

with ethanol, and the filtrate was poured onto ice-water. The solid thus produced was filtered off, washed with water and dried. The product was recrystallized from ethanol-water to pure V (47 mg — 67 %), m.p. 178-180°, which was homogeneous by T. L. C. The i. r. spectrum was identical to the one from authentic sample; sp. act. 0.33 mC/mM.

#### ACKNOWLEDGEMENTS

We thank the Upjohn Company, Kalamazoo, Michigan for a generous gift of 5-androstenolone acetate and the Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas, Argentina for a research grant (No. 2328).

A. M. PORTO and E. G. GROS \*

Departamento de Química Orgánica, Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, Universidad de Buenos Aires, Perú 222, Buenos Aires, Argentina

#### REFERENCES

1. GROS, E. G. and DEULOFEU, V. — *Chem. Comm.*, 711 (1967); GROS, E. G. and PORTO, A. M. — *Anales Asoc. Quím. Argentina*, **55** : 177 (1967).
2. BUTENANDT, A. and SCHMIDT-THOMÉ, J. — *Ber.*, **71** : 1487 (1938); *ibid.*, **72** : 182 (1939).

\* Research member of the Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas, Argentina.

## Préparation des acides L et D- $\alpha$ -aminoadipiques radioactifs par résolution de l'acide DL- $\alpha$ -aminoadipique $^{14}\text{C-6}$

Reçu le 22 mars 1968.

Le dédoublement de l'acide DL- $\alpha$ -aminoadipique en ses isomères optiques, par hydrolyse stéréospécifique de l'acide N-chloracétyl-DL- $\alpha$ -aminoadipique sous l'action de l'acylase de rein de Porc, a été décrite par Greenstein et ses collaborateurs. Elle permet d'obtenir, dans un premier temps, l'acide L- $\alpha$ -aminoadipique, puis, après isolement de l'acide chloracétyl-D- $\alpha$ -aminoadipique et hydrolyse par l'acide chlorhydrique 2 N, l'acide D- $\alpha$ -aminoadipique.

Nous avons adapté la méthode au dédoublement de l'acide DL- $\alpha$ -aminoadipique  $^{14}\text{C-6}$ , en quantités de l'ordre de quelques centigrammes.

1<sup>o</sup> — ACIDE CHLORACÉTYL-DL- $\alpha$ -AMINOADIPIQUE  $^{14}\text{C}$ -6.

L'acide DL- $\alpha$ -aminoadipique  $^{14}\text{C}$ -6 (80 mg, 200 $\mu\text{C}$ ) est dissous dans 0,25 ml de NaOH 4 N. On triture en ajoutant 60  $\mu\text{l}$  de chlorure de chloracétyle, jusqu'à dissolution. On ajoute peu à peu 0,35 ml de NaOH 4 N, en quinze minutes environ; on dilue ensuite avec de l'eau distillée et on acidifie par addition de quelques gouttes d'acide chlorhydrique concentré, jusqu'à un pH voisin de 2. On concentre sous pression réduite et le résidu, repris par l'eau, est déposé sur une colonne de Dowex 1  $\times$  8, forme formiate (145  $\times$  10 mm).

L'élution est réalisée par un gradient de concentration croissante d'acide formique. La détection et l'enregistrement de la radio-activité de l'éluat est assurée par un dispositif à scintillation Packard. On peut ainsi récupérer les fractions actives. Les résultats sont les suivants.

	Coups/minute
Acide DL- $\alpha$ -aminoadipique	8 000 000
Acide pipéridone-carboxylique	9 300 000
Acide chloracétyl-DL- $\alpha$ -aminoadipique	18 600 000

2<sup>o</sup> — ACIDE L- $\alpha$ -AMINOADIPIQUE  $^{14}\text{C}$ -6

L'acide chloracétyl-DL- $\alpha$ -aminoadipique est repris par de l'eau et ajusté à pH neutre. A la solution ainsi obtenue (10 ml) on ajoute 15 ml de tampon phosphate 0,1 M de pH 7 et 20 mg d'acylase \*. Après incubation de trois heures à 37<sup>o</sup> C, puis élimination des protéines (par l'acide perchlorique), la solution est concentrée sous pression réduite.

Par une électrophorèse préparative sur papier, il est facile de séparer l'acide L- $\alpha$ -aminoadipique de l'acide chloracétyl- $\alpha$ -aminoadipique. Le repérage se fait par autoradiographie du chromatogramme, qui est découpé et élué. On mesure la radioactivité des produits isolés :

	Coups/minute
Acide chloracétyl- $\alpha$ -aminoadipique	12 300 000
Acide L- $\alpha$ -aminoadipique	6 000 000

Pour compléter l'hydrolyse et augmenter le rendement, l'acide chloracétyl- $\alpha$ -aminoadipique est soumis, dans les mêmes conditions, à une seconde incubation de 6 heures à 37<sup>o</sup> C.

Par le même mode de séparation, on peut récupérer de nouveau (en éliminant quelques impuretés) :

\* Acylase en provenance de Koch-Light et Co., Colnbrook, England (lot n<sup>o</sup> 4410).

	Coups/minute
Acide L- $\alpha$ -aminoadipique	800 000
Acide chloracétyl-D- $\alpha$ -aminoadipique	9 200 000

### 3<sup>o</sup> — ACIDE D- $\alpha$ -AMINOADIPIQUE <sup>14</sup>C-6.

L'acide chloracétyl-D- $\alpha$ -aminoadipique est hydrolysé pendant 2 heures par de l'acide chlorhydrique 2 N à reflux. Après concentration, l'acide D- $\alpha$ -aminoadipique est purifié par électrophorèse préparative sur papier.

### 4<sup>o</sup> — PURIFICATION

Les isomères optiques obtenus sont finalement passés sur une colonne de résine Amberlite CG 120, forme chlorure (120  $\times$  10 mm). L'élution, réalisée par un gradient de concentration croissante en acide chlorhydrique, permet d'obtenir des acides aminés marqués ne donnant qu'une seule tache radio-active par autoradiographie d'un chromatogramme bidimensionnel sur papier dans les solvants : *n*.butanol/acide acétique/eau (4 : 1 : 5; v/v) et phénol aqueux à 10 p. 100/eau (1 : 1; v/v).

J. MIZON

Institut de Recherches sur le Cancer et Laboratoire de Chimie Biologique  
de la Faculté de Médecine et de Pharmacie, Lille

### BIBLIOGRAPHIE

GREENSTEIN, J. P., BIRNBAUM, S. M. et OTEY, M. C. — *J. Amer. Chem. Soc.*, **75**, 1994 (1953).

## Synthesis of 2,4-Dinitrochlorobenzene-3,5-<sup>3</sup>H

Received on April 5, 1968

In a study of the metabolism of 2,4-dinitrochlorobenzene-3,5-<sup>3</sup>H (III) in epidermis by autoradiography it was necessary to prepare highly tritiated III. An attempt <sup>(1)</sup> to synthesize III through reduction of 1-bromo-3-chlorobenzene (I) failed, although this procedure succeeded for the synthesis of 2,4-dinitrofluorobenzene-3,5-<sup>3</sup>H. In course of the present work, this way was employed and proved to be successful for the preparation of III. As shown in Figure 1, III was synthesized by reduction of I with a palladium catalyst to chlorobenzene-3,5-<sup>3</sup>H (II) followed by nitration.