

Ce composé est l'anilide de l'acide acridine-carboxylique-9 (VI; R = H). On l'obtient aussi, en effet, à partir de cet acide¹⁾ de la manière suivante. On chauffe au reflux, pendant 1½ heure, 1 g d'acide avec 20 cm³ de chlorure de thionyle, distille l'excès de réactif et triture le résidu huileux avec un mélange de 20 cm³ de benzène et de 20 cm³ d'éther de pétrole. Le précipité est essoré et séché: 0,8 g. On en traite 0,2 g par 1 cm³ d'aniline, chauffe le mélange ¼ d'heure au bain-marie et le triture avec un litre d'eau contenant un peu d'ammoniaque. On essore le précipité (0,15 g) et le cristallise dans l'acide acétique glacial; petits prismes jaunes de F. 315°. Le mélange des deux produits fond à la même température.

19,35 mg subst. ont donné 56,89 mg CO₂ et 8,09 mg H₂O

19,72 mg subst. ont donné 1,68 cm³ N₂ (24°, 725 mm)

| | | | |
|---|-----------------|---------|----------|
| C ₂₆ H ₁₄ ON ₂ | Calculé C 80,52 | H 4,73 | N 9,39% |
| (298,33) | Trouvé ,, 80,23 | ,, 4,68 | ,, 9,34% |

RÉSUMÉ.

La condensation de la méthyl-9-acridine avec divers nitroso-dérivés a donné, dans tous les cas étudiés, un mélange de nitrone et d'azométhine. Les quantités relatives des produits formés dépendent de la nature du nitrosodérivé utilisé.

Instituts de chimie et de chimie physiologique de l'Université de Fribourg (Suisse).

88. La phosphatase alcaline du rein de Porc et le système $Mg^{+2}/P_2O_7^{-4}$

par Emile Cherbuliez et Pierre Bertagna.

(31 XII 48)

Dans une étude publiée en 1946, *J. Roche* et ses collaborateurs²⁾ ont examiné l'inhibition de la phosphatase alcaline de l'intestin de chien par les ions F⁻¹, PO₄⁻³ et P₂O₇⁻⁴. Ils ont constaté notamment qu'une incubation de l'enzyme en présence d'ion pyrophosphorique se traduit par une inhibition complète que l'addition ultérieure d'alanine et de Mg⁺², activateurs tous les deux, n'abolit que partiellement; lorsqu'on commence par contre par une incubation en présence d'alanine, l'addition ultérieure de pyrophosphate et de sel magnésien fait apparaître une très forte action phosphatasique. Ces observations montrent déjà que les phénomènes peuvent être fort complexes.

Voulant simplifier le problème, nous avons examiné le comportement d'une phosphatase alcaline vis-à-vis de deux effecteurs minéraux antagonistes, les ions magnésium (activateur) et pyrophosphorique

¹⁾ L'acide acridine-carboxylique-9 a été préparé d'après *A. Bernthsen et F. Muhlert*, B. **20**, 1549 (1887).

²⁾ C. r. Soc. Biol. **140**, 149 (1946).

(inhibiteur), en absence de tout traitement avec de l'alanine. Nous nous sommes adressés à la phosphatase alcaline du rein de Porc que nous désignerons dans la suite par phosphatase alcaline tout court.

Nos préparations d'enzyme, obtenues par autolyse hydro-alcoolique en présence d'acétate d'éthyle selon *Albers*¹⁾, n'étaient pas pures au point de vue chimique, mais nous avons eu soin de constater leur pureté enzymatique, notamment l'absence de phosphatase acide qui pouvait provenir des hématies qu'il est difficile d'éliminer intégralement malgré des lavages répétés, et de pyrophosphatase.

Comme substrat, nous avons utilisé le β -glycérophosphate de sodium, sur lequel nous avons fait agir l'enzyme à 37°, au p_H 9,2, maintenu à l'aide du tampon au véronal-NaOH de *Michaelis*.

Notre phosphatase présente l'activation normale par l'ion Mg^{+2} , ce dernier pouvant indifféremment être introduit comme sulfate ou comme chlorure. Les anions sulfurique et chlore, aux faibles concentrations utilisées, sont donc sans effet. L'activation est graduelle et ne se fait sentir intégralement qu'au bout de la première heure.

L'ion pyrophosphorique agit comme inhibiteur absolu aux concentrations examinées et comprises entre 0,03 et 6,75-m.; après une faible activité initiale, l'hydrolyse s'arrête complètement. Il n'y a pas destruction du ferment: une addition ultérieure de sulfate de magnésium fait réapparaître une hydrolyse normale du glycérophosphate.

D'après certains auteurs, l'ion Mg^{+2} serait un activateur naturel. On pouvait donc penser que l'action inhibitrice de l'ion pyrophosphorique serait due à la précipitation des traces de magnésium contenues dans nos préparations d'enzyme; le caractère progressif de cette inhibition pouvait s'expliquer par la présence, dans notre phosphatase encore impure, du magnésium sous forme d'un complexe protéique qui n'était pas décomposé instantanément par le pyrophosphate. Mais lorsqu'on ajoute au mélange: enzyme + substrat, simultanément des quantités équivalentes de Mg^{+2} et de $P_2O_7^{-4}$ ($\frac{1}{2}$ mol. de pyrophosphate pour 1 mol. de sulfate de magnésium), on observe une *activité enzymatique marquée qui n'est pas annulée par un excès de pyrophosphate*, mais seulement atténuée.

Etudiant ce phénomène paradoxal, nous avons constaté que l'ion magnésium forme avec l'ion pyrophosphorique un complexe facilement soluble répondant à la formule globale $[P_2O_7Mg]Na_2$. Préparé à partir de quantités équimoléculaires de sulfate de magnésium et de pyrophosphate de sodium, ce complexe n'a qu'une stabilité limitée: au bout de quelques heures, voire quelques minutes, à la température ordinaire, plus rapidement à chaud et instantanément à l'ébullition, il se décompose avec précipitation du magnésium comme pyrophosphate pratiquement insoluble et dont la suspension est tout

¹⁾ *H. Albers et E. Albers, Z. physiol. Ch.* **232**, 189 (1935).

à fait inactive vis-à-vis de l'enzyme. Mais cette précipitation est d'autant plus lente et plus incomplète que la solution contient davantage de pyrophosphate alcalin en excès, et une solution contenant 5 mol. de pyrophosphate pour 1 mol. de sulfate de magnésium est parfaitement stable même à l'ébullition. Le pyrophosphate sodico-magnésien facilement soluble est précipité aussi par addition de dissolvants non aqueux tels que l'acétone ou l'alcool, mais il n'y a pas décomposition: les précipités se redissolvent dans l'eau en donnant des solutions présentant toutes les propriétés primitives.

On connaît toute une série de pyrophosphates sodico-magnésiens complexes. *Basset* et collab.¹⁾ notamment ont préparé plusieurs sels de ce genre qui sont fort peu solubles dans l'eau, par exemple $3\text{P}_2\text{O}_7\text{Mg}_2$, $\text{P}_2\text{O}_7\text{Na}_4$, aq. Tous ces sels sont caractérisés par un rapport $\text{Mg}/\text{P}_2\text{O}_7$ plus grand que 1, rapport qui caractérise le sel complexe facilement soluble; il est donc naturel qu'un excès de pyrophosphate alcalin tende à stabiliser ce dernier. D'autre part, on observe pour une quantité donnée de $\text{P}_2\text{O}_7\text{MgNa}_2$ un effet activateur initial constant quel que soit l'excès de pyrophosphate alcalin, ce qui nous porte à croire que c'est bien ce sel complexe qui est responsable de l'activation de l'enzyme.

Quant à l'activation observée par un mélange de 2 molécules de sulfate de magnésium et de 1 molécule de pyrophosphate de sodium, elle s'explique par le fait que dans ces conditions, il y a formation d'un pyrophosphate magnésien insoluble (et inactif) contenant un peu plus de 2 Mg par P_2O_7 (sel basique ou entraînement de SO_4Mg); il reste donc un petit excès de pyrophosphate alcalin en solution, qui entraîne à son tour l'apparition d'une certaine quantité de pyrophosphate sodicomagnésien soluble, décelable non seulement par son effet activateur sur la phosphatase, mais encore par l'analyse minérale.

L'effet activateur du pyrophosphate sodicomagnésien complexe se distingue de celui de l'ion Mg^{+2} simple par sa persistance en présence d'ion pyrophosphorique. Comme les effecteurs naturels, présents dans nos préparations de phosphatase, sont complètement inhibés par $\text{P}_2\text{O}_7^{-4}$, nous en arrivons à la conclusion que l'ion magnésium ne saurait être le seul effecteur naturel de la phosphatase alcaline du rein de Porc, ce qui n'exclut pas que cet ion puisse, dans certains cas, jouer un rôle physiologique d'activateur de cet enzyme.

Par ailleurs, il est intéressant de constater l'existence d'un activateur purement minéral, caractérisé par certaines propriétés physico-chimiques analogues à celles de certains protides: destruction irréversible («coagulation») par la chaleur; précipitation réversible par des dissolvants organiques miscibles à l'eau (alcool, acétone). C'est croyons-nous, la première fois qu'une observation de ce genre a été faite: ces caractères de précipitabilité sont donc tout à fait insuffisants pour faire présumer la nature protéique d'un effecteur.

¹⁾ *H. Basset, W. L. Bedwell et J. B. Hutchinson, Soc. 1936, 1412.*

Partie expérimentale.

1. Préparation de la phosphatase alcaline¹⁾.

Des reins de Porc frais soigneusement lavés pour les débarrasser du sang sont hâchés. La pulpe est suspendue dans un mélange de 900 cm³ d'éthanol à 50%²⁾ plus 100 cm³ d'un mélange à volumes égaux de toluène et d'ester acétique, pour 1 kg de rein. Après 5 jours d'agitation à la température ordinaire, on filtre. Le filtrat est précipité par addition d'éthanol jusqu'à une concentration de 70%. Après quelques heures de repos pour l'agglomération du précipité protéique, on centrifuge. Le culot est lavé deux fois à l'éthanol à 70% et une fois à l'éther. Par dessiccation rapide dans le vide, on obtient une poudre brunâtre.

Cette phosphatase alcaline brute se désactive lentement au repos: son activité vis-à-vis du glycérophosphate a passé par exemple de 2600 γ P/min/mg N protéique à 1600 γ (mesurés dans la première heure). Pour des raisons d'ordre pratique, nous en avons préparé des solutions aqueuses, dont la conservation est tout aussi bonne: l'activité décline par exemple en trois semaines de 2600 γ P/min/mg N à 1600 γ . Cette diminution d'activité n'affecte pas sensiblement l'action des effecteurs étudiés: exprimée en centièmes, celle-ci est indépendante de l'âge des solutions. Les produits d'inactivation de l'enzyme n'interviennent donc pas, dans nos conditions de travail, sur les activations et inhibitions observées.

En traitant l'enzyme brute avec de l'eau (500 cm³ pour 500 mg), on constate que la majeure partie ne se dissout pas. Les solutions filtrées fraîches se troublent au repos à la glacière, mais sans perte d'activité. Le précipité protéique formé est tout à fait inactif: la liqueur claire obtenue par centrifugation après 48 heures de repos à basse température ne se trouble plus. Elle contient 25 mg de résidu solide par 100 cm³, avec une teneur en azote protéique de 1,6 mg%. Le phosphore minéral (exprimé en ion PO₄⁻³) représente environ 7,5 mg%; phosphore organique: traces. Lors des dosages de l'activité enzymatique, effectués au colorimètre comme bleu de molybdène, les prises colorimétrées correspondaient par suite des dilutions successives à $\frac{1}{150}$ cm³ de solution de phosphatase, soit 2,5 γ PO₄⁻³, quantité négligeable et rentrant dans les limites d'erreur du dosage. Teneur en magnésium: traces.

L'absence de phosphatase acide des hématies (p_H optimum 5,5) qui, comme la phosphatase alcaline, exerce une action préférentielle sur le β -glycérophosphate, a été vérifiée par la non-libération de P à ce p_H , à partir du glycérophosphate. L'absence de pyrophosphatase découle de la stabilité de pyrophosphate vis-à-vis de l'enzyme au p_H 8 (optimum d'activité de la pyrophosphatase: p_H 7,2—8,2).

2. Mesure de l'activité enzymatique.

Le β -glycérophosphate de sodium cristallisé était utilisé sous forme d'une solution aqueuse à 8%.

En général, les prises d'essai de 20 cm³ étaient constituées par

- 5 cm³ sol. de phosphatase
- 5 cm³ tampon au véronal-Na, $p_H = 9,2$
- 5 cm³ sol. de glycérophosphate
- 5 cm³ d'effecteur (ou d'eau pour les témoins)
- Température: 37°

Le phosphore minéral libéré a été dosé sur une prise de 2 cm³, déféquée par addition de 4 cm³ d'acide trichloracétique à 20%. 5 cm³ du filtrat sont additionnés de 1,2 cm³ ClO₄H à 60%, de 1,0 cm³ MoO₄(NH₄)₂ à 5%, de 0,5 cm³ de solution réductrice (6,5 g SO₃Na₂, 1,2 g SO₃HNa et 0,1 g d'acide hydroxy-2-amino-1-naphtalène-sulfonique-4 ad 50 cm³), portés à 15 cm³ et photométrés après 10 minutes, après dilution au moins dans le rapport 1:20.

¹⁾ Essentiellement d'après H. et E. Albers, l. c.

²⁾ C'est exclusivement de l'eau bidistillée au laboratoire qui a été utilisée au cours de ce travail.

3. *Le pyrophosphate disodique monomagnésien.*

Lorsqu'on introduit dans une solution de pyrophosphate tétrasodique goutte à goutte une solution de sulfate de magnésium, on constate que chaque goutte de solution magnésienne produit un trouble qui disparaît quand on agite; un trouble définitif ne se produit que lorsqu'on dépasse la proportion de 1 Mg pour 1 P_2O_7 . En procédant d'une manière inverse (pyrophosphate versé dans le sel magnésien), on constate la formation d'un précipité augmentant d'abord, régulièrement, pour diminuer ensuite progressivement dès qu'on dépasse $\frac{1}{2} P_2O_7$ pour 1 Mg; lorsqu'on a atteint la proportion de 1 P_2O_7 pour 1 Mg, la liqueur est redevenue pratiquement limpide. Le p_H des solutions limpides est de 9,2.

Les proportions des deux constituants utilisées pour la préparation des solutions limpides montrent que le sel formé doit répondre à la composition globale $P_2O_7MgNa_2$ d'un pyrophosphate disodique monomagnésien. Ce sel n'est pas très stable: en l'absence de tout excès de pyrophosphate alcalin, les solutions limpides se troublent au bout de quelques minutes à la température ordinaire; une addition ultérieure de pyrophosphate de sodium permet la redissolution lente du précipité formé lorsque ce dernier n'a pas eu le temps de vieillir. L'ébullition provoque une précipitation instantanée de pyrophosphate de magnésium; le précipité une fois formé ne se redissout plus, ou seulement avec une très grande lenteur, même en présence d'un grand excès de pyrophosphate alcalin. Ce dernier ajouté d'emblée par contre empêche la précipitation, même à l'ébullition, dès qu'on a environ 5 mol. de $P_2O_7Na_4$ pour 1 mol. de sulfate de magnésium.

L'addition d'alcool ou d'acétone à la solution du sel $P_2O_7MgNa_2$ précipite ce dernier (avec le sulfate de sodium); après lavage à l'acétone, on obtient un produit qui se dissout de nouveau intégralement dans l'eau en fournissant une solution présentant les caractères de la solution initiale.

Les phénomènes intervenant dans la décomposition du pyrophosphate disodique monomagnésien sont fort complexes. *Basset* et collab.¹⁾ ont déjà obtenu divers pyrophosphates sodicomagnésiens caractérisés par des rapports $P_2O_7Na_4 : P_2O_7Mg_2$ différents, mais toujours inférieurs à 1 (ce dernier rapport caractérise notre pyrophosphate disodique monomagnésien). C'est la précipitation de ces pyrophosphates sodicomagnésiens plus pauvres en pyrophosphate de sodium qui explique l'instabilité relative du pyrophosphate disodique monomagnésien. Il est fort naturel qu'un excès de pyrophosphate alcalin tende à prévenir la formation des pyrophosphates mixtes pauvres en pyrophosphate sodique et stabilise par conséquent le sel $P_2O_7MgNa_2$.

Lorsqu'on mélange rapidement le pyrophosphate de sodium et le sulfate de magnésium dans le rapport moléculaire 1:2, on n'obtient pas du pyrophosphate dimagnésien pur, mais c'est un sel contenant sur 1 P_2O_7 un peu plus de 2 Mg qui précipite; il reste en solution un peu de pyrophosphate alcalin qui se combine à du sulfate de magnésium dans le rapport 1:1 pour donner du pyrophosphate disodique monomagnésien qu'on retrouve dans le filtrat. Pour l'établir, nous avons hydrolysé l'ion pyrophosphorique présent dans le filtrat et dosé (par colorimétrie comme bleu de molybdène) l'ion PO_4^{-3} formé. Un pyrophosphate $P_2O_7MgNa_2$ fournira par hydrolyse deux mol. d'acide phosphorique pour un atome de magnésium. L'addition d'ammoniaque et de chlorure d'ammonium doit alors entraîner la précipitation du magnésium avec la moitié du phosphore comme phosphate ammoniacomagnésien, l'autre moitié restant en solution:

On mélange 50 cm³ de solution décimolaire de sulfate de magnésium avec 37,2 cm³ de $P_2O_7Na_4$, 10 H₂O à 3,0%. Dans le filtrat du précipité volumineux, on dose sur une partie aliquote l'ion pyrophosphorique comme PO_4^{-3} après hydrolyse par addition de son volume de ClH n. et chauffe à 100° pendant 3 h. Une autre prise, hydrolysée de la même manière, est additionnée de chlorure d'ammonium et d'ammoniaque: le magnésium présent précipite comme PO_4MgNH_4 . On dose d'un côté l'ion phosphorique resté en solution et de l'autre celui qui se trouve dans le précipité, et on exprime les résultats en ion $P_2O_7^{-4}$.

¹⁾ Loc. cit.

$P_2O_7^{-4}$ total 75,6 mg% Rapport $P_{tot.}/P_{ppté} = 1,934$
 ,, ppté 39,05 mg% ,, $P_{tot.}/P_{non/ppté} = 1,941$
 ,, restant en solution 38,9 mg%

Le résultat de ces opérations montre que le sel complexe soluble contient bien le magnésium et le reste P_2O_7 dans le rapport 1:1, exprimé par la formule que nous avons adoptée.

Dans les solutions de ce corps, l'ion magnésium est masqué. Non seulement un excès de pyrophosphate ne détermine aucune précipitation puisqu'au contraire il stabilise les solutions, mais encore celles-ci ne sont précipitées ni par addition de carbonate alcalin, ni par celle de phosphate alcalin. Voilà pourquoi nous proposons pour ce phosphate disodique monomagnésien la formule $[P_2O_7Mg]Na_2$.

4. La phosphatase alcaline et le système $Mg^{+2}/P_2O_7^{-4}$.

Activation par Mg^{+2} . Notre phosphatase alcaline présente l'activation bien connue par Mg^{+2} , sur laquelle nous n'insisterons pas. Notre enzyme contenant des activateurs naturels, l'activation est relativement peu marquée; elle est de l'ordre de 30 à 40% pour des concentrations en Mg^{+2} de 0,00125-m. à 0,01-m. L'effet du chlorure et du sulfate de magnésium est identique.

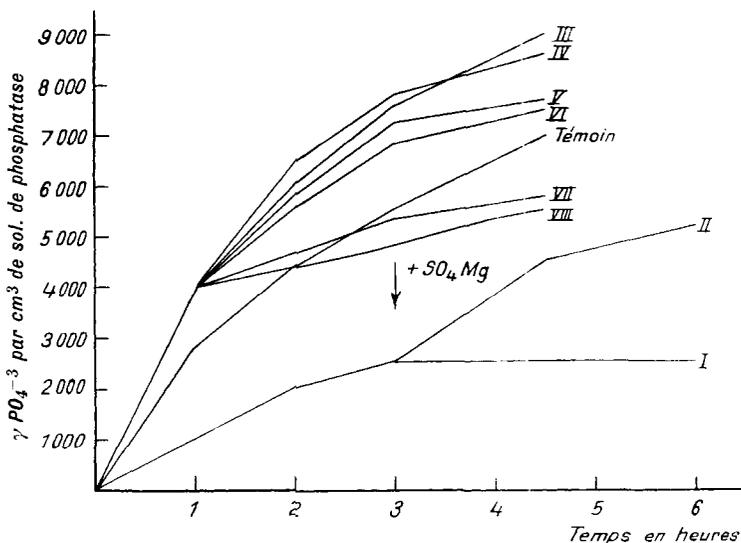


Fig. 1.

I et II: Inhibition (I) de l'action de la phosphatase par $P_2O_7Na_4$ (concentration 0,0144-m.) et réactivation (II) au début de la 4ème heure par addition de 1,6 mol. SO_4Mg par mol. de pyrophosphate.

III: Activation par Mg^{+2} en présence de pyrophosphate magnésien (rapport $P_2O_7Na_4/SO_4Mg = 0,435$; concentration du Mg^{+2} en excès: environ 0,0012-m.).

IV—VIII: Effecteur $P_2O_7MgNa_2$ préparé avec différents excès de $P_2O_7^{-4}$:

| | Rapport $P_2O_7^{-4}/Mg^{+2}$ | $[P_2O_7Mg]Na_2$ millimolarité |
|------|----------------------------------|--|
| IV | 0,5 | 1,1 (précipitation de la majeure partie de Mg) |
| V | 1 (rapport théorique) | 10 |
| VI | 1,25 | 8,7 |
| VII | 3,50 | 5,3 |
| VIII | 4 | 2,3 |

Inhibition par $P_2O_7^{-4}$. L'addition de pyrophosphate de sodium provoque une inhibition complète après une phase initiale de 1 heure, pendant laquelle on remarque encore une certaine hydrolyse du glycérophosphate. Cet effet est constaté dans nos conditions-type pour toutes les concentrations utilisées (concentration de $P_2O_7^{-4}$ dans la liqueur d'essai variant de 0,03-m. à 0,675-m.). Il n'y a pas destruction de l'enzyme; une addition ultérieure de sulfate de magnésium rétablit l'hydrolyse du glycérophosphate (voir fig. 1, courbes I et II: inhibition par $P_2O_7Na_4$ 0,014-m. (I) et réactivation au début de la 4ème heure (II) par addition de 1,6 mol. de sulfate de magnésium par mol. de pyrophosphate).

Activation par le phosphate disodique monomagnésien. La fig. 2 représente les activités relevées dans des essais effectués toujours dans nos conditions-type, en présence de 0,30 à 5 cm³ d'une solution contenant l'effecteur à la concentration 4,35-millimolaire. Les concentrations de l'effecteur en millimolarité dans l'essai sont indiquées. La plus grande dilution qui révèle encore une activation marquée de la phosphatase alcaline correspond à une concentration 0,27-millimolaire de l'effecteur pour une concentration 0,29-millimolaire (exprimée en azote protéique) de l'enzyme (courbe III). Comme notre phosphatase n'était nullement pure, ce rapport ne permet pas de tirer des conclusions plus précises en dehors de l'effet activateur très marqué du pyrophosphate sodicomagnésien. L'affinité de l'effecteur pour le système enzymatique doit en tout cas être élevée puisque l'activation est encore nette dans des conditions dans lesquelles la concentration de l'effecteur est du même ordre de grandeur que celle de l'enzyme. Aux concentrations plus élevées, les résultats deviennent irréguliers, probablement à cause de la faible stabilité des solutions du sel sodicomagnésien en absence d'un excès de pyrophosphate. Cette instabilité se traduit encore par la disparition de l'effet activateur lorsqu'on laisse « vieillir » les solutions du phosphate disodique monomagnésien avant de les ajouter au ferment.

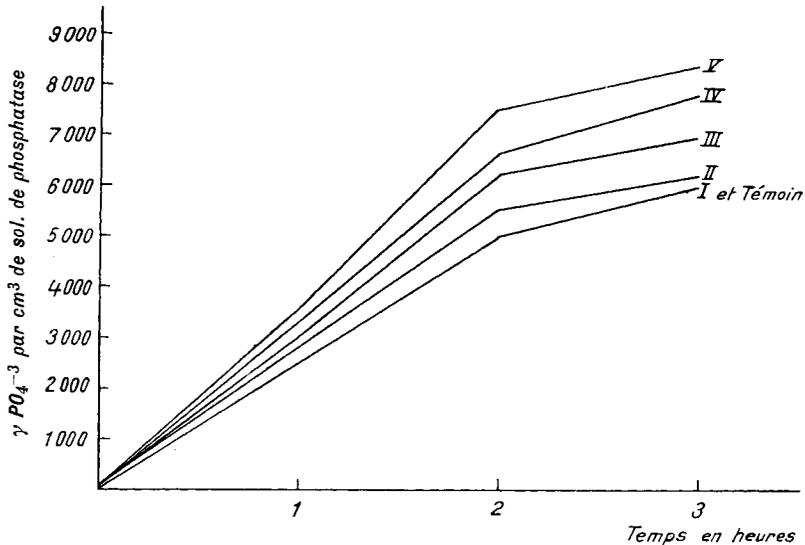


Fig. 2.

Action effectrice d'un filtrat frais de $2 SO_4Mg + P_2O_7Na_4$, contenant un peu de $P_2O_7MgNa_2$.

Conditions-type (volume total de l'essai: 20 cm³).

| | Volume de filtrat ajouté | $[P_2O_7Mg]Na_2$ millimolarité |
|-----|---|--------------------------------|
| I | 0,31 cm ³ (se confondant avec le témoin) | 0,065 |
| II | 0,62 cm ³ | 0,13 |
| III | 1,25 cm ³ | 0,27 |
| IV | 2,5 cm ³ | 0,55 |
| V | 5,0 cm ³ | 1,1 |

Persistence de l'activation par $P_2O_7MgNa_2$ en présence de $P_2O_7^{-4}$ en excès. Parmi nos nombreux essais, nous relèverons une série (voir fig. 1, courbes III—VIII) dans laquelle le mélange-type contenait toujours 5 cm³ d'effecteur préparé en mélangeant une solution décimolaire de sulfate de magnésium avec des quantités croissantes de pyrophosphate de sodium (sol. à 3%).

Dans l'essai III (rapport $P_2O_7/Mg = 0,435$), il y a un excès de sel magnésien. C'est donc tout simplement l'activation magnésienne qui est relevée, les précipités formés dans l'interaction du pyrophosphate alcalin et du sulfate de magnésium étant totalement dépourvus d'effet, comme des expériences ad hoc nous l'ont montré.

L'essai IV ($P_2O_7/Mg = 0,5$) représente une expérience analogue à l'essai V de la fig. 2: en préparant l'effecteur avec $\frac{1}{2}$ mol. de pyrophosphate pour 1 mol. de sel magnésien, on précipite la majeure partie du Mg (pyrophosphate dimagnésien avec un léger excès de Mg^{+2} , voir p. 665; produit tout à fait inactif) et il y a formation simultanée d'un peu de pyrophosphate disodique monomagnésien, à une concentration 4.34-millimolaire. Par conséquent, la concentration réelle de l'effecteur $P_2O_7MgNa_2$ dans l'essai a été de 1,1-millimolaire. Or le résultat de cet essai rejoint pratiquement celui du n^o. V de la fig. 2: les phénomènes décrits sont donc reproductibles.

Dans les essais V à VIII de la fig. 1, il y a un rapport P_2O_7/Mg égal à 1 ou plus grand. Ici, la totalité du magnésium est transformée en $P_2O_7MgNa_2$. Avec l'augmentation de l'excès de pyrophosphate alcalin, il y a ici en même temps une diminution de la concentration de cet effecteur (voir rapports P_2O_7/Mg et concentrations molaires de $P_2O_7MgNa_2$ indiqués). L'action activatrice observée dans la première heure est pratiquement la même.

L'action activatrice du pyrophosphate disodique monomagnésien n'est nullement annulée, mais seulement diminuée par un excès de pyrophosphate alcalin: tandis que ce dernier agit comme inhibiteur absolu vis-à-vis du ferment brut avec activateurs naturels, il se comporte ici comme un inhibiteur compétitif relativement peu énergétique.

RÉSUMÉ.

Dans le système $Mg^{+2}/P_2O_7^{-4}$, nous avons mis en évidence l'existence d'un anion complexe pyrophosphato-magnésien dont le sel sodique répond à la composition globale $[P_2O_7Mg]Na_2$. Ce sel complexe se forme toutes les fois que l'ion Mg^{+2} se trouve en présence d'un excès d'ion pyrophosphorique à un p_H alcalin.

Pour la phosphatase alcaline du rein de Porc, ce pyrophosphate disodique monomagnésien est un activateur énergétique, caractérisé par son indifférence relative vis-à-vis d'un excès d'ion pyrophosphorique. Ce dernier étant un inhibiteur absolu de la phosphatase alcaline brute, il en résulte que l'ion Mg^{+2} ne saurait être le seul activateur naturel de cette phosphatase.

Laboratoire de chimie pharmaceutique de l'Université
de Genève.