

BBA 4089

ASPECTS ÉLECTRONIQUES DES TRANSFERTS ENZYMATIQUES  
DES GROUPES MÉTHYLES

ANNE-MARIE PERAULT ET BERNARD PULLMAN

*Université de Paris, Institut de Biologie Physico-Chimique, 13 rue Pièrre Curie, Paris (France)*

(Reçu le 22 janvier, 1963)

## SUMMARY

*Electronic aspects of enzymic methyl-transfer reactions*

The electronic aspects of the mechanism of enzymic methyl-transfer reactions have been investigated by the molecular-orbital method of quantum chemistry. It is shown that the site and the ease of O- and N-methylation of conjugated molecules are determined essentially by the value of the electronic charge of the susceptible O or N atoms. The ease of oxidative demethylation of the corresponding alkylated derivatives is determined essentially by the value of the net positive charge of the O atom carrying the methyl substituent. The mechanism of the enzymic methyl-transfer reactions bears thus a striking analogy, from the electronic point of view, to the mechanism of transfer of one-carbon units by folic acid coenzymes or of two-carbon units by acetyl transferases.

## INTRODUCTION

Un grand nombre de transformations biochimiques résultent du transfert direct d'un groupe méthyle de la S-adenosylméthionine (I) à l'oxygène, à l'azote ou encore au carbone secondaire d'un substrat susceptible d'être méthylé dans le système enzymatique envisagé. Un autre cofacteur de transméthylation vient d'être très récemment formulé par JAENICKE<sup>1</sup> comme étant l'acide N<sub>5</sub>-méthyl-7,8-dihydrofolique (II). Ces deux coenzymes sont des sels ioniques dans lesquels le groupe méthyle est lié à un hétéroatome chargé positivement; très vraisemblablement<sup>2-4</sup>, un tel arrangement structural confère aux composés l'énergie intramoléculaire nécessaire à la labilisation de l'ion CH<sub>3</sub><sup>+</sup>. Selon le type de réaction enzymatique, le groupe méthyle peut se substituer à un hydrogène (ce qui se produit, par exemple, lors de la transformation d'une aminopurine en son homologue monométhylamine<sup>5,6</sup> ou d'un diphenol en méthoxyphénol<sup>7</sup>), ou s'ajouter à un azote secondaire avec, comme conséquence, sa quaternisation (lors de la méthylation, par exemple, d'une pyridine en ion N-méthylpyridinium)<sup>8</sup>.

Par analogie avec les réactions de transformylation<sup>9</sup> et de transacétylation<sup>10</sup> dont nous avons étudié récemment le mécanisme en fonction des propriétés électroniques des systèmes intervenant comme accepteurs ou donneurs de l'unité carbonée labile, nous nous intéresserons ici tout spécialement aux réactions de transméthylation au

cours desquelles le groupe méthyle se substitue à un atome d'hydrogène et se fixe sur un hétéroatome intégré à un système conjugué. Toutes les caractéristiques des composés que nous étudierons dans cet article, ont été obtenues par les calculs quantiques basés sur la méthode des orbitales moléculaires<sup>11</sup>.

## RÉSULTATS

### La O-méthylation

Les deux principaux systèmes d'enzyme qui catalysent la O-méthylation sont la catéchol-O-méthyl transférase et l'indole-O-méthyl transférase. Ces deux enzymes transfèrent le groupe méthyle de la S-adénosylméthionine à un groupe hydroxyle du substrat. Les premières colonnes du Tableau I présentent un bref résumé des principales données expérimentales que nous pouvons énoncer comme suit:

(1) Le catéchol (V), les trois bases sympathomimétiques<sup>7,12,13</sup> (VI a, b, c) ainsi que toute une série de catéchols *méto*-substitués soit par un groupement saturé<sup>7</sup> (VII a, b) soit par une fonction acide<sup>7,14</sup> (VIII a, b, c) sont O-méthylés *in vivo* et *in vitro*, à pH physiologique, quasi-exclusivement sur leur groupe *méto*-hydroxyle.

(2) Les catéchols *méto*-substitués par une fonction cétonique<sup>17,18</sup> (X a, b, c, d) sont monométhylés *in vivo* et *in vitro* à pH physiologique à la fois sur le groupe *méto*-hydroxyle et sur le groupe *para*-hydroxyle, cette dernière O-méthylation pouvant représenter *in vitro* jusqu'au 40 % de la méthylation totale. Selon SENOH *et al.*<sup>19</sup>, la formation de deux isomères monométhylés résulte du caractère acide assez accusé ( $pK_a$  7.4) des groupements hydroxyles de ces cétones 3,4-dihydroxyphénoliques. Ces composés existent ainsi, au pH physiologique, en équilibre entre deux formes ioniques différentes: d'une part, la forme monoanionique dans laquelle le groupe *para*-hydroxyle est déprotonisé et qui se O-méthyle en *para* et d'autre part, la forme neutre qui se O-méthyle préférentiellement en *méto*.

(3) Outre ces *ortho*-diphénols, la catéchol-O-méthyl transférase accepte comme substrat un certain nombre de triphénols<sup>20-22</sup> tels que le pyrogallol (XII) et ses monoacides correspondants (XIII, XIV). Tous ces triphénols sont monométhylés, enzymatiquement et chimiquement, sur leur fonction hydroxyle centrale. Il en va de même pour les dérivés du pyrogallol dont l'une des deux fonctions hydroxyles latérales est méthylée; c'est ainsi que l'éther 1-monométhylque du pyrogallol<sup>23</sup> et l'éther 3-monométhylque de l'acide gallique<sup>20</sup> sont respectivement transformés en 2,3-diméthoxyphénol et en acide 3,4-diméthoxy-5-hydroxybenzoïque. La réactivité de ces dérivés du pyrogallol contraste avec la non-réactivité des isomères mono-méthylés sur leur fonction hydroxyle centrale.

(4) Agissant compétitivement avec les deux catécholamines hormonales essentielles (l'épinéphrine (VI c) et la norépinéphrine (VI b)), la plupart des composés polyhydroxylés précédemment cités ainsi que des composés phénoliques plus complexes tels que l'adnamine (XV) inhibent la O-méthylation des substrats<sup>24,25</sup>. De l'ensemble des données expérimentales reproduites dans le Tableau I, il apparaît que le pyrogallol et ses dérivés sont de meilleurs inhibiteurs que les *ortho*-diphénols.

(5) Ni le phénol (III), ni ses dérivés substitués tels que la tyrosine (IV a) et la tyramine (IV b) ne sont substrats ou inhibiteurs de la catéchol-O-méthyl transférase<sup>7</sup>. De même, aucun des *méto*-diphénols expérimentés *in vitro* ne sont O-méthylés<sup>15</sup>.

(6) De toutes les monohydroxytryptamines isomères, seule la 5-hydroxytrypt-

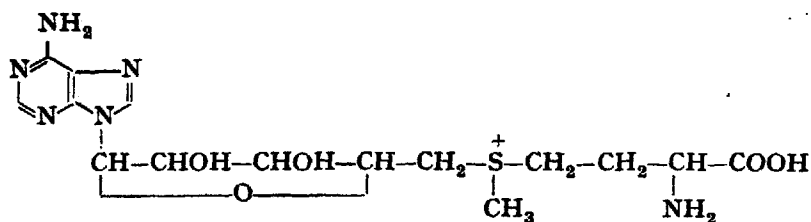
TABEAU I  
LES O-MÉTHYLATIONS ENZYMATIQUES

Composés hydroxylés (formules de la Fig. 1)	Caractéristiques expérimentales de la O-méthylation		Acidité du OH le plus acide		Caractéristiques électroniques des groupes OH		
	Facilité et position	Inhibition de	pK <sub>a</sub>	Position	Position***	Charge nette	Valeur libre
<b>Monophénols</b>							
III	aucune O-méthylation		10.0 <sup>a</sup>			+0.076	1.134
IV a, b	aucune O-méthylation	0	10.07 <sup>b</sup>			+0.076	1.134
<b>Diphénols</b>							
IX a, b, c	aucune O-méthylation		9.4 <sup>a</sup>			+0.076	1.133
V	<i>in vivo</i> et <i>in vitro</i> (pH 6-8)	1	9.4 <sup>a</sup>			+0.071	1.148
VI a, b; VII a, b	quasi exclusivement					+0.071	1.149
VIII a, b, c	en <i>méta</i> -OH				<i>méta</i>		
VI c			9.9 <sup>b</sup>		<i>para</i>	+0.074	1.140
X d	<i>in vivo</i> , surtout <i>méta</i> -OH;		7.4 <sup>c</sup>		<i>méta</i>	+0.071	1.148
X b, c	<i>in vitro</i> , à pH < 6: <i>méta</i> -OH						
X a	et à pH > 8: <i>para</i> -OH	9					
XI	<i>in vivo</i> : OH en 8				<i>para</i>	+0.075	1.140
<b>Triphénols</b>							
XII					4	+0.089	1.105
XIII					8	+0.083	1.122
XIV	enzymatiquement et	16	98-100		<i>ortho</i>	+0.071	1.149
éther 3-méthylrique de XIV	chimiquement exclusivité		7.0 <sup>a</sup>		<i>méta</i>	+0.066	1.163
éther 1-méthylrique de XII	du OH central	10			<i>para</i>	+0.071	1.149
éther 4-méthylrique de XIV					<i>méta</i>	+0.069	1.156
XV	aucune O-méthylation				<i>para</i>	+0.070	1.149
<b>Hydroxyindoles</b>					<i>para, ortho</i>	+0.070	1.150
XVI d		68			2,7	+0.071	1.148
XVI a	enzymatiquement <i>in vitro</i>				3,6	+0.075	1.143
XVI b	XVI d est plus active				5	+0.137	1.045
XVI c	que les autres isomères				2	+0.158	1.008
					4	+0.158	1.016
					6	+0.143	1.036

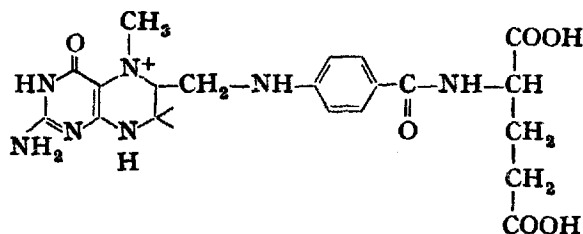
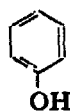
\* Les valeurs numériques, extraites de la réf. 24, se rapportent au pouvoir inhibiteur relatif des polyphénols dans la O-méthylation de l'épinéphrine, le pouvoir inhibiteur du catéchol étant pris pour unité.

\*\* Les valeurs numériques, extraites de la réf. 25, représentent le pourcentage d'inhibition de la O-méthylation de la norépinéphrine par une série de composés polyphénoliques.

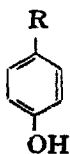
\*\*\* La position soulignée désigne la position du groupe hydroxyle dont le doublet électronique est le moins délocalisé.<sup>a</sup> Donnée extraite de la réf. 28. b Donnée extraite de la réf. 29. c Donnée extraite de la réf. 19. d Position que préconise à la fois les données expérimentales<sup>19</sup> et les résultats théoriques liés à la variation d'énergie associée à la déprotonisation du groupe hydroxyle, résultats évalués selon le procédé mis au point par NAKAJIMA ET PULLMAN<sup>30</sup>. e Position déterminée selon la méthode de calcul précédemment définie<sup>30</sup>.



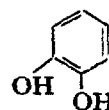
I. S-Adénosylméthionine

II. Acide  $N_5$ -méthyl-7,8-dihydrofolique

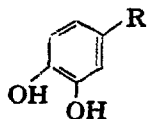
III. Phénol

IVa. *p*-Tyrosine  
IVb. *p*-Tyramine

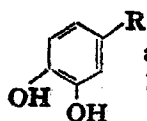
a:  $R = \text{CH}_2\text{CH}(\text{NH}_2)\text{COOH}$   
b:  $R = \text{CH}_2\text{CH}_2\text{NH}_2$



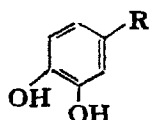
V. Cathéchol

VI a. Épinéphrine  
VI b. Norépinéphrine  
VI c. Dopamine

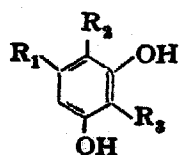
a:  $R = \text{CH}(\text{OH})\text{CH}_2\text{NHCH}_3$   
b:  $R = \text{CH}(\text{OH})\text{CH}_2\text{NH}_2$   
c:  $R = \text{CH}_2\text{CH}_2\text{NH}_2$

VII a. 3,4-Dihydroxyamphétamine  
VII b. 3,4-Dihydroxyéphédrine

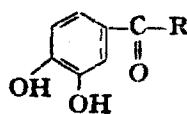
a:  $R = \text{CH}_2\text{CH}(\text{NH}_2)\text{CH}_3$   
b:  $R = \text{CH}(\text{OH})\text{CH}(\text{CH}_3)\text{NHCH}_3$

VIII a. Acide 3,4-dihydroxybenzoïque  
VIII b. Acide homoprotocatéchique  
VIII c. Acide 3,4-dihydroxymandélique

a:  $R = \text{COOH}$   
b:  $R = \text{CH}_2\text{COOH}$   
c:  $R = \text{CH}(\text{OH})\text{COOH}$

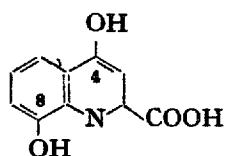
IX a. Acide 2,4-dihydroxybenzoïque  
IX b. Acide 2,6-dihydroxybenzoïque  
IX c. Acide 3,5-dihydroxybenzoïque

a:  $R_1 = R_3 = \text{H}; R_2 = \text{COOH}$   
b:  $R_1 = R_2 = \text{H}; R_3 = \text{COOH}$   
c:  $R_2 = R_3 = \text{H}; R_1 = \text{COOH}$

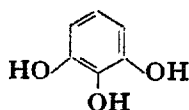
X a. 3,4-Dihydroxybenzaldéhyde  
X b. Artérénone  
X c. Adrénalone  
X d. 3,4-Dihydroxyacétophénone

a:  $R = \text{H}$   
b:  $R = \text{CH}_2\text{NH}_2$   
c:  $R = \text{CH}_2\text{NHCH}_3$   
d:  $R = \text{CH}_3$

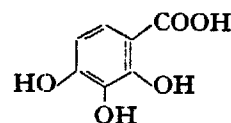
Fig. 1.



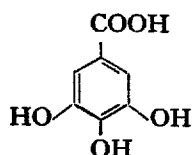
XI. Acide xanthurénique



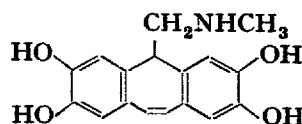
XII. Pyrogallol



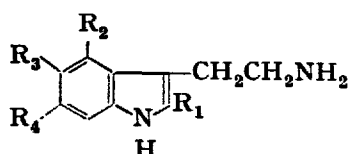
XIII. Acide 2,3,4-trihydroxybenzoïque



XIV. Acide gallique



XV. Adnamine



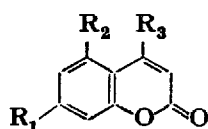
- a:  $R_1 = \text{OH}$ ;  $R_2 = R_3 = R_4 = \text{H}$   
 b:  $R_2 = \text{OH}$ ;  $R_1 = R_3 = R_4 = \text{H}$   
 c:  $R_4 = \text{OH}$ ;  $R_1 = R_2 = R_3 = \text{H}$   
 d:  $R_3 = \text{OH}$ ;  $R_1 = R_2 = R_4 = \text{H}$

XVI a. 2-Hydroxytryptamine

XVI b. 4-Hydroxytryptamine

XVI c. 6-Hydroxytryptamine

XVI d. 5-Hydroxytryptamine ou sérotonine



- a:  $R_2 = R_3 = \text{H}$ ;  $R_1 = \text{OH}$   
 b:  $R_1 = R_2 = \text{OH}$ ;  $R_3 = \text{CH}_3$

XVII a. 7-Hydroxycoumarine ou umbelliférone

XVII b. 5,7-Dihydroxy-4-méthylcoumarine

Fig. 1. Nomenclature et structures des composés divers.

amine (ou sérotonine (XVI d)) et surtout son homologue N-acétylé sont O-méthylés par l'indole-O-méthyl transférase<sup>26</sup>.

(7) Enfin, l'acide xanthurénique (XI) est excrété dans les urines sous la forme de son éther 8-monométhylque<sup>27</sup>.

L'ensemble de ces phénomènes s'interprète d'une façon très satisfaisante à partir des indices de la structure électronique des groupes hydroxyles qui sont susceptibles de subir la réaction de O-méthylation. Ces indices figurent dans les dernières colonnes du Tableau I et nous pouvons en déduire la règle suivante:

La O-méthylation d'un composé hydroxylé aromatique dont aucun des substituants hydroxyles n'est déprotonisé se produit sur l'oxygène du groupe hydroxyle dont le doublet électronique est le moins délocalisé et cette réaction se fait d'autant plus facilement que la délocalisation de ce doublet électronique est plus faible. Le doublet électronique (ou paire libre) de l'oxygène de chacune des fonctions hydroxyles des composés étudiés se conjugue avec le noyau aromatique et son degré de délocalisation s'évalue à partir de la valeur de la charge nette positive et de la valeur de l'indice de la valence libre qui caractérisent l'oxygène: à une faible délocalisation du doublet sont associés une faible charge nette positive et un fort indice de valence libre. L'existence d'un antiparallélisme entre les valeurs relatives de ces deux indices

structuraux nous permet, comme dans le cas des arylamines<sup>10</sup>, de comparer tous les composés hydroxylés d'après le degré de conjugaison du doublet libre de leur oxygène, c'est-à-dire d'après leur aptitude à réagir vis à vis d'un réactif électrophile tel que  $\text{CH}_3^+$ .

La relation qui existe entre la position de la O-méthylation des composés hydroxylés du Tableau I et le degré de conjugaison du doublet des oxygènes est évidente. En ce qui concerne la facilité avec laquelle s'opère la O-méthylation, ces mêmes caractéristiques de doublet électronique permettent, la position réactive étant justifiée, de rendre compte de:

(a) La non-réactivité des monophénols et des *méto*-diphénols (IX) (la délocalisation du doublet électronique de leurs oxygènes étant supérieure à celle du doublet des oxygènes actifs dans les dérivés du catéchol et du pyrogallol).

(b) La réactivité privilégiée de la sérotonine, comparée à celle de ses isomères.

(c) La O-méthylation de l'éther 3-monométhylque de l'acide gallique et la non-méthylation de son isomère 4-monométhylque.

(d) Enfin, l'activité inhibitrice des composés phénoliques dans l'ordre décroissant suivant: pyrogallol > adnamine > catéchol > phénol.

Nous ne pouvons cependant pas rendre compte, à partir de ces indices, des pouvoirs inhibiteurs relatifs du catéchol (V) et l'artérénone<sup>24</sup> (X b). Ceci nous amène à énoncer la règle complémentaire suivante: La O-méthylation d'un composé hydroxylé aromatique dont l'une des fonctions hydroxyles est ionisée se produit sur le groupe ionisé. Un procédé de calcul, mis au point au laboratoire<sup>30</sup>, nous permet de prévoir, dans les composés aromatiques analogues à ceux que nous étudions ici, la position du groupe hydroxyle le plus facilement ionisable. Si cette méthode de calcul ne fait que confirmer, dans le cas des catéchols substitués (V  $\rightarrow$  VIII, X) les conclusions tirées des données expérimentales, elle permet de prévoir une déprotonisation préférentielle de l'hydroxyle central des pyrogallols (XII  $\rightarrow$  XIV). Ainsi donc, que ces pyrogallols agissent sous une forme neutre ou sous une forme monoionique, la méthylation doit se produire toujours sur la fonction hydroxyle centrale. De plus, un hydroxyle déprotonisé étant plus réactif vis à vis d'un  $\text{CH}_3^+$  qu'un hydroxyle neutre, l'importance du pouvoir inhibiteur du pyrogallol (XII) et de l'artérénone (X b) tient très vraisemblablement au fait que ces composés ont un caractère acide beaucoup plus accusé que le catéchol (V) ou le phénol (III).

### N-méthylations

Outre ces O-méthylations, la S-adénosylméthionine (I) catalyse une série de N-méthylations enzymatiques<sup>31-34</sup>. Nous nous intéresserons tout particulièrement ici aux N-méthylations qui consistent à substituer l'hydrogène lié à un azote par le groupe méthyle. L'examen des données disponibles montre qu'au cours de ces N-méthylations, le substrat qui possède plusieurs fonctions aminées extracycliques (non protonisées dans les conditions de l'expérience) se méthyle sur le groupe amine dont le doublet électronique de l'azote est le moins délocalisé (charge nette la plus faiblement positive, indice de valence libre le plus élevé) et sa méthylation s'effectue d'autant mieux que la délocalisation du doublet libre de l'azote réactif est moins accentuée. Les caractéristiques de la méthylation des aminopurines par la S-adénosylméthionine (I) en présence de *E. coli*<sup>5,6</sup> (Tableau II) illustrent cet énoncé: méthylation préférentielle de la fonction 2-amine des diaminopurines, non-réactivité de l'adénine

TABLEAU II  
LES MÉTHYLATIONS ENZYMATIQUES DES GROUPES AMINÉS

Purines	N-Méthylpurines synthétisées (μmoles)*	Caractéristiques structurales des groupes aminés		
		Position**	Charge nette	Indice de valence libre
2,6-Diaminopurine	0.423	$\left\{ \begin{array}{c} 2 \\ 6 \end{array} \right.$	+0.171 +0.190	0.978 0.959
2-Aminopurine	0.250	2	+0.171	0.979
2,6-Diamino-8-azapurine	0.110	$\left\{ \begin{array}{c} 2 \\ 6 \end{array} \right.$	+0.176 +0.198	0.971 0.948
6-Aminopurine	< 0.002	6	+0.190	0.960
2-Amino-6-hydroxypurine		2	+0.197	0.933

\* Données extraites de la réf. 6.

\*\* La position soulignée indique le lieu de la N-méthylation.

et de la guanine comparée à la réactivité de la 2,6-diaminopurine et de la 2-aminopurine.

Les quelques remarques complémentaires suivantes peuvent être faites:

(1) Ces N-méthylations sont comparables aux réactions d'échange de base catalysées par la DPNase (ou cozymase) et par la thiaminase, réactions qui peuvent être assimilées, comme le note DAVIS<sup>35</sup>, à des transferts enzymatiques de groupe méthyle substitué. Il est intéressant de remarquer que, comme dans les transferts d'acétyle<sup>10</sup>, l'effet activateur de l'aniline et ses dérivés nitrés sur la thiamine<sup>36</sup> (aniline > *méto*-nitroaniline > *para*-nitroaniline > *ortho*-nitroaniline) augmente lorsque diminue le degré de conjugaison de doublet libre de l'azote de la fonction amine.

(2) Nous n'étudierons pas ici en détail les N-méthylations d'azotes cycliques non protonisés telles que, par exemple, la méthylation de l'acide adénylique<sup>37</sup>, de la guanine<sup>38</sup>, des pyrimidines<sup>39,40</sup> et des ptéridines<sup>18,41</sup> qui sont des réactions d'addition, le groupe CH<sub>3</sub><sup>+</sup> se liant à l'azote par l'intermédiaire du doublet ionisé de cet hétéroatome. Rappelons toutefois que la méthode de NAKAJIMA et PULLMAN<sup>42-44</sup> indique que la N-méthylation nucléaire des purines, pyrimidines et ptéridines se fait toujours sur l'azote dont le doublet libre est le plus facilement ionisable, c'est-à-dire sur l'azote le plus basique. De plus, une corrélation semble exister entre la facilité avec laquelle se fait cette N-méthylation et la grandeur de la force basique de la position réactive: par exemple la seule diaminopyrimidine non N-méthylée dans le système de BROWN ET JACOBSEN<sup>40</sup> est la 2,4-diamino-6-hydroxypyrimidine, dont le pK<sub>a</sub> est très faible (pK<sub>a</sub> = 3.33).

(3) Enfin, si la forme active de l'acide folique en tant que cofacteur de méthylation de la S-adénosylhomocysteine en S-adénosylméthionine est l'acide N<sub>5</sub>-méthyl-7,8-dihydrofolique (II), le groupe méthyle serait lié à l'azote N<sub>5</sub>, position que nos calculs préconisent être le plus fort centre basique du squelette ptérique de l'acide 7,8-dihydrofolique<sup>44</sup>.

### C-méthylation

Il existe aussi de nombreux cas de C-méthylations parmi lesquels nous pouvons citer la méthylation non-enzymatique de la 2,4-diamino-6-hydroxypyrimidine<sup>40</sup> et

de l'acide barbiturique<sup>45</sup> sur leur C-5, la méthylation du pyrogallol (XII) en 2-méthoxy-6-méthyl-1,3-diphénol<sup>46</sup> et, enfin, la C-méthylation de l'umbelliférone (XVII a) et de la 5,7-dihydroxy-4-méthylcoumarine (XVII b) en position 8 et 6 respectivement.

Ajoutant à l'examen des diagrammes de répartition des charges nettes de la Fig. 2 que les C-5 de la 2,4-diamino-6-hydroxypyrimidine et de l'acide barbiturique possèdent des charges nettes de  $-0.185e$  et  $-0.313e$  respectivement, nous constatons que la C-méthylation a lieu sur des carbones excédentaires en électrons  $\pi$ . Nous voyons aussi que, dans le cas où plusieurs carbones sont *a priori* susceptibles d'être méthylés, la réaction s'effectue sur le carbone caractérisé par la charge nette négative la plus élevée.

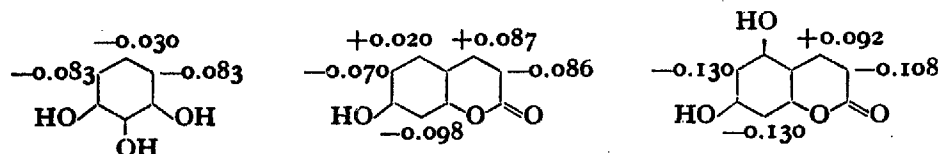


Fig. 2. Diagrammes de répartition des charges nettes sur les carbones secondaires.

### Les O- et N-déméthylations

Les composés biochimiques susceptibles d'agir efficacement comme donneurs de méthyle sont des sels ioniques. Le mécanisme de fonctionnement de ces composés riches en énergie a été étudié par WOOLLEY<sup>2</sup>, KALCKAR<sup>3</sup> et très récemment par CANTONI<sup>4</sup>. Les O-, N- et C-méthylations qui nous ont tout spécialement intéressés sont des réactions de substitution au cours desquelles le substrat méthylé formé est globalement neutre et, de ce fait, incapable d'agir comme donneur de méthyle en présence de transméthylase. La déméthylation des N-méthylamines et des O-méthylphénols est catalysée par un système d'enzymes localisé dans les microsomes du foie et nécessite la présence de TPNH et de l'oxygène. Il s'agit alors d'une déméthylation oxydative accompagnée de la libération d'une molécule de formaldéhyde; la formation intermédiaire d'un dérivé N- ou O-hydroxyméthylé est la voie d'oxydation la plus fréquemment admise<sup>48</sup>. Les données expérimentales relatives à la déméthylation oxydative des composés N-méthylés tels que l'aminopurine<sup>49</sup> ou les dérivés du 4-diméthylazobenzène<sup>50</sup> ne sont pas assez précises pour faire l'objet d'une interprétation théorique. En ce qui concerne la déméthylation oxydative des dérivés O-méthylés, nous pouvons constater que leur déméthylation oxydative semble se produire d'autant plus aisément que le doublet électronique de l'oxygène méthylé est plus conjugué avec le noyau aromatique. C'est ainsi que les catéchols *para*-O-méthylés dont l'oxygène substitué possède une charge nette de  $+0.106e$  sont, *in vitro* et *in vivo* plus rapidement déméthylés que leurs isomères *mé*ta-O-méthylés<sup>18</sup> dont l'oxygène a une charge nette de  $+0.102e$ . Les anisoles substituées sont aussi déméthylées en phénols *in vivo* et *in vitro*; la vitesse de cette O-déméthylation oxydative varie considérablement avec la nature des substituants.

Nous avons reproduit dans le Tableau III les principales données expérimentales relatives à cette O-déméthylation oxydative. Le parallélisme entre le degré de conjugaison du doublet de l'oxygène, d'une part et la vitesse de déméthylation d'autre part est assez satisfaisant.

Il est à remarquer que, si on introduit l'hyperconjugaison du groupe méthyle, les liaisons O-CH<sub>3</sub> et N-CH<sub>3</sub> ne sont pas bipositives, au sens où la bipositivité a été



TABLEAU III  
LES O-DÉMÉTHYLATIONS ENZYMATIQUES

Substituants de l'anisole en para	Formaldéhyde formé*	Vitesse de formation du phénol**	Caractéristiques électroniques de $OCH_3$		
			Charge nette de O	Valence libre de O	Charge nette de C
$C\equiv N$	200	0.24	+0.114	0.942	-0.036
$NO_2$		0.13	+0.115	0.942	-0.036
$CH=O$	155		+0.111	0.949	-0.036
Cl		0.10	+0.108	0.955	-0.035
$CH_2NH_2$	50		+0.107	0.955	-0.035
$CH=CH-CH_3$	33		+0.109	0.955	-0.035
$CH_3$		0.08	+0.106	0.961	-0.035
H	6		+0.107	0.957	-0.035

\* Données extraites de la réf. 51.

\*\* Données extraites de la réf. 52.

définie par PULLMAN ET PULLMAN<sup>53</sup>; le carbone du groupe méthyle porte, en effet, une charge nette légèrement négative et, de ce fait, diffère des carbones des groupes formyl ou acétyle qui, dans les composés donneurs de ces unités carbonées, sont chargés positivement<sup>9,10</sup>.

#### CONCLUSION

Cette étude nous a permis de mettre en évidence les facteurs électroniques qui président au mécanisme de la méthylation et de la déméthylation des systèmes conjugués. L'intérêt des résultats obtenus est double. Il tient, tout d'abord, à la place importante qu'occupent les réactions de méthylation dans l'ensemble des processus de transformations biochimiques et, en particulier, dans le métabolisme des drogues. On peut envisager, par exemple, une application pratique de ces résultats à l'évaluation du pouvoir inhibiteur compétitif des composés pharmaceutiques conjugués envers la méthylation des catéchols hormonales, inhibition qui a pour effet direct de susciter une carence de substrats appropriés pour la monoamine oxydase.

Le second intérêt provient de ce que, lorsque la méthylation est une réaction de substitution, les facteurs électroniques qui sont responsables de cette réaction sont très semblables à ceux qui président à l'acétylation ou à la formylation des composés accepteurs de ces unités carbonées. La seule différence importante, du point de vue électronique, entre les réactions de méthylation d'une part et celles d'acétylation ou de formylation d'autre part, tient dans la structure des composés donneurs de ces unités carbonées: la liaison impliquant ces unités est bipositive dans les donneurs d'acétyle ou de formyle, elle ne l'est pas dans les donneurs du méthyle.

#### REMERCIEMENT

Ce travail a bénéficié d'une subvention du U.S. Public Health Service (National Cancer Institute) No. CY 3073.

## RÉSUMÉ

Les aspects électroniques du mécanisme des transferts enzymatiques des groupes méthyles ont été étudiés à l'aide de la méthode des orbitales moléculaires de la Chimie Quantique. On montre que l'emplacement et la facilité de O- et N-méthylation des molécules conjuguées sont déterminés essentiellement par la charge électronique des atomes de O et N. La facilité de déméthylation oxydative des dérivés alcoylés correspondants est déterminée essentiellement par la charge positive nette de l'atome de O et N sur lesquels est fixé le groupe alcoyle. Le mécanisme de transfert enzymatique des groupes méthyles est donc régi par des facteurs analogues à ceux qui gouvernent le mécanisme de transfert des groupes monocarbonés par les coenzymes de l'acide folique ou des groupes bicarbonés par les acétyltransférases.

## RÉFÉRENCES

- <sup>1</sup> L. JAENICKE, dans A. O. S. DE RENCK ET M. O'CONNOR, *Mechanism of Action of Water-soluble Vitamins*, Churchill, London, 1961, p. 38.
- <sup>2</sup> D. W. WOOLLEY, *Nature*, 171 (1953) 323.
- <sup>3</sup> H. KALCKAR, dans W. D. McELROY ET B. GLASS, *The Mechanism of Enzyme Action*, Johns Hopkins, Baltimore, 1954, p. 675.
- <sup>4</sup> C. L. CANTONI, dans M. F. WIKIN ET H. S. MASON, *Comparative Biochemistry*, Vol. 1, Academic Press, New York-London, 1960, p. 181.
- <sup>5</sup> C. N. REMY, *Federation Proc.*, 16 (1957) 937.
- <sup>6</sup> C. N. REMY, *J. Biol. Chem.*, 234 (1959) 1485.
- <sup>7</sup> J. AXELROD ET R. TOMCHICK, *J. Biol. Chem.*, 233 (1958) 702.
- <sup>8</sup> G. L. CANTONI, *J. Biol. Chem.*, 189 (1951) 203; 745.
- <sup>9</sup> A. M. PERAULT ET B. PULLMAN, *Biochim. Biophys. Acta*, 44 (1960) 251.
- <sup>10</sup> A. M. PERAULT ET B. PULLMAN, *Biochim. Biophys. Acta*, 66 (1963) 86.
- <sup>11</sup> A. PULLMAN ET B. PULLMAN, *Quantum Biochemistry*, Wiley, New York, sous presse.
- <sup>12</sup> J. AXELROD, S. SENOH ET B. WITKOP, *J. Biol. Chem.*, 233 (1958) 697.
- <sup>13</sup> J. AXELROD, *Physiol. Rev.*, 39 (1959) 751.
- <sup>14</sup> K. N. SHAW, A. McMILLAN ET M. D. ARMSTRONG, *J. Biol. Chem.*, 226 (1957) 255.
- <sup>15</sup> M. S. MASRI, A. N. BOOTH ET F. DEEDS, *Biochim. Biophys. Acta*, 65 (1962) 495.
- <sup>16</sup> D. J. BROWN ET N. W. JACOBSEN, *Tetrahedron Letters*, 25 (1960) 17.
- <sup>17</sup> S. SENOH, J. W. DALY, J. AXELROD ET B. WITKOP, *J. Am. Chem. Soc.*, 81 (1959) 6240.
- <sup>18</sup> J. W. DALY, J. AXELROD ET B. WITKOP, *J. Biol. Chem.*, 235 (1960) 1155.
- <sup>19</sup> S. SENOH, Y. TOKUYAMA ET B. WITKOP, *J. Am. Chem. Soc.*, 84 (1962) 1719.
- <sup>20</sup> A. N. BOOTH, M. S. MASRI, D. J. ROBBINS, O. H. EMERSON, F. T. JONES ET F. DEEDS, *J. Biol. Chem.*, 234 (1960) 3014.
- <sup>21</sup> R. R. SCHELIN, *Nature*, 195 (1962) 904.
- <sup>22</sup> A. N. BOOTH, D. J. ROBBINS ET F. DEEDS, *J. Nutr.*, 75 (1960) 104.
- <sup>23</sup> S. ARCHER, A. ARNOLD, R. K. KULLNIG ET D. W. WYLYC, *Arch. Biochem. Biophys.*, 87 (1960) 153.
- <sup>24</sup> S. UDENFRIEND, C. R. CREVELING, H. OGAKI, J. W. DALY ET B. WITKOP, *Arch. Biochem. Biophys.*, 84 (1959) 249.
- <sup>25</sup> D. W. WYLYC, S. ARCHER ET A. ARNOLD, *J. Pharmacol. Exptl. Therap.*, 130 (1960) 239.
- <sup>26</sup> J. AXELROD ET H. WEISSBACH, *J. Biol. Chem.*, 236 (1961) 211.
- <sup>27</sup> J. K. ROY, J. M. PRICE ET R. R. BROWN, *J. Biol. Chem.*, 236 (1961) 145.
- <sup>28</sup> L. F. FIESER ET M. FIESER, *Advanced Organic Chemistry*, Reinhold, New York, 1967, p. 744.
- <sup>29</sup> D. C. ELLIOTT, W. H. ELLIOTT ET M. K. JONES, dans R. M. C. DAWSON, *Data for Biochemical Research*, Oxford Clarendon Press, Oxford, 1959, p. 26.
- <sup>30</sup> T. NAKAJIMA ET B. PULLMAN, *Bull. Soc. Chim. France*, (1959) 663.
- <sup>31</sup> D. D. BROWN, R. TOMCHICK ET J. AXELROD, *J. Biol. Chem.*, 234 (1959) 2948.
- <sup>32</sup> R. McMANUS, *J. Biol. Chem.*, 237 (1962) 1207.
- <sup>33</sup> P. N. MAGEE ET E. FARBER, *Biochem. J.*, 83 (1962) 114.
- <sup>34</sup> J. A. SKETOL, E. I. ANDERSON ET S. WEISS, *J. Biol. Chem.*, 233 (1958) 425.
- <sup>35</sup> R. R. SEALOCK ET N. C. DAVIS, *J. Biol. Chem.*, 177 (1949) 987.
- <sup>36</sup> A. FUJITA, Y. NOSA, S. KOSUKA, T. TASHIRO, Y. NEDA ET S. SAKAMOTO, *J. Biol. Chem.*, 196 (1952) 289.
- <sup>37</sup> G. M. TIMMIS, *Biochem. Pharmacol.*, 4 (1960) 49.
- <sup>38</sup> P. D. LAWLEY, *Biochim. Biophys. Acta*, 26 (1957) 450.

- <sup>39</sup> J. P. SCANNELL, A. M. CRESTFIELD ET R. W. ALLEY, *Biochim. Biophys. Acta*, 32 (1959) 406.
- <sup>40</sup> D. J. BROWN ET N. W. JACOBSEN, *J. Chem. Soc.*, (1962) 3172.
- <sup>41</sup> D. J. BROWN ET N. W. JACOBSEN, *J. Chem. Soc.*, (1960) 1978.
- <sup>42</sup> T. NAKAJIMA ET A. PULLMAN, *J. Chim. Phys.*, 55 (1958) 793.
- <sup>43</sup> B. PULLMAN ET A. PULLMAN, *Rev. Mod. Phys.*, 32 (1960) 428.
- <sup>44</sup> A. M. PERAULT ET B. PULLMAN, *Biochim. Biophys. Acta*, 52 (1961) 266.
- <sup>45</sup> B. GONRAD ET R. GUTHZEIT, *Chem. Ber.*, 14 (1881) 1643.
- <sup>46</sup> R. B. KRAUSS ET E. CREDE, *J. Am. Chem. Soc.*, 39 (1917) 1431.
- <sup>47</sup> U. N. GUPTA ET T. R. SESHARI, *J. Sci. Ind. Res. India*, 16 B (1957) 257.
- <sup>48</sup> E. B. BRODIE, J. R. GILLETTE ET B. N. LADU, *Ann. Rev. Biochem.*, 27 (1958) 427.
- <sup>49</sup> B. N. LADU, L. GAUDETTE, N. TROUSOF ET B. B. BRODIE, *J. Biol. Chem.*, 214 (1955) 741.
- <sup>50</sup> G. C. MUELLER ET J. A. MILLER, *J. Biol. Chem.*, 202 (1953) 579.
- <sup>51</sup> J. AXELROD, *Biochem. J.*, 63 (1956) 634.
- <sup>52</sup> H. G. BRAY, U. M. CRADDOCK ET W. V. THORPE, *Biochem. J.*, 60 (1955) 225.
- <sup>53</sup> B. PULLMAN ET A. PULLMAN, *Radiation Res. Suppl.*, 2 (1960) 160.

*Biochim. Biophys. Acta*, 75 (1963) 1-11