

### 101. Biosynthèse de la proferrosamine A à partir de la L-lysine

par **Micheline Pouteau-Thouvenot, José Padikkala, Michel Barbier**

Institut de chimie des substances naturelles du CNRS, F-91190 Gif-sur-Yvette

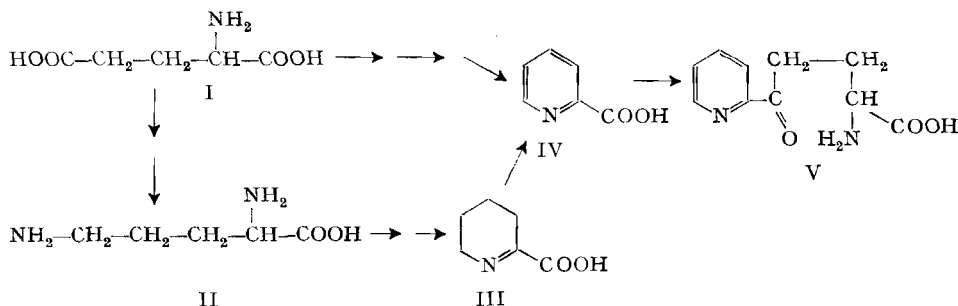
et **Max Viscontini<sup>1)</sup>**

Institut de chimie organique de l'Université, Rämistrasse 76, CH-8001 Zürich

(15. III. 73)

*Résumé.* Nous montrons dans ce travail que chez *Pseudomonas roseus fluorescens*, la L-lysine semble être le précurseur de l'acide picolique, lui-même directement incorporé dans le noyau pyridinique de la proferrosamine A. La L-lysine, de même que nous l'avons montré pour l'acide L-glutamique, ne prend pas part à la biosynthèse de la chaîne latérale du propigment.

Dans la 5<sup>e</sup> communication [1] nous avons brièvement mentionné que la lysine(II) semblait être le précurseur direct de l'acide picolique (IV) incorporé dans la proferrosamine A (V). Pour vérifier cette hypothèse nous avons cultivé *Pseudomonas roseus fluorescens* J. C. Marchal 1937 en présence de L-lysine [U-<sup>14</sup>C] dans le milieu synthétique habituel appauvri en ions ferreux [1]. Nous avons ainsi obtenu une ferrosamine radioactive (10 et 11% d'incorporation dans deux expériences). Après dégradation oxydante, toute la radioactivité du pigment s'est retrouvée dans l'acide picolique isolé. Rappelons que l'acide L-glutamique (I) et l'acide picolique (IV) sont incorporés à raison de 1,3 resp. 50% dans des conditions expérimentales identiques.



Dans l'état actuel de nos connaissances, il est encore difficile d'expliquer de manière certaine la biosynthèse de la proferrosamine A. La L-lysine semble être un intermédiaire obligatoire du processus. On sait que dans le règne végétal cet acide aminé est le précurseur du noyau pyridinique de nombreux alcaloïdes, en passant par les stades acide pipéridéine- $\Delta^1$ -carboxylique-2(III) et acide pipécolique [2]. Dans le cas de *Ps. roseus*, l'acide pipécolique n'accroît pas la biosynthèse du propigment et ne peut donc pas jouer le rôle de produit intermédiaire. Nous pensons plutôt que l'acide pipéridéine-carboxylique - s'il apparaît - est transformé en acide picolique avant d'être incorporé dans la proferrosamine A (II  $\rightarrow$  III  $\rightarrow$  IV  $\rightarrow$  V).

<sup>1)</sup> Produits naturels chez les microorganismes, 6e communication; 5e communication, v. [1].

En ce qui concerne l'acide L-glutamique, deux possibilités peuvent être envisagées: ou il est transformé en acide picolique par un chemin encore à déterminer, comme nous l'avons déjà mentionné dans la 5<sup>e</sup> communication (I → → → IV → V) ou il sert de précurseur à la L-lysine et contribue par son intermédiaire à la synthèse du pigment (I → → II → III → IV → V).

Nous poursuivons nos recherches dans cette direction.

Nous remercions le Prof. J. C. Marchal, Université de Nancy, pour la souche de *Pseudomonas roseus fluorescens* qu'il a bien voulu mettre à notre disposition et le Prof. E. Lederer, Gif-sur-Yvette, de l'intérêt qu'il a porté à ce travail. Nous remercions également le CEA (Saclay) pour une subvention ayant facilité l'achat de substances radioactives.

### Partie expérimentale

Toutes les expériences ont été effectuées comme nous l'avons décrit précédemment [1].

*Incorporation de la lysine*[U-<sup>14</sup>C]. 10 ml d'une solution stérilisée de L-lysine[U-<sup>14</sup>C], activité totale  $9,24 \cdot 10^6$  dpm, sont ajoutés à 400 ml de milieu de culture synthétique, 24 h. après l'inoculation. La ferrososamine est isolée par chromatographie sur feuilles de papier *Whatman* 3MM dans 8 solvants différents. La radioactivité totale reste constante dès la 2<sup>ème</sup> chromatographie.

1) propanol-2/CH <sub>3</sub> OH/H <sub>2</sub> O 2:1:1	39637 dpm/mg
2) butanol/CH <sub>3</sub> OH/H <sub>2</sub> O 20:3:7	29620 dpm/mg
3) même solvant	33348 dpm/mg
4) propanol-2/ammoniac à 1% 2:1	28715 dpm/mg
5) solvant 1)	30273 dpm/mg
6) éthanol/H <sub>2</sub> O 95:5	28400 dpm/mg
7) butanol/pyridine/eau 13:20:20	21807 dpm/mg
8) même solvant	27330 dpm/mg

En ramenant cette dernière activité aux 35 mg de ferrososamine mesurés colorimétriquement, on trouve une incorporation de 10% environ. Une deuxième expérience conduit à une incorporation de 11%.

La D-lysine et l'acide (±)pipécolique ne semblent pas avoir d'action sur la biosynthèse de la proferrerosamine (dosages spectrophotométriques dans des séries d'essais contenant des concentrations croissantes de ces substances dans des milieux de culture privés de fer).

*Dégradation oxydante en acide picolique.* 0,77 mg de ferrososamine, activité 27330 dpm/mg, soit 21044 dpm totale, est ajouté à 22,1 mg de produit froid; les 22,87 mg de ferrososamine renferment théoriquement 11,43 mg d'acide picolique, activité 1850 dpm/mg. L'oxydation nitrique est effectuée comme précédemment [1]. La radioactivité de l'acide picolique obtenu est constante après deux chromatographies dans butanol/acide acétique/eau 4:1:1. On obtient 0,295 mg d'acide picolique, activité totale 624 dpm, soit 2115 dpm/mg correspondant à une incorporation de 100% de la L-lysine dans le noyau pyridinique de la ferrososamine.

Dans une deuxième expérience nous ajoutons 19 mg de ferrososamine froide à 1 mg de pigment radioactif; activité 34384 dpm/mg. Théoriquement on devrait obtenir 10,2 mg d'acide picolique d'activité 3438 dpm/mg. On en obtient pratiquement 3,68 mg, activité totale 14840 dpm, soit 3843 dpm/mg. Ici encore l'incorporation est de 100%.

### BIBLIOGRAPHIE

- [1] M. Pouteau-Thouvenot, J. Padikkala, M. Barbier, A. Helbling & M. Visconti, *Helv.* 55, 2295 (1972).  
 [2] M. Florokin & E. H. Stoltz, *Comprehensive Biochemistry*, Elsevier Publishing Co. Amsterdam 20, 253 (1968).