

*Substanz XIb. – Jodmethylat:* Darstellung wie bei Substanz XIa. Aus 137,9 mg XIb wurden 228,9 mg Jodmethylat erhalten, Roh-Smp. 163–165°. Nach zweimaligem Umkristallisieren aus Äthanol Smp. konstant 171–173° (Braunfärbung). Misch-Smp. mit Jodmethylat aus Substanz XIa: 152–153° (Zers.).

$C_{11}H_{20}O_2NSJ$  (357,26) Ber. C 36,97 H 5,64 J 35,51% Gef. C 37,34 H 6,14 J 35,93%

*p-Nitrobenzoesäure:* 200 mg Substanz XIb wurden mit 0,3 ml abs. Pyridin und 200 mg p-Nitrobenzoylchlorid  $\frac{1}{2}$  Std. auf dem Wasserbad gehalten. Man kühlte ab und versetzte tropfenweise mit 5-proz. Natriumhydrogencarbonat-Lösung. Der dabei entstehende Niederschlag wurde abfiltriert und mit Wasser neutral gewaschen. Die getrocknete Substanz wurde aus Äthanol umkristallisiert: 231,3 mg farblose Prismen vom Smp. 103–104°, der nach weiteren Umkristallisationen unverändert blieb.

$C_{17}H_{20}O_5N_2S$  Ber. C 56,03 H 5,53 O 21,95 N 7,69%  
(364,41) Gef. „ 56,07 „ 5,70 „ 22,00 „ 7,70%

Die Mikroanalysen wurden in unserem Mikroanalytischen Laboratorium (Dr. W. SCHÖNIGER) ausgeführt. Die IR.-Spektren sind in unserem spektralanalytischen Laboratorium (Dr. H. G. LEE-MANN, Dr. M. KOHLER) aufgenommen worden. Herrn Dr. E. JUCKER danke ich für das Interesse, welches er dieser Arbeit entgegenbrachte.

### Zusammenfassung

Es wird die Darstellung von 7-Äthylmercapto-tropan-3-on und von zwei stereoisomeren 6-Hydroxy-7-äthylmercapto-tropan-3-onen beschrieben.

Pharmazeutisch-chemisches Laboratorium  
SANDOZ, Basel

## 53. Recherches sur la synthèse des graisses à partir d'acétate ou de glucose

### VI. La formation indépendante des phospholipides et des triglycérides étudiée chez le Rat *in vivo*

par Victor Handwerck et Pierre Favarger

(16 I 59)

**Introduction.** – Nos connaissances sur les fonctions précises des phospholipides dans le métabolisme animal sont encore fort loin d'être claires. On peut en trouver l'exposé par exemple dans une revue récente de DAWSON<sup>1)</sup>.

Une des nombreuses hypothèses proposées attribue aux phospholipides<sup>2)</sup> un rôle d'intermédiaire dans la synthèse des triglycérides. Cette hypothèse peut entre autres s'appuyer sur le fait que la synthèse des phospholipides, aussi bien *in vivo* qu'*in vitro*, est active dans tous les tissus où s'effectue une synthèse des triglycérides. Toutefois, ni les mesures de «turnover» des acides gras ou du glycérol, ni les expériences utilisant le <sup>32</sup>P ne peuvent apporter des renseignements décisifs, ce qui est devenu évident depuis les travaux de KENNEDY.

<sup>1)</sup> R. M. C. DAWSON, Biol. Rev. **32**, 188 (1957).

<sup>2)</sup> Dans ce travail, nous emploierons le terme de phospholipides pour désigner la fraction des lipides précipitée de leur solution étherée par l'acétone en présence de MgCl<sub>2</sub>.

Si l'on administre de l'acétate marqué à des rats, on retrouvera dans leurs tissus des acides gras marqués, qui auront été incorporés aussi bien dans la molécule des triglycérides que dans celle des phospholipides. Le rapport de l'activité spécifique des acides gras contenus dans les deux lipides n'a pas de signification déterminante à un instant donné; mais si l'on mesure ce même rapport à des moments successifs, et qu'il ne varie pas au cours du temps, on peut penser que l'incorporation des acides gras se fait parallèlement dans les phospholipides et les triglycérides. Il est dans ce cas improbable que les premiers soient les précurseurs des seconds.

Une précaution importante doit être observée: il faut effectuer les mesures d'incorporation dans un temps aussi court que possible, si l'on veut avoir une chance de saisir les mécanismes instantanés de synthèse, avant tout phénomène de dégradation ou de redistribution des produits formés; il faut donc tuer les animaux avant que la concentration du précurseur radioactif dans la circulation n'ait trop diminué et pendant que l'activité des acides gras néoformés est encore dans sa phase d'augmentation<sup>3)</sup>.

Dans ce travail, nous comparons chez le Rat les activités spécifiques des acides gras des graisses neutres et des phospholipides, ainsi que la quantité totale des acides gras néoformés, dans différents tissus 5, 10 et 30 min après injection d'acétate [ $1-^{14}\text{C}$ ].

**Partie expérimentale.** – Des rats amaigris par un jeûne de durée variable sont réalimentés au pain pendant deux h, puis 20 min après la fin du repas, ils reçoivent une injection d'acétate- $[1-^{14}\text{C}]$  (en solution isotonique) dans une veine caudale. Ils sont tués 5, 10 ou 30 min après l'injection, par section de la nuque. Les organes prélevés (foie, intestin, graisse mésentérique, poumons) ainsi que la carcasse sont immédiatement pesés et fixés dans l'alcool bouillant; l'ensemble de ces manipulations est terminé 4 min au plus après la mort de l'animal.

La carcasse est réduite en bouillie dans l'alcool au moyen d'un homogénéiseur de ménage et les autres organes sont broyés dans un mortier. Chaque organe, ainsi que la carcasse, est extrait trois fois par un mélange bouillant d'alcool-acétone 1:1, puis deux fois par l'éther pur. Les extraits sont évaporés sous azote et au vide, à une température ne dépassant pas 45°, repris par l'éther et évaporés à nouveau.

Les lipides obtenus sont dissous dans un peu d'éther, et les phospholipides, précipités par adjonction d'acétone et de deux gouttes d'une solution alcoolique saturée de  $\text{MgCl}_2$ , puis repos d'une nuit à 4°. Après séparation, les phospholipides obtenus sont redissous dans un peu d'éther et soumis à une seconde précipitation identique.

Les triglycérides, obtenus par évaporation sous  $\text{CO}_2$  des deux solutions acétoniques réunies, et les phospholipides sont saponifiés (2 h à reflux dans alcool-eau 4:1 contenant 10% de  $\text{KOH}$ ). Après dilution par  $\text{H}_2\text{O}$ , extraction de l'insaponifiable par l'éther de pétrole léger, puis acidification, les acides gras sont extraits par l'éther de pétrole. L'extrait est lavé deux fois par de l'eau additionnée de 5% d'acétate de Na, puis deux fois par de l'eau distillée et enfin évaporé sous  $\text{CO}_2$ .

Par évaporation lente sous infra-rouge d'une solution alcoolique, les acides gras sont directement déposés en couche mince dans des cupules d'aluminium, et leur activité est mesurée au moyen d'un compteur à gaz sans fenêtre. Les activités spécifiques sont rapportées à une couche infiniment mince.

Une partie des chiffres obtenus dans ce travail a déjà été publiée ailleurs<sup>4)</sup>.

**Résultats et conclusion.** – Pour mesurer la lipogénèse pendant la reconstitution des réserves, il fallait amaigrir préalablement les animaux; comme une chute de poids déterminée ne se traduit pas par une diminution régulière du tissu adipeux, on observe une forte dispersion des résultats, qui cependant ne nuit pas à leur clarté.

<sup>3)</sup> P. FAVARGER & J. GERLACH, *Helv. physiol. pharmacol. Acta* **13**, 91 (1955).

<sup>4)</sup> P. FAVARGER & V. HANDWERCK, *in Biochemical Problems of Lipids*, p. 224, éd. G. POPJAK & E. I.E. BRETON, Butterworths Scientific Publications, Londres 1956.

Pour la carcasse, le foie, les poumons et l'intestin, la radioactivité spécifique des acides gras est donnée pour chaque animal (Tab.1). Sauf pour le foie, elle est plus forte dans les phospholipides que dans les glycérides. Ces résultats sont en accord avec ceux qu'avaient obtenus PIHL & BLOCH *in vivo*, après une durée d'incorporation de 6 h<sup>5)</sup>. Pour faciliter l'interprétation, les résultats sont exprimés par le rapport des activités spécifiques et par celui des activités totales des acides resp. des phospholipides et des triglycérides (Tab. 2). La valeur moyenne de ces rapports ne change pas sensiblement au cours du temps. Les expériences de RUYSSSEN conduisent à un résultat semblable<sup>6)</sup>.

Tableau 1. *Activité spécifique des acides gras des phospholipides (P) et des triglycérides (G) en coups/min/mg*

Temps	No.	Intestin		Foie		Poumon		Carcasse	
		P	G	P	G	P	G	P	G
5 min	36	280	133	89	66	570	530	32	8
	37	930	710	109	119	1950	830	75	86
	45	282	417	186	501			225	135
	46	858	426	432	414	1515	1365	195	45
	40	—	—	53	90	—	—	—	—
	42	—	—	47	70	—	—	—	—
10 min	32	760	550	84	231	527	343	60	—
	33	1210	540	595	965	1090	473	153	115
	34	2100	815	48	129	860	660	73	31
	50	905	720	111	251	1740	945	100	64
30 min	51	460	176	71	212	1440	505	83	25
	47	740	336	210	372	3420	1350	131	91
	48	1000	785	222	465	6450	2440	160	154
	49	495	465	57	163	1290	463	68	31
	43	—	—	187	250	—	—	—	—
	44	—	—	76	180	—	—	—	—

Tableau 2. *Activité des acides gras des phospholipides par rapport à celle des triglycérides*  
Moyennes des valeurs individuelles, pour chaque animal, du rapport: Activité spécifique des acides gras des phospholipides/Activité spécifique des acides gras des triglycérides = S, ainsi que du rapport: Activité totale des acides gras des phospholipides/Activité totale des acides gras des triglycérides = T.

Pour chacun des rapports S et T, le degré de signification des différences entre 5, 10 et 30 min a été calculé selon le test t de Student-Fisher. Ces différences ne sont jamais significatives (p compris entre 0,25 et 0,15) à l'exception de la différence des valeurs de T pour le poumon entre 5 et 30 min (p = 0,025) et entre 10 et 30 min (p = 0,05).

	Graisse mécent.		Intestin		Foie		Poumon		Carcasse	
	S	T	S	T	S	T	S	T	S	T
5 min	4,4	0,24	1,52	1,63	0,83	1,40	1,40	0,60	2,70	0,24
10 min	5,4	0,76	2,0	1,73	0,42	1,0	2,0	1,63	1,86	0,27
30 min	3,24	0,36	1,53	1,23	0,51	1,32	2,6	5,6	1,57	0,22

<sup>5)</sup> A. PIHL & K. BLOCH, *J. biol. Chemistry*, **183**, 431 (1950).

<sup>6)</sup> R. RUYSSSEN & P. DE MOERLOOSE, *in Biochemical Problems of Lipids*, p. 291, éd. G. POPJAK & E. LE BRETON, Butterworths Scientific Publications, Londres 1956.

La seule différence significative consiste dans une nette augmentation avec le temps de l'activité totale des acides gras des phospholipides du poumon, par rapport à celle des acides des triglycérides. Ceci témoigne une fois de plus d'une active lipogénèse dans le poumon, par ailleurs encore très peu étudiée. On pourrait expliquer la formation privilégiée des phospholipides à la fois par le fait que cet organe ne joue pas le rôle d'un tissu de réserve, et par sa position dans le circuit sanguin, auquel il fournit peut-être une quantité non négligeable de phospholipides.

Nos résultats s'accordent avec l'idée que l'incorporation des acides gras se poursuit parallèlement dans les phospholipides et les triglycérides. On pourrait objecter que la vitesse d'une transformation éventuelle des phospholipides en triglycérides pourrait toutefois être si grande qu'après 5 minutes déjà on aurait atteint un état d'équilibre dynamique (steady state). Une preuve absolue qu'il n'en est pas ainsi est difficile à apporter par une seule expérience *in vivo*; mais nos résultats, qui contredisent cette objection, se trouvent corroborés par des expériences de notre laboratoire qui seront publiées prochainement; d'après celles-ci, le glycérol- $^{14}\text{C}$  injecté par voie intraveineuse à des souris confère au glycérol des triglycérides une activité spécifique toujours supérieure à celle du glycérol des phospholipides. On s'expliquerait difficilement dans ce cas comment les seconds pourraient être les précurseurs des premiers.

C'est également la conclusion à laquelle ont abouti les études *in vitro* de la synthèse des phospholipides par des systèmes enzymatiques isolés; nos mesures présentent l'avantage d'avoir été obtenues sur l'animal intact, dans un temps suffisamment court pour avoir une chance de dévoiler le mécanisme de synthèse.

#### RÉSUMÉ

Des rats amaigris ont été tués 5, 10 ou 30 minutes après injection intraveineuse d'acétate-[ $^{14}\text{C}$ ]. Les lipides totaux de différents tissus ont été séparés en triglycérides et phospholipides par l'acétone- $\text{MgCl}_2$ , et les acides gras totaux de chaque fraction, isolés.

Dans le foie, l'intestin, la graisse mésentérique et la carcasse, le rapport de l'activité spécifique des acides gras des phospholipides à celle des acides gras des glycérides ne varie pas avec le temps; dans le poumon, ce rapport augmente avec le temps.

Ceci confirme que les phospholipides ne sont pas des précurseurs des triglycérides.

Institut de Chimie physiologique de l'Université de Genève

---