyl-salicylidène-O-penta-acétyl-scylo-inosamine (X) formée intermédiairement. Le chlorhydrate de O-penta-acétyl-scylo-inosamine (XI) résultant du départ du reste salicylidène a été traité par du nitrite d'argent. Le O-penta-acétyl-ms-inositol XIV formé est ensuite acétylé en O-hexa-acétyl-ms-inositol (XV) peu soluble. Le rendement en cette dernière substance rapporté à l'amine XI atteint 71%. Le ms-inositol (XIII) obtenu finalement par saponification se prépare ainsi avec un rendement radiochimique optimum de 2,5% rapporté à l'iodure de méthyle- ^{14}C et de 4,2% rapporté au nitrométhane- ^{14}C . D'après le mécanisme de cette synthèse, le produit doit représenter le ms-inositol-[2- ^{14}C]¹⁴⁾.

Quelques remarques pour terminer concernant l'aspect stéréochimique de la désamination nitreuse des inosamines. Nous avons montré autrefois¹¹⁾ que sous l'action de l'acide nitreux les deux inosamines SA (XII) et SB (VIII) dont la configuration est bien établie fournissent, à côté de substances réductrices, resp. du scyllitol (XVI) et du ms-inositol (XIII) résultant tous deux d'une inversion de *Walden*. Des inversions analogues ont été observées par la suite avec d'autres dérivés aminés d'inositols: O-triacétyl-N-monoacétyl-streptamine (XVII)¹⁵⁾, néo-inosamine-2 (XVIII)¹⁶⁾. Si l'on considère les conformations préférentielles, on constate que le groupe amino est équatorial dans les substances VIII et XVII; il est par contre axial dans les composés XII et XVIII. Les inversions observées se produisent ainsi indépendamment de la nature équatoriale ou axiale du groupement aminé primitif. D'après les généralisations et les représentations théoriques figurant dans la littérature au sujet de la désamina-

¹³⁾ *J. Amer. chem. Soc.* **72**, 3145 (1950).

¹⁴⁾ Des essais de dégradation seront entrepris pour confirmer l'emplacement de l'isotope.

¹⁵⁾ *O. Wintersteiner & A. Klingsberg*, *J. Amer. chem. Soc.* **73**, 2917 (1951); *H. Straube-Rieke, H. A. Lardy & L. Anderson*, *J. Amer. chem. Soc.* **75**, 694 (1953).

¹⁶⁾ *J. B. Patrick, R. P. Williams, C. W. Waller & B. L. Hutchings*, *J. Amer. chem. Soc.* **78**, 2652 (1956); *Abstr. Papers 130th Meeting Amer. chem. Soc.* 25 D (1956).

tion nitreuse d'amines dérivées du cyclohexane¹⁷), seules les substances à groupe amino axial pourraient donner lieu à une inversion, les amines équatoriales pourraient fournir par contre des alcools de même configuration¹⁸). On constate ainsi que ces représentations se trouvent en défaut dans la série des amino-désoxy-inositols.

Nous remercions vivement le *Fonds national suisse de la Recherche scientifique* et la *Fondation Rockefeller*, New York, de l'aide qu'ils nous ont apportée.

Partie expérimentale.

Les F. indiqués ne sont pas corrigés.

Méthodes de mesure. La radioactivité des substances solides a été déterminée en couche très mince (50 γ /cm²) sur des disques de laiton d'un diamètre de 2,5 cm, au moyen des appareils *Tracerlab* suivants: Superscaler SC 18 et Manual Sample Changer SC-9D.

Nitrométhane-¹⁴C. II a été préparé à partir d'iodure de méthyle-¹⁴C (Radiochemical Center, Amersham) et de nitrite d'argent, d'après les indications de *J. C. Sowden*¹²), avec un rendement de 55–60%. Lors de certaines opérations on a utilisé du nitro-méthane-¹⁴C fourni par *Tracerlab*, inc., Boston.

O-Isopropylidène-1,2-nitro-6-désoxy-6-D-glucose-[6-¹⁴C] et *O-Isopropylidène-1,2-nitro-6-désoxy-6-L-idose*-[6-¹⁴C]. On introduit dans un ballon rodé de 20 cm³ 820 mg d'aldo-5-O-isopropylidène-1,2-D-xylo-pentofuranose (II) cristallisé¹⁹), 3,2 cm³ d'alcool absolu et 1,64 cm³ de nitrométhane-¹⁴C. Après addition de 0,3 cm³ d'une solution 2-n. de méthylate de sodium dans l'alcool méthylique absolu, on laisse séjourner 20 h à température ordinaire. On adapte ensuite un serpentín descendant muni de rodages et un ballon récepteur de 20 cm³ refroidis tous deux dans un mélange acétone-neige carbonique, puis on distille dans le vide (1–2 Torr) le mélange d'alcool et de nitrométhane en excès; pour finir on chauffe 1 min à 60°. Par des dosages spectrophotométriques dans le distillat, on constate qu'on récupère ainsi 80% du nitrométhane mis en œuvre ($\lambda_{\max} = 273 \mu\mu$; $\epsilon_{\max} = 16.7$). On additionne le distillat de 820 mg d'aldéhyde II cristallisé, de 0,33 cm³ de nitrométhane et de 0,3 cm³ de méthylate de sodium 2-n. et on procède ensuite comme décrit ci-dessus. Cette suite d'opérations a été répétée en tout 15 fois; le distillat a été additionné de nitrométhane radioactif lors des sept premières répétitions, de nitrométhane non radioactif lors des 8 dernières. Les durées des 8 dernières réactions ont été, d'autre part, augmentées progressivement de manière à atteindre pour finir 48 h. Chaque résidu de distillation est dissous dans 10 cm³ de chloroforme et lavé à 4–5 reprises par agitation chaque fois avec 0,3 cm³ d'eau; la dernière eau de lavage doit être neutre. La solution chloroformique est évaporée dans le vide après dessiccation sur du sulfate de magnésium anhydre.

Les résidus cristallins provenant des diverses réactions successives sont mélangés et mis à digérer avec une partie d'éther; on essore et lave modérément à l'éther. Obtenu 6,44 g (F. 105–120°; $[\alpha]_D$ de -21° à -25° (eau)) de mélange des deux *O-isopropylidène-1,2-nitro-6-désoxy-6-aldo*s. Rendement radiochimique 26,6%.

Nitro-2-désoxy-2-scyllitol-[2-¹⁴C] (V) (*nitro-désoxy-inositol* (III)). Cette préparation a été effectuée au moyen du mélange brut précédent. 3,60 g de ce mélange sont chauffés 75 min à 75–80° avec 18,6 cm³ H₂SO₄ 0,106-n. Après refroidissement, on ajoute 9,6 cm³ NaOH 0,965-n. et abandonne 48 h à l'obscurité. La solution filtrée est additionnée successivement de 7,4 cm³ CH₃COOH 1,02-n. et de 7,0 cm³ H₂SO₄ 1,0-n. Après évaporation à sec dans le vide on extrait à fond à l'alcool bouillant en traitant par du noir animal.

¹⁷) *J. A. Mills*, J. chem. Soc. **1953**, 260; *A. K. Bose*, *Experientia* **9**, 256 (1953); *W. G. Dauben & coll.*, J. Amer. chem. Soc. **76**, 4420, 4426 (1954); **77**, 48 (1955).

¹⁸) Nous ne considérons pas ici les réactions concomitantes (élimination, contraction d'anneau, etc.) dues à la présence de groupes réactifs voisins.

¹⁹) *R. Schaffer & H. S. Isbell*, J. Res. Nat. Bureau of Standards **56**, 191 (1956). — Nous remercions M. le Dr *H. S. Isbell* de l'envoi d'un échantillon cristallisé.

Les extraits sont concentrés dans le vide à 15 cm³; après une nuit à la glacière, les cristaux séparés (1,065 g) sont essorés; 70 mg sont encore obtenus par concentration de la solution-mère alcoolique, qui contient en outre un mélange de nitro-désoxy-inositols «I» et «II». On purifie par agitation avec 25 cm³ d'acétone anhydre contenant 0,5% (en vol.) d'acide sulfurique concentré (acétonation des impuretés); l'insoluble représente le nitro-désoxy-scyllitol purifié: 970 mg (32% du rendement théorique) de F. 215° (déc.); indiqué F. 215° (déc.)¹⁰⁾.

Scyllo-inosamine-[2-¹⁴C] (*inosamine SB*) (*VIII*). Le nitro-désoxy-scyllitol V a été hydrogéné en solution aqueuse à 2½% en présence de 0,2 partie d'oxyde de platine. Durée d'agitation 2½ h. L'amine VIII cristallise par concentration de la solution avec un rendement pratiquement quantitatif. F. 293° (déc.).

N-Salicylidène-scyлло-inosamine-[2-¹⁴C] (*IX*). Elle a été obtenue d'après la prescription publiée¹³⁾ avec un rendement de 78—87%. F. 260—262°; indiqué 264,5—265,5°¹³⁾.

N-Acétyl-salicylidène-penta-O-acétyle-scyлло-inosamine-[2-¹⁴C] (*X*). Préparation par traitement au moyen de l'anhydride acétique en présence de pyridine. Rendement en produit brut 92—99%. F. 195—197°; indiqué F. 200—201°¹³⁾.

Chlorhydrate de O-penta-acétyle-scyлло-inosamine-[2-¹⁴C] (*XI*). Préparation suivant la méthode publiée¹³⁾. Rendement 88—91%. F. 265° (corr. bloc *Maquenne*) (déc.); indiqué F. 270° (durée de chauffe 30 sec).

Hexa-O-acétyle-ms-inositol (*XV*) et *ms-inositol*-[2-¹⁴C] (*XIII*). 2,329 g du chlorhydrate précédent sont dissous dans un mélange de 150 cm³ H₂O et de 17,1 cm³ HCl 0,1-n. On refroidit dans la glace et ajoute en 10 min, en agitant continuellement, 1,106 g de nitrite d'argent fraîchement préparé. On laisse reposer 3 h à 0° à l'obscurité et abandonne la nuit à température ordinaire. Le chlorure d'argent est extrait à l'alcool et les solutions aqueuses et alcooliques réunies sont évaporées à sec dans le vide. Sans chercher à purifier le penta-acétyle-inositol XIV qui s'est séparé à l'état cristallisé, on dessèche 40 min à 55° dans le vide poussé, puis ajoute 24 cm³ d'anhydride acétique et un peu de chlorure de zinc anhydre fraîchement fondu. On maintient 2½ min à l'ébullition et jette après refroidissement dans de l'eau glacée. Obtenu 1,786 g de produit brut qui fournissent, après recristallisation dans 70 cm³ d'alcool, 1,67 g d'hexa-O-acétyle-ms-inositol (XV) (rendement 71%) de F. et F. de mélange 207—211°.

Par traitement du dérivé hexa-acétylé par la baryte méthyle-alcoolique dans les conditions habituelles²⁰⁾ on obtient du ms-inositol de F. 216—218° après une recristallisation dans le mélange eau-alcool (rendement 89%).

A partir de 9,20 g d'iodure de méthyle contenant 7,0 mC, on peut ainsi obtenir finalement (rendement optimum observé) 710 mg de ms-inositol ayant une radioactivité totale de 0,175 mC. Ce rendement est susceptible d'amélioration, car on n'a pas récupéré complètement les substances radioactives présentes dans les solutions-mères.

RÉSUMÉ.

La préparation du ms-inositol-[2-¹⁴C] à partir de l'iodure de méthyle-¹⁴C ou du nitrométhane-¹⁴C a été décrite. D'après les mêmes méthodes de synthèses, on peut, si l'on dispose de glucose radioactif convenable, obtenir du ms-inositol marqué en d'autres emplacements déterminés. Des remarques ont été présentées au sujet de la désamination nitreuse des inosamines.

Genève, Laboratoires de Chimie biologique et
organique spéciale de l'Université.
Berne, Institut de Botanique de l'Université.

²⁰⁾ Cf. *Th. Posternak*, *Helv.* **19**, 1340 (1936).