

Sur une nouvelle technique chromatographique sur papier des amino-acides soufrés

Parmi les nombreuses techniques chromatographiques proposées pour les amino-acides, peu sont applicables aux dérivés soufrés et plus précisément à la séparation des premiers stades de l'oxydation de la cystéine, de la cystéinamine, et de la méthionine.

Seules ont été proposées, par CAVALLINI, MONDOVI ET DE MARCO¹ une technique utilisant le mélange collidine-lutidine, et par WINEGARD, TOENNIES ET BLOCK² le mélange classique phénol-eau. Encore, dans ce dernier cas le disulfoxyde de cystine ne se sépare-t-il pas de l'acide cystéinesulfinique et de tous façons s'agit-il de solvants peu volatils, difficiles à éliminer.

Nous intéressant aux premiers termes du métabolisme oxydatif de la cystéine, nous avons été amenés à mettre au point une méthode de séparation de ces différents composés, qui joint à une bonne sensibilité une grande simplicité et qui permet de surcroît la récupération des produits par élution.

Après divers essais, nous nous sommes fixés au solvant suivant: éthanol (à 95°)-chloroforme pur-eau (60:30:10).

Les chromatogrammes présentent l'aspect selon la Fig. 1.

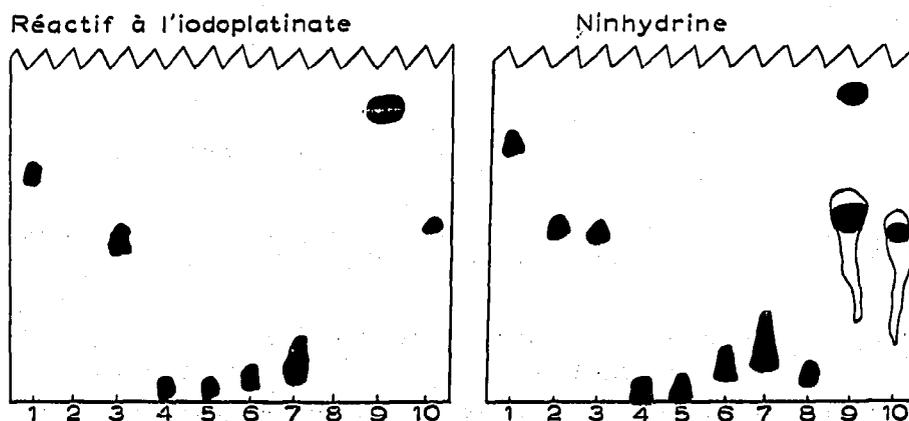


Fig. 1. Chromatogrammes des amino-acides soufrés. 1 = Méthionine; 2 = méthionine sulfone; 3 = méthionine sulfoxyde; 4 = cystéine; 5 = cystine; 6 = disulfoxyde de cystine; 7 = acide cystéine sulfinique; 8 = acide cystéique; 9 = cystéinamine; 10 = disulfoxyde de cystamine.

Nous avons mesuré les déplacements, non plus par rapport au front, car dans certains cas, pour obtenir des déplacements aussi grands que possible nous avons laissé couler le solvant au delà du bord dentelé, mais par rapport à la méthionine, acide aminé facile à obtenir dans un bon état de pureté et donnant une tache ronde parfaitement définie.

Les $R_{\text{méthionine}}$ sont donc, dans ces conditions à 20°, présentés dans le Tableau I.

On peut améliorer la séparation des taches de faibles $R_{\text{méthionine}}$ d'une part en laissant couler jusqu'à ce que les taches aient migré aussi loin que possible, d'autre part en substituant le méthanol absolu à l'éthanol à 95°.

Les chromatogrammes sont révélés:

(a) D'une part à la ninhydrine, selon les procédés classiques.

TABLEAU I

	Méthionine	
	Avec la ninhydrine	Avec le réactif à l'iodoplatine
Cystéine	0.13	0.12
Cystine	0.14	0.12
Disulfoxyde de cystine ³	0.24	0.21
Acide cystéine sulfinique ⁴	0.38	0.30
Acide cystéique ⁵	0.25	n'apparaît pas
Méthionine	1	1
Méthionine sulfone ⁶	0.51	0.48 apparaît très difficilement
Méthionine sulfoxyde ⁷	0.51	0.47
Cystéinamine	1.25	1.42 valeur du sommet d'une
Disulfoxyde de cystamine ⁸	0.67	tache nette 0.63 dans une traînée

(b) D'autre part avec le réactif à l'iodoplatinate préconisé par WINEGARD *et al.*². Il faut remarquer que la méthionine sulfone et l'acide cystéique ne réagissent pas avec ce dernier réactif et que la cystine ne réagit que fort lentement.

(c) Enfin l'acide cystéine sulfinique est révélé au moyen d'un mélange HCl-IK, ainsi qu'à l'aide du réactif au chlorure ferrique indiqué par MONDOVI *et al.*⁹, la cystéinamine et la méthionine réagissant, quant à elles avec le réactif au nitroprussiate.

On voit que, compte tenu des différentes techniques de révélation, on se trouve en présence d'une méthode permettant la séparation et l'identification faciles des premiers termes d'oxydation des différents composés soufrés essayés, et qui, par la volatilité du solvant permet l'élution des composés, sans entraîner de parasite provenant du solvant.

Laboratoire de Physique, Faculté de Médecine
et de Pharmacie, Marseille (France)

J. FONDARAI
C. RICHERT

¹ D. CAVALLINI, B. MONDOVI ET C. DE MARCO, *Giorn. Biochim.*, 1 (1952) 465.

² H. M. WINEGARD, G. TOENNIES ET R. J. BLOCK, *Science*, 108 (1948) 506.

³ R. EMILIOZZI ET L. PICHAT, *Bull. Soc. Chim. France*, (1959) 1887.

⁴ M. P. SCHUBERT, *J. Am. Chem. Soc.*, 55 (1933) 3336.

⁵ K. SHINOHARA, *J. Biol. Chem.*, 96 (1932) 285.

⁶ A. LEPP ET M. S. DUNN, *Biochem. Prepn.*, 4 (1955) 83.

⁷ A. LEPP ET M. S. DUNN, *Biochem. Prepn.*, 4 (1955) 80.

⁸ D. CAVALLINI, B. MONDOVI ET C. DE MARCO, *Giorn. Biochim.*, 1 (1952) 455.

⁹ B. MONDOVI, G. MODIANO ET C. DE MARCO, *Giorn. Biochim.*, 4 (1955) 324.

Reçu le 13 avril 1962