

## 265. Recherches sur la formation et la transformation des esters LXXXIII [1]

### Réactions de condensation et/ou de phosphorylation, en solution aqueuse, de divers composés organiques à fonctions –OH, COOH, NH<sub>2</sub>, ou autres, à l'aide de polyphosphates linéaires ou cycliques

par Joseph Rabinowitz

Department of Chemistry, University of California, Berkeley, California 94720, USA

(15 X 69)

*Summary.* Amino acids and other derivatives are condensed in aqueous solutions in the presence of linear or cyclic polyphosphates (or other anhydrides of P acids). The best results are obtained in slightly alkaline media (pH 7.5 to 9.5). The reaction, which has been studied at 70°C and at room temperature, proceeds with relative ease even at room temperature. In the case of the cyclic polyphosphates, trimetaphosphate gave the best results as compared with tetra- and hexametaphosphate, and among the linear polyphosphates used the yields grew with the average length of the chain.

The significance of this method of condensation as a general method and also in the context of chemical evolution is discussed.

The author suggests that one of the pathways leading to the peptide bond formation involves the intermediate formation of aminoacyl phosphates or polyphosphates by the nucleophilic attack of the carboxylate group of the amino acid on the phosphorus of a linear or cyclic P–O–P bond, giving rise to the labile mixed anhydride, and subsequent nucleophilic attack of the amino nitrogen of a molecule of the amino acid, or of the aminoacyl phosphate already produced, on the C of the mixed anhydride with displacement of phosphate or polyphosphate and formation of a peptide bond. Other pathways may also involve the intermediate formation of phosphoramidates which may result from the reaction of amino groups (or ammonia) with trimetaphosphate in alkaline medium.

Linear and cyclic polyphosphates (which are known to be phosphorylating agents of the OH (alcoholic) function in aqueous solutions at pH's above 7) phosphorylate serine, ethanolamine and threonine in aqueous solutions at pH 8–10 with yields up to 25%.

Les études concernant les questions touchant aux problèmes relatifs à l'origine de la vie deviennent de plus en plus nombreuses et il est généralement admis qu'une évolution abiotique des composés chimiques («évolution chimique») a précédé l'évolution biologique [2]. Envisagées sous cet aspect, les synthèses de composés chimiques importants au point de vue biologique, dans des conditions qui auraient pu régner sur la terre primitive, revêtent un certain intérêt. Dans ce contexte, le rôle des dérivés phosphorylés a dû être considérable si l'on considère leur importance dans les processus biologiques des organismes contemporains.

Nous avons déjà montré que l'on pouvait condenser la glycine en dipeptide en solution aqueuse en présence de polyphosphates linéaires ou cycliques [3]. Comme la biosynthèse des protéines procède par l'intermédiaire d'aminoacyl-adénylates (anhydrides mixtes obtenus par la réaction enzymatique d'adénosinetriphosphate

avec un acide  $\alpha$ -aminé) [4], quelques auteurs ont synthétisé des adénylates et des phosphates de quelques acides aminés et ont montré que ces anhydrides mixtes fournissaient en solution aqueuse, à des pH supérieurs à 7, des peptides de diverses longueurs [5]. Il se pourrait que, comme nous le verrons plus loin, notre réaction avec les polyphosphates donnât également lieu à des composés intermédiaires de ce type, soit des aminoacyl-phosphates ou des aminoacyl-polyphosphates. On trouve des polyphosphates dans de nombreux micro-organismes et on a même suggéré que les organismes primitifs utilisaient des polyphosphates ou du pyrophosphate à la place de l'ATP actuel [6].

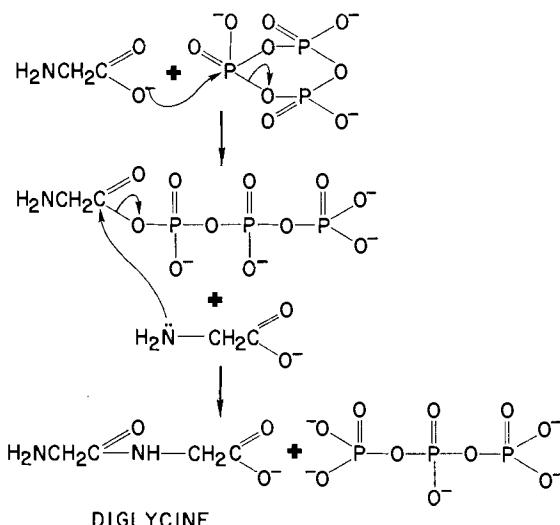
Dans ce mémoire, nous examinerons les réactions soit de condensation soit de phosphorylation provoquées d'un côté par des polyphosphates linéaires de longueur de chaîne moyenne de degré de condensation  $n$  connu, et de l'autre par trois polyphosphates cycliques: les tri-, tétra- et hexa-métaphosphates. Les acides aminés utilisés pour l'étude des réactions de condensation ont été soit la glycine, l'alanine, l'acide aspartique, la sérine et la thréonine, soit des substances choisies parmi celles que l'on obtient après hydrolyse de la solution aqueuse résultant de réactions de décharge électrique dans un système contenant de l'eau, du méthane et de l'ammoniac (composants probables de l'atmosphère primitive) que ce soit en présence ou en absence de phosphine [7].

Quant aux réactions de phosphorylation, nous avons envisagés comme substrat les hydroxyamino-acides parmi les amino-acides précédents (séroline et thréonine), ainsi que l'éthanolamine, que nous avons aussi identifiée dans les mélanges formés lors de réactions de décharge électrique dans des systèmes contenant de la phosphine, du méthane, de l'eau et de l'ammoniac [7].

*A. Réactions de condensation.* Nous avons examiné des solutions aqueuses de systèmes contenant à la fois des amino-acides et des polyphosphates à des concentrations variants de 1M à  $10^{-3}$ M, à 70° et à température ambiante, à divers pH. Toutes conditions étant égales, cette réaction se fait le mieux en milieu légèrement alcalin, aux pH voisins de 8-8,5 (8 est le pH moyen des océans). Les rendements demeurent bons jusqu'aux pH 9,5-10; ils diminuent au-dessus du pH 10 et au-dessous du pH 8; ils deviennent nuls en milieu acide.

Avec les polyphosphates linéaires le rendement augmente avec la longueur de leur chaîne. Parmi les métaphosphates examinés, le trimétaphosphate donne les meilleurs résultats (jusqu'à 35% de rendement en dipeptide), suivi du tétraméta-phosphate puis de l'examétaphosphate. Dans certains cas, les chromatogrammes provenant de l'analyseur automatique d'acides aminés montrent, en dehors des pics relatifs à l'acide aminé et au dipeptide, des pics à temps d'élution relativement court (20 à 30 minutes) qui pourraient correspondre à des aminoacyl-phosphates ou à des aminoacyl-polyphosphates. On sait d'ailleurs que l'acétyl-pyrophosphate est plus stable que l'acétyl-phosphate [8] et que ces anhydrides mixtes sont généralement des agents acylants de la fonction amino [9].

Un des mécanismes aboutissant à la formation de la liaison peptidique par des *cyclopolyphosphates* est probablement le suivant, formulé pour la réaction du triméta-phosphate avec la glycine:



## DIGLYCINE

Rupture du cycle du trimétaphosphate par le groupement carboxylate de la glycine avec formation d'aminoacétyl-triphosphate, suivie d'une attaque nucléophile du C de la liaison anhydride mixte par le doublet libre de l'azote amino d'une molécule de glycine (ou d'une deuxième molécule d'aminoacétyl-triphosphate).

À des pH supérieurs à 8,5-9, l'ammoniac et les amines réagissent avec le trimétophosphate pour donner des tripolyphosphoramides, cette réaction étant reversible lorsqu'on abaisse le pH [10]. Par conséquent, aux pH > 8,5 un mécanisme impliquant la formation intermédiaire de phosphoramides n'est pas à exclure.

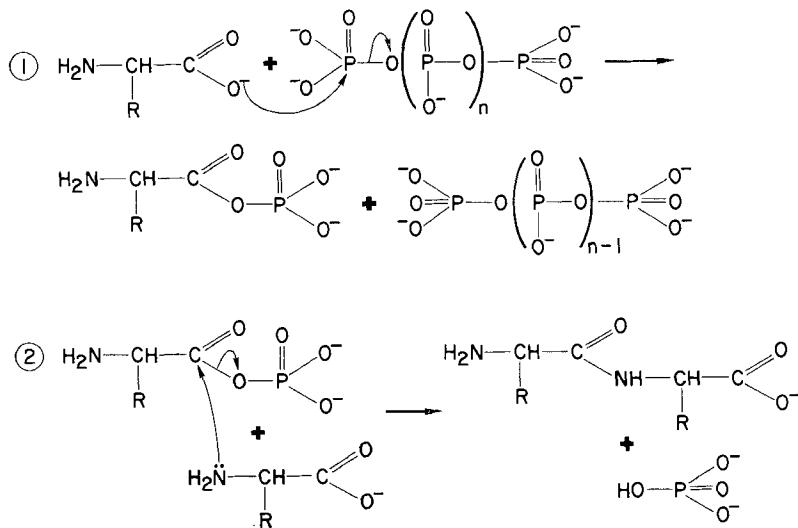
A conditions égales, la glycine donne les meilleurs rendements en dipeptide, suivie de l'alanine, de l'acide aspartique, de la sérine et de la thréonine. Nous nous proposons d'étendre ces réactions aux autres acides aminés pour établir un ordre hiérarchique de réactivité de ces derniers vis-à-vis des polyphosphates linéaires ou cycliques en solution aqueuse.

Dans le cas de la sérine et de la thréonine le rendement en dipeptide est faible, probablement parce qu'il y a compétition entre phosphorylation du groupement  $-\text{OH}$  et condensation impliquant les groupements  $-\text{COO}^-$  et  $-\text{NH}_2$  de l'hydroxy-aminoacide. Le dérivé O-phosphorylé ne peut probablement plus être transformé en anhydride mixte en solution aqueuse par les ions polyphosphate, ces derniers étant repoussés par le groupement monoester phosphorique. Dans le cas des glycols, par exemple, nous n'avons jamais réussi à obtenir le dérivé diphosphorylé par réaction avec les acides polyphosphoriques: on obtient des mélanges de monoesters et d'esters cycliques [11].

Avec des acides du phosphore trivalent, tel que l'acide phosphoreux, on peut obtenir des diesters diphosphoreux des glycols [12]. Comme l'acide phosphoreux peut estérifier directement les alcools [13], nous avons essayé - mais en vain - de condenser la glycine, en solution aqueuse, en présence de phosphite ou d'hypophosphite dans les mêmes conditions de température et de pH ( $\sim 8$ ) que précédemment.

Des anhydrides d'autres acides du phosphore, par exemple l'anhydride benzène-phosphonique, permettent également de réaliser cette condensation, quoiqu'avec des rendements très faibles.

Avec les *polyphosphates linéaires*, on peut également formuler un mécanisme impliquant la formation intermédiaire d'aminoacyl-phosphate (ou d'aminoacyl-polyphosphate) comme suit:



Dans tous les cas examinés, des chromatographies sur couche mince de prises aliquotes des divers mélanges réactionnels, ont montré que seule une fraction du polyphosphate initial était transformée en orthophosphate; mais nous n'avons pas encore de données quantitatives concernant ce point.

En faisant réagir un mélange de deux acides aminés, par exemple la glycine et lalanine, on obtient quatre dipeptides: glycyl-glycine, alanyl-alanine, glycyl-alanine et alanyl-glycine. Ces deux derniers présentent un même pic (même temps d'élution) sur les chromatogrammes provenant de l'analyseur automatique d'acides aminés. Par élution de ce dernier pic et dégradation d'EDMAN sur l'éluat concentré, on obtient à chacun des deux stades deux phénylthiohydantoïnes: celles de la glycine et de lalanine respectivement; ceci suggère qu'il s'agit effectivement d'un mélange de glycyl-alanine et d'alanyl-glycine.

En faisant réagir un mélange de diglycine et de glycine avec le trimétaphosphate en solution aqueuse, on obtient un pic correspondant à la triglycine différent de celui de la diglycine. Ce dernier devient plus grand par formation d'une nouvelle quantité de diglycine par condensation de 2 molécules de glycine, et de tétraglycine (même temps d'élution que la diglycine) par condensation de deux molécules de diglycine. Nous n'avons pas examiné s'il y a formation de dioxopipérazine par cyclisation intramoléculaire de diglycine. Nous envisageons de faire réagir des mélanges de peptides et d'acides aminés resp. de plus en plus complexes et d'en suivre leur condensation.

En conclusion, les meilleurs résultats (v. tableaux 1 et 2) sont obtenus avec les polyphosphates cycliques, particulièrement le trimétaphosphate, et les polyphosphates linéaires HO(-PO<sub>2</sub>HO)<sub>n</sub>-H avec n élevé, à des pH voisins de 8-8,5 (7,5 à 9,5-10). De plus, cette réaction de condensation en solution aqueuse est relativement rapide même à température ordinaire. Elle offre de nombreuses possibilités d'application à d'autres

types de réactions de condensation que celles décrites dans ce mémoire (p. ex. condensation de nucléotides en polynucléotides, de bases puriques et pyrimidiques avec des sucres tels que les ribose et désoxyribose en nucléosides et éventuellement nucléotides, de  $\gamma$ - ou de  $\delta$ -aminoacides en lactimes, etc.) et que nous nous proposons d'étudier.

Tableau 1. *Rendements en diglycine obtenus dans des solutions aqueuses 0,1M en glycine, et 0,1M en trimétaphosphate ou en tétramétaphosphate respectivement, à 70° et à 20°C, en fonction du pH*

Polyphosphate	pH *)	Température °C	Durée de la réaction h	Rendement en diglycine %
trimétaphosphate	5,0- 6,0	70	118	0,2
	6,0- 7,0	70	118	0,9
	6,5- 8,0	70	71	15
	6,5- 8,0	70	215	17
	7,0- 8,5 (9,0)	70	89	16
	7,5- 9,5 (10,0)	70	70	35
	8,5-10,5 (11,0)	70	70	28
	6,5- 7,5	20	552	3
	7,5- 9,5 (10)	20	190	22
	8,5-10,5 (11)	20	192	20
	> 11 (NH <sub>3</sub> 1 à 2N)	20	192	7,2
tétramétaphosphate	6,5- 8,0	70	71	4,5
	6,5- 8,0	70	143	17
	7,5- 9,5 (10,0)	70	69	18
	9,5-10,5 (11,0)	70	69	10
	6,5- 8,0	20	528	0,5
	7,5- 9,5 (10)	20	120	6,2
	8,5-10,5 (11)	20	144	2,0

\*) Le pH varie en cours de réaction et on le corrige par addition, de temps en temps, de NH<sub>4</sub>OH conc. Le chiffre de gauche représente le pH le plus bas atteint en cours de réaction avant chaque correction, et le chiffre entre parenthèses, le pH le plus élevé.

Au point de vue de l'évolution chimique, cette méthode de condensation (et/ou de phosphorylation simultanée) en solution aqueuse à un pH peu éloigné de la neutralité semble combler une lacune de nos connaissances: en effet, les agents de condensation utilisés jusqu'ici comme pouvant être prébiotiques (cyanamide, dicyanamide, cyanoguanidine, etc.) fournissent des rendements très faibles aux pH voisins de 8 et ne donnent souvent les meilleurs résultats qu'à un pH franchement écarté de la neutralité. Cette condensation présente également l'avantage de se faire à température ordinaire et d'être relativement rapide.

*B. Phosphorylation.* Des exemples de phosphorylation en solution aqueuse par le trimétaphosphate ou les polyphosphates ont été déjà publiés [14]. Nous avons d'ailleurs mentionné depuis fort longtemps que lorsqu'on traite un mélange d'eau et d'alcool par un acide polyphosphorique ou un anhydride d'un autre acide du phosphore, on obtient le monoester de l'acide du phosphore correspondant avec un rendement pouvant atteindre 15 à 20% [15]. Nous nous contentons donc ici d'indiquer que, parmi

Tableau 2. *Formation de peptides en solution aqueuse d'acides aminés, à diverses concentrations, en présence de polyphosphates linéaires ou cycliques, à 70° et 20°C*

Acide aminé de départ	Concentration M	Polyphosphate	Concentration M <sup>b)</sup>	pH <sup>a)</sup>	Température °C	Durée de réaction h	Rendement en dipeptide %
Glycine	0,1	Pyrophosphate	0,1	8	70	257	0,5
Glycine	0,1	Pyrophosphate	0,1	8	20	336	0,2
Glycine	0,1	Tripolyphosphate	0,1	7 -8	70	70	0,6
Glycine	0,1	Tripolyphosphate	0,1	7 -8	20	360	0,4
Glycine	0,1	Polyphosphate n = 5,5	0,1	6,5-8	70	70	2,9
Glycine	0,1	Polyphosphate n = 5,5	0,1	6,5-8	70	240	4,7
Glycine	0,1	Polyphosphate n = 5,5	0,1	6,5-8	70	312	10
Glycine	0,1	Polyphosphate n = 5,5	0,1	6,5-8	20	432	0,4
Glycine	0,1	Polyphosphate n = 11,5	0,1	6,5-8	70	70	3,2
Glycine	0,1	Polyphosphate n = 11,5	0,1	6,5-8	70	166	4,4
Glycine	0,1	Polyphosphate n = 11,5	0,1	6,5-8	20	434	0,5
Glycine	0,1	Polyphosphate n = 18	0,1	6,5-8	70	70	7,3
Glycine	0,1	Polyphosphate n = 18	0,1	6,5-8	70	143	11
Glycine	0,1	Polyphosphate n = 18	0,1	6,5-8	20	504	1,6
Glycine	0,1	Polyphosphate n = 26	0,1	6,5-8	70	70	9,2
Glycine	0,1	Polyphosphate n = 26	0,1	6,5-8	20	528	6,9
Glycine	0,1	Hexamétaphosphate	0,1	6,5-8	70	335	7,5
Glycine	0,01	Hexamétaphosphate	0,01	6,5-8	70	335	9,0
Glycine	0,1	Tétramétaphosphate	0,1	6,5-8	70	71	4,5
Glycine	0,1	Tétramétaphosphate	0,1	6,5-8	70	143	17
Glycine	0,1	Tétramétaphosphate	0,1	6,5-8	20	528	0,5
Glycine	1,0	Trimétaphosphate	1,0	6,5-8	70	71	9,0
Glycine	1,0	Trimétaphosphate	1,0	6,5-8	20	52	7,8
Glycine	1,0	Trimétaphosphate	1,0	6,5-8	20	532	10
Glycine	0,1	Trimétaphosphate	0,1	6,5-8	70	71	14,8
Glycine	0,1	Trimétaphosphate	0,1	6,5-8	70	214	17
Glycine	0,1	Trimétaphosphate	0,1	6,5-8	20	552	2,9
Glycine	0,01	Trimétaphosphate	0,01	6,5-8	70	119	1,0
Glycine	0,01	Trimétaphosphate	0,01	6,5-8	70	293	3,7
Glycine	0,01	Trimétaphosphate	0,01	6,5-8	20	480	2,4
Glycine	0,001	Trimétaphosphate	0,001	6,5-8	70	200	—
Glycine	0,001	Trimétaphosphate	0,001	6,5-8	20	553	—
Glycine	0,001	Trimétaphosphate	0,001	6,5-8	20	1040	0,1
Glycine	0,001	Trimétaphosphate	0,01	6,5-8	70	70	2,8
Glycine	0,01	Trimétaphosphate	0,001	6,5-8	70	91	0,5

Tableau 2 (fin)

Acide aminé de départ	Concentration M	Polyphosphate	Concentration M <sup>b)</sup>	pH <sup>a)</sup>	Température °C	Durée de réaction h	Rendement en dipeptide %
Glycine (0,05 M) + alanine (0,05 M)	0,1 0,1	Trimétaphosphate Trimétaphosphate	0,1 0,1	7-8,5 7-8,5	70 20	70 2040	24 <sup>c)</sup> ~20
Alanine	0,1	Polyphosphate n ≈ 10	0,1	7-8,5	70	115	1,5
Alanine	0,1	Trimétaphosphate	0,1	6,5-8,0	70	71	~8,0
Acide aspartique	0,1	Trimétaphosphate	0,1	6,5-8,0	70	71	~5,0
Acide aspartique	0,1	Trimétaphosphate	0,1	6,5-8,0	20	456	~2,0

<sup>a)</sup> Signification: voir tableau 1.  
<sup>b)</sup> Dans le cas des polyphosphates avec n > 3, nous avons utilisé 400 g de chacun des polyphosphates par mole d'acide aminé.  
<sup>c)</sup> Environ 4% de dialanine, 8% de diglycine et 12% d'un mélange de glycyl-alanine et d'alanyl-glycine.

les alcools que nous avons mis en œuvre, l'éthanolamine et la sérine ont fourni les meilleurs résultats alors que les rendements avec la thréonine ont été moindres.

### Partie expérimentale

*Produits de départ.* Tous les acides aminés, la diglycine et l'éthanolamine ont été obtenus dans le commerce, de même que les acides thréonine- et sérine-phosphoriques. L'acide aminoéthylphosphorique a été préparé par réaction entre éthanolamine et acide polyphosphorique selon [16]. En dehors du pyrophosphate, du tripolyphosphate et de l'hexamétaphosphate qui sont des produits commerciaux, nous avons préparé les autres polyphosphates linéaires ou cycliques par des méthodes connues. Quelques échantillons de polyphosphates linéaires de longueur de chaîne moyenne déterminée, de trimétaphosphate et de tétramétaphosphate ont été mis gracieusement à notre disposition par la MONSANTO COMPANY, St. Louis, Missouri, que nous remercions vivement ici de sa générosité.

*Analyses.* Les analyses d'acides aminés, de peptides et d'acides aminoalcoylphosphoriques ont été effectuées sur un analyseur automatique d'acides aminés de la PHOENIX PRECISION INSTR. CO., modèle K-8000, VG-B.

*Chromatographies.* Les chromatographies pour la détermination qualitative des phosphates présents dans les divers mélanges réactionnels ont été effectuées sur couche mince de cellulose «EASTMAN Chromagram Cellulose F Sheets», solvant: 25 g CCl<sub>3</sub>COOH, 1,75 ml NH<sub>4</sub>OH conc., H<sub>2</sub>O à 175 ml et acétone 325 ml; révélateur: solution perchlorique de molybdate d'ammonium. Dans quelques cas, des chromatographies pour la séparation de la diglycine d'avec la glycine ont été faites sur couche mince de silice, solvant: 2 vol. CHCl<sub>3</sub>, 2 vol. MeOH et 1 vol. NH<sub>4</sub>OH à 17%; révélateur: solution alcoolique de ninhydrine contenant quelques gouttes de collidine; et celles pour la séparation de dipeptides tels que dialanine et diglycine, sur couche mince de cellulose, solvant: 4 vol. EtOH et 1 vol. NH<sub>4</sub>OH conc., et même révélateur que précédemment.

1. *Condensation d'acides aminés et de dipeptides en solution aqueuse en présence de polyphosphates linéaires ou cycliques.* -- 1.1. *Acides aminés.* On prépare 5 ml d'une solution aqueuse de l'acide aminé et y dissout la quantité voulue de polyphosphate linéaire ou cyclique. Une partie de la solution est abondonnée à température ordinaire et l'autre est portée à 70°. Le pH de la solution s'abaisse rapidement à 70° et plus lentement à 20° (surtout lorsqu'on utilise les métaphosphates ou les polyphosphates linéaires de longueur de chaîne moyenne avec  $n > 4$ ) et il est nécessaire de le ramener à sa valeur initial de temps en temps par addition d'ammoniaque concentrée. Des prises aliquotes sont prélevées à des intervalles de temps déterminés et analysées à l'aide de l'analyseur automatique d'acides aminés. Les chromatogrammes présentent quelquefois, en dehors des pics correspondant à l'acide aminé et au dipeptide, des pics à temps d'élution court pouvant correspondre à des aminoacyl-phosphates ou -polyphosphates, et un pic de faible intensité représentant le tripeptide.

On calcule les rendements en dipeptides en comparant les aires des pics des chromatogrammes provenant des mélanges réactionnels à ceux provenant de quantités connues de dipeptide.

Dans le tableau 1, nous indiquons les rendements en diglycine obtenus à partir de solutions 0,1M respectivement en glycine et en trimétaphosphate ou tétramétaphosphate, à divers pH, à 70° et à 20° C.

Le tableau 2 résume les résultats obtenus lorsqu'on fait réagir des solutions de divers acides aminés, à diverses concentrations, avec des polyphosphates linéaires ou cycliques, dans les mêmes conditions de pH, également à 70 et à 20° C.

1.2. *Peptides et acides aminés.* Nous donnons ici un seul exemple: on fait réagir une solution aqueuse 0,05M en diglycine et en glycine en présence de trimétaphosphate (0,1M), à 70° et à 20° respectivement, à pH 6,5-8,0. Au bout de 70 h à 70°, le chromatogramme montre un pic de triglycine (rendement: 5% env.). Le pic de «diglycine» (qui comprend ici aussi la tétraglycine qui donne le même pic!) est plus grand que dans la solution initiale (en absence de trimétaphosphate). La condensation de 2 molécules de glycine en diglycine est donc dans l'ensemble plus rapide que la formation de triglycine à partir de diglycine + glycine ou de tétraglycine à partir de 2 molécules de diglycine.

2. *Condensation de la glycine en présence d'anhydride benzénephosphonique.* Une solution 0,1M en glycine et en anhydride benzénephosphonique est chauffée 70 h à 70° à pH 6,5-8. A ce moment, le rendement en diglycine est de 0,5% environ.

3. *Phosphorylation de la sérine, de la thréonine et de l'éthanolamine en solution aqueuse par les polyphosphates linéaires ou cycliques.* Des solutions 0,1M à 0,01M en sérine et 0,1M à 0,01M en polyphosphate linéaire,  $n > 25$ , ou en trimétaphosphate sont chauffées à 70° et à 20° respectivement, à pH 7-8,5 (on maintient le pH par addition de temps d'ammoniaque conc.). Au bout de 115 h à 70°, en solution 0,1M, on note un rendement de 6% en sérinephosphate; au bout de 2280 h à température ordinaire, on note un rendement de 4,5%. Avec le trimétaphosphate, le rendement en sérinephosphate, dans des conditions identiques, est de l'ordre de 20% en solution 0,1M.

Si on fait réagir la thréonine dans les mêmes conditions que la sérine, les rendements en dérivé phosphorylé sont moins bons. Avec l'éthanolamine, les rendements sont plus élevés (30 à 35% en solution 0,1M contenant du trimétaphosphate).

Les rendements ont été déterminés soit par comparaison du pic en question sur le chromatogramme de l'analyseur automatique d'acides aminés avec des pics obtenus avec des quantités connues de sérine-, thréonine- ou aminoacéthyl-phosphate, soit par chromatographie sur couche mince de cellulose (solvant: 2 vol. MeOH et 1 vol. NH<sub>4</sub>OH conc.) simultanément avec des quantités connues de substances témoins (révélation par une solution alcoolique de ninhydrine contenant quelques gouttes de collidine).

Une partie de ce travail a été réalisée grâce à un Senior Research Associateship accordé à l'auteur par la NATIONAL ACADEMY OF SCIENCES, Washington, D.C., et tenu à la NATIONAL AERONAUTICS AND SPACE ADMINISTRATION, AMES RESEARCH CENTER, Moffett Field, California.

L'auteur tient aussi à exprimer ses remerciements à la STIFTUNG FÜR STIPENDIEN AUF DEM GEBIETE DER CHEMIE et à son président Monsieur le Professeur C. A. GROB, à la Maison HOFFMANN-LA ROCHE & CIE (Bâle, Suisse), ainsi qu'à Messieurs les Professeurs E. CHERBULIEZ, H. DAHN, W. G. DAUBEN et PL. PLATTNER.

Il est redévable à Mademoiselle J. MAZZURCO (Ames Research Center) de nombreuses analyses d'acides aminés et à G. ROGERS et R. KREBSBACH (étudiants à l'Université de Santa Clara, Santa Clara, California) de leur collaboration technique.

#### BIBLIOGRAPHIE

- [1] LXXXIIe Communication: *Helv.* **52**, 250 (1969).
- [2] A. I. OPARIN, «The Chemical Origin of Life», C. A. THOMAS éditeur, Chicago 1964; A. I. OPARIN *et al.* (eds.), «The Origin of Life on Earth» (Proceedings of the first international symposium, Moscou, 1956); «The origins of Prebiological Systems and their Molecular Matrices» (S. W. FOX, éditeur), Academic Press, New-York 1965, etc.
- [3] J. RABINOWITZ, J. FLORES, R. KREBSBACH & G. ROGERS, sous presse *Nature*, 1969.
- [4] W. D. MACELROY, Dr LUCA M. & J. TRAVIS, *Science* **157**, 150 (1967); «Biological Chemistry» par H. R. MAHLER & E. H. CORDES, Harper & Row, Publishers, New-York 1966.
- [5] M. PAECHT & A. KATCHALSKY, *Biochem. biophysica Acta* **90**, 260 (1963); P. BERG, *J. biol. Chemistry* **233**, 608 (1958); M. PAECHT-HOROWITZ & A. KATCHALSKY, *ibid.* **140**, 14 (1967); R. LEWINSON, M. PAECHT-HOROWITZ & A. KATCHALSKY, *ibid.* **140**, 24 (1967); A. KATCHALSKY & G. AILAM, *ibid.* **140**, 1 (1967); etc.
- [6] F. LIPMANN, «The Origin of Prebiological Systems» (éditeur S. W. FOX), Academic Press, Inc., New York 1965.
- [7] J. RABINOWITZ, F. WOELLER, J. FLORES & R. KREBSBACH, sous presse *Nature*, 1969.
- [8] I. GRUNZE, E. THILO & H. GRUNZE, *Chem. Ber.* **93**, 2361 (1960); J. M. VERDIER, CL. DORÉ-MIEUX-MORIN & A. BORILLE, *Compt. Rend.* **259**, 3773 (1964).
- [9] D. E. KOSHLAND, *J. Amer. chem. Soc.* **73**, 4103 (1951); G. DI SABATO & W. P. JENCKS, *ibid.* **83**, 4393 (1961).
- [10] E. THILO, *Angew. Chem.* **77**, 1056 (1965).
- [11] E. CHERBULIEZ, H. PROBST & J. RABINOWITZ, *Helv.* **43**, 464 (1960).
- [12] E. CHERBULIEZ, R. PRINCE & J. RABINOWITZ, *Helv.* **47**, 339 (1964).
- [13] E. CHERBULIEZ, SL. ČOLAK-ANTIĆ, G. WEBER & J. RABINOWITZ, *Helv.* **46**, 2996 (1963).
- [14] W. FELDMANN, *Chem. Ber.* **100**, 3850 (1967), etc.
- [15] E. CHERBULIEZ, H. WENIGER, *C. r. Soc. Physique Hist. nat. Genève* **63**, 122 (1946); E. CHERBULIEZ, SL. ČOLAK-ANTIĆ, A. GABBAY, F. HUNKELER, M. GOWHARI & J. RABINOWITZ, *Helv.* **46**, 1823 (1963).
- [16] E. CHERBULIEZ & J. RABINOWITZ, *Helv.* **41**, 1168 (1958).

---

#### 266. La structure chimique primaire du lysozyme du lait de Femme: établissement d'une formule développée provisoire<sup>1)</sup>

par Jacqueline Jollès et Pierre Jollès

Laboratoire de Chimie biologique, Faculté des Sciences, 96 Bd. Raspail, Paris 6<sup>e</sup>

(6 XI 69)

**Summary.** The detailed primary sequences of the N-terminal moiety (72 amino acid residues) and of the C-terminal end (23 amino acid residues) of human milk lysozyme (129 residues) are reported. A tentative complete structure of the enzyme is compared to hen and duck egg-white lysozymes which are very near related proteins despite many amino acid replacements (around 50), the insertion of an additional residue in the N-terminal and a deletion in the C-terminal moiety.

**Introduction.** - Après nos recherches consacrées à la détermination complète des structures primaires des lysozymes (EC 3.2.1.17) de blanc d'œuf de Poule [2] et de

<sup>1)</sup> 72me communication sur les lysozymes; 71me communication, LANDUREAU & P. JOLLES [1].