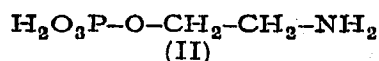
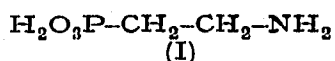


CHROM. 3833

Séparation chromatographique de la ciliatine et de la phosphoéthanolamine

Bien que l'isolement de l'acide amino-2-éthylphosphonique ou ciliatine (I), à partir de divers microorganismes^{1,2}, remonte déjà à plusieurs années, on ne possède encore que peu de renseignements sur le métabolisme de ce nouvel amino-acide naturel, dont la présence a également été signalée chez les animaux supérieurs^{3,4}. Plusieurs auteurs^{5,6} ont émis l'hypothèse que le métabolisme de la ciliatine serait en liaison étroite avec celui de la phosphoéthanolamine (II); aussi est-il nécessaire de posséder une technique de séparation chromatographique des deux produits, qui ne diffèrent l'un de l'autre que par le mode d'attache de l'atome de phosphore à la chaîne carbonée: liaison covalente C-P pour la ciliatine, liaison C-O-P pour la phosphoéthanolamine. La chromatographie sur papier ordinaire, réalisée avec diverses phases solvantes, ne permet pas cette séparation; en raison de la présence d'un groupement $-\text{PO}_3\text{H}_2$ fortement acide dans les deux produits, nous nous sommes orientés vers l'emploi de papiers échangeurs d'ions; nos résultats, qui font l'objet de cette note, nous conduisent à proposer une bonne caractérisation chromatographique de I et II.



Partie expérimentale

Nous avons utilisé le papier Whatman 3MM et deux papiers échangeurs d'ions, à base de diéthylaminoéthylcellulose (Whatman DE 81) ou d'ECTEOLA-cellulose (Whatman ET 81).

La ciliatine et la phosphoéthanolamine ont été déposées sous forme d'une solution aqueuse à 1 $\mu\text{mole/ml}$ (10 μl); les phases solvantes suivantes ont été employées:

- (A) *n*-butanol-acide acétique-eau (12:3:5, v/v),
- (B) *n*-butanol-acide propionique-eau (12:4:4, v/v),
- (C) phénol ammoniacal⁷,
- (D) pyridine-acide acétique-eau (10:7:3, v/v),
- (E) *tert.*-butanol-acide formique-eau (14:3:3, v/v),
- (F) *n*-propanol-éthanol-tampon pyrophosphate⁸,
- (K) tampons selon KNIGHT, de molarité 0.02 *M* et de pH variable⁹.

La chromatographie a été effectuée par voie descendante, dans un chromatotank Shandon, à la température de 20°.

Après développement et séchage, la révélation des deux composés a été effectuée par trempage rapide du chromatogramme dans une solution acétonique de ninhydrine à 0.5 %; on laisse la coloration se développer à la température ambiante et à l'obscurité.

Résultats

Nos résultats sont groupés dans le Tableau I. On observe, avec le papier classique et certaines phases solvantes, des différences significatives entre les valeurs de R_F pour la ciliatine et la phosphoéthanolamine examinées séparément; cependant, ces dif-

TABLEAU I

VALEURS DE R_F DE LA CILIATINE ET DE LA PHOSPHOÉTHANOLAMINE DANS DIFFÉRENTS SYSTÈMES CHROMATOGRAPHIQUES

<i>Papier</i>	<i>Phase solvante</i>		<i>Valeurs de R_F</i>	
	<i>Nom</i>	<i>pH</i>	<i>Ciliatine</i>	<i>Phospho-éthanolamine</i>
Whatman	A		0.21	0.20
	B		0.10	0.09
	C		0.29	0.33
	D		0.36	0.33
	E		0.53	0.46
	F		0.27	0.21
Whatman DE 8r	K	2	0.62	0.52
		3	0.59	0.48
		4	0.48	0.42
		7.5	0.77	0.63
		9	0.55	0.46
		12	0.65	0.49
		13	0.87	0.82
Whatman ET 8r	K	2	0.52	0.41
		3	0.52	0.41
		4	0.61	0.49
		7.5	0.69	0.57
		9	0.51	0.35
		12	0.57	0.43
		13	0.86	0.75

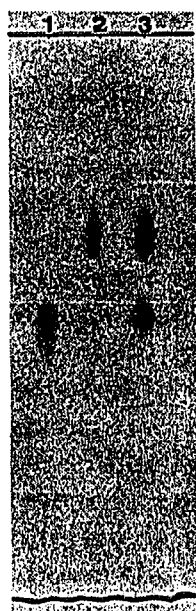


Fig. 1. Séparation chromatographique de la ciliatine et de la phosphoéthanolamine. 1 = Ciliatine; 2 = phosphoéthanolamine; 3 = mélange.

férences sont faibles et ne permettent pas la séparation chromatographique du mélange des deux composés.

Cette séparation est au contraire possible avec les papiers échangeurs d'ions: le meilleur résultat a été obtenu avec le papier Whatman ET 81 et la solution de KNIGHT de pH 9 (Fig. 1).

Dans le système sélectionné, la révélation par la ninhydrine à froid permet de déceler $2 \cdot 10^{-3}$ μ mole de ciliatine (0.25 μ g) et $2.5 \cdot 10^{-3}$ μ mole de phosphoéthanolamine (0.35 μ g); le chauffage du chromatogramme après pulvérisation de ninhydrine n'améliore pas la sensibilité de révélation car il entraîne une altération du chromatogramme. La révélation par pulvérisations successives d'une solution à 0.1 % d'acide trinitrobenzène sulfonique dans le méthanol à 80 % et d'un tampon borate-phosphate de pH 8.5 dans le méthanol à 70 %¹⁰ conduit à des taches jaune-orangé, avec une sensibilité analogue.

Laboratoire de Biochimie médicale "B",
Faculté de Médecine et de Pharmacie,
33-Bordeaux (France)

E. NEUZIL
H. JENSEN
J. LE POGAM

- 1 M. Horiguchi et M. Kandatsu, *Nature*, 184 (1959) 901.
- 2 M. Horiguchi et M. Kandatsu, *Bull. Agr. Chem. Soc. Japan*, 24 (1960) 565.
- 3 M. Kandatsu et M. Horiguchi, *Agr. Biol. Chem.*, 29 (1965) 781.
- 4 H. Shimizu, Y. Kakimoto, T. Nakajima, A. Kanazawa et I. Sano, *Nature*, 207 (1965) 1197.
- 5 A. Cassaigne, *Thèse Doct. Médecine*, Bordeaux, 1967.
- 6 W. Segal, *Nature*, 208 (1965) 1284.
- 7 I. Smith, *Chromatographic and Electrophoretic Techniques*, Vol. 1, Heinemann, Londres, 1960, p. 82.
- 8 E. H. M. Wade, A. T. Matheson et C. S. Hanes, *Can. J. Biochem. Physiol.*, 39 (1961) 141.
- 9 C. S. Knight, *Chromatog. Rev.*, 4 (1962) 69.
- 10 T. Shinoda et K. Satake, *J. Biochem. Tokyo*, 50 (1961) 293.

Reçu le 14 octobre 1968

J. Chromatog., 39 (1969) 238-240