

171. Propriétés biochimiques des ptérides

par Michel Polonovski, René-Guy Busnel et Marcel Pesson.

(26 V 46)

La biologie pose des problèmes que la biochimie doit s'essayer à résoudre: l'étude des ptérides est, depuis leur découverte par *Hopkins* en 1889, une des plus belles illustrations de cette interdépendance des deux disciplines. D'abord localisées aux écailles des ailes de Piérides, d'où elles ont été isolées par *Wieland* et ses collaborateurs, trouvées ensuite par *Koschara* dans l'urine, puis dans le foie des vertébrés supérieurs, identifiées dans le tube de *Malpighi* d'un *Bombyx*¹⁾, nous les avons nous-mêmes signalées chez les vertébrés inférieurs²⁾ ainsi que chez les crustacés³⁾⁴⁾. Le rôle que l'on entrevoit actuellement pour ces composés ptéridiques dans l'érythropoïèse, leur rapport avec certaines anémies macrocytaires, et leur comportement en tant que vitamine du groupe B a suscité envers ces substances un nouveau regain d'intérêt.

A l'origine de nos travaux se situe également une observation biologique: la présence, décelée par *Fontaine* et *Busnel*, d'une substance à fluorescence bleue dans les écailles de certains poissons⁵⁾, et les relations de ce pigment avec la riboflavine et la mélanogénèse, dans les mélanocytes de tous les vertébrés inférieurs et dans l'hypoderme des crustacés décapodes brachyours⁶⁾.

La substance fluorescente se trouve, *in vivo*, sous forme d'un chromoprotéide (déjà dissocié par simple contact avec l'acide acétique à 10 p. 100). Nous l'avons isolée par ultra-filtration de l'extrait acétique (pour éliminer les protéines), suivie d'une chromatographie à p_H acide sur franconite (qui retient la riboflavine en haut de la colonne, d'où on la sépare ensuite mécaniquement) et d'une élution par le mélange d'*Emmerie*. Après évaporation dans le vide du résidu et reprise par l'eau bouillante, on obtient le pigment, sous forme cristallisée, par concentration de ses solutions⁷⁾. Nous lui avons donné le nom de fluorescyanine qui rappelle sa propriété la plus caractéristique.

¹⁾ *Busnel R. G.* et *Drilhon A.*, Arch. Zoologie exp. et gén. **82**, 321-56 (1942).

²⁾ *Busnel, R. G.*, C. r. **214**, 189 (1942).

³⁾ *Polonovski, M.*, *Verne, J.*, *Busnel, R. G.* et *Pesson, M.*, C. r. Soc. Biol. **137**, 416 (1943).

⁴⁾ *Polonovski, M.* et *Fournier, E.*, C. r. Soc. Biol. **138**, 357 (1944).

⁵⁾ *Fontaine, M.* et *Busnel, R. G.*, Bull. Inst. Océanogr., Monaco, **1939**, N° 782.

⁶⁾ Certaines cellules pigmentaires, comme les chromatocytes des poissons rouges contiennent à leur origine de la mélanine qui disparaît secondairement en laissant subsister la substance fluorescente bleue.

⁷⁾ *Polonovski, M.*, *Busnel, R. G.* et *Pesson, M.*, C. r. **217**, 163 (1943).

En fractionnant les écailles dorsales et en comparant les parties les plus pigmentées aux régions incolores, nous avons serré encore de plus près l'influence du pigment, car les quantités d'oxygène absorbé par gramme/heure furent alors de 174 mm³ pour les régions riches en fluoresciance et de 34 mm³ seulement pour les autres. Cet écart est en grande partie indépendant des systèmes cytochromiques, car la respiration résiduelle de la première fraction, après addition d'une solution de KCN, est encore de 45 mm³ par g./h., tandis qu'elle devient nulle pour les régions incolores.

2. Action sur le catat-olurine-test de Peters.

Nous avons utilisé des coupes d'hémisphères cérébraux de rats carencés en vitamine B₁ et comparé, à l'aide de l'appareil de Warburg, les variations d'absorption d'oxygène et de dégagement de CO₂ du tissu carencé servant de témoin et des mêmes tissus après une demi-heure de contact, à 38°, soit avec la fluoresciance, soit avec de l'aneurine.

Témoin CO ₂ 87,8—88 mm ³	+ 0 γ 2 d'aneurine 92—96 mm ³	+ 1 γ fluoresciance 92—94 mm ³
---	---	--

Nous avons observé des effets analogues avec des ptérides de synthèse¹⁾ et notamment avec l'isoxanthoptérine et avec l'éthyl-thio-2-hydroxy-6-ptéridine.

Témoin mm ³ de O ₂ absorbé à 37° par g./h. 132	1 γ d'ac. isoxanthoptérine- carboxylique 135,6	isoxanthoptérine (1 γ) 139,2
mm ³ de O ₂ absorbé à 37° par g./h. 133,3	2 γ d'éthylthio-2-hydroxy- 6-ptéridine 149,2	

3. Action vicariante de la Vitamine B₂.

La similitude de localisation dans le mélanocyte de la fluoresciance et de la riboflavine²⁾ suggérerait la possibilité d'une action physiologique commune et nous avons recherché si notre pigment n'était pas également doué de propriétés vitaminiques B₂. A cet effet, des rats carencés en vitamine B₂ reçurent 10 γ par jour de fluoresciance: leur croissance moyenne auparavant arrêtée, fut de 2 g. par jour (leur poids s'élevant de 40 à 80 g. en 20 jours), croissance analogue à celle des témoins positifs recevant de la riboflavine³⁾.

Cette vicariance se révéla également dans le test chronaximétrique de P. Chauchard⁴⁾: la chronaxie des rats carencés en B₂ fortement abaissée redevient normale après addition de fluoresciance à l'animal, comme après restitution de la riboflavine⁵⁾.

4. Action vicariante de la vitamine B₁ chez le rat et chez le pigeon.

Mais le résultat le plus inattendu auquel nos expériences nous ont conduit est l'action vicariante de la fluoresciance et d'un très grand nombre de ptérides de synthèse vis-à-vis de la vitamine B₁, tant chez le pigeon que chez le rat carencés en aneurine,

¹⁾ Polonovski, M., Pesson, M., Vieillefosse, R., C. r. **218**, 796 (1944).

²⁾ Verne, J. et Busnel, R. G., C. r. Soc. Biol. **136**, 164 (1942).

³⁾ Busnel, R. G., Chauchard, P., Mazoué, H., Pesson, M., Polonovski, M., C. r. **217**, 185 (1943).

⁴⁾ Chauchard, P., Busnel, R. G., Raffy, A., Lecq, R., C. r. Soc. Biol. **137**, 82 (1943).

⁵⁾ Busnel, R. G., Chauchard, P., Mazoué, H., Pesson, M., Polonovski, M., C. r. Soc. Biol. **137**, 594 (1943); **138**, 171 (1944).

action que nous avons pu mettre en évidence, soit par la courbe de croissance de l'animal, soit par la prévention ou la guérison des crises polynévritiques, soit par le rétablissement des indices chronaxiques de la glycémie normale et de la température, ou par la correction de la brachycardie.

Nos essais ont porté sur la fluorescyanine naturelle, sur l'isoxanthoptérine, sur les acides xanthoptérine-, isoxanthoptérine-, désimino-isoxanthoptérine-carboxylique, sur la 2,6-dihydroxy-8,9-diméthyl-ptéridine et la 2-amino-6-hydroxy-8,9-diméthyl-ptéridine.

Chez le rat, alors que les témoins négatifs soumis à un régime dépourvu de vitamine B₁, perdaient 13 g. en 5 jours et mouraient, en accusant une chronaxie abaissée et que les témoins positifs, recevant 10 γ d'aneurine par jour, gagnaient 31 g. en 26 jours, en conservant une chronaxie normale, les animaux auxquels nous avons donné 10 γ de fluorescyanine croissaient aussi de 30 g. en 26 jours, leur chronaxie redevant normale au 8e jour.

Les ptérides de synthèse ont provoqué également, pour des doses variant de 50 à 100 γ , des gains de poids s'échelonnant entre 12 et 37 g. et un retour de la chronaxie à la normale comme l'indique le tableau suivant.

Vicariance des ptérides pour le rat carencé en B₁.

Nom du produit	Dose en γ p. jour	Gain de poids	Temps pour le retour à la chronaxie normale
Acide isoxanthoptérine-carboxylique	50	12 g. en 21 jours	21 jours
	100	20 g. en 21 jours	14 jours
Acide xanthoptérine-carboxylique	50	13 g. en 26 jours	17 jours
	100	25 g. en 26 jours	10 jours
Dihydroxy-2,6-diméthyl-8,9-ptéridine	50	26 g. en 21 jours	17 jours
		37 g. en 21 jours	17 jours
Isoxanthoptérine	50	27 g. en 26 jours	20 jours
		21 g. en 26 jours	17 jours
Acide désimino-isoxanthoptérine-carboxyl.	50	19 g. en 21 jours	21 jours
		21 g. en 21 jours	21 jours
Amino-2-hydroxy-6-diméthyl-8,9-ptéridine	50	26 g. en 21 jours	21 jours
		37 g. en 21 jours	21 jours

Tous ces composés ptéridiques restent cependant incapables de se substituer efficacement à l'aneurine dans la croissance du *Glaucoma* ou de *Polytomella Coeca*. Leur action ne s'étend pas à ces microorganismes, mais elle est tout aussi nette chez le pigeon béribérique que chez le rat carencé en B₁, aussi bien pour la fluorescyanine elle-même que pour les ptérides de synthèse qui provoquent respectivement un gain de poids de 29 à 45 g. en 25 jours. On remarque aussi un effet correctif sur la température ramenée aux environs de 40° et sur la glycémie, qui se rétablit aux environs de 2 g.

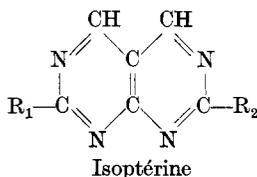
En ce qui concerne la chronaxie des extenseurs et des fléchisseurs, on note chez le pigeon carencé en B₁ des valeurs de 12 et 13 m γ F que 10 γ de fluorescyanine ou 50 γ d'acide isoxanthoptérine-carboxylique ramènent en 12 jours à leurs valeurs normales de 20—40 m γ F. Les témoins laissés au régime de base carencé en B₁ meurent tous dans ces délais avec des indices chronaxiques de 10—10 et une température centrale abaissée à 38,6°.

Vicariance des ptérides pour le pigeon carencé en B₁.

Nom du produit	Gain de poids	Glycémie	Température
Amino-2-hydroxy-6-diméthyl-8,9-ptéridine	29 g. en 25 jours	2,09 g.	42,4°
Dihydroxy-2,6-diméthyl-8,9-ptéridine	27 g. en 25 jours	2,11 g.	41,6°
Isoxanthoptérine	39 g. en 25 jours	1,91 g.	42,1°
Acide désimino-isoxanthoptérine-carboxylique	45 g. en 25 jours	1,84 g.	42,2°

L'action corrective sur la chronaxie fut encore mise en évidence par l'antagonisme de nos ptérides et de la thyroxine, cette dernière hormone raccourcissant, comme on le sait, les chronaxies périphériques aussi bien que vestibulaires¹). L'injection quotidienne à un pigeon de 10 mmg. d'acide isoxanthoptérine-carboxylique conduit en 4 jours à un allongement des chronaxies. Si l'on donne alors par voie buccale 25 γ de thyroxine, en même temps qu'on continue l'injection de ptéride, les chronaxies vestibulaires et périphériques redeviennent normales. Si l'on supprime la ptéride, en continuant la thyroxine, la chronaxie s'abaisse considérablement. L'opération inverse révèle le même effet antagoniste: si l'on injecte les 10 mmg. d'acide isoxanthoptérine-carboxylique à un pigeon soumis depuis 4 jours à l'ingestion de 25 γ de thyroxine, les chronaxies, respectivement de 4 (vestibulaires), 9 (extenseurs), 11 (fléchisseurs), se relèvent à 25, 22, 42 m γ F.

Nombre d'autres ptérides de synthèse conduisent aux mêmes résultats: l'acide amino-2-hydroxy-6-ptéridine, l'acide amino-6-isoxanthoptérine-carboxylique, la 2-éthyl-thio-6-hydroxy-8,9-diphényl ptéridine, la 2-thio-6-hydroxy-ptéridine, la lumazine. De même encore certaines isoptérides que nous avons préparées par synthèse directe, et qui sont d'ailleurs des substances également fluorescentes en bleu en U-V., facilement réductibles par le dithionite de sodium et se réoxydant à l'air. Il semble bien d'ailleurs, qu'en ce qui concerne l'action sur la chronaxie, l'effet physiologique soit en relation directe avec le rôle probable de transporteur d'hydrogène de ces substances.



L'action vicariante de la fluorescénine et de certaines ptérides de synthèse pour la vitamine B₁ et pour la vitamine B₂ se manifeste d'ailleurs tout aussi bien au cours d'une carence double B₁ et B₂ chez le rat ou chez le pigeon.

A l'exception de l'éthyl-thio-2-hydroxy-6-ptéridine et de l'acide éthyl-thio-2,6-dihydroxy-ptéridine-dicarboxylique, les autres ptérides que nous avons étudiées (acide isoxanthoptérine-, désimino-isoxanthoptérine-, amino-6-isoxanthoptérine-carboxylique, thio-2-hydroxy-6-ptéridine, l'éthyl-thio-2-hydroxy-6-diphényl-8,9-ptéridine, la leuco-ptéridine et la lumazine) possèdent un effet curatif et préventif «homotélique» avec les vitamines B₁ et B₂, séparément comme globalement²), chez le rat et le pigeon.

¹) Busnel, R. G., Chauchard, P., Mazoué, H., Polonovski, M., C. r. Soc. Biol. **139**, 139 (1945).

²) Busnel, R. G., Chauchard, P., Mazoué, H., Polonovski, M., C. r. Soc. Biol. 1945.

On pouvait être tenté d'expliquer cette homotélie par une transformation, grâce à l'action bactérienne de la flore intestinale, des ptérines en facteurs B_1 et B_2 , étant donné la similitude de constitution du noyau pyrimidique commun à tous ces composés. Cependant, nous avons retrouvé les mêmes effets vicariants aussi bien par injection de nos ptérines que par ingestion. Des expériences que les circonstances nous ont malheureusement empêchés de terminer avant ces Journées, pratiquées sur des rats caecumectomisés, nous permettront de lever définitivement cette objection ou de faire nôtre une pareille hypothèse.

A la suite des travaux de *Tschesche et Wolff*¹⁾ sur l'action hématopoïétique de la xanthoptérine, naturelle (foie) ou synthétique, et de la leucoptérine, nous avons étudié, chez le rat en régime normal ou anémié par un régime carencé²⁾, l'effet de l'acide isoxanthoptérine-carboxylique. A la dose de 50 γ par jour (per os) pendant deux semaines, nous n'avons constaté ni l'augmentation du nombre des hématies chez le rat normal ni le rétablissement de ce nombre chez les rats anémiés. Reprises avec une dose quatre fois plus forte et avec diverses autres ptérines de synthèse (éthyl-thio-ptérines), ces expériences nous ont conduit en 9 jours, chez des rats soumis à un régime normal, à une augmentation des globules rouges (observée chez les $\frac{2}{3}$ de nos animaux) atteignant en moyenne 1 million d'hématies.

En présence de ces résultats et nous reportant aux travaux de *Jacobson*³⁾, sur la présence de ptérines dans les cellules entérochromoargentaffines de *Nicolas-Masson* et des observations de *Busnel* sur l'existence de xanthoptérine dans les cellules argentaffines de l'estomac du rat, de sa disparition au cours de l'anémie pernicieuse et de la sprue, nous avons recherché l'action hématopoïétique de la fluorescyanine ou de l'acide isoxanthoptérine-carboxylique choisi comme type de ptérine de synthèse, au cours d'anémies de *Biermer*. Nos premiers résultats ne furent guère encourageants; mais ils peuvent s'expliquer par les quantités beaucoup trop minimes de ptérines ingérées (0,20 g. de poudre d'écaillés de carpe) ou injectées (50 γ d'acide isoxanthoptérine-carboxylique). Ne disposant malheureusement pas alors d'une provision suffisante de fluorescyanine, ces essais thérapeutiques ne purent être poursuivis sur une plus grande échelle. Nous continuons cette étude ainsi que celle des relations des ptérines avec le groupe vitamérique de l'acide folique.

Signalons enfin que, contrairement à une remarque faite par *Koschara*⁴⁾, la xanthoptérine, pas plus d'ailleurs qu'aucune autre ptérine ou thioptérine de synthèse parmi toutes celles que nous avons pu essayer, n'a d'action inhibitrice sur la fermentation de la levure.

Paris, Faculté de Médecine.

1) *Tschesche, R. et Wolff, H. J.*, Z. physiol. Ch. **248**, 34-40 (1937).

2) 25 g. par jour d'un mélange de: caséine totale 600
amidon de blé 200
mélange salin 40
huile de foie de morue 20

3) *Jacobson, W.*, J. Path. and Bact. **49**, 1-19 (1939); Biochem. J. **40**, 1-14 (1946).

4) *Koschara, W. et Hurbesch, A.*, Z. physiol. Ch. **263**, 39-46 (1939).