

## ETUDES SUR LES METHODES DE PREPARATION DE LA SELENOCYSTAMINE, SELENOHYPOTAURINE ET SELENOTAURINE

L. PICHAT, M. HERBERT et M. THIERS

C.E.N. Saclay, Section des Molécules Marquées B.P. no. 2 Gif-sur-Yvette (S. et O.) France

(Received 20 May 1960; in revised form 9 September 1960)

**Résumé**—Le chlorhydrate de la sélélocystamine (ou  $\beta$ - $\beta'$ -diaminodiéthyldiséléniure) a été préparé au départ de sélélocyanure de potassium et de N-bromoéthylphtalimide avec un rendement global de 40% environ. L'oxydation du chlorhydrate de la sélélocystamine par l'eau de brome conduit à la sélénohypotaurine (acide aminoéthaneséléniique) avec un rendement de 97%. D'autres voies d'accès à la sélénohypotaurine, soit à partir du phtalimidoéthanesélélocyanure, soit de l'acide chloroéthane séléniique sont également décrites mais aboutissent à des résultats négatifs. L'oxydation de la sélélocystamine ou de la sélénohypotaurine par l'eau de chlore, à chaud, conduit à la sélénotaurine (acide aminoéthane sélénonique) qui n'a pas pu être isolée à l'état pur, cristallisé, par suite de son instabilité.

EN vue de comparer les métabolismes de produits organiques soufrés et séléniés, il nous a été demandé de synthétiser les analogues séléniés de la cystamine, de l'hypotaurine et de la taurine.\*

Seule la "sélélocystamine" ou  $\beta$  $\beta'$ -diamino diéthyl diséléniure paraît avoir déjà été synthétisée.<sup>1</sup> La "sélénohypotaurine" ou acide amino-2 éthane séléniique et la "sélénotaurine" ou acide amino-2 éthane sélénonique par contre, n'ont pas, à notre connaissance, été décrits dans la littérature. Les composés organiques séléniés ont fait l'objet d'une importante et récente monographie.<sup>15</sup>

La matière première choisie pour le présent travail est le sélélocyanure de potassium.<sup>2</sup>

### (A) Sélélocystamine

La méthode utilisée est celle de Coblenz<sup>1</sup>. Le mode opératoire a été précisé.

Le sélélocyanure de potassium (I) et le bromo-1 phtalimido-2 éthane, dans l'acétone, selon<sup>3</sup> donnent le phtalimido-2 éthane sélélocyanure (II). L'hydrolyse par la soude conduit au composé III lequel, chauffé avec l'acide chlorhydrique concentré, fournit la "sélélocystamine" (IV). Il n'est pas nécessaire d'opérer en tube scellé pour effectuer cette dernière opération.

La pureté de IV a été contrôlée par analyse chromatographique. L'identité a été établie par dosage iodométrique du groupement diséléniure et par analyse élémentaire.

### (B) Sélénohypotaurine

Trois méthodes de préparation ont été explorées. Seule la première a donné de bons résultats. Les autres ne constituent que des modes de formation.

\* Préparations entreprises à la demande du service de Biologie du C.E.A.

<sup>1</sup>V. Coblenz, *Ber. Dtsch. Chem. Ges.* **24**, 2134 (1891).

<sup>2</sup>G. R. Waitkins et R. Shutt, *Inorg. Synth.* **2**, 189 (1946).

<sup>3</sup>H. Brintzinger, K. Pfannstiel et H. Vogel, *Z. Anorg. Allg. Chem.* **256**, 75 (1948).

<sup>4</sup>T. O. Soine et M. R. Buchdahl, *Org. Synth.* **32**, 18 (1952).

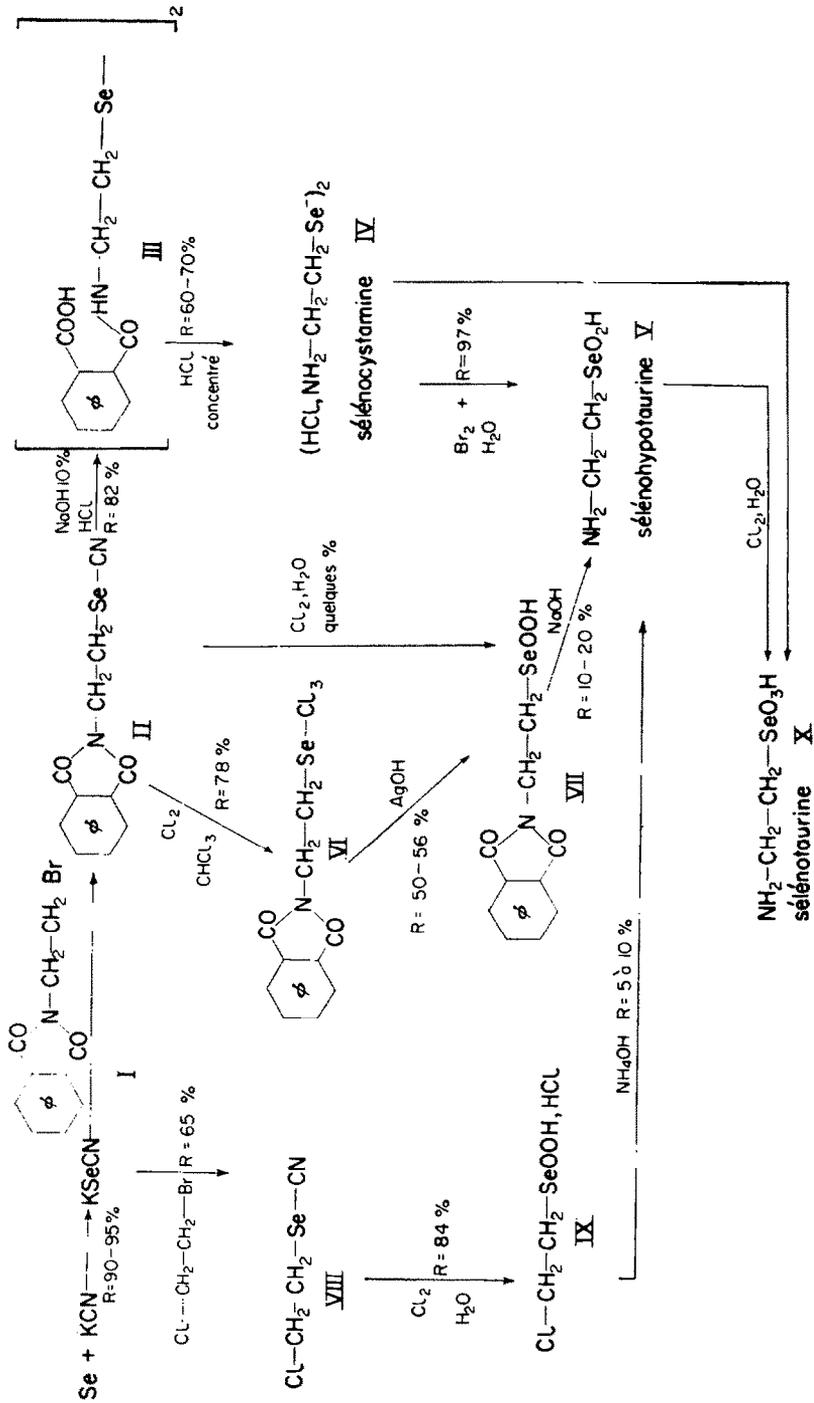


FIG. 1.

(1) *Par oxydation de la "sélélocystamine"*. L'oxydation du groupement diséléniure  $R-Se-Se-R$  en acide séléinique  $R-SeO_2H$  peut être effectuée au moyen de divers réactifs. Nous avons essayé les suivants sur le chlorhydrate de la sélélocystamine (IV):

— $HNO_3$  selon;<sup>5,6</sup> il se forme un mélange de séléohypotaurine (V) et de sélénotaurine (X) bien que IV ne soit pas entièrement oxydé.

— $H_2O_2$  selon;<sup>5</sup> on obtient le même résultat.

—l'eau de brome à froid; l'oxydation est quantitative. On élimine ensuite HBr par passage sur une résine échangeuse Dowex 50  $\times$  12 forme  $H^+$ . L'élimination de HBr est indispensable, car V porté à sec en milieu acide se décompose et libère du sélénium.

La "séléohypotaurine" se comporte sur résine Dowex 50 comme l'hypotaurine.<sup>14</sup> La pureté du produit a été contrôlée par chromatographie sur papier et l'identité établie par dosage iodométrique de la fonction séléinique et analyse élémentaire.

(2) *A partir de l'acide phtalimido-2 éthane séléinique (VII)*. L'oxydation directe de II en acide phtalimido-2 éthane séléinique (VII) n'a donné qu'un rendement très faible. VII a donc été préparé par une voie détournée, par l'intermédiaire de VI selon des techniques décrites dans.<sup>3,7</sup>

Aucune des méthodes connues d'élimination du groupement phtalyle n'a été satisfaisante. Le traitement à l'hydrazine<sup>8</sup> provoque la réduction de la fonction séléinique en diséléniure.<sup>9</sup> Le chauffage avec l'acide chlorhydrique détruit la molécule avec libération de sélénium. L'hydrolyse à chaud par la soude concentrée conduit finalement à un produit impur et très instable.

(3) *Par amination de l'acide chloro-2 éthane séléinique (IX)*. L'addition d'une solution acétonique de sélélocyanure de potassium (I) au chloro-1 bromo-2 éthane, donne le chloro-2 éthane sélélocyanure (VIII) avec un rendement de 63%. L'opération inverse préconisée par<sup>3</sup> provoque la formation prépondérante du disélélocyanoéthane. VIII a été oxydé en acide chloro-2 éthane séléinique (IX) selon.<sup>3</sup>

L'amination de IX soit par l'ammoniac liquide soit par l'ammoniaque concentré n'a pas donné de résultats satisfaisants.

### (C) Sélénotaurine

L'oxydation des acides séléiniques  $R-SeO_2H$  en acides séléoniques  $R-SeO_3H$  a été réalisée par divers réactifs.<sup>16</sup> Nous avons essayé les procédés suivants pour l'oxydation de la séléohypotaurine en sélénotaurine (X):

—par  $KMnO_4$  en milieu alcalin selon;<sup>10</sup> l'oxydation ne se fait que partiellement, sans décomposition. En poussant l'oxydation la proportion de V diminue, mais (X) se décompose presque totalement. En milieu acide on obtient les mêmes résultats.

—par  $HNO_3$  selon;<sup>10</sup> nous avons eu les mêmes résultats.

—par  $H_2O_2$  dilué selon;<sup>5</sup> nous avons pu observer la formation de traces de X. En milieu plus concentré, il y a décomposition.

L'oxydation du groupement diséléniure  $R-Se-Se-R$  en  $R-SeO_3H$  peut être

<sup>5</sup> E. P. Painter, K. N. Frank et R. A. Goertner, *J. Org. Chem.* **5**, 578 (1940).

<sup>6</sup> E. H. Shaw et E. R. Reid, *J. Amer. Chem. Soc.* **48**, 520 (1926).

<sup>7</sup> H. J. Backer et H. J. Winter, *Rec. Trav. Chim. Pays-Bas* **56**, 501 (1937).

<sup>8</sup> F. E. King et D. A. A. Kidd, *J. Chem. Soc.* 3315 (1949).

<sup>9</sup> H. Rheinboldt et E. Giesbrecht, *Chem. Ber.* **88**, 666 (1955).

<sup>10</sup> M. L. Bird et F. Challenger, *J. Chem. Soc.* 572 (1942).

obtenue<sup>11</sup> par le chlore à 50–60° dans le cas des produits sélénisés aromatiques. Intermédiairement cette oxydation doit passer par le stade R—SeO<sub>2</sub>H. Nous avons aussi appliqué cette méthode à IV et à V. Dans les deux cas l'oxydation se fait complètement et X formé ne se décompose que faiblement. Un dosage de X, directement dans le milieu réactionnel, indique un rendement de l'ordre de 75–80%.

Comme la taurine, la sélénotaurine (X) est un produit acide. En effet, il n'est pas fixé par la résine Dowex 50 × 12 forme H<sup>+</sup>. Il est, au contraire, fixé par la résine Dowex 2 forme OH<sup>-</sup>. Il est très peu stable, même en solution diluée, et se réduit très facilement. Le dosage est effectué par réduction par HI en sélénocystamine. La sélénocystamine formée peut être alors dosée par I<sub>2</sub>, ce qui permet de confirmer le premier dosage. Nos essais d'obtention de la sélénotaurine à l'état cristallisé ont échoué. X porté à sec, sous vide à basse température, en présence de HCl, se réduit à libération de chlore. Nous avons essayé d'éliminer HCl par AgOH, mais X donne un sel d'argent peu soluble dans l'eau et le rendement d'isolement est inférieur à 5%. Par chromatographie sur alumine le rendement est du même ordre.

Les traces de X que nous avons ainsi isolées se présentent sous forme de cristaux blancs qui, en quelques heures, sont décomposés en donnant du sélénium et de la sélénohypotaurine (V).

TABLEAU DE *R<sub>f</sub>*

Produits	Solvants de chromatographie			
	n Butanol 75 Acide formique 15 Eau 10	n Butanol 1 Pyridine 1 Eau 1	Ethanol 90 NH <sub>4</sub> OH 22% 10	Phénol 80 Eau 20
Sélénocystamine	0.08	0.55	0.64	
Sélénohypotaurine	0.15	0.20	0.12	0.68
Sélénotaurine	0.02	0.29	0.20	0.21
Hypotaurine	0.07	0.29		0.63
Taurine	0.05	0.36		0.29

Comparaison entre les *R<sub>f</sub>* des produits sélénisés et soufrés correspondants sur papier Whatman no. 1. Les *R<sub>f</sub>* des produits soufrés sont ceux de la littérature.<sup>12</sup>

## PARTIE EXPERIMENTALE\*†

*Séleño cyanure de potassium* (I). Préparé selon.<sup>3</sup> On mélange 24.5 g (0.3 M) de sélénium (99%) en poudre, sec, avec 22 g (0.33 M) de KCN sec, pulvérisé. Ce mélange chauffé, avec agitation, en atmosphère de N<sub>2</sub>, fond vers 145°; le chauffage est poursuivi deux heures à 160°. On obtient une pâte grise qui se prend en masse par refroidissement. Cette masse est reprise par 200 cc d'acétone anhydre. On chasse l'excès d'acide cyanhydrique par un courant de CO<sub>2</sub> sec et filtre le précipité de K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> contenant un peu de Se n'ayant pas réagi. La solution acétonique de KSeCN rosit rapidement puis laisse un dépôt de Se rouge si elle n'est pas soigneusement protégée de l'humidité. En concentrant, KSeCN précipite en cristaux blancs qui sont stables à sec. On peut doser la solution acétonique par argentimétrie. Le rendement est de 90–95%. Il est préférable d'utiliser directement cette solution dans les étapes suivantes.

*Phtalimido-2 éthane séléno cyanure* (II). Préparé selon.<sup>3</sup> 28 g (0.11 M) de phtalimido-2 bromo-1

\* Les points de fusion ont été déterminés au banc chauffant Kofler.

† Microanalyses par Mme Duvernier.

<sup>11</sup> M. Stoecker et F. Krafft, *Ber. Dtsch. Chem. Ges.* **39**, 2200 (1906).

<sup>12</sup> E. Bricas, F. Kieffer et Cl. Fromageot, *Biochim. Biophys. Acta* **18**, 358 (1955).

éthane<sup>4</sup> sont dissouts dans 50 cc d'acétone anhydre à l'ébullition. On y ajoute 170 cc de solution acétonique de KSeCN 0.65 N. On chauffe 3 heures à reflux; peu à peu KBr précipite et la solution devient jaune. A la solution froide on ajoute 1000 cc d'eau; KBr se dissout et II précipite en cristaux blancs. On obtient 28.5 g de II soit 92%.

II est un produit blanc, cristallisé, inodore qui se conserve bien à sec  $F = 127^\circ$ .

Analyse:  $C_{11}H_8O_2NSe$  Calc. %: C 47.32 H 2.89 N 10.03  
47.42 3.03 9.59

Il est à remarquer que pour sécher ce produit, ainsi que les suivants, l'anhydride phosphorique en dessiccateur, sous vide, provoque une décomposition rapide. Pour remédier à cet inconvénient, on remplace le  $P_2O_5$  par de l'"Actigel" ou du tamis moléculaire "Linde" type 4A.

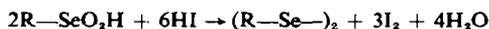
*Bis* [ $\beta$ -(*o*-carboxybenzamido) éthyl] diséléniure (III). Préparé selon.<sup>1</sup> 2.8 g (10 mM) de II sont mis en suspension dans 20 cc de NaOH à 10%. La suspension est chauffée à 90–95° avec agitation. Au bout de 15 minutes la dissolution de II est complète. Une gomme jaune se sépare puis cristallise lentement. Au bout de 24 heures au réfrigérateur, la cristallisation est achevée. On obtient 2.25 g de III soit un rendement de 82%. (III) est un produit jaune, cristallisé, qui se décompose à 110° en donnant du sélénium rouge.  $F: 118-119^\circ$  (dioxanne). Pour l'opération suivante on peut utiliser le produit brut.

*Dichlorhydrate* de "Séléno cystamine" (IV). 2 g (37 mM) de III sont dissouts dans un mélange de 1 ml d'acide acétique et 4 ml d'acide chlorhydrique concentré. On chauffe à reflux pendant 3 heures. Après traitements habituels on obtient le produit cherché par cristallisation dans l'alcool avec un rendement de 60 à 70%.

Le groupement diséléniure, dosé selon l'équation:  $(R-Se)_2 + 6I + 8NaHCO_3 \rightarrow 2R - SeO_2Na + 6NaI + 8CO_2 + 4H_2O$  correspond à une pureté de 98%.

Analyse:  $C_4H_{14}N_2Cl_2Se_2$ : calc. % C 15.06 H 4.42 N 8.78  
14.65 4.41 8.47

"Sélénohypotaourine" (V). 3.2 g (10 mM) de IV sont dissouts dans 20 cc d'eau. On ajoute lentement, sous refroidissement, la quantité stœchiométrique d'eau de brome. L'analyse chromatographique de cette solution montre que l'oxydation est complète. Cette solution est placée sur une colonne de résine échangeuse Dowex 50  $\times$  12 forme  $H^+$  (dimensions  $h = 20$  cm,  $\phi = 2.4$  cm). On lave à l'eau jusqu'à élimination des ions  $Br^-$ , puis on élue la sélénohypotaourine par  $NH_4OH$  2N. Cette élution est rapide. On isole V de la solution ammoniacale par lyophilisation sous vide poussé. On obtient 3 g de V soit 96% de rendement. V est un produit blanc cristallisé, stable à l'abri de l'humidité. L'analyse par chromatographie sur papier ne révèle pas la présence d'impuretés. V se décompose instantanément à 150–152° en donnant du sélénium, mais dès 130° il commence à jaunir et se décomposer lentement. Le dosage de la fonction séléinique indique une pureté de 99.3%. Ce dosage est basé sur la réaction:



et la technique utilisée est sommairement décrite dans:<sup>13</sup>

Analyse:  $C_2H_7O_2NSe$ : Calc. % C 15.39 H 4.52 N 8.97  
14.75 4.92 8.52

*Trichloroséléno-1 phtalimido-2 éthane* (VI). 0.5 g (1.8 mM) de II sont dissouts dans 7 cc de chloroforme sec. On fait arriver, bulle à bulle, un courant de chlore sec. La solution se colore en jaune; au bout d'une heure trente, il se forme un précipité blanc cristallisé. Au bout de trois heures, le courant de chlore est remplacé par un courant d'azote sec pour éliminer l'excès de chlore. On ajoute au mélange réactionnel 15 cc d'éther anhydre. On filtre le précipité et le sèche sous vide. On obtient 0.5 g de VI, soit un rendement de 78%. VI est un produit blanc cristallisé,  $F = 155-157^\circ$  (décomposition). VI est très peu stable et libère rapidement du chlore, du sélénium et de l'hydrogène séléiné.

Analyse:  $C_{10}H_8O_2NSeCl_3$ : Calc. % C 33.10 H 2.24 Cl 29.58  
33.18 2.33 28.00

*Acide phtalimido-2 éthane séléinique* (VII). Dans une suspension de AgOH, préparée à partir de 6 g de nitrate d'argent cristallisé et de 35 cc de NaOH N, on verse une solution de 4.2 g de VI dans

<sup>13</sup> H. Rheinbolt dans Houben-Weyl, *Methoden der Organische Chemie* Vol. 9, p.1104. G. Thieme Verlage, Stuttgart (1955).

100 cc d'alcool à 50%. Cette suspension est agitée énergiquement. Au bout de 3 heures on filtre AgCl et l'excès de AgOH.

Le filtrat est évaporé à sec sous vide. Le résidu est repris par 2 cc d'eau glacée. On filtre, sèche et l'on obtient 1.7 g de VII, soit un rendement de 50%.

VII est un produit blanc, cristallisé, inodore,  $F = 176^\circ$ . Il est stable et ne nécessite pas de précautions particulières quant à son emploi.

Analyse:  $C_{10}H_9O_4NSe$ : Calc. % C 41.98 H 3.17  
41.88 3.26

*Essai d'hydrolyse de (VII)*. 1 g de l'acide VII et 10 ml de NaOH à 50% sont chauffés à 60–70° pendant 4 heures en atmosphère d'azote. Après acidification et filtration de l'acide phtalique on élimine les ions  $Na^+$  sur une colonne de résine échangeuse Dowex 50 X-12 forme  $H^+$ . V est élué de la colonne par  $NH_4OH$  2N. Le produit obtenu, avec un faible rendement, est impur et instable.

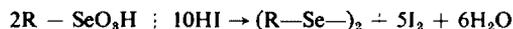
*Chloro-1 séléno-cyano-2 éthane (VIII)*. A une solution de 5.9 g (41 mM) de bromo-1 chloro-2 éthane dans 6 ml d'acétone, on ajoute en 30 minutes 5.4 g (38 mM) de  $KSeCN$  en solution dans 54 ml d'acétone. Après chauffage à reflux pendant 1 heure 20 on traite le mélange réactionnel.<sup>3</sup> VIII est obtenu avec un rendement de 63%.  $E_{1.5mm} = 74-75^\circ$ .

*Chlorhydrate de l'acide chloro-2 éthane séléinique (IX)*. Préparé selon<sup>3</sup> avec un rendement de 84% au départ de 8.6 g de VIII.  $F = 86^\circ$  (dioxanne). IX est stable quand il est conservé à l'abri de l'humidité.

Analyse:  $C_2H_6O_2SeCl_2$ : Calc. % C 11.33 H 2.85  
11.49 3.05

*Essai d'amination de (IX)*. 1.75 g (8 mM) de IX en solution dans 10 ml de  $NH_4OH$  à 20% sont chauffés à l'autoclave pendant 3 jours à 65–70°. Après traitement sur résine échangeuse Dowex 50 × 12 forme  $H^+$  on obtient une fraction dont le dosage iodométrique indique la présence de faibles quantités d'hypotaurine (V).

*Sélénotaurine (X)*. On fait barboter un courant de chlore jusqu'à saturation du milieu dans une solution de 1 mM de IV ou de 2 mM de V dans 5 cc d'eau, chauffée au B.M. à 55°. On élimine ensuite l'excès de chlore par un courant d'azote. L'analyse du milieu réactionnel par chromatographie sur papier donne 2 taches révélées par la ninhydrine. Par passage sur résine échangeuse Dowex 50 × 12 forme  $H^+$ , on élimine l'impureté. Le groupement séléinique est dosé selon l'équation:



ce dosage peut être contrôlé par détermination du diséléniure formé.

Le rendement en X ainsi déterminé sur la solution acide est de 75 à 80%.

Cette solution placée au réfrigérateur ne se conserve pas. Au bout de quelques jours, la chromatographie montre qu'il y a une réduction partielle en V.

*Essai d'isolement de (X) par élimination de HCl par AgOH*. A la solution précédente on ajoute un léger excès de AgOH. On agite la suspension 1 heure. Le précipité de sel d'argent est filtré puis lavé à l'eau chaude; par refroidissement le filtrat se trouble. On élimine  $Ag^+$  par filtration sur une colonne de Dowex 50 × 12 forme  $H^+$ . X est élué rapidement par l'eau. L'éluat est ensuite lyophilisé sous vide poussé. On obtient quelques cristaux blancs qui se décomposent et deviennent rouges au bout de 2 à 3 heures.

Ces cristaux se décomposent vers 130–135° en donnant un léger dégagement gazeux (microscope Kofler). Au banc Kofler, il y a décomposition instantanée à 160° avec formation de sélénium.

<sup>14</sup> L. Pichat et M. Herbert, *Bull. Soc. Chim.* 820 (1958).

<sup>15</sup> H. Rheinbolt dans Houben-Weyl, *Methoden der Organische Chemie* Vol. 9, p. 917–1204. Thieme Verlage, Stuttgart (1955).

<sup>16</sup> H. Rheinbolt, dans Houben-Weyl, *Methoden der Organische Chemie* Vol. 9, p. 1124–1128. Thieme Verlage, Stuttgart (1955).