

12.

1965.

REVUE ROUMAINE DE
BIOCHIMIE

TIRAGE À PART

1

TOME 2

1965

ÉDITIONS DE L'ACADÉMIE DE LA RÉPUBLIQUE POPULAIRE ROUMAINE

QUELQUES OBSERVATIONS CONCERNANT L'ÉCHANGE ISOTOPIQUE ENTRE LES ACIDES AMINÉS IODÉS ET LE ¹³¹I SUR LE PAPIER CHROMATOGRAPHIQUE

IANOS SZANTAI, ZOLTAN URAY et VALERIA KOVACS

Service de Médecine Nucléaire, Cluj

(Reçu le 20 octobre 1964)

On signale la possibilité d'obtenir des acides aminés iodés marqués au radioiode par échange isotopique, directement sur le papier chromatographique. En même temps, on a établi la possibilité d'un échange isotopique entre l'iode minéral présent dans les extraits butanoliques des composés thyroïdiens radiomarqués au ¹³¹I et les entraîneurs inactifs employés dans le processus d'extraction.

Le problème de l'échange isotopique entre l'atome ¹²⁷I des acides aminés iodés et le ¹³¹I minéral, en diverses conditions expérimentales, a formé le sujet de nombreuses recherches [6], [7], [9]. Cette réaction est particulièrement importante pour l'étude des hormones thyroïdiennes, étant donné qu'elle offre des acides aminés marqués au ¹³¹I facilement synthétisables, pouvant être employés comme terme de comparaison à l'identification des composés thyroïdiens ¹³¹I [4], [10], sur les radiochromatogrammes.

Dans le processus d'identification, on a employé des composés thyroïdiens inactifs ajoutés à l'extrait thyroïdien radioactif. La localisation des acides aminés iodés non marqués du mélange standard a été obtenue en développant les chromatogrammes avec de la ninhydrine. L'identification sur les chromatogrammes des composés thyroïdiens marqués au radioiode a été effectuée en superposant les radiochromatogrammes sur les chromatogrammes classiques obtenus avec des acides aminés iodés non marqués (fig. 1).

L'analyse des radiochromatogrammes a révélé dans la région de la semi-superposition une diminution de l'intensité de la bande correspondant à l'iode minéral radioactif et en même temps l'apparition de son image radiochromatographique au niveau des composés thyroïdiens non marqués.

Ce phénomène a attiré notre attention sur la possibilité de marquer les acides aminés iodés au ^{131}I , par échange isotopique, directement sur les chromatogrammes, en synthétisant ainsi des substances marquées aux radioisotopes.

Les recherches ont été effectuées avec deux systèmes de solvants :

A. n-butanol + 2N NH_4OH (40 : 40)

B. n-butanol + acide formique + eau distillée + alcool éthylique (40 : 10 : 40 : 2).

Les acides aminés ont été appliqués sur le papier chromatographique sur une ligne de six centimètres, en quantité de 200 μ grammes. Après avoir séché les chromatogrammes, on a appliqué sur la même ligne le radioïode, en quantité de 10.000 impulsions/min. L'activité du radioïode a été déterminée à l'aide d'un compteur GM VAZ 320, en contact avec le papier. Après 2 heures de saturation et après un temps de 16–20 heures de chromatographie, les chromatogrammes étaient séchés et ensuite l'on obtenait les radiochromatogrammes correspondants.

A l'aide de cette méthode nous avons étudié la di-iodo-thyrosine et la thyroxine, comme acides aminés iodés non marqués et la thyrosine et l'histidine comme acides aminés non iodés.

Nos observations concernant l'échange isotopique entre le iode inactif et le radioïode ainsi que celui entre l'hydrogène et le ^{131}I peuvent être résumées schématiquement (fig. 2–4).

Dans les mêmes conditions expérimentales et en milieu basique on n'a pas obtenu un échange isotopique entre d'autres acides aminés et le radioïode minéral.

En travaillant dans un système de solvant acide (n-butanol + acide formique + eau distillée + alcool éthylique, 40 : 10 : 40 : 2) outre les échanges que nous venons de mentionner, on a trouvé aussi un échange isotopique entre le radioïode et les atomes d'hydrogène de l'histidine ; de cette manière l'on a obtenu des composés iodés de l'histidine, représentés par cinq fractions en cours d'identification (fig. 5).

Etant donné que l'emploi de la méthode du mélange standard superposé pour l'identification des acides aminés soufrés présente quelques difficultés, nous avons utilisé la méthode du mélange standard semi-superposé [12] fait qui a facilité appréciablement le processus d'identification (fig. 6).

La même méthode a été employée à l'identification des composés iodés thyroïdiens marqués au ^{131}I , en combinant la méthode de marquage des acides aminés iodés par échange isotopique. L'échange isotopique entre la thyrosine, di-iodo-thyrosine, tri-iodo-thyrosine, thyroxine et le radioïode minéral ayant pour résultat la formation des acides aminés marqués

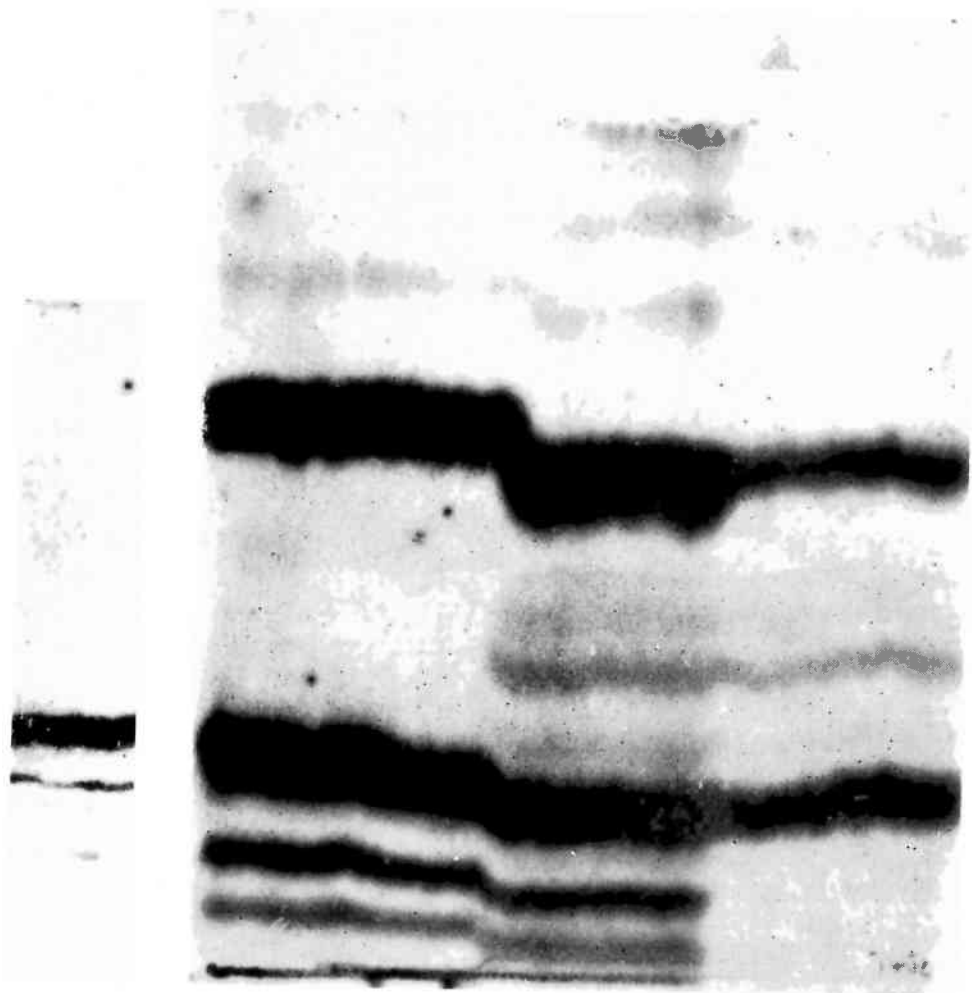


Fig. 4

Fig. 5



Fig. 6

- Fig. 4. -- Échange isotopique pendant la préparation du chromatogramme, entre ^{131}I - thyrosine
Solvant : n-butanol + NH_4OH à 2N
- Fig. 5. -- Radiochromatogramme ascendant des métabolites urinaires de la ^{35}S méthionine,
dans n-butanol + acide formique + eau distillée + alcool éthylique (40 : 10 : 40 : 2), sur
papier Whatman n° 1, identifié par la méthode du standard semi superposé
- Fig. 6. -- Échange isotopique pendant la préparation du chromatogramme, entre ^{131}I - H - his-
tidine. Solvant : n-butanol + acide formique + eau distillée + alcool éthylique
(40 : 10 : 40 : 2)



Fig. 1. *a, b*



Fig. 2



Fig 3

Fig. 1. *a*. Chromatogramme ascendant de MIT et DIT, en n-butanol + NH_4OH à 2 N, sur papier Whatman n° 1, développé avec ninhydrine
b. Radiochromatogramme obtenu par l'autoradiographie du chromatogramme *a*

Fig. 2. — Echange isotopique sur papier chromatographique pendant la préparation du chromatogramme, entre
 ^{131}I - H - thyrosine et
 ^{131}I - ^{127}I - di-iodo-thyrosine
 Solvant : n-butanol + NH_4OH à 2 N

Fig. 3. — Echange isotopique pendant la préparation du chromatogramme, entre ^{131}I - thyrosine. — Solvant : n-butanol + acide formique + eau distillée + alcool éthylique (40 : 10 : 40 : 2)

au ^{131}I , pose une série de problèmes concernant la méthode d'extraction des composés thyroïdiens marqués au radioïode qui emploie des entraîneurs marqués [3], vu la possibilité de marquer les composés non marqués au iode radioactif minéral toujours présent dans les extraits butanoliques.

CONCLUSIONS

On démontre la possibilité d'obtenir des acides aminés iodés marqués au radioïode directement sur le papier chromatographique, par échange isotopique entre la thyrosine, di-iodo-thyrosine, tri-iodo-thyrosine et l'histidine d'une part et le ^{131}I d'autre part, quand on emploie ces substances comme témoins radioactifs à l'identification des radiochromatogrammes des composés thyroïdiens marqués au ^{131}I .

En même temps, on a constaté la possibilité d'un échange isotopique entre le radioïode minéral présent dans les extraits butanoliques des composés thyroïdiens radiomarqués au ^{131}I et les entraîneurs inactifs employés dans le processus d'extraction.

BIBLIOGRAPHIE

1. BALOGH I. R., KERTES P., Acta med. Acad. Scient. Hung., **14**, 2, (1963).
2. BERAUD TH., *Etudes biochimiques des hormones thyroïdiennes en pathologie humaine*. Thèse doct., Lausanne, 1960.
3. BERGER M., PEXRIU J., Ann. Endocrinol., Paris, **18**, 402, 1957.
4. GROSS I., PITT RIVERS, Lancet, 1952, 439.
5. HAIŞ I. M., MACSEK S., *Cromatografia pe hirtie*. Bucureşti, 1961.
6. IONESCU S., *Elemente de radiochimie*, Ed. Tehnică, Bucureşti, 1959.
7. MARCU GH., *Chimia elementelor radioactive*, Ed. Did. Pedag., Bucarest, 1962.
8. MAYNIEL G., BLANQUET P., ESTIBOTT M., Bull. Soc. Chim. biol., **23**, 404 (1952).
9. MURIN A. N., *Radiochimia şi chimia proceselor nucleare*. Ed. Tehnică. Bucarest, 1963.
10. ROCHE I., LISSITZKY S., MICHEL R., *Methods Biochem. Analysis I - II*, Interscience, New-York (1954).
11. SZANTAI I., *Lucrările ştiinţifice IMF Cluj*, I. 1956.
12. SZANTAI I., URAY Z., FĂRCĂŞANU M., KOVACS V., *Simpozionul de chimie al Univ. Babeş-Bolyai*, Cluj, 1962.