

ACIDES AMINÉS DES ACTINOMYCINES PRODUITES PAR STREPTOMYCES S-67

par

HENRI SARLET

*Laboratoire de Biochimie du Centre de Recherches sur la Penicilline
et les autres antibiotiques (C.R.P.A.)*, Liège (Belgique)*

L'identification des acides aminés des diverses actinomycines a déjà fait l'objet de plusieurs travaux¹⁻⁶ et récemment BROCKMANN ET PFENNIG⁷ ont réussi à séparer par extraction fractionnée quatre actinomycines, dont trois au moins se distinguent par la nature des acides aminés constituant la chaîne peptidique. Jusqu'à présent cependant, il n'existe aucun dosage quantitatif dans ces acides aminés (sauf la tentative de BROCKMANN *et al.*⁸, mais il était manifeste à nos yeux qu'il s'agissait d'un mélange d'actinomycines).

En effectuant une chromatographie sur alumine (colonne haute d'un mètre, diamètre 5 mm), nous avons pu, à partir de l'actinomycine produite par *Streptomyces S-67*^{4,8}, isoler de très faibles quantités de deux constituants. La chromatographie sur papier montrait que les hydrolysats de ces deux substances étaient identiques, à l'exception d'un acide aminé, qui était soit le D-valine (actinomycine AA), soit un acide D-aminé du groupe de la leucine (actinomycine AC). L'utilisation des dosages microbiologiques et une étude approfondie de la racémisation des acides aminés, et notamment des isomères de l'isoleucine, par la méthode de DU VIGNEAUD ET MEYER⁹ ont permis de montrer qu'il s'agissait de la D-alloisoleucine. Notre actinomycine AC serait donc, au point de vue acides aminés au moins, identique à l'actinomycine C₃ de BROCKMANN ET PFENNIG, et notre actinomycine AA identique à C et X.

Nous avons réuni dans le Tableau I les résultats obtenus pour les dosages des acides aminés de nos diverses actinomycines et nous y avons joint à titre de comparaison les valeurs calculées à partir des données de BROCKMANN *et al.* et de DALGLIESH *et al.*⁵. On remarquera toutefois que nous n'avons pu réaliser pour l'actinomycine AA utilisée dans ces essais un degré de pureté semblable à celui obtenu par notre chromatographie sur grande colonne.

TABLEAU I

	Orig.*	Actinomycine AC.	AA.	C (Brockmann)	B (Dalgliesh)	
%age en:				(**)	(***)	
L-proline	16.5	16.6	16.0	15.2	13.8	
L-thréonine	8.4	8.2	7.2	3.2	3.0	
D-alloisoleucine	10.0 (12.5)	7.2 (9.0)	4.00	18.2	16.6	
D-valine	3.2 (4.5)	0	5.3 (7.4)	0.7	0.7	28.8
Sarcosine				1.2	1.1	
N-méthylvaline				31.9	29.0	

* isolée en 1949⁴.

** calculé d'après les valeurs de BROCKMANN en tenant compte de ce que le résidu d'hydrolyse est estimé à 24 %.

*** id en tenant compte de ce que le mélange d'acides aminés représente 68 % du matériel de départ. Les valeurs entre parenthèses tiendraient compte d'une racémisation incomplète.

L'intensité de la tache de la sarcosine dans les chromatogrammes à deux dimensions nous paraît contraire à l'estimation de BROCKMANN.

En nous basant sur les valeurs de ce tableau et sur la formule brute C₆₅H₈₈N₁₂O₂₀ (1356), confirmée par la détermination du poids moléculaire par diverses méthodes¹⁰, nous proposons les compositions suivantes en acides aminés:

* Prof. M. FLORKIN.

Actinomycine AC: 2 L-proline, 1 L-thréonine, 1 D-alloisoleucine, 4 molécules d'acides aminés N-méthylés (à répartir entre sarcosine et N-méthylvaline).

Actinomycine AA: même composition, mais D-valine au lieu de D-alloisoleucine.

Ces propositions nous paraissent en accord avec le bilan azoté ci-dessous (Tableau II) obtenu pour l'hydrolysât de l'actinomycine AC.

TABLEAU II

N total de l'hydrolysât	9.9 %	théorique	10 N	10.3
N de la thréonine				
(dosage microbiol.)	1.0		1 N	1.03
N de la D-alloisoleucine				
(dosage microbiol.)	0.9		1 N	1.03
N de NH ₂ (VAN SLYKE)	2.0		2 N	2.1
N de NH ₃ (distillation)	1.5		2 N	2.1
N de la proline				
(dosage microbiol.)	2.0		2 N	2.1
N de N-CH ₃	4.4		4 N	4.1

BIBLIOGRAPHIE

- ¹ C. E. DAGLIESCH ET A. R. TODD, *Nature*, 164 (1949) 830.
- ² H. BROCKMANN ET N. GRUBHOFER, *Naturwissenschaften*, 36 (1949) 376.
- ³ *Idem, ibid.*, 37 (1950) 494.
- ⁴ H. SARLET, *Enzymologia*, 14 (1950) 49.
- ⁵ C. E. DALGLIESH, A. W. JOHNSON, A. R. TODD ET L. C. VINING, *J. Chem. Soc.*, (1950) 2946.
- ⁶ H. BROCKMANN, N. GRUBHOFER, W. KASS ET H. KALBE, *Ber.*, 84 (1951) 260.
- ⁷ H. BROCKMANN ET N. PFENNIG, *Z. physiol. chem.*, 292 (1953) 77.
- ⁸ M. WELSCH, *Bull. soc. chim. biol.*, 28 (1947) 557; *Phénomènes d'antibiose chez les Actinomycètes* (Duculot, Gembloux, 1947).
- ⁹ V. DU VIGNEAUD ET C. E. MEYER, *J. Biol. Chem.*, 98 (1932) 295.
- ¹⁰ H. SARLET, non publié.

Reçu le 23 octobre, 1953

PREPARATION AND PROPERTIES OF A COBALAMIN PROTEIN

by

HARRY G. WIJMENA, KENNETH W. THOMPSON

Laboratories of N.V. Organon, Oss (Netherlands) and Organon Inc., Orange, N.J. (U.S.A.)

and

KURT G. STERN AND DANIEL J. O'CONNELL

Polytechnic Institute of Brooklyn, N.Y. (U.S.A.)

Employing extracts of hog gastric mucosa from the pylorus region and crystalline cyanocobalamin (vitamin B₁₂) as starting materials, a conjugated protein has been prepared in highly purified form. Electrophoretic analysis of the starting material by the moving boundary method revealed three principal protein components which have been separated by combining various techniques.

From a partially purified preparation obtained by fractional ethanol precipitation at low temperature and moderate ionic strength, two different paths to further purification were followed and the final products thus obtained were compared. The isolation of Fraction A* involved electro-

* Fraction A was preparation VII-c-2-B-a prepared by two of us (K.G.S., and D.J.O'C.).