

LITERATURVERZEICHNIS

- [1] *M. Lj. Mihailović, M. Dabović, Lj. Lorenc & M. Gašić*, Tetrahedron Letters 1970, 4245.
- [2] *J. Kalvoda*, Chem. Commun. 1970, 1002.
- [3] *G. Cainelli, M. Lj. Mihailović, D. Arigoni & O. Jeger*, Helv. 42, 1124 (1959); *M. Lj. Mihailović & Z. Čeković*, Synthesis 2, 209 (1970); «Oxidative Cyclisation of Alcohols with Lead Tetraacetate» in «Synthetic Routes to Cyclic Systems» (Ed. *M. F. Ansell*) Logos Press, London (in Vorbereitung).
- [4] *M. Lj. Mihailović, M. Stefanović, Lj. Lorenc & M. Gašić*, Tetrahedron Letters 1964, 1867; *M. Lj. Mihailović, Lj. Lorenc, M. Gašić, M. Rogić, A. Melera & M. Stefanović*, Tetrahedron 22, 2345 (1966); *M. Akhtar & S. Marsh*, J. chem. Soc. (C) 1966, 937.
- [5] *M. Lj. Mihailović, Lj. Lorenc, J. Foršek, H. Nešović, G. Snatzke & P. Trška*, Tetrahedron 26, 557 (1970).
- [6] *P. Ganis & J. D. Dunitz*, Helv. 50, 2379 (1967).
- [7] *J. R. Hanson & T. D. Organ*, J. chem. Soc. (C) 1970, 1065.
- [8] *T. Komeno, H. Itani, H. Iwakura & K. Nabeyama*, Chem. pharmaceut. Bull. 18, 1145 (1970).
- [9] *B. Pelc & E. Kodicek*, J. chem. Soc. (C) 1970, 1624.
- [10] *P. Striebel & Ch. Tamm*, Helv. 37, 1094 (1954).
- [11] *E. Paternò & G. Chieffi*, Gazz. chim. ital. 39, 341 (1909); *G. Buechi, Ch. G. Inmann & E. S. Lipinsky*, J. Amer. chem. Soc. 76, 4327 (1954).
- [12] *A. Schoenberg*, in «Preparative Organic Photochemistry», Springer-Verlag Berlin-Heidelberg, 1968; *J. B. Calvert & J. N. Pitts jr.*, in «Photochemistry», J. Wiley & Sons Inc., New York, N. Y. 1966; *N. J. Turro*, in «Molecular Photochemistry», W. A. Benjamin Inc. New York, N. Y. 1965; *L. L. Muller & J. Hammer*, in «1,2-Cycloaddition Reactions», Interscience Publishers, New York, N. Y. 1967.
- [13] *D. R. Arnold, R. N. Hinman & H. Glueck*, Tetrahedron Letters 1964, 1425; *N. C. Yang, M. Nussim, M. J. Jorgenson & S. Murov*, *ibid.* 1964, 1657; *L. A. Singer & P. D. Bartlett*, *ibid.* 1964, 1887; *N. J. Turro & P. A. Wriede*, J. Amer. chem. Soc. 90, 6863 (1968); 92, 320 (1970); J. org. Chemistry 34, 3562 (1969).
- [14] *S. H. Schroeter*, Chem. Commun. 1969, 12.
- [15] *G. L. Lange & M. Bosch*, Tetrahedron Letters 1971, 315.

252. De la chimie des ptérines, 37^e communication [1]
Mécanisme d'oxydation des tétrahydroptérines disubstituées
en C(6) et localisation de l'électron célibataire chez les
radicaux qui en découlent

par **M. Viscontini** et **M. Argentini**

Institut de chimie organique de l'Université, Rämistrasse 76, CH-8001 Zürich

(16 VII 71)

Résumé. ¹⁴C a été incorporé dans le groupe méthylène de la chaîne latérale de l'aminométhyl-6-méthyl-6-tétrahydro-5,6,7,8-ptérine. Oxydée à l'air dans des conditions physiologiques, cette substance fournit de l'aldéhyde formique et de la méthyl-6-ptérine radioactifs, dus respectivement à une dégradation de la chaîne latérale et à une ouverture du cycle tétrahydropyrazinique suivie de recyclisation. Cette observation est discutée au point de vue tant chimique que biologique.

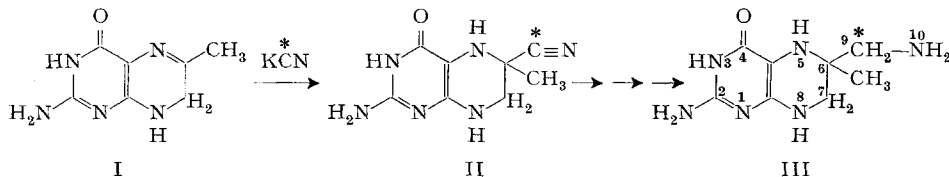
Nous avons publié deux importantes observations dans les 34^e [2] et 36^e communication [1]:

1) L'oxydation à l'air de l'aminométhyl-6-méthyl-6-tétrahydroptérine, dans des conditions physiologiques, ne conduit pas à une ptérine quinoïdique, mais bien à la

formation d'aldéhyde formique et d'ammoniac, vraisemblablement par suite de l'oxydation de la chaîne latérale aminométhylée.

2) L'oxydation, dans des conditions identiques, de l'aminométhyl-6-diméthyl-6,7-tétrahydroptérine aboutit à un mélange de diméthyl-6,7-ptérine et de méthyl-6-ptérine, vraisemblablement par ouverture oxydative du noyau tétrahydropyrazinique, suivie d'un réarrangement cyclisant de la molécule.

En vue d'obtenir une confirmation de ces hypothèses, et une explication de ces phénomènes, nous avons synthétisé la tétrahydroptérine radioactive III, marquée par ^{14}C en C(9), à l'aide du procédé décrit dans la 35^e communication [3] mais en utilisant du cyanure de potassium radioactif, selon le schéma suivant:



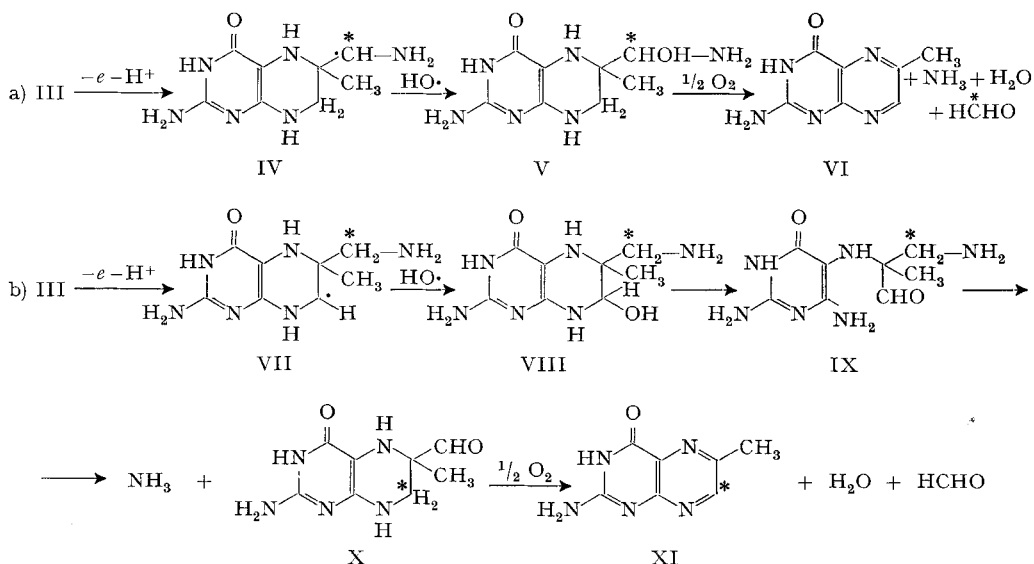
La synthèse est facilement reproductible; la radioactivité de III est chaque fois du même ordre de grandeur.

Au cours de plusieurs expériences la tétrahydroptérine radioactive III a été oxydée à l'air dans une solution tampon aux phosphates de Na et de K, pH 6,8, à 25°, en présence de dimédon pour capter les aldéhydes formés. En quatre jours l'oxydation était terminée. Il se forme chaque fois un précipité de méthyl-6-ptérine et de formaldéhyde-dimédon, radioactifs les deux. L'activité spécifique du produit d'addition formaldéhyde-dimédon représente les trois quarts environ de l'activité spécifique des molécules de ptérine III qui ont fourni ces produits de dégradation tandis que l'activité spécifique de la méthylptérine XI en représente le quart. Le carbone radioactif de la chaîne latérale se retrouve donc à peu près intégralement dans l'aldéhyde formique et dans le noyau ptérine après oxydation et réarrangement. Par conséquent et comme nous l'avions déjà supposé [1], deux réactions oxydatives doivent se dérouler parallèlement, la première sur la chaîne latérale avec une vitesse environ trois fois plus grande que celle de la seconde réaction portant sur C(7) du cycle tétrahydropyrazinique. Nous formulons comme suit ces deux réactions (p. 2289).

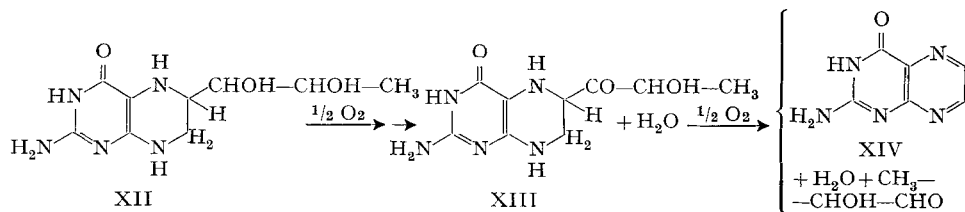
Comme l'activité radioactive totale retrouvée dans la méthylptérine et le formaldéhyde-dimédon ne représente toute fois que 40% de l'activité de la tétrahydroptérine de départ et comme les pertes résultant de la purification n'atteignent certainement pas 60%, il faut bien admettre qu'à côté de ces deux réactions d'autres se produisent que nous n'avons encore pas réussi à mettre en évidence.

Selon la formulation proposée, l'oxydation débute par la perte d'un électron puis d'un proton avec formation des radicaux IV et VII. Nous admettons dès lors que l'électron célibataire du radical trihydroptérine, initialement placé en N(5), n'est pas ensuite localisé en C(4a) comme nous l'avions postulé [4], mais que sa position dépend de la concentration en tétrahydroptérine, des substituants sur le noyau pyrazinique et du pH de la réaction.

Ces considérations jettent un jour nouveau sur des faits aussi bien chimiques que biochimiques difficilement explicables jusqu'ici. Ainsi la perte de la chaîne latérale

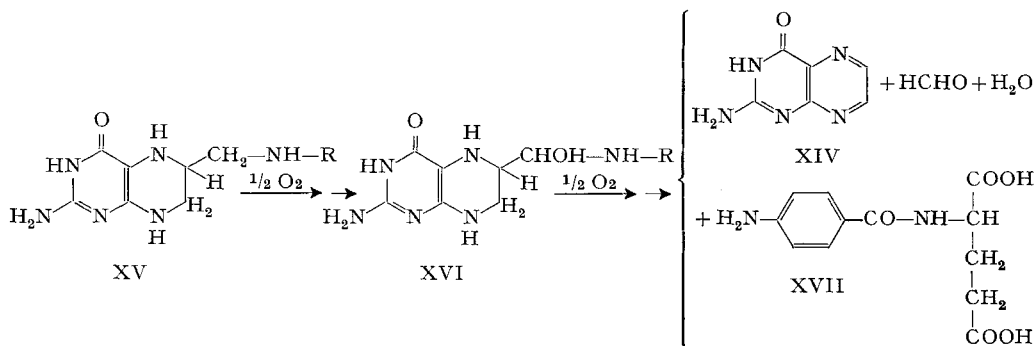


de la tétrahydrobioptérine XII [5] devient compréhensible si on admet la présence d'un électron célibataire en C(9). Après addition d'un radical HO·, la tétrahydrobio-



ptérine XII est transformée en oxotétrahydroptérine XIII puis en ptérine (XIV), avec formation d'eau et d'aldéhyde lactique.

Il en est de même pour l'oxydation de l'acide tétrahydrofolique (XV), qui conduit



tout d'abord au produit hydroxylé XVI pour aboutir à la ptérine (XIV), au formaldéhyde et à l'acide N-*p*-aminobenzoyl-glutamique (XVII) [6].

Les mesures de radioactivité ont été effectuées par M. H. Frohofer, chef du laboratoire de microanalyse de notre Institut, que nous remercions de sa collaboration. Le séjour de M. Argentini à Zurich a été rendu possible grâce à une bourse d'échange Université de Zurich – Collegio Ghislieri (Université de Pavie) et à une subvention du *Fonds National de la recherche scientifique*. Le spectrophotomètre automatique Beckman Acta III utilisé au cours de ce travail a été acquis avec des fonds de la *Fondation Legerlotz*. Que toutes ces fondations soient remerciées avec gratitude pour leur aide généreuse.

Partie expérimentale. – *Acétyl-5-cyano*[^{14}C]-6-méthyl-6-tétrahydro-5,6,7,8-ptérine: obtenue selon la synthèse déjà décrite pour le produit non radioactif [3]; on ajoute simplement aux 6 g de cyanure de potassium, 250 μCi de $\text{K}[^{14}\text{C}]\text{N}$ pour obtenir la cyanotétrahydroptérine II qu'on acétyle directement. A partir de 0,3 g de méthyl-6-dihydro-7,8-ptérine on obtient 233 mg de ptérine acétylée; activité: 21 713 dpm/mg (2,4 $\mu\text{Ci}/\text{mmole}$) soit globalement 13,7 μCi (5,5%). Pour la suite des opérations, cette ptérine acétylée a été diluée avec un poids égal de substance non marquée.

Chlorhydrate d'acétyl-5-aminométhyl[^{14}C]-6-méthyl-6-tétrahydro-5,6,7,8-ptérine. La réduction du produit précédent est effectuée comme nous l'avons décrit [3]. 180 mg de ptérine acétylée, 1,2 $\mu\text{Ci}/\text{mmole}$ (globalement 1,66 μCi), ont fourni 175 mg de chlorhydrate brut qu'on désacétyle sans autre purification.

Chlorhydrate d'aminométhyl[^{14}C]-6-méthyl-6-tétrahydro-5,6,7,8-ptérine (III). La désacétylation est effectuée comme décrite [3]. 175 mg de produit acétylé ont fourni 77 mg de chlorhydrate de tétrahydroptérine III; activité: 8152 dpm/mg (1,18 $\mu\text{Ci}/\text{mmole}$) soit globalement 0,282 μCi (17% par rapport à la ptérine acétylée de départ).

Oxydation à l'air de la tétrahydroptérine III. 70 mg de chlorhydrate de tétrahydroptérine III (1,08 $\mu\text{Ci}/\text{mmole}$ soit globalement 0,235 μCi) sont oxydés à l'air et à la température ambiante dans 25 ml d'une solution-tampon 0,1M aux phosphates de K et de Na, pH 6,8, en présence de 70 mg de dimédon. Au bout de 4 jours il s'est formé un précipité jaunâtre en suspension dans une solution jaune. La suspension est extraite à l'éther dans lequel passe une partie du précipité. L'extrait est séché sur Na_2SO_4 et évaporé sous vide. Le résidu solide, repris dans du benzène, est chromatographié sur une colonne d'alumine neutre. L'élution par le mélange benzène-acétate d'éthyle (9:1) fournit deux fractions, l'une de dimédon et l'autre de 23 mg (37%) de formaldéhyde-dimédon, F. 180–182°, radioactivité: 6035 dpm/mg (0,8 $\mu\text{Ci}/\text{mmole}$) soit globalement 0,063 μCi (26,8% de la radioactivité de départ).

La comparaison des rendements montre que le produit d'addition renferme environ 74% d'aldéhyde formique provenant du groupement méthylène radioactif et 26% de formaldéhyde provenant d'un carbone non radioactif, par conséquent localisé dans le noyau ptérinique.

La phase aqueuse extraite à l'éther est évaporée sous vide. Le résidu est repris dans une solution-tampon 0,1N de formiate d'ammonium, pH 8, puis chromatographié sur une colonne de Dowex $1 \times 8^{200}/_{400}$. Solvant d'élution: solution-tampon 0,1N de formiate d'ammonium, avec un gradient de pH variant lentement de 8 à 6. La migration de la méthylptérine XI est suivie sur la colonne à l'aide d'une lampe UV. Les fractions fluorescentes sont recueillies et évaporées sous vide. Le résidu (méthyl-6-ptérine brute) est mis en suspension dans l'eau. La ptérine, insoluble, est centrifugée, lavée à l'eau, l'éthanol, l'éther puis séchée sous vide. On obtient 18 mg (45%) de méthyl-6-ptérine (XI). Radioactivité: 3333 dpm/mg (0,27 $\mu\text{Ci}/\text{mmole}$) soit globalement 0,027 μCi (11,5% de la radioactivité du produit de départ).

La comparaison des rendements montre que la ptérine radioactive renferme 25% de ptérine marquée provenant d'un réarrangement chimique de la molécule au cours de l'oxydation, en bon accord avec la proportion trouvée de formaldéhyde non-radioactif.

Pour vérifier la pureté des 18 mg de méthyl-6-ptérine radioactive formés nous en avons chromatographié 150 μg sur papier à l'aide du mélange *n*-propanol/ammoniacal à 1% (2:1). Les bandes fluorescentes ont été découpées, éluées à l'ammoniacal diluée puis comptées. On a trouvé 426 dpm soit 8250 dpm/mg correspondant à 0,23 $\mu\text{Ci}/\text{mmole}$, en bon accord avec le résultat précédent.

BIBLIOGRAPHIE

- [1] 36e Commun.: *M. Viscontini & M. Cogoli-Greuter*, *Helv.* **54**, 1125 (1971).
 [2] *M. Viscontini & M. Argentini*, *Liebigs Ann. Chem.* **745**, 109 (1971).
 [3] *M. Viscontini, M. Frater-Schroeder & M. Argentini*, *Helv.* **54**, 811 (1971).
 [4] *M. Viscontini, H. Leidner, G. Mattern & T. Okada*, *Helv.* **49**, 1911 (1966); *A. Ehrenberg, P. Hemmerich, F. Müller, T. Okada & M. Viscontini*, *Helv.* **50**, 411 (1967); *A. Bobst*, *Helv.* **50**, 1480 (1967); *M. Viscontini & T. Okada*, *Helv.* **50**, 1845 (1967); *M. Viscontini*, *Fortschr. chem. Forsch.* **9**, 605 (1968).
 [5] *M. Viscontini & R. Provenzale*, *Helv.* **52**, 1225 (1969); *H. Rembold, H. Metzger, P. Sudershan & W. Gutensohn*, *Biochim. biophys. Acta* **184**, 386 (1969); *H. Rembold, H. Metzger & W. Gutensohn*, *ibid.* **230**, 117 (1970).

253. Über Pterinchemie

38. Mitteilung [1]

Neue Synthesen von Folsäureanalogen

von **M. Viscontini** und **J. Bieri**

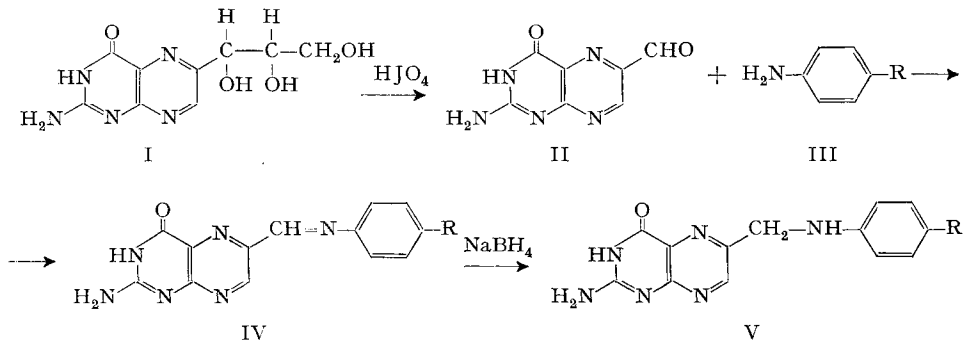
Organisch-Chemisches Institut der Universität, Rämistrasse 76, CH-8001 Zürich

(16. VII. 71)

Zusammenfassung. Eine einfache Synthese des 6-Formylpterins aus Neopterin wird beschrieben. Dieses isomerenfrei erhaltene Produkt wird als Edukt für die Herstellung von sehr reinen, isomerenfreien Folsäureanalogen verwendet. Das 6-Formylpterin wird mit *p*-Aminoaryl-Derivaten zu 6-Azomethin-pterinen kondensiert. Die $-\text{CH}=\text{N}$ -Gruppierung lässt sich dann mit NaBH_4 sehr leicht unter Bildung der entsprechenden Amino-methyl-pterinen reduzieren.

Eine kürzlich erschienene Veröffentlichung von *Plante* [2] über die Synthese von Pteroinsäure veranlasst uns, unsere Arbeiten auf ähnlichem Gebiet zu publizieren. Seit wir Neopterin und Monapterin in guter Ausbeute herstellen [3] konnten, ist von diesen Produkten ausgehend eine Reihe von 6-substituierten Pterinen leicht zugänglich geworden.

Als Schlüsselsubstanz dient 6-Formylpterin (II), welches durch Perjodatoxydation der Seitenkette von L-Neopterin (I) isomerenfrei erhalten wird; in seinen Eigenschaften stimmt es mit dem auf eindeutigen Weg synthetisierten Produkt von



III–V: a) $-\text{R} = -\text{H}$; b) $-\text{R} = -\text{CH}_3$; c) $-\text{R} = -\text{COOCH}_3$