

tière sèche du microbe. Ces réserves, au moment de la sporulation, se dépolymérisent en donnant un produit à point de fusion plus faible, puis s'hydratent en fournissant de l'acide β -hydroxybutyrique qui, lui-même, est alors utilisé.

Chez beaucoup de ces organismes, il y a très peu d'acides gras à poids moléculaire élevé. Le métabolisme des réserves lipidiques est alors très simplifié et réduit presque exclusivement à ce cycle β -hydroxybutyrique.

Nous continuons nos recherches pour préciser le mécanisme de la formation et de la disparition de ce lipide.

Paris, Institut Pasteur.

164. Sur l'action du periodate de sodium sur les protéines

par P. Desnuelle et S. Antonin.

(7 VI 46)

Il est maintenant bien connu que l'acide periodique et ses sels alcalins coupent à froid la chaîne hydrocarbonée des α -glycols¹⁾ et des α -oxyamines²⁾ entre leurs fonctions, pourvu que celles-ci ne soient pas substituées. Rapide et quantitative dans certaines conditions de p_H , cette réaction donne naissance à deux aldéhydes et de nombreuses applications en ont été faites en chimie préparative comme en chimie analytique.

Remarquons tout de suite, dans ce dernier domaine, que les fonctions primaires sont oxydées en formol. Réglée par deux conditions restrictives, l'apparition de cet aldéhyde est donc susceptible soit de conduire, pour la substance oxydée, à des dosages hautement spécifiques, soit de donner de précieux renseignements concernant sa structure.

Pour nous limiter ici plus spécialement aux substances biologiquement intéressantes, signalons que d'importants résultats ont été obtenus, grâce à l'emploi des periodates, dans l'étude des sucres et de leurs dérivés ainsi que dans celle des acides aminés β -hydroxylés.

De très nombreux travaux ont montré en effet que les periodates coupent les chaînes sucrées partout où elles portent 2 fonctions —OH libres en α mais qu'ils respectent les ponts d'oxygène et les liaisons glycosidiques. Les hexoses, en particulier, produisent du formol par oxydation periodique car leurs —OH 5 et 6 sont libres. Mais le blocage

¹⁾ Malaprade, L., Bl. [4] 43, 685 (1928); [5] 1, 832 (1934).

²⁾ Nicolet, B. H. et Shinn, L. A., Am. Soc. 61, 1615 (1939).

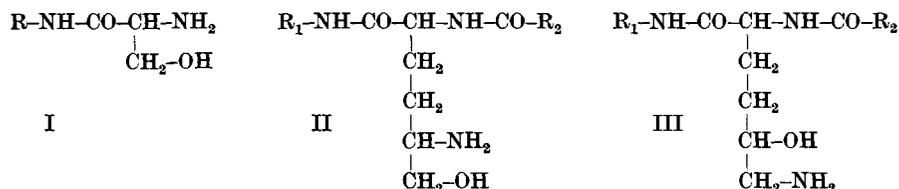
de l'une des deux fonctions empêche la formation de l'aldéhyde. Il peut être réalisé non seulement par substitution mais aussi en impliquant le carbone réducteur dans une liaison glycosidique qui stabilise le pont d'oxygène en position 1—5.

Trois acides aminés β -hydroxylés, par ailleurs, sont soumis à l'oxydation periodique classique: la sérine et l'hydroxylysine, d'une part, la thréonine, d'autre part, qui donnent naissance, respectivement à du formol et de l'acétaldéhyde de façon quantitative. Là encore, une substitution à l'azote ou à l'oxygène en α entraîne l'arrêt de toute action. D'autres amino-acides comme le tryptophane, la méthionine, la cystine, etc., sont oxydés par les periodates de façon tout autre et sans produire d'aldéhydes.

L'étude des réactions intervenant entre l'ion periodique et les molécules protéiques, contenant à la fois des sucres et des acides aminés, ne semble pas avoir encore été entreprise. Elle est pourtant intéressante car l'oxydation periodique se déroule dans des conditions de température et de p_H qui ne dénaturent pas la plupart des protéines et l'on peut espérer que, grâce à ses caractères si particuliers, elle soit de nature à donner quelques renseignements utiles concernant leur structure.

Prise dans son ensemble, cette action se révèle toutefois assez complexe. Nous l'étudions actuellement dans le cas de l'albumine d'œufs mais nous n'en décrivons, au cours de la présente note, qu'un aspect particulier: celui relatif à la production de formol.

On peut penser a priori que 3 constituants des protéines sont susceptibles de donner naissance à cet aldéhyde au contact des periodates: la sérine, l'hydroxylysine et les sucres protéidiques. Remarquons toutefois que la sérine, quand elle est incluse dans un polypeptide, ne peut donner de formol que dans le cas où, se trouvant en bout de chaîne, ses fonctions $-\text{OH}$ et $-\text{NH}_2$ sont libres à la fois (I). Cette situation est, en général, peu probable comme nous le verrons plus loin. On peut supposer, au contraire, que la 2^o fonction $-\text{NH}_2$ de l'hydroxylysine, comme la fonction amine en ϵ de la lysine, n'est pas impliquée dans les liaisons intrapeptidiques (II ou III).



Les chaînes latérales qu'apporte cet amino-acide aux protéines pourraient alors, avant toute hydrolyse, donner du formol si leurs fonctions $-\text{OH}$ ne sont pas masquées ou engagées dans des liaisons stables entre polypeptides.

Quant aux sucres protéïdiques, leur aptitude éventuelle à libérer du formol nous renseignera sur l'état des —OH portés par leurs dernier et avant-dernier carbonés.

De toutes façons, les quantités maxima de formol que l'on peut attendre au cours de l'oxydation periodique d'une protéine, sont faibles. Nous avons pu cependant aborder cette étude avec quelques chances de succès grâce à notre microdosage colorimétrique qui permet¹⁾ de mesurer encore avec exactitude 0,5 γ de formol. Les protéines ont été oxydées par le periodate de sodium dans les conditions mêmes déjà utilisées par nous pour le dosage des amino-acides β -hydroxylés¹⁾.

Nous avons rassemblé dans le tableau I les résultats obtenus au cours de cette étude.

Tableau I.

Apparition de formol au cours de l'oxydation periodique de quelques protéines.

Protéines	Mgr. formol % gr. de protéines			
	Dosés par colorimétrie	Calculés à partir de la teneur en		
		Sérine	Hydroxy-lysine	Sucres
Gélatine I (peaux de mammifères)	215 \pm 10	1025	216	—
Gélatine I (après acétylation)	0 \pm 10	1025	216	—
Gélatine II (peaux de Scyllium Canicula L.)	179 \pm 10	1508	179	—
Gélatine III (peaux de Anguilla vulgaris Turt.)	54 \pm 10	1667	68	—
Albumine d'œufs ²⁾	0 \pm 10	2077	0	419 ³⁾
Edestine ⁴⁾	0 \pm 10	791	0	—
Séricine	0 \pm 10	9430	0	—

L'examen des chiffres du tableau I suggère les quelques remarques suivantes:

1^o Nous avons vérifié, pour chaque protéine, que la mesure colorimétrique du formol s'effectue normalement dans les conditions expérimentales utilisées. Quand le dosage est négatif, nous pouvons donc dire que 100 gr. de protéine ont formé moins de 10 mgr. de formol.

2^o Parmi les protéines étudiées, seuls les divers échantillons de gélatine ont donné naissance à des quantités mesurables de formol,

¹⁾ Desnuelle, P., Antonin, S. et Naudet, M., Bl. Soc. Chim. biol. (Trav.) **26**, 1168 (1944).

²⁾ Cristallisée 4 fois d'après Soerensen.

³⁾ Calculé à partir de 4 mols. de mannose et 2 mols. de glucosamine dans 43000 gr. de protéine.

⁴⁾ Edestine Hoffmann-La Roche, en solution dans NaCl 1,7 M.

quantités qui correspondent d'ailleurs étroitement à l'hydroxylysine qu'ils contiennent¹⁾.

Par contre, si l'on acétyle préalablement la gélatine I par le cétène de manière à bloquer ses $-\text{NH}_2$ sans atteindre ses $-\text{OH}$, aucune trace de formol n'est plus décelable. C'est donc fort probablement à côté d'un $-\text{NH}_2$ libre de la protéine que se produit la rupture génératrice de cet aldéhyde.

3° Les autres protéines étudiées, dépourvues d'hydroxylysine¹⁾, ne donnent pas de formol au contact du periodate. Nous avons vérifié, d'ailleurs, qu'en présence des protéines et dans nos conditions expérimentales, la sérine et le glucose donnent respectivement 95 et 70 % de la quantité théorique de formol. Il faut donc penser que les liaisons qui relient la sérine et le constituant sucré aux protéines étudiées, rendent impossible la production du formol.

En ce qui concerne tout d'abord la sérine, ce fait signifie qu'en aucun point des molécules protéiques, les groupements $-\text{OH}$ et $-\text{NH}_2$ de l'amino-acide ne sont libres en même temps. Le calcul effectué sur l'albumine d'œufs montre en effet que si tel était le cas pour un seul reste de sérine, 100 gr. de la protéine devraient alors livrer une quantité de formol aisément décelable par notre méthode, soit 70 mgr. En d'autres termes, ou bien la sérine n'est jamais placée, dans ces protéines, de façon que sa fonction aminée soit libre ou bien, si l' $-\text{NH}_2$ est libre, la fonction hydroxyle est alors impliquée dans une autre liaison. Notons d'ailleurs que si l'on admet que l'albumine d'œufs possède 4 chaînes polypeptidiques seulement²⁾, il est très peu probable que la sérine occupe une place terminale et c'est la première alternative qui paraît la plus vraisemblable pour cette protéine. Mais il pourrait ne pas en être de même dans le cas de la séricine formée pour un tiers de sérine; le nombre des chaînes polypeptidiques de cette protéine n'est malheureusement pas encore connu.

4° En ce qui concerne, par ailleurs, la partie sucrée des molécules protéiques, une discussion utile ne peut être engagée que dans le cas de l'albumine d'œufs. On sait en effet³⁾ que cette dernière protéine contient un groupement prosthétique formé, pour les trois quarts, d'un hexasaccharide (4 mannoses et 2 glucosamines) et, pour un quart, d'une molécule azotée non-encore caractérisée. Si les $-\text{OH}$ 5 et 6 étaient libres à la fois sur l'une des chaînes sucrées, 100 gr. de protéine donneraient naissance, comme précédemment, à 70 mgr. de formol. Nos résultats expérimentaux infirment donc cette hypothèse. Il paraît probable d'ailleurs que les carbones I des chaînes sont tous impliqués dans des liaisons anhydride ou glycosidiques car l'ensemble

¹⁾ *Van Slyke, D. D., Hiller, A. et MacFadyen, D. A.*, J. Biol. Chem. **141**, 681 (1941); *Desmuelle, P. et Antonin, S.*, Biochemica acta (sous presse).

²⁾ *Chibnall, A.*, Nature, **1942**, 548.

³⁾ *Neuberger, A.*, Biochem. J. **32**, 1435 (1938).

de la molécule, une fois séparée de la protéine, n'est pas réducteur¹). Les ponts pyraniques sont donc stables et aucune fonction —OH en position 5 n'est libre.

5° L'ensemble de ces remarques suggère que le formol prenant naissance au cours de l'oxydation périodique de la gélatine, provient de la scission des chaînes latérales apportées par l'hydroxylysine, les deux fonctions —NH₂ et —OH (δ et ϵ) étant libres dans la protéine en question.

6° Remarquons enfin que nos résultats incitent à penser que l'hydroxylysine fait réellement partie de la molécule de gélatine et n'est pas, comme on pourrait le croire, un artefact prenant naissance au cours de son hydrolyse.

Marseille, Laboratoire de Chimie biologique
de la Faculté des Sciences.

165. Formule glycoprotéidique du plasma sanguin

par M.-F. Jayle et O. Judas.

(31 V 46)

Dans ce travail, nous avons eu pour objectif de préciser la localisation du sucre polyholosidique de plasmas et de sérums normaux et pathologiques, et, en superposant sa répartition à celle de l'azote protéique, d'établir une nouvelle classification des protéines sériques utilisable en clinique et mieux adaptée aux acquisitions récentes de la biochimie.

Pour ce faire, nous avons utilisé la méthode de fractionnement de *Cohn* par un mélange équimoléculaire de phosphates mono- et bi-potassiques et nous nous sommes référés pour le choix des molarités salines à l'excellent travail de *Y. Derrien*²), réalisé à l'École de *J. Roche*.

Pour le dosage du sucre protéidique, nous avons adapté la méthode colorimétrique à l'orcinol de *Sørensen* et *Haugaard*³) à l'électrophotomètre de *Meunier* et nous l'avons simplifiée et sensibilisée. Le sucre protéidique a été traduit en galactose, mannose et glucosamine (G.M.G.) et le sucre libre en glucose.

Trente-quatre plasmas ou sérums normaux et pathologiques ont été étudiés. La plupart n'ont été séparés qu'en trois ou cinq fractions: globuliniques, albuminiques et défécate trichloracétique (DT). Douze sérums ou plasmas ont été séparés en 12 ou 14 fractions.

¹) *Neuberger, A.*, *Biochem. J.* **32**, 1435 (1938).

²) *Derrien, Y.*, *Bl. Soc. Chim. biol.* **26**, 1091 (1944).

³) *Sørensen et Haugaard*, *C. r. Lab. de Carlsberg* **19**, 1 (1933).