

Variations du R_F avec le pH dans la chromatographie sur papier des ptérines

Les solvants employés jusqu'ici pour la chromatographie des ptérines sont très nombreux mais ont été mis au point assez empiriquement. Une catégorie fort utilisée est représentée par des solutions aqueuses de sels divers. Nous avons constaté, au cours d'expériences ayant pour but le choix d'un solvant de ce type, que, pour certaines valeurs de pH, nous obtenions de meilleurs résultats. Cette observation nous a amené à faire varier systématiquement ce facteur, toutes autres choses égales par ailleurs, comme cela a été fait pour les purines et les acides aminés^{1,2}.

Les composés soumis à la chromatographie possèdent tous le noyau "ptérine" (2-amino-4-oxy-ptéridine); ce sont: ce composé lui-même, l'acide ptérine-6-carboxylique, la leucoptérine, la xanthoptérine, l'isoxanthoptérine, l'érythroptérine et la sépiaptérine. Les cinq premières ptérines sont des produits de synthèse aimablement fournis par Mr le professeur VISCONTINI, les deux dernières proviennent des ailes du papillon *Colias croceus* où elles ont été identifiées précédemment^{3,4}. La quantité de substance mise en oeuvre est de l'ordre du μg . La dissolution des substances est effectuée dans le méthanol-pyridine-eau (4:1:5). Le système tampon employé est obtenu par mélange d'acide acétique et d'ammoniaque 0.1 N en proportions variables ajustées pour obtenir des pH variant de 3 à 11 toutes les demi-unités; il est contrôlé à nouveau après chromatographie. Il n'est pas effectué d'équilibrage du papier mais le solvant est versé plusieurs heures à l'avance dans les cuves afin de saturer l'atmosphère; les chromatographies sont effectuées simultanément à une température de 22-23°. Le parcours du front est de 150 mm. L'expérience est répétée cinq fois successives et l'étude porte sur la moyenne des résultats obtenus. Les courbes représentant les variations du R_F en fonction du pH sont données sur Fig. 1.

Toutes les courbes présentent au moins un minimum et varient très légèrement aux faibles pH, alors qu'aux pH alcalins nous observons une brusque montée des valeurs de R_F . Ceux-ci tendent finalement à ne plus être différenciés suivant les ptérines. L'acide ptérine-6-carboxylique se comporte différemment: de pH 3 à pH 4.5 le R_F augmente rapidement pour tendre à se stabiliser aux pH moyens puis, comme chez les autres substances, augmente de nouveau très vite à pH élevé.

Les variations mineures relevées dans les courbes et qui semblent ne pas provenir d'un phénomène aléatoire sont d'une interprétation difficile. Les inflexions nettes pour l'isoxanthoptérine, la xanthoptérine, la 2-amino-4-oxy-ptéridine paraissent coïncider avec l'emplacement des pK^5 quand ceux-ci sont situés dans les domaines moyens du pH.

A chaque ptérine est associée une courbe bien définie; en conséquence l'étude conjointe des courbes d'une ptérine de référence et d'une ptérine connue qui lui est supposée identique fournit un élément d'identification de cette substance, à condition toutefois que la chromatographie de ces deux composés soit effectuée sur le même papier avec au moins deux spots de chacune et un spot du mélange. Nous avons en effet observé de légères variations de R_F d'une feuille de papier à l'autre. Ce critère est nettement supérieur à la simple mesure du R_F dans un solvant donné ou même dans une série limitée de solvants. Ce test peut être associé aux données spectrophotométriques et à l'électrophorèse à pH variables.

D'autre part à certains pH les courbes sont plus ou moins rapprochées les unes

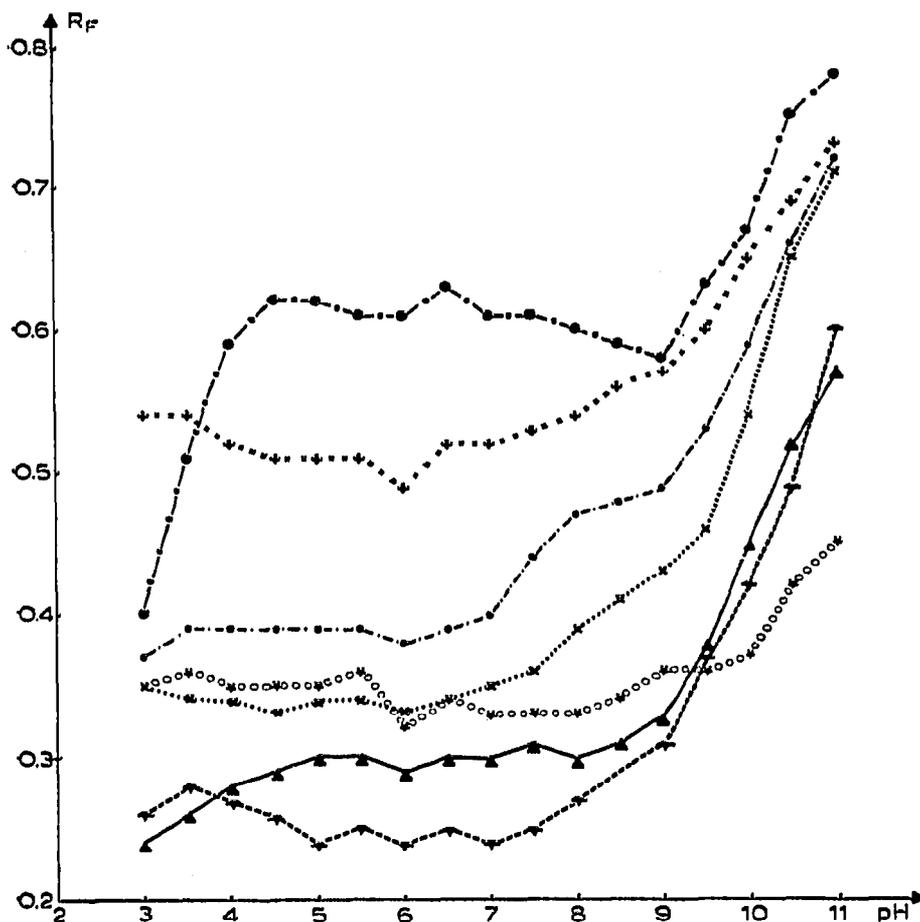


Fig. 1. Variations du R_F de sept ptérines chromatographiées sur papier Whatman No. 1 en fonction du pH du solvant (acétate d'ammonium 0.1 N). (●-●-●) Acide ptérine-6-carboxylique; (+ + +) 2-amino-4-oxyptéridine; (-·-·-·-) xanthoptérine; (○ ○ ○ ○) sépiaptérine; (····) isoxanthoptérine; (---) leucoptérine; (—) érythroptérine.

des autres, donc les ptérines plus ou moins bien séparées, et d'autre part la variation du R_F y est plus ou moins forte. Cette méthode permet par conséquent de choisir le pH auquel un solvant donne la séparation la meilleure et la plus reproductible.

Ces deux applications nous semblent susceptibles d'être dans certains cas utiles à l'étude des composés ptéridiniques.

École Normale Supérieure, Laboratoire de Zoologie et de Biochimie Animale, 24 rue Lhomond, Paris 5^e (France)

MONIQUE BARIAL

- 1 B. MAGASANIK, E. VISCHER, R. DONIGER, D. ELSON ET E. CHARGAFF, *J. Biol. Chem.*, 186 (1950) 37.
- 2 E. F. MACFARREN, *Anal. Chem.*, 23 (1951) 168.
- 3 C. SCHÖPF ET E. BECKER, *Ann.*, 524 (1936) 97.
- 4 H. DESCIMON, *Bull. Soc. Chim. Biol.*, 47 (1965) 1095.
- 5 A. ALBERT, dans L. ZECHMAISTER (Rédacteur), *Fortschritte der Chemie Organischer Naturstoffe*, Springer, Berlin, Göttingen, Heidelberg, 1954, p. 351-403.

Reçu le 7 novembre 1966