

Synthèse de la DL- Arginine (^{14}C - 1)

L. PICHAT, J. P. GUERMONT, PHUNG NHU LIEM

Service des Molécules marquées CEN Saclay, B. P. n° 2 (91), Gif/Yvette

Reçu le 29 mars 1968.

SUMMARY

DL Arginine (^{14}C -1) is prepared by a Strecker reaction with γ -guanidobutyraldehyde and K^{14}CN . Radioactive and chemical yields are 60 % based on K^{14}CN .

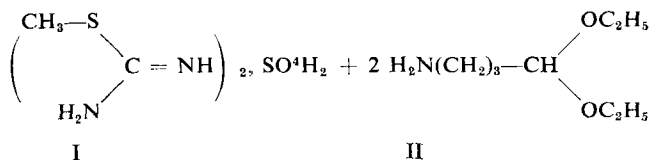
RÉSUMÉ

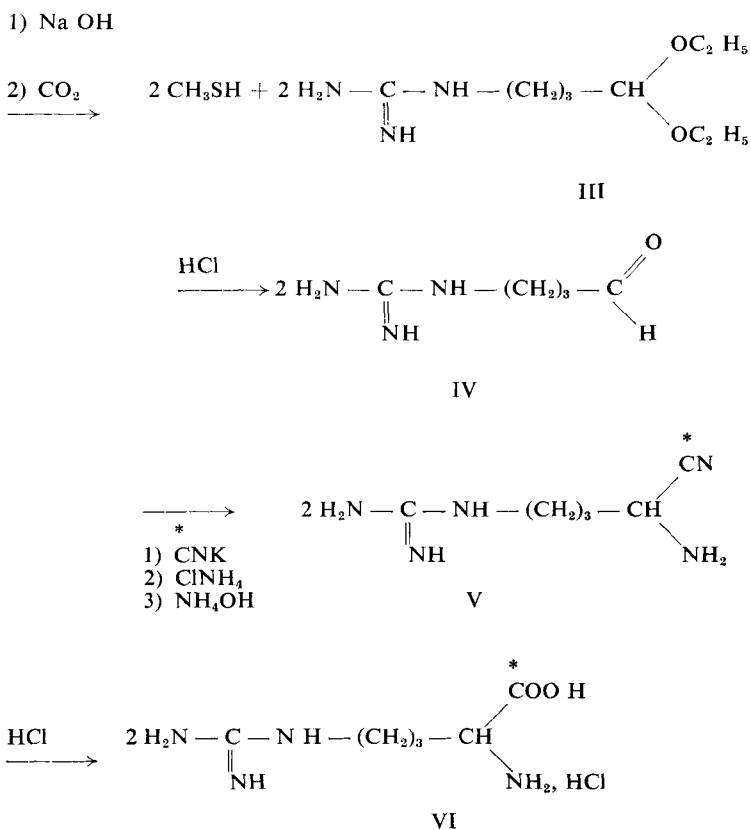
La DL-Arginine (^{14}C -1) a été obtenue par réaction de Strecker à partir de l'aldéhyde γ -guanido butyrique et du cyanure de potassium (^{14}C) avec des rendements chimiques et radioactifs de l'ordre de 60 % par rapport à K^{14}CN .

L'un d'entre nous a décrit, il y a quelques années, la préparation de l'arginine (guanido — ^{14}C) par guanidation de l' α — N toluène-sulfonyl-ornithine à l'aide de l'iodhydrate de S — méthyl thiouronium (C^{14}) ⁽¹⁾.

Depuis, Mezö et coll. ont préparé l'arginine (C^{14} — 1) à partir de l'ornithine (C^{14} — 1) cet aminoacide étant obtenu par réaction de Strecker : action conjuguée du cyanure de potassium (C^{14}), du chlorure d'ammonium, de l'ammoniaque sur l'aldéhyde γ benzoylaminobutyrique ⁽²⁾.

Nous présentons maintenant une méthode d'obtention de l'arginine (C^{14} — 1) également par synthèse de Strecker, mais à partir de l'aldéhyde γ guanido butyrique. Par cette voie, qui utilise le schéma suivant, on évite ainsi deux stades radioactifs intermédiaires : la débenzoylation de la N γ -benzoylornithine (^{14}C — 1) puis la guanidation après protection de la fonction α -amino de l'ornithine (^{14}C — 1).





La guanidation du diéthylacétal de l'aldéhyde γ -amino butyrique (II) et l'hydrolyse de l'acétal (III) ont été décrites par Hasse et Schührer⁽³⁾. Quant à la condensation de Strecker, elle a été réalisée en laissant les réactifs en présence à la température ambiante pendant deux jours, technique déjà utilisée pour diverses synthèses d' α -amino-acides (¹⁴C — 1), en particulier pour la méthionine (¹⁴C — 1)⁽⁴⁾.

L'hydrolyse chlorhydrique du nitrile (V) a conduit à l'arginine (¹⁴C — 1) (VI).

Mais la chromatographie sur papier et l'enregistrement de la radioactivité ont révélé la présence d'une impureté radioactive évaluée à environ 5 % et qui n'a pas été identifiée.

Le produit a été purifié par chromatographie sur colonne de Dowex 50 W 12, et finalement l'arginine a été obtenue avec des rendements chimique et radioactif de 60 % par rapport à K¹⁴CN.

La pureté radiochimique, contrôlée par radiochromatographie sur papier dans les 4 systèmes de solvants du tableau 1 (voir partie expérimentale) a été évaluée supérieure à 99%. L'arginine (carboxyle ^{14}C) a été conservée à l'état lyophilisé en ampoules scellées en atmosphère d'azote à environ -20°C . Au bout de 14 mois de stockage dans ces conditions de nouveaux contrôles par radiochromatographie sur papier nous ont montré que l'arginine contient deux impuretés, non identifiées, représentant environ 4 % de décomposition. La sensibilité de l'arginine (^{14}C — 5) à l'autoradiolyse a déjà été rapportée et analysée par J. Mizon ⁽⁶⁾.

PARTIE EXPÉRIMENTALE

TABLEAU 1.

Chromatographie sur papier Whatman n° 1 de l'arginine.

N°	Solvants = vol/vol	sens de la chromatographie	R _F
1	<i>n</i> -Butanol : 50; acide acétique 25 : eau : 25.	A	0,53
2	<i>t</i> -Butanol : 40; méthyléthylcétone : 30; ammoniacque : 10; eau : 20.	D	0,56
3	Ethoxy = éthanol : 70; acide propionique : 15; eau : 15.	D	0,36
4	Pyridine : 80; alcool isoamylique : 40; acide acétique : 10; eau : 40.	A	0,14

A = chromatographie ascendante

D = chromatographie descendante

Carbonate de γ -guanido butyraldéhyde diethyl acétal.

A une solution de 17,2 g (62m Mol) de sulfate de S méthyl thiouronium dans 90 ml de CH_3OH , agitée et refroidie par la glace, on ajoute 36 ml de NaOH 2 N. Après filtration du sulfate de soude, le filtrat est ajouté à 6.4 g (40 m Mol) de γ -aminobutyraldéhyde diéthylacétal (Synthèses et Catalyse-Antony-Seine). Après deux jours de contact, la solution est évaporée à sec sous vide. Le résidu est dissous dans 80 ml d'acétone et 10 ml d'eau. On fait barboter du CO_2 et le précipité obtenu est essoré et séché sous dessiccateur (Rdt 6,6 g soit 62 %).

Cyanure de potassium — (^{14}C)

Le cyanure de potassium—(^{14}C) a été préparé par échange entre CNK commercial et $^{14}\text{CO}_3\text{Ba}$ selon le mode opératoire décrit par ⁽⁵⁾.

Par chauffage à 800° de 387 mg (5,96 m Mol) de CNK et 100 m Ci (465 mg — 2,36 m Mol) de $^{14}\text{CO}_3\text{Ba}$, et après extraction à l'ammoniac liquide, on obtient 366 mg de ^{14}CNK .

Le rendement théorique de l'échange doit être pour 5,96 m Mol de ^{14}CNK de 71,75 mC. C'est à partir de ces chiffres que seront calculés ultérieurement les rendements chimique et radioactif de l'arginine-(^{14}C — 1).

D.L Arginine (^{14}C — 1).

On chauffe à 50° C sous atmosphère d'azote et agitation 5,75 g (21,7 m Mol) de carbonate de γ -guanidobutyraldéhydediéthylacétal et 21 ml de HCl 2N pendant 30 mm.

Après refroidissement, la solution est saturée par NH_3 , puis introduite immédiatement dans le ballon contenant le cyanure de potassium radioactif précédemment préparé. On ajoute également 530 mg (10 m Mol) de chlorure d'ammonium et 21 ml d'alcool méthylique saturé à -10° C par l'ammoniac.

Après deux jours de contact à la température ambiante, on évapore à sec sous vide.

Le résidu est traité à froid par 40 ml d'acide chlorhydrique concentré pendant une nuit, puis on chauffe 5 h. à reflux. Après évaporation à sec sous vide, on poursuit l'hydrolyse pendant une nuit avec une nouvelle fraction de 40 ml d'acide chlorhydrique. La solution est évaporée à sec et le résidu purifié sur colonne de Dowex 50 W 12 (h = 1 000 mm \varnothing = 32 mm) par élution avec 32 l de HCl 2 N.

Les fractions contenant le chlorhydrate d'arginine sont rassemblées et évaporées à sec. Après décoloration sur charbon actif type L 2 S, la solution est introduite à nouveau sur une petite colonne de Dowex (\varnothing = 10 mm. h = 300 mm). On lave à l'eau jusqu'à élimination de l'ion Cl. L'arginine est éluée par NH_4OH , 2 N. Le résidu visqueux obtenu par évaporation de la solution, est traité par 60 ml d'alcool absolu. Après évaporation du solvant, on obtient un produit blanc bien cristallisé pesant 638 mg (soit un Rdt chimique de 61 %) calculé par rapport au CNK commercial.

La pureté du produit obtenu a été vérifiée par chromatographie sur papier Whatman n° 1 avec quatre systèmes de solvants du tableau 1.

Le traitement des chromatogrammes à la ninhydrine et au réactif de Sakaguchi a révélé une seule tache ayant un Rf identique à un témoin commercial d'arginine. De même l'enregistrement de la radioactivité des chromatogrammes a prouvé l'absence d'impuretés radioactives.

En outre, la radioactivité totale de l'arginine (^{14}C — 1) était de 45 m Ci, soit un rendement radioactif de 62 % en bon accord avec le rendement chimique calculé précédemment.

REMERCIEMENTS

Nous tenons à remercier Monsieur le Professeur Kurt Hasse, Technische Hochschule-Karlsruhe, qui a bien voulu mettre à notre disposition un échantillon de référence de carbonate de γ -guanidobutyraldehydediéthylacétal.

BIBLIOGRAPHIE

1. PICHAT, L. et BARET, C. — Rapport CEA, N° 1674.
2. MEZŐ, I., TEPLAN, I. and MARTON, J. — Proceedings of the second International Conference on preparation and storage of labelled compounds, EUR 3746 d-f-e p. 443, Bruxelles, Décembre 1966.
3. HASSE, K. and SCHÜHRER, K. — *Biochem., Z.*, **336** : 20-34 (1962).
4. PICHAT, L., GUERMONT, J. P. et SHAREFKIN, D. — Rapport CEA, N° 2989 (1966).
5. PICHAT, L., HERBERT, M. et MIZON, J. — *Bull. Soc. chim. Fr.*, 1781 (1963).
6. MIZON, J. — Thèse doctorat d'Etat en Pharmacie, Faculté de Lille, 21 juin 1963.