



## **DIGITHÈQUE**

#### Université libre de Bruxelles

\_\_\_\_\_

#### Citation APA:

Institut international de chimie Solvay (1938). Rapports et discussions sur les vitamines et les hormones: sixième Conseil de chimie tenu à l'Université de Bruxelles du 4 au 9 octobre 1937. Paris: Gauthier-Villars.

Disponible à / Available at permalink :

https://dipot.ulb.ac.be/dspace/bitstream/2013/234840/3/DL2233863\_000\_f.pdf

\_\_\_\_\_

(English version below)

### Cette œuvre littéraire est soumise à la législation belge en matière de droit d'auteur.

Elle a été éditée par l'Université libre de Bruxelles et les Instituts Internationaux de Physique et de Chimie Solvay, et numérisée par les Bibliothèques de l'ULB.

Malgré tous leurs efforts, les Bibliothèques de l'ULB n'ont pu identifier le titulaire des droits sur l'œuvre ici reproduite. Dans l'hypothèse où le titulaire de droits sur celle-ci s'opposerait à sa mise en ligne, il est invité à prendre immédiatement contact avec la Direction des bibliothèques, à l'adresse bibdir@ulb.ac.be, de façon à régulariser la situation.

Les règles d'utilisation des copies numériques des œuvres sont visibles sur le site de DI-fusion <a href="http://difusion.ulb.ac.be">http://difusion.ulb.ac.be</a>

L'ensemble des documents numérisés par les Bibliothèques de l'ULB sont accessibles à partir du site de la Digithèque <a href="http://digitheque.ulb.ac.be">http://digitheque.ulb.ac.be</a>

### This work is protected by the Belgian legislation relating to authors' rights.

It has been edited by the Université libre de Bruxelles and the Solvay International Institutes of Physics and Chemistry, and has been digitized by the Libraries of ULB.

Despite all their efforts, the ULB Libraries have not been able to identify the owner of the rights in the work reproduced herein. In the event that the rights holder over this work objects to its posting online, he/she is invited to immediately contact the Director of the Libraries at <a href="mailto:bibdir@ulb.ac.be">bibdir@ulb.ac.be</a>, in order to settle the situation.

The general terms of use of the present digital copies are visible on DI-fusion website: <a href="http://difusion.ulb.ac.be">http://difusion.ulb.ac.be</a>

All the documents digitized by the ULB Libraries are accessible from the website of the Digitheque <a href="http://digitheque.ulb.ac.be">http://digitheque.ulb.ac.be</a>

## INSTITUT INTERNATIONAL DE CHIMIE SOLVAY

#### SIXIÈME CONSEIL DE CHIMIE

TENU A L'UNIVERSITÉ DE BRUXELLES DU 4 AU 9 OCTOBRE 1937

## RAPPORTS ET DISCUSSIONS

SUR

## LES VITAMINES ET LES HORMONES

Publiés par MM. les Secrétaires du Conseil sous les auspices de la Commission scientifique de l'Institut.



## PARIS

GAUTHIER-VILLARS, IMPRIMEUR-ÉDITEUR

LIBRAIRE DU BUREAU DES LONGITUDES, DE L'ÉCOLE POLYTECHNIQUE
Quai des Grands-Augustins, 55

1938



# SIXIÈME CONSEIL DE CHIMIE SOLVAY

4-9 OCTOBRE 1937

PARIS. - IMPRIMERIE GAUTHIER-VILLARS,
Quai des Grands-Augustins, 55.

107400-38

## INSTITUT INTERNATIONAL DE CHIMIE SOLVAY

#### SIXIÈME CONSEIL DE CHIMIE

TENU A L'UNIVERSITÉ DE BRUXELLES DU 4 AU 9 OCTOBRE 1937

## RAPPORTS ET DISCUSSIONS

SUR

# LES VITAMINES ET LES HORMONES

Publiés par MM. les Secrétaires du Conseil sous les auspices de la Commission scientifique de l'Institut.



#### PARIS

## GAUTHIER-VILLARS, IMPRIMEUR-ÉDITEUR

LIBRAIRE DU BUREAU DES LONGITUDES, DE L'ÉCOLE POLYTECHNIQUE Quai des Grands-Augustins, 55

1938

ATTOR BOTTO DE STANTA LE LE TURISSE

tal baserus operation the control of a finite and a figure

accessioned II processors

LES TITALIENES ET INS HODBIOTES

Contraction of the Contraction of A-Marketines

Tous droits de traduction, de reproduction et d'adaptation réservés pour tous pays.

## INSTITUT INTERNATIONAL DE CHIMIE SOLVAY

Les premiers Statuts ont été élaborés les 24 et 25 juin 1921,

## Par le Comité scientifique :

Sir W. J. Pope, Président, professeur à l'Université de Cambridge;

M. Ph. A. Guye, professeur à l'Université de Genève;

M. Jean Perrin, professeur à la Faculté des Sciences de Paris;

M. A. Joв, professeur au Conservatoire des Arts et Métiers de Paris;

M. Octave Dony-Henault, Secrétaire, professeur à l'Université libre de Bruxelles.

#### Par la Commission administrative :

- M. P. Heger, administrateur de l'Université libre de Bruxelles, désigné par S. M. le Roi;
- M. G. Chavanne, professeur à l'Université libre de Bruxelles, désigné par l'Université;
- M. E. Tassel, Secrétaire, professeur à l'Université libre de Bruxelles, désigné par M. Ernest Solvay;

et approuvés par le Premier Conseil de Chimie Solvay, le 26 avril 1922.

## STATUTS

ARTICLE PREMIER. — Il a été fondé, à Bruxelles, à l'initiative de M. Ernest Solvay et pour une période de trente années, à partir du 1<sup>er</sup> mai 1913, un *Institut international de Chimie*.

La durée en avait été prorogée jusqu'en 1949. Après le décès de M. Ernest Solvay, survenu le 26 mai 1922, M<sup>me</sup> Ernest Solvay et ses Enfants ont désiré assurer l'avenir de l'Institut pour un temps plus long que celui qui avait été prévu. Dans ce but une convention a été conclue entre les prénommés et l'Université de Bruxelles; en vertu de cette convention l'avoir actuel de l'Institut est remis à l'Université en même temps que la somme nécessaire pour qu'à l'échéance prévue de 1949 le capital d'un million primitivement consacré par M. Ernest Solvay à l'Institut international de Chimie se trouve reconstitué.

L'Université assumera la gestion de cette somme en se conformant à toutes les dispositions des présents Statuts.

ART. 2. — Le but de l'Institut est d'encourager des recherches qui soient de nature à étendre et surtout à approfondir la connaissance des phénomènes naturels à laquelle M. Ernest Solvay n'a cessé de s'intéresser.

L'Institut a principalement en vue les progrès de la Chimie, sans exclure cependant les problèmes appartenant à d'autres branches des sciences naturelles, pour autant, bien entendu, que ces problèmes se rattachent à la Chimie.

ART. 3. — L'Institut international de Chimie a son siège social à l'Université libre de Bruxelles, qui met à la disposition de l'Institut les locaux nécessaires à la tenue des Conseils de Chimie.

- ART. 4. L'Institut est régi par une Commission administrative comprenant cinq membres, belges de préférence, et par un Comité scientifique international comprenant huit membres ordinaires, auxquels peut être ajouté un membre extraordinaire ayant les mêmes droits qu'un membre ordinaire.
- ART. 5. Les cinq membres de la Commission administrative sont :
  - 10 Un membre désigné par S. M. le Roi des Belges;
- 2º Deux membres appartenant à la famille de M. Ernest Solvay ou désignés par elle;
- 3º Deux membres désignés par le Conseil d'administration de l'Université libre de Bruxelles.
- Arr. 6. La durée normale du mandat des membres ordinaires du Comité scientifique est de douze ans.

Le remplacement des membres sortants, des membres décédés ou démissionnaires se fait à l'issue des réunions des Conseils de Chimie, qui ont lieu, en principe, tous les trois ans.

On évitera de faire sortir du Comité plus de deux membres à la fois.

Arr. 7. — Le Comité scientifique élit son Président, dont le mandat est de six ans. A l'expiration de son mandat présidentiel, il devient membre extraordinaire du Comité.

Le Président est rééligible.

ART. 8. — Chaque fois que des vacances se produiront dans le Comité, soit par expiration de mandat, soit pour toute autre cause, le Comité désignera deux candidats pour chaque place vacante.

La nomination des nouveaux membres du Comité est faite ensuite par la Commission administrative, qui est tenue de limiter son choix aux candidats désignés par le Comité scientifique.

Un membre sortant du Comité ne peut être réélu immédiatement.

Anr. 9. - Le Fondateur a manifesté le désir qu'avant tout

l'Institut fasse preuve dans tous ses actes d'une parfaite impartialité; qu'il encourage les recherches entreprises dans un véritable esprit scientifique, et d'autant plus que, à valeur égale, ces recherches auront un caractère plus objectif. Il lui a semblé désirable que cette tendance se reflétât dans la composition du Comité scientifique. Par conséquent, s'il y avait des savants qui, sans occuper une haute position officielle, pourraient être considérés en raison de leur talent comme de dignes représentants de la Science, ils ne devront pas être oubliés par ceux qui désigneront les candidats aux places vacantes.

ART. 10. — Le Comité scientifique se réunit sur convocation du Président, de préférence de manière que les réunions se rattachent à celles des Conseils de Chimie dont il est question à l'article 12.

Le Comité devra être convoqué lorsque trois membres en feront la demande.

Les réunions se tiennent à Bruxelles.

ART. 11. — A des époques déterminées par le Comité scientifique, de concert avec la Commission administrative, se réunira à Bruxelles un Conseil de Chimie, analogue à celui qui a été convoqué par M. Ernest Solvay en octobre 1911, dans le but d'examiner d'importants problèmes de la Physique.

Le nombre total de participants aux Conseils de Chimie est de vingt environ, sans dépasser trente.

Le texte des Comptes rendus des travaux des Conseils de Chimie, arrêté par le Président et les Secrétaires du Conseil, sera publié en langue française par les soins de la Commission administrative de l'Institut.

Art. 12. — Le Comité scientifique choisit les sujets dont le Conseil de Chimie devra s'occuper; il propose à la Commission administrative les noms des personnalités qui le composeront. Ces savants sont invités par la Commission administrative qui organisera la partie matérielle de la réunion.

Le Président et les Secrétaires du Conseil de Chimie sont désignés par le Comité scientifique.

1X

Le Président du Conseil de Chimie adresse à quelques-uns de ses membres la demande de préparer les rapports qui serviront de base aux discussions.

- Art. 13. Le revenu annuel de l'Institut sera affecté par les soins de la Commission administrative :
- 1º En ordre principal à l'organisation des Conseils de Chimie mentionnés à l'article 11;
- 2º A des subsides attribués à des savants belges en vue d'encourager les recherches de Chimie pure et appliquée et la production de travaux originaux;
- 3º A des bourses d'études à conférer à des jeunes gens belges ayant donné la preuve de leurs aptitudes et de leur désir de se vouer à l'étude de la Chimie:
- 4º A des subsides extraordinaires, dont le montant et la destination seront fixés par le Comité scientifique et qui seront attribués à des savants belges ou étrangers pour des travaux présentant une importance ou un intérêt exceptionnels;
  - 5º Aux frais généraux de l'Institut.
- ART. 14. Les subsides et bourses d'études prévus aux paragraphes 2º et 3º de l'article précédent sont accordés par la Commission administrative qui pourra faire appel, pour se guider dans le choix qu'elle devra faire des titulaires, soit à l'opinion de savants belges, soit à l'avis de ceux des membres du Comité scientifique qu'elle jugera le mieux à même de la renseigner sur le mérite des candidats.

Les subsides extraordinaires prévus par le paragraphe 4º seront accordés par la Commission administrative sur la proposition du Comité scientifique, aux indications duquel elle sera tenue de se conformer pour autant que l'état des finances le permette. Une réserve spéciale sera créée à cet effet.

Art. 15. — Les savants auxquels un subside aura été accordé seront tenus d'en faire mention dans la publication des résultats de leurs recherches. Le titulaire d'une bourse sera tenu de remettre à la Commission administrative un rapport annuel sur ses travaux.

ART. 16. — Les frais généraux comprennent entre autres : les menues dépenses de chauffage, d'entretien des locaux et de garde des objets appartenant à l'Institut; les frais du secrétariat administratif et les frais de bureau du secrétaire du Comité scientifique, les frais d'impression pour la publication des Comptes rendus et, éventuellement, pour la publication de recherches qui auraient été favorisées par l'Institut. Ils comprennent encore les dépenses, notamment les frais de voyage et de séjour, occasionnées par les réunions à Bruxelles du Comité scientifique, par celles des Conseils de Chimie et par les conférences que des savants pourront éventuellement être priés de venir faire à Bruxelles.

Arr. 17. — La Commission administrative prendra les mesures nécessaires pour assurer le fonctionnement de l'Institut au delà de la date précédemment prévue de 1949.

En cas de liquidation, celle-ci devra se terminer dans un délai de trois années au plus par le transfert à l'Université de Bruxelles de tout ce qui se trouverait encore dans la possession de l'Institut, et par la dissolution du Comité scientifique et de la Commission administrative.

Si pendant la période de liquidation il venaît à se produire des vacances dans le Comité scientifique ou dans la Commission administrative, il ne serait pas pourvu au remplacement des membres démissionnaires ou décédés.

- Art. 18. Toute modification aux présents Statuts fera l'objet d'une délibération en commun du Comité scientifique et de la Commission administrative.
- ART. 19. Dans le cas où les dispositions de ces Statuts donneraient lieu à des difficultés d'interprétation qu'on ne pourrait résoudre d'une autre manière, la Commission administrative priera S. M. le Roi des Belges d'indiquer la décision à prendre.

## Ainsi modifié, le 8 avril 1933, par

## Le Comité scientifique :

- Sir W. J. Pope, Président, professeur à l'Université de Cambridge;
- M. Jean Perrin, membre de l'Institut, professeur à la Faculté des Sciences de Paris;
  - M. E. Briner, professeur à l'Université de Genève;
  - M. J. Duclaux, professeur au Collège de France, à Paris;
  - M. F. M. JAEGER, professeur à l'Université de Groningue;
  - M. F. Swarts, professeur à l'Université de Gand;
  - M. M. Bodenstein, professeur à l'Université de Berlin;
- M. M. Delépine, membre de l'Institut, professeur au Collège de France, à Paris;
- M. H. Wuyts, Secrétaire, professeur à l'Université libre de Bruxelles.

#### La Commission administrative :

- M. J. Bordet, de l'Université libre de Bruxelles, directeur de l'Institut Pasteur, désigné par S. M. le Roi des Belges;
  - M. Ernest John Solvay, gérant à la Société Solvay et Cie;
- M. F. Heger, professeur et administrateur de l'Université libre de Bruxelles;
- M. G. CHAVANNE, professeur à la Faculté des Sciences de l'Université libre de Bruxelles;
- M. Ch. Lefébure, ingénieur, Secrétaire administratif, désigné par la famille Solvay.

## SIXIÈME CONSEIL DE CHIMIE

BRUXELLES, 4-9 OCTOBRE 1937

#### Participants.

## Les Membres du Comité scientifique :

M. Fred Swarts, Président, professeur honoraire de l'Université de Gand;

Sir William Pope, Président sortant, professeur à l'Université de Cambridge;

- M. Bodenstein, professeur à l'Université de Berlin;
- M. E. Briner, professeur à l'Université de Genève;
- M. Delépine, professeur au Collège de France, à Paris;
- M. J. Duclaux, professeur au Collège de France, à Paris;
- M. P. Karrer, professeur à l'Université de Zurich;
- M. H. Wuyts, Secrétaire, professeur à l'Université de Bruxelles.

#### Les Membres invités :

- M. E. F. Armstrong, Ph. D., D. Sc., LL. D., F. R. S., de Londres;
- M. G. BARGER, professeur à l'Université d'Édimbourg;
- M. G. Bertrand, professeur à la Faculté des Sciences de Paris;
- M. J. W. Cook, professeur au Free Cancer Hospital de Londres;
- M. E. C. Doods, professeur à la Medical School, Middlesex Hospital, à Londres;
  - M. J. C. DRUMMOND, professeur à University College, à Londres;
  - M. A. GIRARD, licencié en Sciences, ingénieur-chimiste, à Paris;

- M. W. N. HAWORTH, professeur à l'Université de Birmingham;
- M. J. M. Heilbron, professeur à l'Université de Manchester;
- M. P. Karrer, professeur à l'Université de Zurich;
- M. T. Kogl, professeur à l'Université d'Utrecht;
- M. E. LAQUEUR, professeur à l'Université d'Amsterdam;
- M. M. Polonowsky, professeur à l'Université de Lille;
- M. T. REICHSTEIN, professeur à l'École Polytechnique de Zurich;
  - M. L. Ruzicka, professeur à l'École Polytechnique de Zurich;
  - M. Szent-Györgyi, professeur à l'Université de Szeged;
  - M. H. von Euler, professeur à l'Université de Stockholm;
  - M. Ad. WINDAUS, professeur à l'Université de Göttingen.

## Les Professeurs de l'Université de Bruxelles :

- M. G. CHAVANNE, membre de la Commission administrative;
- M. O. Dony-Henault, ancien Secrétaire du Comité scientifique;
- M. J. TIMMERMANS, Secrétaire adjoint;
- M. Ed. Zunz, Secrétaire adjoint;
- M. A. Pinkus, Secrétaire adjoint;
- M. E. J. Bigwood, Secrétaire adjoint.

#### Membre auditeur :

M. L. Flamache, directeur des Laboratoires de Solvay et Cie, à Bruxelles.

#### Comité de rédaction :

MM. H. Wuyts, J. Timmermans, Ed. Zunz, A. Pinkus, E. J. Bigwood, Miles L. de Brouckère, A. Lacourt, M. R. Descamps.

## ALLOCUTION DE M. FRÉD. SWARTS, Président.

En ouvrant le sixième Conseil de Chimie Solvay, notre pensée se reporte, endeuillée, sur deux collaborateurs anciens et fidèles de ces réunions, que nous avons eu la douleur de perdre récemment.

Et tout d'abord sur Thomas Lowry. Il fut des Conseils de Chimie dès leur formation et prit part à la plupart de nos réunions. Tous ceux qui eurent la bonne fortune de l'y rencontrer ont admiré l'autorité et l'étendue de sa compétence, en même temps qu'ils gardaient le précieux souvenir de ce collègue aussi modeste qu'affable.

En 1934, il avait été élu membre du Comité scientifique de l'Institut et nous fondions les plus grandes espérances sur sa collaboration. Mais, au mois d'octobre de l'an dernier, Lowry nous écrivait que, malade, il ne pouvait assister à la réunion préparatoire du présent Conseil. Cette absence, que nous tenions pour tout à fait accidentelle, c'était, hélas, la prémonition de la séparation fatale.

Sir Henry Armstrong était le doyen des collaborateurs aux Conseils Solvay. Tous ceux qui l'ont connu conservent le souvenir de ce magnifique vieillard dont l'âge n'avait pas diminué l'activité, je dirai même la combativité, et qui avait gardé l'amour passionné de la science, au progrès de laquelle il avait su apporter une magistrale contribution. Sous des dehors un peu brusques, il cachait un cœur d'or et nous sommes nombreux qui ont pu apprécier la valeur de son amitié. A son fils, qui devait être des nôtres aujourd'hui, je présente les condoléances émues du Conseil.

Messieurs, si j'apprécie à toute sa valeur, le très grand honneur qui m'a été fait en m'appelant à présider vos travaux, j'en sens aussi le poids et le risque. Mais je me rassure à la pensée que j'aurai à mes côtés Sir William Pope. Depuis la fondation de l'Institut international de Chimie Solvay, notre éminent collègue a assumé la présidence des Conseils avec un tact, une autorité, une maîtrise de notre science, auxquels ces réunions doivent, pour une large part, leur succès. En le remplaçant au siège présidentiel, il m'est particulièrement agréable de lui rendre cet hommage de gratitude.

Vous connaissez, Messieurs, le programme du présent Conseil. Le Comité scientifique vous propose d'aborder la discussion des rapports dans l'ordre suivant :

Importance de traces d'éléments dans les processus biologiques (M. Bertrand);

Rapport général sur les vitamines (M. Karrer);

Propriétés physiologiques et thérapeutiques des vitamines (M. Szent-Györgyi);

La vitamine antirachitique (M. Windaus);

Les vitamines du type caroténoïde (M. von Euler);

La vitamine B1 (M. Windaus);

La vitamine B2 ou lactoflavine (M. von Euler);

La chimie de l'acide ascorbique et de ses analogues (M. Haworth);

Rapport général sur les hormones (M. Ruzicka);

Biologie des hormones sexuelles (M. Laqueur);

Les hormones végétales (M. Kögl);

Les hormones artificielles (M. Dodds).

M. Windaus, par suite de son état de santé, se trouvant dans l'impossibilité d'assister au Conseil, M. Heilbron a bien voulu se charger de présenter le rapport sur la vitamine antirachitique et M. Barger celui sur la vitamine B<sub>1</sub>.

area and provided any subject of conference on All the abilities

# SIXIÈME CONSEIL DE CHIMIE

LES

## VITAMINES ET LES HORMONES

IMPORTANCE DE TRACES D'ÉLÉMENTS

DANS

## LES PROCESSUS BIOLOGIQUES

PAR M. GARRIEL BERTRAND.

Mettant à profit les résultats de l'analyse par combustion dans l'oxygène qu'il avait imaginée, il y a environ un siècle et demi, Lavoisier est arrivé à cette conclusion que le corps des plantes et animaux est formé par l'union du carbone, de l'hydrogène et de l'oxygène avec de l'azote et probablement du phosphore.

Les innombrables recherches poursuivies par des chimistes et des physiologistes depuis cette époque ont confirmé cette conception fondamentale de Lavoisier, elles l'ont, de plus, complétée en décelant peu à peu dans les organismes la présence d'un nombre inattendu de métalloïdes et même de métaux.

Toutefois, les progrès dans cette direction ont été très lents. C'est ainsi qu'au début de ce siècle, la majorité des savants qui s'intéressaient à la question étaient d'avis que 12 à 15 éléments, combinés sous des formes diverses, suffisaient à constituer le corps des plantes, des animaux et de l'homme. Cette opinion était courante, on la trouvait exprimée dans les ouvrages classiques.

A la vérité, des chercheurs avaient signalé, dans quelques cas, un petit nombre d'autres éléments, mais on tenait à peu près partout ces résultats pour accidentels et sans importance physiologique.

Aujourd'hui, l'aspect de la question a bien changé. Une revue critique des travaux relatifs à la composition élémentaire de la matière vivante nous permet d'admettre comme démontrée l'existence dans tous les organismes actuellement étudiés, végétaux et animaux, des 13 métalloïdes et des 16 métaux suivants :

Métalloïdes.		Métaux.		
Carbone	Fluor	Calcium	Cuivre	Etain
Hydrogène	Brome	Magnésium	Nickel	Molybdène
Oxygène	Iode	Potassium	Cobalt	Vanadium
Azote	Bore	Sodium	Manganèse	Titane
Soufre	Arsenic	Fer	Aluminium	2.11
Phosphore Chlore	Silicium	Zine	Plomb	

On a rencontré aussi, çà et là, dans les deux règnes, mais pas jusqu'ici d'une manière constante, ni toujours autrement que par la méthode spectrale, les métaux :

Rubidium	Baryum	Argent
Coesium	Strontium	Chrome
Lithium		

Si, au lieu de rechercher simplement la présence des éléments, on s'applique à évaluer leurs proportions, travail laborieux, surtout lorsqu'il s'agit d'organismes entiers de grand volume, on trouve que l'on peut représenter presque 100 pour 100 du poids total du corps, aussi bien des végétaux que des animaux, en additionnant les proportions des 11 métalloïdes et métaux suivants :

Carbone	Soufre	Calcium
Hydrogène	Phosphore	Magnésium
Oxygène	Chlore	Potassium
Azote		Sodium

Le total atteint et même dépasse un peu, en effet, 99,95 pour 100.

٠.

Chez toutes les espèces vivantes, le carbone, l'hydrogène, l'oxygène, l'azote, le soufre et le phosphore entrent, comme on sait, dans la composition des membranes cellulaires, du protoplasme et des noyaux, des substances de réserve. Chez l'homme et chez un grand nombre d'animaux, le calcium et le magnésium, principalement sous forme de phosphates et de carbonates, minéralisent et consolident le squelette interne, ou bien la carapace ou la coquille. Chez les plantes, le calcium, en partie du moins, est combiné aux matières pectiques, unies elles-mêmes à la cellulose dans certains tissus. Le chlore, le potassium et le sodium, dissous dans le suc cellulaire et dans les liquides de l'organisme, contribuent au maintien de la pression osmotique et à la turgescence des tissus mous. Ces éléments possèdent ainsi un rôle que l'on peut qualifier de plastique.

Il ne semble pas, a priori, qu'il puisse en être de même pour les autres éléments dont, par différence, l'ensemble ne peut atteindre que 0,05 pour 100 dont, en conséquence, il ne peut exister de chacun d'eux que des proportions très petites. I faut faire exception, toutefois, pour le fluor et le silicium, envisagés dans certains cas particuliers.

Le fluor est accumulé dans les os et surtout dans l'émail dentaire; sous la forme probable d'apatite, il donne à celui-ci une grande dureté et une grande résistance chimique et lui permet ainsi de remplir son rôle protecteur de la dent.

Le silicium se comporte d'une manière analogue lorsque, à l'état de silice ou de silicate, il minéralise la carapace des Infusoires ou des Diatomées, les spicules de certaines Éponges, ou l'épiderme des Graminées, des Cypéracées, des Équisitacées.

L'iode est parfois combiné avec des complexes protéidiques et il entre alors, sous forme d'iodokératines, dans le squelette de divers animaux inférieurs, gorgones et éponges.

Dans les tissus de l'organisme : émail dentaire, carapace d'Infusoires ou de Diatomées, épiderme de divers végétaux, squelette organique de l'éponge, etc., le fluor, le silicium et l'iode sont présents en proportions notables et interviennent comme éléments plastiques. Ils ne prennent figure de micro-éléments, ou plutôt d'oligo-éléments, que lorsqu'on les dose par rapport au poids total du corps.

. .

L'intérêt se concentre, en fin de compte, sur les autres métalloïdes et métaux que l'on ne rencontre qu'en proportions très réduites, parfois même extraordinairement petites.

Le plus anciennement connu de ces éléments, le premier aussi dont on ait été conduit à admettre l'importance biologique est le fer. C'est, il est vrai, de beaucoup le plus abondant, s'il est permis d'employer un tel adjectif. Dans le corps d'un homme adulte, par exemple, il y en a environ 38,5, soit, en nombre rond, 0,005 pour 100. Il n'y en a pas beaucoup moins chez les plantes vertes.

Au-dessous du fer, pour la proportion, se place immédiatement le zinc; chez l'homme, cette proportion atteint près de la moitié de celle du fer, environ 0,002 pour 100. Puis vient le cuivre, environ 0,0004 pour 100.

Les proportions s'abaissent bien davantage pour la plupart des autres oligo-éléments. Il n'y a déjà plus, chez l'homme, qu'environ 0,00005 de manganèse pour 100. Les proportions diminuent encore pour le nickel, le cobalt, l'aluminium, le titane, le bore, l'iode, l'arsenic, etc., dont il n'existe que des dixièmes, des centièmes et même des millièmes de milligramme par kilogramme.

L'échelle de décroissance quantitative des oligo-éléments n'est pas tout à fait la même chez les plantes et chez les animaux. D'une manière générale, les premières sont plus riches en manganèse, en nickel, en aluminium, en titane, en bore, mais, par contre, plus pauvres en fer, en zinc et en cuivre (1).

Sous le rapport de la répartition dans les divers organes, il est à retenir que, en général, chez l'homme et chez les animaux,

<sup>(</sup>¹) Il n'est pas possible de donner ici une bibliographie des travaux relatifs à la présence et au dosage des oligo-éléments de la matière vivante : elle tiendrait beaucoup trop de place. De mon seul laboratoire, en grande partie spécialisé, il est vrai, dans cette direction, sont sortis depuis quarante ans plus d'une centaine de mémoires. La plupart figurent dans le Bulletin de la Société chimique de France et renferment de nombreuses indications bibliographiques.

le foie est, avec d'autres glandes, parmi les organes les plus riches en oligo-éléments. Il en est souvent de même des tissus kératiniques. La glande thyroïde présente le caractère exceptionnel de localiser la plus grande partie de l'iode. On a cru que cette glande concentrait aussi l'arsenic, mais c'est là une erreur, due à une mauvaise technique expérimentale (1).

Chez les plantes, c'est presque toujours dans les feuilles que l'on trouve des teneurs les plus élevées, parfois aussi dans les graines et surtout, alors, dans les embryons. On a déjà observé, pour plusieurs oligo-éléments, que les feuilles vertes étaient plus riches que les feuilles étiolées.

. .

Il faut se demander, à présent, si des métalloïdes et des métaux en proportions aussi petites que celles trouvées à côté des éléments plastiques ne sont pas, en quelque sorte, des impuretés de la matière vivante, ayant passé du sol dans les plantes, puis dans les animaux, en vertu des lois de l'osmose, ou bien, au contraire, s'ils font réellement partie de l'organisme et interviennent dans les échanges nutritifs.

Pour répondre à cette question essentielle, il n'est pas trop de recourir à plusieurs méthodes. L'analyse élémentaire, même appliquée à l'étude de la localisation relative des éléments dans les organes, ne suffit pas, elle peut ne révéler que des coïncidences dont nous n'avons pas encore la clé. En tout cas, elle n'apporte pas de preuves, mais seulement des présomptions. L'analyse immédiate, aboutissant à la séparation de substances définies dans la composition desquelles entrent un métalloïde ou un métal de la série des oligo-éléments, précise l'état de ce métalloïde ou de ce métal au sein de l'organisme, fortifie nos présomptions, mais ne prouve pas non plus que cet élément joue un rôle actif.

Pour obtenir des preuves, il faut associer aux résultats de la méthode analytique, élémentaire ou immédiate, ceux de la méthode physiologique. Si l'on est certain, aujourd'hui, que le fer est un élément constitutif de l'organisme des Vertébrés et que le cuivre en est un du corps des Mollusques et des Crustacés,

<sup>(1)</sup> Bull. Soc., 3e série, 29, 1903, p. 920.

ce n'est pas parce que l'analyse a réussi à séparer du sang de ces animaux, soit l'hémoglobine, soit l'hémogyanine, mais parce que les expériences des physiologistes ont démontré que ces principes immédiats, dont le premier contient du fer et le second du cuivre, sont des convoyeurs d'oxygène et interviennent d'une manière indispensable dans la fonction respiratoire des animaux qui en sont pourvus. Une preuve analogue a été fournie quant à la présence du vanadium chez les tuniciers.

C'est encore à l'association des méthodes analytiques et physiologiques que l'on doit de pouvoir ranger l'iode de la glande thyroïde des animaux supérieurs et le brome de la glande à pourpre de certains Mollusques parmi les métalloïdes constitutifs des animaux.

C'est enfin à la même association de méthodes que l'on doit la première démonstration de l'importance biologique du manganèse, la raison de ranger aussi le zinc, le nickel et le cobalt dans la liste de matériaux élémentaires de la matière vivante.

On peut encore obtenir la preuve de l'importance biologique d'un élément en recourant à la méthode synthétique. Dans cette méthode, on constitue, avec des composés chimiques déterminés, parfaitement purs, un mélange nutritif à l'aide duquel une plante ou un animal puisse atteindre le plus complet développement possible. En supprimant ensuite, un à un, chacun des éléments de ce mélange, on juge, par la façon de réagir de la plante et de l'animal, du degré d'utilité des éléments mis en expérience.

L'application de cette méthode est difficile, particulièrement dans le cas des animaux. En y consacrant beaucoup de temps et de soins, on est parvenu à en tirer d'heureuses précisions. Quelques exemples suffiront à le démontrer.

\*\*\*

Lors de ses expériences classiques sur la moisissure noire, l'Aspergillus niger ou Sterigmatocystis nigra, Raulin avait reconnu les bons effets d'une addition de fer, et même de zinc et de silicium, à son milieu de culture, mais il n'avait pas trouvé d'action au manganèse. Par une étude méticuleuse du problème, j'ai acquis la conviction que l'échec de Raulin tenait, d'une part, à ce que les besoins en manganèse de l'Aspergillus sont extrêmement

réduits et, d'autre part, à ce qu'il y avait assez de manganèse comme impureté dans le milieu nutritif pour couvrir ces besoins. La réaction de la moisissure au métal est si sensible que l'on ne peut même pas se servir d'appareils en verre pour purifier les substances nutritives ou pour réaliser la culture : le verre cède assez de manganèse pour fausser les résultats de la recherche.

En me servant de matériel en platine et en quartz fondu, je suis parvenu à purifier suffisamment les sels et les produits organiques nutritifs pour démontrer que 1 cent-millionième de manganèse assure l'évolution complète de la moisissure, qu'une dose 10 fois et même 100 fois plus petite accuse encore sa présence par une augmentation de récolte. Enfin, que dans les 7°c de sulfate ferreux ajoutés par Raulin à 1,5 litre de son milieu nutritif, il pouvait y avoir déjà, comme impureté, de 100 à 1000 fois la dose de manganèse capable de produire les mêmes effets favorables que dans mes expériences.

A l'ultime dilution d'une partie de manganèse pour 10 milliards de parties de mon milieu nutritif, c'est-à-dire de 1g de métal pour 10 000<sup>m3</sup>, le poids de matière sèche résultant de l'excès de récolte sur le témoin a pu atteindre 21,5 millions de fois le poids de manganèse introduit (1).

Un fait d'une grande signification a, d'autre part, été observé au cours de ces expériences sur le manganèse. Lorsqu'on ajoute des doses croissantes et très petites de métal au milieu de culture, on trouve une concentration qui permet un très bon développement du mycélium, mais qui ne suffit pas à la formation des organes reproducteurs. Si l'on ajoute alors une nouvelle quantité de manganèse, le mycélium, qui restait blanc et par conséquent stérile, noircit en se couvrant de conidies. Ainsi, le manganèse agit sur l'Aspergillus au moins de deux manières différentes, suivant sa concentration : il faut davantage de métal pour assurer la fonction de reproduction que pour permettre le développement général de l'organisme (2).

Un fait semblable était retrouvé plus tard avec le cuivre (4):

<sup>(1)</sup> Bull. Soc., 4e série, 11, 1912, p. 400.

<sup>(</sup>F) Bull. Soc., 4e série, 11, 1912, p. 494.

<sup>(3)</sup> L. K. Wolff et A. Emmerie, Ned. Tydsc. Hyg. Mic. Ser., 5, 1930; p. 66.

. .

La méthode synthétique appliquée aux animaux a fourni aussi, malgré les difficultés particulières de sa réalisation, quelques résultats de grand intérêt, notamment à propos du zinc.

L'expérience, entreprise il y a une quinzaine d'années avec, mon collaborateur, Boje Benzon, a consisté à comparer deux lots de souris — d'une même portée — nourris, l'un avec des aliments débarrassés de zinc, l'autre avec les mêmes aliments additionnés d'une quantité connue et très petite de ce métal.

Comme, d'après nos analyses, une souris adulte ne renferme pas plus de quelques dixièmes de milligramme de zinc, dont 10 pour 100 environ sont déjà apportés à la naissance, on voit que les besoins en zinc de cet animal sont très minimes et l'on comprend que la première difficulté que nous ayons cue à résoudre a été — comme dans les expériences sur l'Aspergillus — de préparer des aliments assez purs pour ne pas fournir de proportion appréciable de zinc au lot carencé pendant la durée d'une expérience.

Une telle purification a entraîné, comme conséquence, la soustraction à peu près totale de ces facteurs alimentaires, de nature alors inconnue (c'était en 1922-1924), que l'on désigne généralement sous le nom de vitamines.

Nous ne pouvions pas, en effet, ajouter ces facteurs aux aliments purifiés sans introduire en même temps une quantité appréciable de zinc. Le son, relativement riche en vitamine B, est, avec le germe, la partie du grain qui contient le plus de ce métal; la levure de bière et son extrait aqueux, considérés comme de très bonnes sources de la même vitamine, ont aussi des teneurs en zinc remarquablement élevées.

Il en est de même des sources d'origine animale : le foie, le cerveau, le cœur, qui renferment des vitamines en assez grandes proportions, sont parmi les organes les plus riches en zinc.

L'huile de foie de morue et le beurre de vache, bien connus par leur richesse à la fois en vitamine A et en vitamine D, contiennent aussi de notables proportions de zinc. Nous avons trouvé, en moyenne, 6<sup>mg</sup> de ce métal par kilogramme d'huile de foie de morue et jusqu'à 8mg,2 par kilogramme de beurre de vache.

Nous avons donc dû nous résoudre à soumettre les animaux à un régime particulièrement carencé, avec tous les risques de terminaison fatale qu'il comporte. En fait, après une durée variable — selon le stock de vitamines hérité de la mère à la naissance — les souris sont mortes, quel que soit le lot auquel elles appartenaient, avec les mêmes symptômes de paralysie progressive ascendante que l'on observe lorsqu'on expérimente avec les régimes dépourvus de vitamines. Heureusement, malgré cette difficulté, le but que nous poursuivions a pu être nettement atteint.

Les souris s'accommodent longtemps d'un régime formé de grains de froment et d'eau. Avec B. Benzon, nous avons pris ce régime comme type et nous avons constitué un mélange dans lequel les principales substances nutritives, notamment celles que l'on range aujourd'hui dans les groupes des glucides, des lipides et des protides, existent, avec les sels et le lest intestinal, à peu près dans les mêmes proportions que dans la graine de froment. Ce mélange avait la composition suivante :

	En grammes.
Fécule de pomme de terre	73
Caséine (du lait de Vache)	13
Gellulose (du coton)	5
Lactose	2,50
Beurre de coco	2,50
Lactate de calcium (+5H2O)	2,60
Phosphate monopotassique	0,30
Phosphate bisodique cristallisé	
Chlorure de calcium anhydre	0,10
Sulfate de magnésium cristallisé	
Alun ferricoammonique	0,020
Alun aluminopotassique	
Fluorure de sodium	0,004
Sulfate de cuivre crist	0,002
Sulfate de manganèse crist	0,002
Iodure de potassium	0,0005
Bromure de potassium	0,0005

La purification de toutes ces substances a été très minutieuse et a demandé beaucoup de temps. Lorsqu'elle a été jugée suffisante, telle que l'on ne pouvait plus trouver omg, o5 de zinc dans 100g, on les a mélangées et façonnées en petits pains que l'on a cuits au four. On a préparé parallèlement une quantité de petits pains contenant, en outre du mélange ci-dessus, og,010 de sulfate de zinc cristallisé, dose correspondant à 2mg de métal pour 1008 de petits pains. C'est à peu près la teneur en zinc que nous avions trouvée dans les graines de froment qui servaient à la nourriture habituelle des animaux du laboratoire.

Afin de nous placer dans des conditions aussi favorables que possible, les jeunes souris destinées aux expériences ont été séparées de leurs mères au moment du sevrage, c'est-à-dire à l'âge de 3 semaines. C'est en effet à ce moment, d'après nos recherches, que leur teneur en zinc a atteint son minimum.

De plus, il n'a été comparé, dans chaque série mise en expérience, que des animaux d'une même portée et l'on n'a utilisé que ceux qui avaient à peu près le même poids.

Les souris pesées ont été mises isolément dans de grands bocaux de verre, munis d'un couvercle également de verre. Le couvercle était perforé pour les besoins de la respiration et portait une pipette servant de réservoir d'eau. L'emploi de cages en fer galvanisé ou même en bois était interdit parce que les animaux auraient pu, en les grignotant, fausser les résultats.

Nos expériences ont été effectuées sur 20 souris provenant de cinq portées et divisées, d'après cela, en cinq séries.

Grâce aux précautions prises, le résultat général de cette recherche a, pour ainsi dire, dépassé nos espérances : dans chaque série, en effet, les animaux ayant reçu du zinc dans leur alimentation, ont vécu plus longtemps que ceux n'ayant disposé que de matières nutritives débarrassées de ce métal. Leur survie. comptée à partir du moment où ils ont été soumis au régime artificiel, a été de 25 à 50 pour 100 plus longue que celle des animaux sans zinc (1).

Depuis l'époque de ces expériences, des progrès très importants ont été accomplis dans le domaine des vitamines : grâce à de nombreuses recherches, notamment de Willstätter, Drummond,

<sup>[1]</sup> Ann, Institut Pasteur, 38, 4e série, 1924, p. 40.

von Euler, Karrer, Steenbock, Rosenheim, Hess, Windaus, Funck, Seidell, Smith, Ohdake, Szent-Györgyi, les plus importantes de ces substances ont été obtenues à l'état défini ou, tout au moins, sous forme très concentrée, de haute activité physiologique. On ne risque plus alors d'introduire du zinc avec elles dans les régimes synthétiques.

En outre, avec Mokragnatz (1) et avec Machebœuf (2), j'ai découvert que le nickel et le cobalt comptent parmi les éléments de la matière vivante, végétale et animale. J'ai même réussi, avec Hirosi Nakamura, à montrer que ces métaux interviennent comme le zinc, le fer et le manganèse dans l'alimentation (3).

Tenant compte de ces progrès, nous avons pensé, R. C. Bhattacherjee et moi, qu'il serait intéressant de reprendre les expériences de 1922. En introduisant des vitamines, du nickel et du cobalt dans la formule de l'aliment synthétique, il était permis, en effet, d'espérer des résultats beaucoup plus démonstratifs encore de l'importance du zinc dans la nutrition des animaux.

Nous avons pris: 1° comme vitamine A, ou plutôt comme source de vitamine A, du carotène cristallisé, obtenu par nous à partir de la racine de carotte, ce carotène étant dissous dans l'huile d'olive et donné chaque jour à la dose de og,00001; 2° comme vitamine D, de l'ergostérol irradié, obligeamment préparé et titré par O. Bailly, aussi en solution dans l'huile d'olive : une microgoutte de cette solution correspondait à la dose journalière de og,00001 de substance active; 3° enfin, comme vitamines B¹ et B², un extrait de levure de bière n° 34 H, préparé par A. Seidell et que nous avions encore enrichi d'après le procédé de M. I. Smith. Cet extrait concentré a été distribué, dissous dans l'eau, à la dose de og,001 par jour. Nous n'avons pas ajouté de vitamine antiscorbutique, la souris passant, avec le rat et le pigeon, pour ne pas avoir besoin de cette substance.

Le nickel et le cobalt ont été introduits à raison de og,00025 du premier, à l'état de chlorure, et de og,0001 du second, à l'état de sulfate, pour 100g du mélange nutritif.

<sup>(1)</sup> Bull. Soc., 37, 1925, p. 554 et 47, 1930, p. 326.

<sup>(2)</sup> Bull. Soc., 37, 1925, p. 834 et 39, 1926, p. 942 et 1646.

<sup>(3)</sup> Ann. Institut Pasteur, 53, 1934, p. 371 et 54, 1935, p. 421.

Nos nouvelles expériences ont été effectuées sur 22 animaux provenant de cinq portées. Douze de ces animaux ont été soumis au régime alimentaire sans zinc et dix au régime alimentaire contenant du zinc.

Les souris sans zinc ont vécu de 14 à 23 jours, soit en moyenne, 16 jours et 9 dixièmes, et les souris avec zinc de 57 à 74 jours, soit en moyenne 64 jours et 4 dixièmes.

A la fin des expériences, nous avons dosé le zinc contenu dans les cadavres des animaux, après avoir vidé le tube digestif. Les douze souris du lot alimenté sans zinc renfermaient en moyenne o<sup>mg</sup>,23 de ce métal et les dix souris du lot ayant reçu du zinc, o<sup>mg</sup>,44. Ainsi, sur 1<sup>mg</sup> au plus de métal présent dans le pain qu'elle avait consommé, chacune des souris du dernier lot en avait fixé dans ses tissus o<sup>mg</sup>,21 en moyenne.

Il a donc suffi que les animaux assimilent environ 2 dixièmes de milligramme du zinc contenu dans les aliments pour que leur survie expérimentale ait passé de deux à trois semaines, quard ils étaient soumis au régime sans zinc, à près de deux mois et même de deux mois et demi, lorsque ce régime était additionné d'une minime quantité de ce métal (1).

Il semble qu'il n'était pas possible d'exiger une démonstration plus éclatante du rôle du zinc dans le processus global de l'alimentation.

. .

Aux États-Unis, où beaucoup de biochimistes s'intéressent aux problèmes d'alimentation rationnelle, les recherches que je viens de rapporter ont déjà fait l'objet de vérifications.

D'une manière générale, les expérimentateurs américains ont reculé devant les difficultés de la purification des substances nutritives, si laborieuse mais si nécessaire pour la netteté des résultats; ils se sont contentés de préparer leurs régimes artificiels avec des substances, le plus souvent d'origine commerciale, choisies aussi pauvres en zinc que possible, et ils ont cherché si une addition de métal avait quelque effet. Aussi n'ont-ils pas tous atteint le but espéré.

<sup>(1)</sup> Ann. Institut Pasteur, 55, 1935, p. 265.

Si Mac Hargue (1), R. Hubbel et Laf. Mendel (2) sont parvenus à obtenir des effets favorables, Newwel et Mac Collum (3) ont annoncé, en 1933, qu'ils n'avaient pas vu de différence essentielle entre les animaux recevant une ration dans laquelle il y avait très peu de zinc et ceux qui étaient soumis à la même ration à laquelle on avait ajouté une petite proportion de métal.

Par contre, Stirn, Elvehjem et Hart (4), ayant suivi de plus près les conditions des expériences que nous avions réalisées en France, ont reconnu, dernièrement, que le développement des animaux soumis à un régime synthétique pauvre en zinc était nettement retardé en comparaison avec celui des animaux qui recevaient le même régime additionné de zinc.

Ces auteurs concluent en ajoutant que leurs résultats sont en accord avec ceux rapportés par moi-même et Bhattacherjee et ils admettent aussi que le zinc est un élément essentiel pour le développement des animaux sur lesquels ont été effectuées les expériences.

Comment interviennent le manganèse, le zinc, etc., dans les expériences qui viennent d'être rappelées ? Ce ne peut-être, selon toute vraisemblance, qu'au titre de catalyseurs. Leurs proportions sont si petites qu'ils ne peuvent agir dans les phénomènes que d'une façon transitoire, n'entrant, par exemple, dans certaines réactions chimiques que pour s'en dégager aussitôt qu'elles sont accomplies et se trouver encore prêtes à servir.

J'ai montré autrefois que le manganèse se comporte ainsi dans les oxydations provoquées par la laccase, c'est-à-dire dans un grand nombre de phénomènes naturels. La laccase étant représentée schématiquement par la formule R Mn, dans laquelle R est un ion organique faiblement électronégatif et colloïdal, son action oxydasique résulterait d'un processus cyclique comprenant trois réactions principales.

Lorsqu'on dissout la laccase dans une solution aqueuse d'hydro-

<sup>(1)</sup> Amer. Journ. of Physiol., 77, 1926, p. 245.

<sup>(2)</sup> Journ. of biol. Chem., 75, 1927, p. 567.

<sup>(8)</sup> Journ. Nutrition, 6, 1933, p. 289.

<sup>(4)</sup> Journ. of. biol. Chem., 109, 1935, p. 347.

quinone, de gaïacol, de tannin, de pyrogallol, ou d'une substance organique analogue, elle subit une hydrolyse et le métal se sépare à l'état de protoxyde

Ce protoxyde, agissant sur l'oxygène moléculaire, se transforme ensuite en bioxyde. S'il n'y avait pas d'autre substance présente, la réaction se passerait entre deux molécules de MnO et une molécule d'oxygène, mais, en présence de l'un quelconque des polyphénols indiqués plus haut, elle peut se limiter à une seule molécule de protoxyde de manganèse

Réaction 2...... 
$$MnO + O_z = MnO_z + O$$

Cette nouvelle réaction provoque la séparation de la molècule O<sub>2</sub> en deux atomes O d'affinité beaucoup plus grande; l'un est capté par le protoxyde de manganèse et le second se porte sur la substance organique qui, seule, résisterait à l'action de l'oxygène moléculaire.

Le liquide dans lequel se sont accomplies les deux réactions renferme alors : du bioxyde de manganèse, le colloïde électronégatif provenant de l'hydrolyse de la laccase, et un excès de substance oxydable. Sous l'influence de cette dernière, dont la chaleur d'oxydation s'ajoute à celle de formation du sel manganeux, il se passe la réaction suivante :

Réaction 3...... 
$$Mn O_2 + RH_2 = RMn + H_2 O + O$$

Le second atome d'oxygène est ainsi libéré au profit de la substance organique et la laccase est régénérée. Le catalyseur organomanganésien peut donc rentrer une nouvelle fois dans le cycle des réactions et, cela, pour ainsi dire, indéfiniment (1).

On remarquera que le protoxyde et le bioxyde de manganèse, prenant naissance au sein d'une solution colloïdale, sont eux-mêmes colloïdaux, ce qui favorise singulièrement la vitesse des réactions du cycle oxydasique.

<sup>(1)</sup> Bull. Soc. chim., 3° série, 17, 1897, p. 619 (p. 622, ligne 9, il faut lire 6,3, au lieu de 0,3) et p. 753. Voir aussi Ann. Chim. Phys., 7° série, 12, 1897, p. 115.

Au cours des expériences qui m'ont permis d'établir le bienfondé de cette interprétation de phénomènes naturels régis, au contact de l'air, par la laccase : noircissement du latex de l'arbre à laque, brunissement des fruits, pomme, poire, marron d'Inde, etc., bleuissement de certains bolets, etc., j'ai constaté qu'une préparation de laccase contenant 1 partie de manganèse pour 1000 de matière sèche, donnait encore, en 24 heures, une coloration rose très nette, due à la formation de tétragaïacoquinone, lorsqu'on l'ajoutait à une solution de gaïacol à 1 pour 100, à la dose de 1/250000e, c'est-à-dire de 0g,00004 dans 10cm3 (1).

A cette dilution, il n'y avait plus, sous forme de laccase, que 1/2500000006 de manganèse dissous, soit omg,00004 dans 10cms ou ig dans 250m3.

Il est intéressant de remarquer que chez les Mammifères, pourtant si pauvres en manganèse, la concentration moyenne est beaucoup plus grande que dans cette expérience colorimétrique. Dans le corps d'une souris de 10g, par exemple (2), il y a environ 500 fois plus de manganèse que dans les 10cm3 du tube à essais où la réaction d'oxydation est encore apparue d'une manière très nette.

Je crois utile de rappeler ces résultats parce que Otto Warburg, à qui l'on doit de si beaux travaux et qui a, notamment, publié une théorie d'après laquelle le fer se comporterait dans l'organisme comme un catalyseur d'oxydation, n'a pas cru devoir, en 1924, admettre un rôle physiologique au manganèse, ni au cuivre, parce qu'il ne savait pas si ces métaux étaient nécessaires à la vie et parce que, tenant compte des chiffres que j'avais publiés avec Medigreceanu, il estimait que leurs proportions étaient trop faibles par rapport à leur capacité de réaction (3). J'espère que, informé d'une manière plus complète, mon savant Collègue voudra bien reconnaître à présent que le manganèse et sans doute aussi le cuivre doivent être comptés parmi les catalyseurs de la matière vivante.

<sup>(1)</sup> Bull. Soc. chim., 46 série, 1, 1907, p. 1120.

<sup>(2)</sup> Gab. Bertrand et F. Medigreceanu, Bull. Soc., 4e série, 11, 1912, p. 857 et 665 et 13, 1913, p. 18.

<sup>(3)</sup> Biochem. Zeits., 152, 1924, p. 479.

. .

Pour ce qui est de la capacité possible de réaction de ces métaux il faut se souvenir ici qu'un certain nombre d'exemples, pris dans la Chimie minérale et dans la Chimie organique, prouvent que la vitesse d'action de plusieurs catalyseurs intervenant à la fois peut être plus grande que celle de chacun d'eux et même que la somme de leurs vitesses d'action respectives.

C'est ainsi que dans la transformation du naphtalène en acide orthophtalique, par chauffage avec de l'acide sulfurique fumant en présence de divers métaux, le mélange de mercure et de cuivre procure une activité supérieure à la somme des activités des deux catalyseurs ajoutés séparément.

De même, le protoxyde de cuivre et le bioxyde de manganèse, mélangés en proportions convenables (hopcalite), assurent l'oxydation presque instantanée et sans chauffage de l'oxyde de carbone contenu dans l'air, tandis qu'ils sont pratiquement sans action, à moins de chauffer assez fortement, lorsqu'ils sont seuls.

En 1912, nous nous sommes demandés, M. Javillier et moi, si le zinc et le manganèse ajoutés ensemble au milieu de culture de l'Aspergillus niger se comporteraient d'une autre manière que lorsqu'on les ajoute séparément. Le poids de matières sèches obtenu avec le milieu témoin étant 100, les quantités de matières construites se sont élevées au plus : en présence de manganèse seul à 170, en présence de zinc seul à 242, et en présence des deux éléments réunis à 284. Nous avons constaté, en outre, que le champignon avait fixé plus de manganèse et d'autres substances minérales en présence qu'en l'absence du zinc (1).

Le mycélium de l'Aspergillus renferme de nombreuses substances organiques et l'on ne sait pas encore si le zinc et le manganèse interviennent dans des synthèses différentes ou combinent leurs activités dans la construction d'une d'entre elles, mais il y a là une première indication sur le rôle couplé de plusieurs catalyseurs minéraux dans les processus de biosynthèse.

Des observations analogues ont été faites plus récemment aux États-Unis. Les recherches entreprises dans ce pays depuis

<sup>(1)</sup> Bull. Soc., 4e série, 11, 1912, p. 347.

environ une dizaine d'années, notamment par Cave, Hart, Hughes, Elvehjem, Steenbock, Titus, Waddell, etc., sur la régénération de l'hémoglobine dans les anémies, ont montré que l'introduction du fer dans l'organisme ne suffit pas à réaliser la biosynthèse attendue, qu'il faut ajouter d'autres métaux, certainement du cuivre, probablement aussi du manganèse (1). L'édifice moléculaire de l'hémoglobine est compliqué et l'on admettra je pense qu'il ne peut être construit qu'à la suite d'une série de réactions: il reste à savoir, comme dans le cas de l'Aspergillus, si les divers métaux qui interviennent dans la régénération du pigment sanguin agissent séparément dans certaines de ces réactions, ou bien associés dans une seule d'entre elles. De nouvelles recherches sont nécessaires pour résoudre ce côté du problème.

Il me semble du plus grand intérêt de mentionner dès à présent que le manganèse, le fer, le cuivre, le zinc, et, d'une manière générale, les éléments catalytiques, peuvent, lorsqu'ils se trouvent, je ne dis plus les uns avec les autres, mais avec certaines substances organiques, telles que les vitamines et les hormones, que je considère comme étant aussi des catalyseurs, constituer des systèmes synergiques d'une activité hautement accrue.

Dans les expériences sur les souris effectuées avec Bhattacherjee, le zinc a réagi d'une manière particulièrement active avec les vitamines ou, tout au moins, avec une des vitamines que nous avions utilisées. En comparant ces expériences aux précédentes, à celles entreprises avec Benzon, on voit que si le zinc n'a eu qu'une action très limitée en l'absence des vitamines, ces dernières n'ont joué aucun rôle lorsqu'elles ont été administrées à l'exclusion du zinc. Mais on voit aussi que l'adjonction du métal et des vitamines à la fois au régime alimentaire a fait passer la survie des animaux de quelques semaines à plusieurs mois. Il y a vraiment là un exemple tout à fait démons-

<sup>(1)</sup> Voir, en particulier, Journ. biol. Chem., 77, 1928, p. 797; 78, 1928, p. 637; 80, 1928, p. 565 et 83, 1929, p. 251 et 463.

tratif de la synergie qui doit exister entre les nombreux facteurs dont dépendent les phénomènes chimiques de la vie (1).

Des expériences que j'ai publiées l'année dernière avec A. P. Weber, montrent que le zinc et d'autres métaux ou métalloïdes peuvent conjuguer leurs actions, non seulement, comme nous le savons maintenant, avec des diastases et avec des vitamines, mais aussi avec des hormones. En opérant sur une levure rose, classée sous le nom scientifique de Rhodotorula glutinis, nous avons mis en évidence une intervention conjuguée de la folliculine et de plusieurs éléments, employés à l'état de traces (1 mg par litre de solution nutritive), dans le développement du végétal. La synergie du catalyseur organique et d'un catalyseur minéral a été particulièrement élevée dans le cas du zinc.

Ainsi, tandis qu'une addition de folliculine seule au milieu primitif de culture n'a augmenté la récolte que de 12 à 16 pour 100 et celle du zinc seul au plus de 10 pour 100, l'addition des deux catalyseurs à la fois a porté le rendement de 100 à 179 dans une culture de 53 heures et même à 250 dans une culture de 67 heures (2).

Les faits et les considérations théoriques présentées dans ce Rapport ont conduit à diviser les éléments de la matière vivante en deux groupes : celui des éléments plastiques dont il existe des proportions plus ou moins élevées dans les organismes, et celui des éléments catalytiques que l'on rencontre seulement en proportions très petites.

Cette division, comme presque toutes celles qui touchent à la Biologie, n'est pas absolue. De même que plusieurs oligo-éléments remplissent dans certains cas un rôle plastique, on l'a vu pour le fluor pour le silicium et pour l'iode, des métalloïdes et des métaux de caractère franchement plastique peuvent intervenir aussi au titre de catalyseurs.

<sup>(1)</sup> Loc. cit., (10).

<sup>(2)</sup> C. R. Acad. Sc., 202, 1936, p. 1629.

Lorsque le calcium minéralise et consolide le squelette interne ou externe des animaux, ou fait partie, en combinaison avec des substances pectiques, de la membrane cellulaire des végétaux, il remplit manifestement un rôle plastique. On connaît néanmoins des phénomènes dans lesquels le calcium intervient comme catalyseur, par exemple dans la transformation de la prétypsine en trypsine ou de la préthrombase en thrombase. Le magnésium est plastique dans les os, il joue le rôle de catalyseur dans plusieurs processus de transformation des glucides (H. von Euler, etc.); peut-être même dans l'assimilation du carbone par les plantes vertes (Willstätter). Le sodium, à l'état de chlorure, est un élément plastique des animaux; excrété à l'état de bicarbonate par le pancréas, il intervient dans la digestion trypsique.

Mais, dans tous ces cas, le nombre des atomes devenus actifs reste très petit par rapport à la masse énorme de ceux auxquels la fonction plastique est encore attachée. Eu égard à leur concentration dans les milieux réactionnels, ils se rangent donc à côté

des atomes d'éléments du type catalytique.

Lorsqu'on croyait, au début de ce siècle, qu'une douzaine de métalloïdes et de métaux seulement entrait dans la constitution des espèces végétales et animales, il était facile de prétendre que la réunion de ces éléments, dans des conditions favorables, pouvaient suffire à produire une cellule vivante, comme à former une argile.

Le haut degré de complication chimique élémentaire que nous sommes obligés d'admettre aujourd'hui ne permet plus de raisonner ainsi et la génération spontanée reste un problème aussi difficile à expliquer par la Chimie biologique que par la Microbiologie. A moins d'admettre une évolution de la composition élémentaire des espèces, une sorte de transformisme chimique de la matière vivante. Dans cette hypothèse, les premiers représentants de la vie seraient apparus aux dépens de quelques métalloïdes et métaux. Dans la suite, par l'assimilation de nouveaux éléments, rendant possible un plus grand nombre de réactions chimiques, les espèces primitives se seraient élevées peu à peu au triple point de vue de la composition chimique, du fonctionnement physiologique et de l'organisation morphologique.

La distinction, basée sur l'expérience, des éléments de la matière vivante en éléments plastiques et en éléments catalytiques, suggère, d'autre part, une interprétation chimique de la vie.

Les éléments plastiques sont engagés dans l'organisme sous des formes très diverses, notamment de glucides, de matières grasses, de protéides, pour ne rappeler que les plus abondantes. Il est probable que si ces formes étaient seules, la vie n'existerait pas. On ne peut concevoir, en effet, comment un mélange d'amidon ou de glycogène, de graisses, d'albumine, de caséine ou de gluten, même en présence de chlorure de sodium ou de potassium, de sels calcaires ou magnésiens, pourrait entrer en réaction, donner, à la température ordinaire, avec cette facilité que nous connaissons chez les plantes et chez les animaux, naissance à de multiples transformations, les unes endothermiques, les autres exothermiques. Mais il y a, à côté des composés plastiques et passifs, ces infiniment petits chimiques, ces éléments dont le rôle ne peut être que celui de catalyseurs, et dont on aperçoit alors toute l'importance. Ces éléments sont nombreux et variés et, par ce que nous connaissons de leurs propriétés, nous sommes à même de comprendre leur intervention dans l'extraordinaire et merveilleux ensemble de transformations qui s'accomplit au sein de la matière vivante. Envisagé du point de vue chimique, un organisme végétal ou animal apparaît, en résumé, comme une espèce d'oligarchie dans laquelle une foule immense composée d'atomes plastiques serait gouvernée par une minorité d'atomes catalytiques.

## DISCUSSION DU RAPPORT DE M. BERTRAND.

Sir William Pope. - Je voudrais attirer l'attention du Conseil sur un cas assez curieux qui illustre bien l'importance des recherches que vient de nous exposer M. Bertrand. Il y a trente ans environ, une maladie mystérieuse fit son apparition dans les troupeaux de moutons de certaines régions de la Nouvelle-Zélande. Il s'agissait d'une espèce d'anémie entraînant la perte de près de 30 pour 100 des bêtes atteintes et laissant les survivantes très affaiblies et sans valeur pour la boucherie. Fait remarquable, la maladie s'installait dans les fermes les mieux tenues et allait en s'aggravant d'année en année. Après de longues recherches on a réussi à montrer qu'elle était due à l'absence complète de cobalt dans les terres et la végétation des régions atteintes. On a pu alors y remédier en ajoutant à la nourriture des moutons des quantités minimes de chlorure de cobalt, dont l'action prophylactique et thérapeutique a ramené les troupeaux à un état de santé florissante. L'addition du sel de cobalt n'a pas dépassé 1 mg par mouton et par jour, et il est probable qu'une dose bien plus faible encore eut été suffisante (1).

M. Bertrand, - Je remercie vivement Sir William Pope de l'intéressante communication qu'il vient de faire sur l'emploi de très petites doses de cobalt dans le traitement des moutons atteints de la maladie appelée en Nouvelle-Zélande Morton Main disease et due à une insuffisance du métal en question dans le sol d'abord, puis dans les plantes dont les moutons se nourrissent. Je le remercie également de m'avoir signalé l'article paru récemment sur cette question dans la Revue Chemistry and Industry. Je n'avais eu connaissance de ce travail que par un petit extrait publié dans Science et j'étais impatient d'en examiner les détails. J'ajouterai qu'un traitement analogue est expérimenté avec

<sup>(1)</sup> Voir l'exposé tout récent concernant cette maladie dans Chemistry and Industry, 25, septembre 1937, p. 855,

succès depuis quelques années contre une maladie qui atteint non un animal, mais une plante et dont l'extension rapide menacerait sans cela de devenir un fléau pour l'agriculture. Il s'agit de la maladie dite « du cœur » de la betterave. Par suite de la culture intensive de cette plante industrielle et malgré l'apport en engrais ordinaires, on voit se manifester de plus en plus en Allemagne, en France, en Amérique, une altération du bourgeon terminal entraînant la perte de la plante. Cette maladie est due à une déficience du sol en bore, et il suffit d'incorporer à la terre une très minime quantité d'acide borique ou de borax pour arrêter le mal. Cette action est d'autant plus intéressante que le dépérissement du bourgeon terminal est lié chez la plante malade à la présence d'un champignon parasite du nom de Phoma betw. C'est le déséquilibre nutritif, provoqué par l'insuffisance de bore, qui rend le végétal incapable de résister à l'infection parasitaire.

Il y a encore bien d'autres maladies végétales dues à des déficiences minérales, que l'on peut guérir par un traitement oligosynergique. Telle est la « maladie hollandaise » de l'avoine, que l'on peut combattre en ajoutant au sol de petites quantités de manganèse, ou celle du citronnier qui cède à l'action du zinc. Mais je ne puis entrer ici dans le détail; cela nous conduirait trop loin sans changer le fond de la thèse qui est à l'ordre du jour.

M. Karrer. — Les très faibles quantités de composés métalliques, dont l'importance en Biologie a été reconnue de bonne heure par M. Bertrand, jouent également un rôle important, d'après les travaux récents, dans les processus de fermentation. Ainsi, le manganèse, le fer, le calcium, le zinc, etc., peuvent activer certains ferments (la cathepsine, l'arginase, etc.) et produire sur d'autres une action inhibitrice; il est possible, que dans certains cas, cette action des sels métalliques consiste à modifier les potentiels d'oxydoréduction, ce qui ne veut pas dire, d'ailleurs, que ces potentiels doivent être toujours réversibles. Dans d'autres cas, l'activation des ferments par les métaux pourrait résulter de la formation de combinaisons très actives.

M. Bertrand. — Je remercie M. Karrer des exemples qu'il

vient de rappeler en faveur de l'importance de divers métaux dans certains processus biologiques et des suggestions qu'il a faites quant au mécanisme de leur action.

M. Szent-Györgyi. — Le fait que des traces de certains métaux sont indispensables aux espèces vivantes contemporaines ne serait-il pas en relation avec la composition chimique de la mer archaïque d'où ces espèces tirent leur origine?

Quant au mode d'action des traces de substances minérales il ne s'agit pas nécessairement d'un synergisme véritable.

On connaît des exemples de substances importantes au point de vue biologique qui ne peuvent exercer leur action en l'absence d'autres substances déterminées. Ainsi, en l'absence de la vitamine A, les vitamines B et C sont tout à fait inactives, et cette dernière est indispensable à l'action de la vitamine P, sans qu'on puisse parler d'un synergisme proprement dit. Il en est peut-être de même en ce qui concerne l'action combinée des métaux et des enzymes. Je citerai, à ce sujet, la réaction entre les ions ferreux et le groupement diénolique de l'acide ascorbique. Il se forme un complexe ayant des propriétés chimiques et physiologiques entièrement nouvelles et permettant de caractériser le groupement diénolique. Il est possible que le rôle de certains métaux dans les processus biologiques se ramène à la formation de combinaisons de ce genre.

M. Bentrand. — Il y a des relations remarquables entre la composition élémentaire, non seulement qualitative mais aussi quantitative, des espèces vivantes et du milieu dans lequel elles vivent. Comme ces espèces ne sont pas douées du pouvoir de transmutation des éléments, il ne peut en être autrement. Plusieurs savants se sont déjà occupés de ces relations, notamment Bunge, puis Quinton dans son ouvrage sur l'eau de mer. En général, on a observé des ressemblances, mais on n'a pas assez tenu compte des différences. Il y a lieu d'être plus circonspect encore au sujet des variations possibles de la composition du milieu et des espèces à travers le temps.

En ce qui concerne le mécanisme des actions synergiques que j'ai signalées au sujet de certains catalyseurs minéraux en présence de vitamines ou d'hormones, je ne puis encore en donner d'explication. Aussi ne discuterai-je pas s'il s'agit de synergisme vrai ou bien, comme l'avance M. Szent-Györgyi, de synergisme apparent. J'ai employé le mot synergie comme l'expression de faits constatés, sans prétendre, pour le moment, à une explication. Dans l'exemple cité par M. Szent-Györgyi, il n'est pas impossible, il est même probable que l'acide ascorbique intervient en présence de certains catalyseurs métalliques en donnant un produit de transformation réversible et que l'on se trouve ainsi en présence d'un système de réactifs catalytiques couplés, plus actif que chacun des réactifs séparés. On parviendra certainement dans l'avenir à étudier de tels mécanismes avec précision.

M. Pinkus. — M. Bertrand nous a parlé d'une maladie de la betterave due à un champignon parasitaire et pouvant être combattue en ajoutant au sol de petites quantités d'acide borique ou de borax. Je voudrais demander si l'on possède des données expérimentales suffisantes pour affirmer avec certitude que le bore exerce dans ce cas une action positive, en ce sens qu'il stimulerait les forces défensives de la plante dans sa lutte contre le parasite, plutôt qu'une action négative s'exerçant sur le champignon et l'empêchant de prospérer. On connaît, en effet, de nombreux exemples de l'action toxique de traces d'ions métalliques, de cuivre par exemple, sur divers champignons et bactéries.

M. Bertrand. — Étant données les doses extrêmement faibles de bore qu'on emploie, il ne paraît pas possible d'envisager, et de loin, une action toxique vis-à-vis du parasite, tandis que la betterave est, par contre, une plante relativement riche en bore. L'explication la plus vraisemblable est donc celle du rôle alimentaire de cet élément.

M. Polonovski. — Je voudrais tout d'abord poser à peu près la même question que M. Szent-Györgyi et je redemanderai à M. Bertrand si l'analogie frappante que l'on rencontre entre le classement quantitatif des éléments dans la composition de l'eau de mer et dans la constitution de la matière vivante, végétale ou animale, n'impose pas l'hypothèse que l'une conditionne

l'autre : soit qu'on admette que la matière vivante s'est formée aux dépens de tous les éléments qu'elle trouvait dans le milieu ambiant et en les empruntant d'une façon plus ou moins élective, mais sensiblement dans la proportion même où ils s'y rencontrent, soit qu'on explique, au contraire, cette presque identité par la désintégration perpétuelle au sein des océans d'organismes vivants. Mais quoi qu'il en soit, si l'on se permet d'aborder le terrain plus métaphysique que biochimique de la genèse de la vie, ne semble-t-il pas plus conforme aux directives générales de la Biologie de supposer que la vie nécessite cette multiplicité d'éléments réactionnels et qu'elle n'ait apparu qu'à ce degré de complexité et en présence de ce pluralisme d'éléments qu'on reconnaît dans les organismes les plus inférieurs, plutôt que d'esquisser une évolution transformiste faisant remonter l'origine de la matière vivante aux plus simples constitutions élémentaires ?

La seconde remarque que je voudrais ajouter souligne l'intérêt que nous avons eu à aborder en tête de ces séances le très beau Rapport de M. Bertrand, véritable introduction à l'étude du rôle physiologique des vitamines et des hormones. J'ai été, en effet, frappé du fait que les contributions que Sir William Pope et M. Bertrand lui-même viennent d'apporter au rôle catalyseur des éléments minéraux, dont la carence a provoqué l'épizootie des moutons de la Nouvelle-Zélande, la maladie parasitaire du « cœur » de la betterave ou la maladie hollandaise de l'avoine, doivent nous rendre très circonspect sur la validité de la définition même des vitamines, telle qu'elle est donnée dans le Rapport de M. Karrer. Pouvons-nous conserver dans toute sa rigueur une distinction absolue entre « substances dont la carence provoque une altération de l'état normal des organismes » (qui seules entreraient dans le cadre des vitamines), et celles qui peuvent « atténuer ou guérir une maladie provoquée par infection, poison ou manifestation de sénilité », alors que nous voyons des éléments minéraux capables de répondre à ces deux conditions ?

M. Bertrand. — En répondant à M. Szent-Györgyi à propos des rapports de composition des animaux marins et du milieu liquide dans lequel ils vivent, j'ai essayé de résumer en quelques mots ce que je pense de la question. Cette question est étendue et digne d'intérêt, et je ne m'étonne pas que M. Polonovski y revienne. Je ne puis penser que les substances dissoutes dans l'eau de la mer proviennent seulement de la désintégration perpétuelle des organismes océaniques. Puisque les organismes comportent nécessairement tout un ensemble de matières minérales, ils n'ont pu prendre naissance qu'aux dépens d'un milieu qui les renfermait déjà et plus sûrement qu'à propos de la genèse de l'œuf et de la poule, on peut répondre ici que c'est la mer qui a commencé. Il n'est pas possible d'être aussi affirmatif sur les modalités d'apparition et de développement des espèces vivantes, et l'on peut discuter tout autant l'hypothèse du transformisme chimique que je présente que l'on a discuté et discute encore celle du transformisme morphologique.

La seconde remarque de M. Polonovski attire une fois de plus l'attention sur la validité de la définition des vitamines, mais je n'ai pas à y répondre, car elle est d'accord, au fond, avec ce que je pense moi-même à ce sujet.

M. von Euler. — Il résulte d'expériences in vitro concernant l'activation par le manganèse de certains systèmes enzymatiques synthétiques que la concentration du métal doit être plus grande que celle de la substance activée. En travaillant avec des isotopes radio-actifs d'éléments biocatalyseurs, par exemple avec l'isotope 32 du phosphore, on parvient à mettre en évidence des actions biocatalytiques de ces éléments employés à des doses du même ordre de grandeur que dans le cas des catalyseurs de phosphorylation.

M. Bertrand. — Je remercie M. von Euler des renseignements si intéressants qu'il apporte au sujet des éléments biocatalyseurs. On doit s'attendre à des découvertes nombreuses en exploitant dans cette intention, comme il le fait, le domaine des radio-éléments artificiels.

M. Bigwoop. — En ce qui concerne le rôle du zinc, M. Bertrand rappelle dans son Rapport le travail de Mac Collum qui ne confirme pas ses propres observations. Je voudrais demander comment

27

il faut expliquer l'échec de Mac Collum. Faut-il penser que l'alimentation des animaux-témoins était insuffisamment débarrassée du zinc qu'elle contient normalement, de sorte que le métal ajouté ne constituait qu'un excès inactif?

Je voudrais encore attirer l'attention sur une autre contradiction expérimentale du même genre. En parlant dans son Rapport du mécanisme de l'action de traces de certains éléments contenus dans les organismes vivants, M. Bertrand cite comme exemple le rôle du manganèse dans la catalyse d'oxydation exercée par la laccase. Or, Fleury et Campora ont montré, dans un travail publié en 1934 au Bulletin de la Société de Chimie biologique, que les préparations de laccase soumises à une dialyse prolongée perdent, à des traces infimes près, tout le manganèse et le fer qu'elles contenaient originellement et qu'en même temps leur activité catalytique, loin de diminuer, augmente au contraire notablement. Je voudrais demander à M. Bertrand ce qu'il faut penser de cette observation.

M. Bertrand. - Comme le pense M. Bigwood, c'est bien à l'insuffisance de pureté des aliments au point de vue zinc qu'il faut principalement attribuer l'échec des expériences de quelques chercheurs américains. La préparation des aliments artificiels destinés à la nourriture des animaux est très minutieuse et demande beaucoup de temps. Les chercheurs en question avaient cru pouvoir remplacer ces aliments par des mélanges de substances commerciales pauvres en zinc, comptant que cette condition suffirait à rendre appréciable l'action d'une petite quantité de métal ajouté. Comme les besoins en zinc des souris et des rats sont très minimes, il restait encore trop de métal dans l'aliment de base et l'effet d'une addition était plus ou moins ou même complètement masqué. C'est seulement en se rapprochant beaucoup des conditions dans lesquelles mes collaborateurs et moi avions dû nous placer que les dernières expériences ont pu fournir des résultats utilisables.

En ce qui concerne la laccase, dans sa tentative pour l'obtenir exempte de manganèse, M. Fleury n'a pas été plus heureux que moi : il restait du métal dans sa préparation la plus purifiée. Il a comparé la teneur en manganèse de cette préparation avec la teneur du latex primitif et a constaté un grand écart. Mais il y a dans le latex une assez forte proportion de manganèse liée à d'autres substances que la laccase et qui est mise hors de compte dès la première précipitation de l'oxydase. En fait, la préparation de laccase de M. Fleury renfermait encore du manganèse, et il n'a pu être démontré que son action oxydasique était réalisable en l'absence complète de ce métal.

M. Zunz. — Dans le traité de Physiologie générale bien connu, de Bayliss, ce physiologiste a déjà appelé l'attention sur le fait que la constitution chimique du plasma sanguin des mammifères actuels correspond dans une grande mesure à la composition de l'océan lors du début de la période cambrienne où vivaient leurs ancêtres. En conformité avec l'opinion émise par von Bunge dès 1804, puis par A. B. Macallum en 1903, le plasma sanguin des vertébrés terrestres représenterait un héritage de leurs ancêtres vivant dans un milieu marin dont la composition saline, particulièrement pour ce qui regarde la proportion des sels magnésiques, différerait beaucoup de celle des océans actuels. Toutefois, au cours des âges, la composition chimique du milieu interne des mammifères a peut-être subi peu à peu des changements qui l'ont éloignée dans une certaine mesure de cet état primitif. Ces vues se rapprochent de l'opinion de M. Szent-Györgyi concernant l'origine archaïque possible de la présence de certains éléments chimiques dans l'organisme.

A propos des remarques de M. Bertrand sur la coagulation du sang, il y a lieu de ne pas perdre de vue que le strontium peut remplacer le calcium dans les processus qui président à la formation de la thrombine. En ce qui concerne l'importance des éléments oligométalliques, je me permettrai encore de rappeler les faits suivants : on a récemment signalé que, dans le traitement de la chlorose, le fer médicamenteux n'a d'effet utile que s'il contient des traces de cuivre. On sait aussi que l'action hypoglycémiante de l'insuline est fortement accrue par de très petites quantités de zinc. L'insuline cristallisée contient, d'ailleurs, toujours du zinc.

M. Bertrand. - Je ne puis, malgré le plaisir que j'y prendrais,

revenir sur la question des relations entre la composition élémentaire des eaux marines et celle des espèces animales qui ont pu y prendre naissance, car cela nous prendrait trop de temps et l'heure est déjà très avancée.

Quant à la substitution du strontium au calcium dans la coagulation du sang, rappelée par M. Zunz, j'ajouterai seulement qu'elle a son équivalent dans le cas de la coagulation diastasique de la pectine, d'après les expériences que j'ai publiées autrefois avec Mallèvre.

M. Dony-Hénault. - M. Bertrand appelle d'abord oligoéléments les éléments existants en traces dans les organismes; dans la suite, il appelle catalytiques les mêmes oligo-éléments dont l'action dans la vie organique apparaît marquante ou particulière. En employant le terme « catalytique », il préjuge - si l'on accorde à ce mot son sens physicochimique - quelque chose sur le mécanisme d'action qui reste cependant tout à fait obscur. En s'en tenant au mot « oligodynamique », créé par Naegeli et admis par les biologistes, on éviterait cet inconvénient.

M. Bertrand. — J'ai employé le terme d'oligo-éléments pour désigner tout élément trouvé en petite quantité dans la matière vivante, sans préjuger de son importance physiologique. C'est seulement à partir du moment où une preuve a été donnée de leur rôle dans l'organisme que j'ai appliqué à certains de ces éléments les qualificatifs de « plastique » ou de « catalytique », suivant le cas. Si, d'autre part, j'ai préféré le mot « oligosynergique » à « oligodynamique » proposé autrefois par Naegeli, c'est pour exprimer que l'élément ainsi désigné intervient d'une manière particulière avec les autres métalloïdes ou métaux constitutifs de la matière vivante. Ces explications données, je ne crois pas qu'il puisse y avoir de confusion quant au sens des mots que i'utilise.

M. Reichstein. - Il semble, d'après les travaux récents, que l'assimilation de l'azote atmosphérique par les bactéries du sol exige la présence de petites quantités de molybdène agissant comme catalyseur. Cela m'intéresserait de savoir si M. Bertrand possède des données indiquant que le molybdène joue également un rôle dans les processus ayant pour siège des organismes supérieurs.

M. Bertrand. — M. Ter Meulen a décelé la présence du molybdène dans le sol, les plantes et les animaux, et c'est pour cette raison que j'ai placé ce métal dans la liste des éléments constitutifs de la matière vivante. Mais je ne connais pas encore de preuve de son rôle physiologique. Je le range parmi les oligo-éléments. mais je ne sais pas encore si c'est un élément oligosynergique.

M. Bodenstein. — Je serais curieux de savoir comment a été découvert le rôle du cobalt dans la maladie des moutons dont a parlé Sir William Pope.

Sir William Pope. — Après des travaux qui ont duré des années, on est arrivé à analyser le sol des régions atteintes par la maladie et des régions épargnées. On a constaté que les premières se distinguaient par l'absence complète du cobalt, ce qui a orienté les recherches vers cet élément.

M. BERTRAND. - N'avant pas encore lu l'original des publications où se trouvent consignés les travaux qui ont conduit, au traitement par le cobalt des moutons de la Nouvelle-Zélande, il ne m'est pas possible de renseigner M. Bodenstein plus exactement que ne vient de le faire Sir William Pope. Mais je puis bien assurer que ces travaux ont été précédés d'une série d'autres auxquels on peut logiquement les rattacher d'une manière plus ou moins directe.- Après avoir découvert, avec Mokragnatz et avec Machebœuf, la présence simultanée du nickel et du cobalt dans la terre arable, puis dans les plantes et les animaux, je me suis appliqué à trouver si ces éléments - dont il n'existe que des traces dans les organismes - jouaient quelque rôle physiologique. Avec Nakamura, nous avons réussi à établir leur intervention dans le phénomène global de la nutrition des souris; avec Machebœuf, nous avons reconnu leur influence dans la glycolyse et nous les avons même essayés avec quelque succès dans le traitement de certaines formes de diabète. Quel que soit

le lien qui unisse les travaux néozélandais avec ceux de mon laboratoire, on peut les considérer comme une illustration aussi intéressante qu'inattendue de l'importance du cobalt et, d'une manière générale, des éléments oligosynergiques dans les processus biologiques.

M. Laqueur. — Les recherches concernant l'influence du zinc sur l'action de l'insuline ont montré que la masse du métal ajouté ne constitue que 5.10-8 pour 100 de la masse de l'animal servant aux expériences (dans le cas des chiens par exemple). Cette teneur en métal est encore 1000 fois plus faible, que celle qui est nécessaire, d'après les travaux de M. Bertrand, à l'alimentation des souris, et aussi 1000 fois plus faible que la teneur en manganèse des souris elles-mêmes.

M. Swarts. — M. Bertrand a classé le fluor parmi les oligoéléments jouant le rôle d'éléments plastiques. La teneur en cet élément des organismes vivants n'est que de quelques centièmes de pour 100 : chez l'homme adulte, le fluor intervient pour environ 38,5, dont 28,5 dans le squelette (os et dents). Associé au phosphate de calcium, probablement sous forme d'apatite, dans l'émail dentaire, il donnerait à ce dernier sa dureté et sa résistance chimique caractéristique. Il est à signaler d'ailleurs que le squelette des mammifères marins renferme environ dix fois plus de fluor que celui des mammifères terrestres (Klement).

Or, on ne peut assigner au fluor, ou plutôt à l'ion de fluor un rôle exclusivement plastique, et son intervention bienfaisante dans la constitution de l'émail dentaire est contestée. Depuis assez longtemps, il a été constaté, en particulier, aux États-Unis, que la présence de l'ion de fluor dans les eaux alimentaires, à des teneurs supérieures à 12-18.10<sup>-6</sup>, provoque des lésions graves amenant la destruction des dents (Mottled teath des Américains) : des madrures apparaissent dans l'émail et le tissu osseux est également atteint.

Les travaux sur le métabolisme du fluor sont peu nombreux. Cet élément joue un rôle dans le métabolisme de la glande thyroïde, et il aurait une influence favorable dans l'hyperthyroïdisme. Je n'ai pas rencontré de recherches sur le rôle du fluor analogues à celles de M. Bertrand, dans lesquelles on aurait soumis des animaux à un régime défluoré. Un tel travail, d'une réalisation sans doute malaisée, serait intéressant à faire; il pourrait notamment être exécuté sur des animaux sans squelette osseux. Tant que de telles recherches n'auront pas été entreprises, il sera difficile d'interpréter le rôle des ions de fluor.

Celui du fluor non ionisable, dans les composés organiques fluorés par exemple, est tout à fait inconnu. On sait seulement que ces corps sont d'une remarquable inertie au point de vue pharmacodynamique.

M. Bertrand. — Malgré un nombre déjà important de publications se rapportant à la question du fluor au point de vue biologique, on est encore peu avancé, à cause surtout des contradictions entre certains résultats obtenus. S'il est un fait, par exemple, qui paraissait bien établi, c'est la présence de ce métalloïde dans le squelette osseux des vertébrés et, plus spécialement, son abondance relative dans l'émail dentaire. Or, comme vient de le rappeler M. Swarts, on a publié aux États-Unis, il v a peu de temps, un travail d'après lequel il n'y aurait pas, ou pas habituellement, de fluor dans l'émail dentaire. Il faut dire que la recherche et le dosage de petites proportions de fluor, comme il s'en trouve dans les organismes, sont très difficiles. D'après les travaux d'Armand Gautier et Clausemaure, complétés par d'autres auteurs, il y a des traces plus ou moins grandes de fluor dans tous les organes. Il n'est donc pas impossible qu'il joue, en dehors du rôle plastique que j'ai rappelé, aussi un rôle catalytique. Mais, comme l'estime notre éminent Président, dont la compétence en ce qui concerne la chimie des composés organiques du fluor est dominante, il sera sans doute difficile d'en faire la démonstration.

## RAPPORT GÉNÉRAL SUR LES VITAMINES

PAR M. P. KARRER.

LES VITAMINES LES MOINS CONNUES (TERMINOLOGIE, SIGNIFICATION, ACTION).

Lorsque, en 1920, Drummond utilisa pour la première fois les lettres de l'alphabet pour différencier les vitamines, personne ne se doutait qu'au bout de quinze ans, ces lettres suffiraient à peine pour désigner les différentes vitamines connues. A celles que l'on peut qualifier de « grandes vitamines », A, B<sub>1</sub>, B<sub>2</sub>, C, D et E sont venues s'ajouter les vitamines B<sub>3</sub>, B<sub>4</sub>, B<sub>5</sub>, B<sub>6</sub>, H, J, K, L, P.

Une question préalable est de savoir si l'on a le droit de considérer tous ces principes comme vitamines.

Une réunion de spécialistes, comme celle que constitue le Conseil Solvay est sans doute des mieux qualifiée pour répondre à cette question, d'où mon désir d'attirer sur elle son attention.

Le nom de vitamines devrait, me paraît-il, être réservé aux substances dont l'absence dans l'organisme humain ou animal provoque des manifestations de carence, ou des maladies ; par contre, ne devraient pas être considérées comme vitamines les substances capables d'atténuer ou de guérir une maladie provoquée par infection, par lésion artificielle, par les poisons ou par des manifestations de sénilité.

Il est probable, qu'en principe, il y aura complète communauté de vues sur ce point; les difficultés n'apparaîtront que lorsqu'on aura à considérer et à examiner de plus près les cas particuliers.

La nature de vitamine du principe B<sub>4</sub>, contenu dans l'extrait de levure, substance encore totalement inconnue au point de vue chimique, ne paraît pas douteuse; en effet, les animaux soumis à l'alimentation de Bourquin-Sherman, et auxquels on administre les principes A, B<sub>1</sub>, C, D et E, ne croissent que lorsque leur nourriture est complétée, en même temps par B<sub>2</sub> (lactoflavine) et aussi par la vitamine B<sub>4</sub>.

Le principe B<sub>6</sub> a lui aussi ces derniers temps été suffisamment caractérisé biologiquement, en particulier par les travaux de György (¹) et de Miss Chick (²), pour que son existence et sa nature de vitamine soient à peine douteuses.

Quand des animaux sont alimentés sans qu'on leur fournisse B<sub>2</sub>, il se manifeste fréquemment chez eux, particulièrement au museau et aux pattes des affections cutanées, lesquelles, d'après Euler et Malmberg (³) et d'autres auteurs, peuvent bien être atténuées dans une large mesure par la vitamine B<sub>2</sub> (lactoflavine), mais en laissant subsister cependant de nettes différences avec la peau normale (diminution de la couche adipeuse et kératinisation de l'épiderme). Ces dégradations ainsi d'ailleurs que la dermatite totale, peuvent disparaître par l'usage d'une alimentation mixte normale et composée de foie (privé de lactoflavine par extraction), de muscles de poisson, de froment, de maïs, etc. (³"), ce qui fait que, dans ces aliments, doit se trouver au moins un principe différent des vitamines B<sub>1</sub>, B<sub>2</sub> et B<sub>4</sub>.

Le principe B<sub>6</sub>, lequel (ou une substance voisine) porte aussi le nom de vitamine H (4), serait, comme la lactoflavine, détruit irréversiblement par la lumière (5); il n'est pas précipité par les sels de plomb, de mercure et d'argent, mais bien par l'acide phosphotungstique et est adsorbé par la terre à foulon. Il se rend à la cathode dans l'électrodialyse et serait indifférent vis-à-vis de l'acide nitreux.

György, Nature, London, 133, 1934, p. 498; Biochem. J., 29, 1935,
 p. 741 et 760. — Birch et György, Biochem. J., 30, 1936, p. 304.

<sup>(\*)</sup> H. CHICK, Lancet, 1933, p. 341. — CHICK, COPPING, EDGAR, Biochem. J., 29, 1935, p. 722.

<sup>(\*)</sup> Von Euler et Malmberg, Biochem. Z., 278, 1935, p. 351.

<sup>(8</sup>a) A. M. Copping, Biochem. J., 30, 1936, p. 845 et 849.

<sup>(4)</sup> György, Zeitschr. f. ärztl. Forth., 28, 1931, p. 377; Klin. Woch., 42, 1935, p. 1241. — György et Wagner-Jauregg, Ber., 66, 1933, p. 317.

<sup>(5)</sup> György, Biochem. J., 29, 1935, p. 767.

Une question controversée est de savoir si la dermatite provoquée chez des animaux tels que les rats et les poules par carence de Ba (ou H) a quelque chose de commun avec la pellagre de l'homme. D'après Chick [loc. cit., p. 2, note (2)], la pellagre serait plutôt provoquée par une substance toxique qui aurait pour origine le régime exclusif à base de maïs, mais pourrait être guérie par l'action en quantité suffisante de « bonne protéine ». M. Milbradt (1) met aussi en doute la signification de la vitamine H dans la pathologie humaine. D'après cet auteur, il serait difficilement admissible que la dermatite séborrhoïde des animaux d'expérimentation ait quelque chose de commun avec les troubles (dermatropen-Stoffwechselstörung) constituant l'eczéma séborrhéique de l'homme. W. J. Dann (10) tient la dermatite des rats et la pellagre humaine pour différentes, car la première se produit à l'obscurité comme à la lumière, et peut être guérie par la farine de maïs, ce qui n'est pas le cas pour la pellagre. Tout compte fait, la question de la vitamine B, (ou H) reste encore ouverte; mais beaucoup de faits sont en faveur de l'existence d'un tel principe. Nos données sur les vitamines Ba et Ba sont encore plus réduites que celles qui intéressent la vitamine Ba; ces deux vitamines seraient nécessaires pour le développement normal de différentes espèces d'oiseaux, en particulier les pigeons et les poules. Leur existence a surtout été affirmée par O'Brien (2) qui a trouvé que les germes de froment, la levure et le foie sont de bonnes sources de vitamines Ba et Ba. Cette opinion n'est toutefois pas partagée par Williams et Eddy (3), ni par Morris (4), lesquels sont d'avis que le maintien du poids chez les pigeons exige seulement de grandes quantités de B1. D'autre part, plusieurs auteurs américains ont montré (5) que de jeunes coqs qui ne

<sup>(1)</sup> Dermat. Wochenschr., 103, 1936, p. 1376.

<sup>(1</sup>a) W. J. DANN, J. Nutrit., 11, 1936, p. 451.

<sup>(2)</sup> O'BRIEN, Biochem. J., 28, 1934, p. 926. — CARTER et O' BRIEN, Biochem. J., 29, 1935, p. 2746; 30, 1936, p. 43.

<sup>(3)</sup> WILLIAMS et EDDY, Carnegie Year Book, 1931.

<sup>(4)</sup> Morris, Diss., New-York, 1933.

<sup>(5)</sup> ELVEHJEM, KEENAN, KLINE et HART, J. biol. Chem, 99, 1932-1933, p. 309. — HOGAN et BOUCHER, Agric. Exptl. Stat. Res. Bull., no 198, 1933. — KLINE, ELVEHJEM et HART, J. biol. Chem., 107, 1934, p. 10.

reçoivent dans leur alimentation en fait de vitamines B solubles dans l'eau que B<sub>1</sub> et B<sub>2</sub> pures deviennent malades, et manifestent de la paralysie et de la dégénérescence du cervelet; ces troubles cessent lorsqu'on leur administre de l'extrait de foie débarrassé de flavine (¹).

Il semble donc bien qu'en dehors des vitamines B<sub>1</sub>, B<sub>2</sub> et C un autre principe soluble dans l'eau soit nécessaire au développement de ces espèces d'oiseaux.

B<sub>n</sub> serait rapidement détruit par l'oxygène et par des températures dépassant 100°. Elle n'est pas adsorbée par la norite, ni la terre à foulon, en solution acide; elle n'est pas précipitée par l'hydrate de baryte en solution aqueuse ou alcoolique à 80 pour 100; elle résiste à l'eau de brome, l'acide nitrique dilué et l'eau oxygénée (2).

Une substance paraissant présenter toutes les caractéristiques d'une vitamine véritable, est la vitamine K (principe coagulant) laquelle, d'après Dam et Schonheyder (3) guérit une maladie de carence qui existe chez les poules et qui, par ses caractères extérieurs, ressemble au scorbut, mais n'est toutefois pas influencée par la vitamine C. Les animaux malades accusent une forte diminution de la coagulabilité du sang, laquelle disparaît par la vitamine K. Ce test sert aussi à reconnaître le principe. Indépendamment de Dam, Almquist et Stockstad (4) ont découvert le même remède (Heilfaktor) et l'ont étudié. Il est présent en quantité abondante dans la graisse du foie de porc et dans mainte plante verte (luzerne, semence de chanvre, chou).

<sup>(1)</sup> ELVEHJEM et KOEHN, J. biol. Chem., 108, 1935, p. 709. — LEPKOWSKY et JUKES, J. biol. Chem., 111, 1935, p. 119.

<sup>(2)</sup> LEPKOWSKY et JUKES, J. biol. Chem., 114, 1936, p. 109. — Quant à la nature complexe du principe, voir Lepkowsky, Jukes et Krause, J. biol. Chem., 115, 1936, p. 557.

<sup>(2)</sup> Dam, Biochem. Z., 245, 1929, p. 475; 220, 1930, p. 258; Biochem. J., 29, 1935, p. 1273. — Dam et Schönheyder, Biochem. J., 28, 1934, p. 1355; 30, 1936, p. 897. — Dam, Schönheyder et Tage-Hausen, Biochem. J., 30, 1936, p. 1075. — Schönheyder, Nature, London, 135, 1935, p. 653; Biochem. J., 30, 1936, p. 890.

<sup>(4)</sup> Almquist et Stockstad, J. biol. Chem., 111, 1935, p. 105; Nature, 136, 1935, p. 31. — Almquist, J. biol. Chem., 114, 1936, p. 221; 115, 1936, p. 589.

Il est soluble dans les graisses, sensible à l'action des alcalis, surtout à chaud, il supporte par contre des températures élevées, ce qui fait qu'il peut être concentré par sublimation dans le grand vide. On ne sait encore rien de plus sur la nature chimique de ce composé; il ne réagit pas avec les réactifs de cétones.

Un doute justifié subsiste encore actuellement quant à l'existence des vitamines L et K. Des auteurs japonais (¹) ont décrit comme vitamine L une substance qui existe dans le foie et qui serait indispensable pour la lactation. Un second principe de lactation L<sub>2</sub> serait présent dans la levure. Les données actuelles sur ces substances sont insuffisantes pour se faire une opinion définitive sur leur existence réelle et leur nature de vitamine. On peut en dire autant de la soi-disant vitamine T (²), laquelle provoquerait la thrombocytose. Ce principe est décrit comme liposoluble, on le rencontrerait dans les préparations brutes de vitamine A, de laquelle il serait cependant différent.

Sous le nom de vitamine J, von Euler et Malmberg (3) ont décrit un principe antipneumonique, lequel donne lieu, chez les cobayes, à une remarquable action protectrice contre la pneumonie. Ce principe est particulièrement abondant dans le cassis, les citrons et les baies de sureau; par contre, il ne se trouve pas dans maints autres milieux, riches en vitamine C, tels que les fruits de paprica, les pois, les lentilles; il est donc différent de l'acide ascorbique. Des recherches plus approfondies montreront sans doute s'il s'agit ici d'une véritable vitamine ou plutôt, peut-être, d'un remède dont l'action serait ici comparable à celle de la quinine dans la malaria.

Dans le même ordre d'idées, il y aurait lieu de vérifier si la vitamine P décrite par Szent-Györgyi (4) et ses élèves a bien

<sup>(1)</sup> W. NAKAHARA, F. INUKAI et S. UGAMI, J. Agric. Chem. Soc. Jap., 12, 1936, p. 1; Sci. Paö. Inst. physic. chem. Res., 29, 1936, p. 47.

<sup>(2)</sup> Schiff, Klin. Woch., 1936, p. 238.

<sup>(3)</sup> H. von Euler, Naturwiss, 22, 1934, p. 777. — Von Euler et Malm-Berg, Z. physiol. Chem., 230, 1934, p. 225. — Von Euler, Söder et Malm-Berg, Z. Hyg., 116, 1935, p. 672.

<sup>(4)</sup> Armentano, Benthsáth, Béres, Rusznyák et A. Szent-Györgyi, Deutsch. med. Woch., 62, 1936, p. 1325; Schweiz. Med. Woch., 66, 1936, p. 888.

la nature d'une vitamine et fait partie des constituants indispensables et normaux de l'organisme animal ou humain. Le principe P, qui se trouve en abondance dans le jus de citron et dans le paprica, serait, d'après ces auteurs, un glucoside d'une matière colorante de flavone (« citrine »). Il agit sur les capillaires et guérit différentes lésions du système sanguin capillaire, de même que la perméabilité à l'albumine de ce dernier qui apparaît dans différentes maladies (vitamine de perméabilité). Dans leur dernière publication (¹), Szent-Györgyi et ses collaborateurs, A. Benthsáth et St. Rusznyák affirmentque le glucoside hespéridine, lequel se rattache au dérivé de flavanone, l'hespéritine (I), de même qu'un glucoside de l'ériodictyol (II) appelé par les auteurs

deméthylhespéridine, auraient la même action que la préparation brute de « vitamine P », tandis que la quercétrine, un rhamnoglucoside de la quercitine (III) est inactif.

<sup>(1)</sup> A. Benthsáth, St. Rusenyák et A. Szent-Györgyi, Nature, 139, 1937, p. 326.

Ces auteurs expriment l'opinion que le scorbut expérimental serait une avitaminose double, déterminée en partie par carence de C et en partie par carence de P.

On observerait une avitaminose C pure dans le cas où le régime appliqué aux animaux comporterait aussi le principe P; une pure avitaminose P n'a, par contre, pas de symptômes cliniques. Lorsque, au contraire, les animaux sont privés à la fois de vitamine C et de vitamine P, la carence en principe P modifie notablement les caractères de la maladie tels qu'ils résultent du manque du seul principe C. Ces relations particulières peuvent être exprimées en disant que le manque en principe P n'agit défavorablement que lorsqu'il y a aussi manque en vitamine C. Comme les glucosides hespéridine et déméthylhespéridine n'ont encore été signalés que clairsemés dans le règne végétal et pas du tout dans le règne animal, on peut se demander si, dans les conditions normales de l'alimentation, ils se trouvent en quantité suffisante à la disposition de l'homme et des animaux.

Pour ce qui est des vitamines A, B<sub>1</sub>, B<sub>2</sub>, C, D et E, étudiées de façon plus approfondie et mieux connues, les cinq premières sont traitées de façon approfondie dans les Rapports de MM. von Euler, W. N. Haworth et A. Windaus. Je n'insisterai donc pas sur elles dans ce Rapport d'ensemble. Une seule remarque, quant à leur constitution chimique, c'est que ces cinq principes n'ont pas de parenté chimique et appartiennent à cinq classes de combinaisons différentes, qui n'étaient pas connues avant le début des recherches sur les vitamines. Les cinq formules sont celles de types fondamentaux de cinq groupes de composés différents, dont l'étude a été en partie considérablement développée par voie synthétique.

Vitamine A.

Vitamine B, = Aneurine.

Vitamine B = Lactoflavine.

Vitamine C = Acide I-ascorbique.

$$\begin{array}{c} \operatorname{CH}(\operatorname{CH}_3)\operatorname{CH} = \operatorname{CH} - \operatorname{CH}(\operatorname{CH}_3)_2 \\ \\ \operatorname{CH}_3 \\ \\ \operatorname{CH}_3 \\ \end{array}$$

La plupart de ces vitamines ont été désignées par ceux qui les ont découvertes au moyen de noms triviaux particuliers qui ont été rapidement acceptés dans la littérature chimique. La vitamine D<sub>3</sub>, récemment découverte, manque encore d'un tel nom; il en est de même pour le principe A. Il serait sans doute indiqué de combler cette lacune, à l'occasion de ce Conseil Solvay traitant des vitamines.

Je proposerai, pour la vitamine A, le nom d'Axerophtol (principe antixerophtalmique).

La vitamine E, liposoluble, appartient aux vitamines qui ne sont pas encore bien connues chimiquement. La lenteur des progrès réalisés dans ce domaine doit être liée à l'absence d'un test simple.

Mattill et Conklin (¹) d'une part, Evans et Scott (²) d'autre part, ont montré que des animaux (rats et souris) nourris avec addition de toutes les vitamines connues à ce moment, restaient en vérité bien portants, mais manifestaient des troubles dans la reproduction; il devait donc leur manquer un autre principe, nécessaire pour l'acte de la reproduction; lequel principe existe abondamment dans l'huile de germes de froment et reçut par la suite le nom de vitamine E. Chez les femelles, le début de l'avitaminose E se manifeste en ce qu'elles n'élèvent pas leurs petits; dans la seconde grossesse, au cours de l'avitaminose, une grande partie de jeunes apparaissent mort-nés; dans la troisième grossesse, les embryons sont complètement résorbés. Chez les mâles, l'avitaminose E provoque le manque de mobilité des

<sup>(1)</sup> MATTILL et CONKLIN, J. biol. Chem., 44, 1920, p. 137.

<sup>(2)</sup> Evans et Bishop, Science, 56, 1922, p. 650; Am. J. Physiol., 63, 1922, p. 396; J. Am. Med. Assoc., 81, 1923, p. 889.

spermatozoïdes, finalement le ratatinement des testicules et l'arrêt de l'activité sexuelle.

Les données sur les propriétés chimiques de la vitamine E sont très contradictoires. Elle résiste à la saponification, car on la trouve dans l'insaponifiable de différentes huiles végétales (de germes de froment et de seigle), dans l'insaponifiable de la partie de la salade soluble dans l'éther, etc.

De même, l'action des acides, celle de l'autoclave, la distillation dans le vide (250°), l'action des enzymes, ne détruisent pas
la vitamine E. Les données relatives à l'acétylation et la benzoylation du produit sont contradictoires, il paraît, cependant, qu'elles
peuvent être réalisées sans lui faire perdre son activité [Olcott
et Mattill (¹)], [Drummond, Singer et Macwalter (²)], ce à quoi
on pouvait s'attendre, étant donnée la stabilité relativement
grande de la substance. Plusieurs auteurs ont été d'accord pour
admettre que la vitamine E résiste à l'hydrogénation [Evans et
Burr (³), Olcott (⁴), Drummond, Singer et Macwalter, loc. cit.,
p. 10, (²)]. Cette opinion ne doit cependant pas être admise sans
réserve; car tous les essais de réduction ayant été faits avec des
préparations de vitamines E très impures, il est possible que des
impuretés aient rendu l'hydrogénation difficile ou impossible.

En tout cas, il y a une évidente contradiction entre la non-réductibilité et le fait que l'existence d'une bande d'absorption (294<sup>mµ</sup>) serait caractéristique pour la vitamine E; en effet, un composé absorbant dans cette région doit posséder un caractère fortement non saturé et, dès lors, être réductible (5). Il n'est pas douteux qu'il n'existe aucun rapport entre la vitamine E et les caroténoïdes.

La vitamine E est sensible à l'oxydation catalytique, elle est, par exemple, détruite au cours de l'autoxydation des graisses dans lesquelles on la rencontre [Waddell et Steenbock (6). Dans

OLCOTT et MATTILL, J. biol. Chem., 104, 1934, p. 426.

<sup>(2)</sup> DRUMMOND, SINGER et MACWALTER, Biochem. J., 29, 1935, p. 457.

<sup>(3)</sup> Evans et Burr, Mem. Univ. California, 8, 1927.

<sup>(4)</sup> OLCOTT, J. biol. Chem., 107, 1934, p. 471.

<sup>(5)</sup> Cf. Martin, Moore, Schmidt et Bowden, Nature, London, 13, 1934, p. 214.

<sup>(6)</sup> WADDELL et STEENBOCK, J. Nutrit., 4, 1931, p. 79.

les plantes, par contre, elle paraît être accompagnée et protégée par un antioxygène [Cummings et Mattill (¹), Olcovich et Mattill (²), Bradway et Mattill (³)], que l'on a supposé être un phénol [Mattill (⁴), Olcott)]. Ce sont Evans et Burr (⁵), Evans, Emerson et Emerson (⁶), ainsi que Drummond [loc. cit., p. 10, note (²)] et ses collaborateurs qui se sont particulièrement occupés de la purification du principe E. Ces derniers obtinrent finalement des produits de composition C₂8H₄8O₂ ou C₃0H₅0O₂. Evans, Emerson et Emerson isolèrent un allophanate et, de celui-ci, une substance à laquelle ils ont attribué la composition C₂9H₅0O₂. La combinaison dénommée α-tocophérol, a été considérée par eux comme identique à la vitamine E. Toutefois, aucune de ces préparations n'était bien cristallisée; j'ai la conviction qu'elles n'étaient pas homogènes.

Au cours des recherches personnelles entreprises ces derniers temps dans le but d'enrichir l'insaponifiable de l'huile de germes de froment en vitamine E, nous avons pu extraire des préparations telles qu'elles sont décrites par Evans et par Drummond, plusieurs substances magnifiquement cristallisées; elles sont (en partie) de nature très voisine et leur préparation à l'état pur rencontre dès lors des difficultés analogues à celles que présente la séparation d'un mélange de stérols. D'après nos recherches non encore achevées, il s'agirait d'au moins trois à quatre substances différentes, bien cristallisées. Elles possèdent des propriétés remarquables; certaines d'entre elles forment avec la digitonine des digitonides amorphes, assez solubles, déjà décomposables par l'alcool éthylique chaud. On obtient ainsi les alcools libres. Ceux-ci ont une tendance même à l'état de grande pureté à donner des gélatines, ils finissent cependant par cristalliser en aiguilles brillantes d'un blanc éblouissant, pouvant atteindre la longueur de plusieurs centimètres, ils diffèrent de tous les stérols connus jusqu'ici, fondent bas et accusent un pouvoir

<sup>(1)</sup> CUMMINGS et MATTILL, J. Nutrit., 3, 1931, p. 421.

<sup>(2)</sup> OLCOVICH et MATTILL, J. Biol. Chem., 92, 1931, p. 31.

<sup>(3)</sup> Bradway et Mattill, Americ. Soc., 56, 1934, p. 2405.

<sup>(4)</sup> MATTILL, J. biol. Chem., 90, 1931, p. 141.

<sup>(5)</sup> Evans et Burn, Mem. Univ. California, 8, 1927.

<sup>(6)</sup> Evans, Emerson et Emerson, J. biol. Chem., 113, 1936, p. 319.

rotatoire fortement dextrogyre à l'encontre de la plupart des stérols ordinaires. Il s'agit d'alcools monovalents, contenant probablement une double liaison et de formule brute  $C_{30}H_{50}O$ . Nous leur avons donné le nom de tritistérols ( $\alpha$ ,  $\beta$ , etc.).

Nous considérons nos composés comme étant des terpènes tétra ou penta-cycliques. Des huiles complètement débarrassées de tritistérols, on peut conformément aux données d'auteurs plus anciens, isoler un peu d'amyrine; de plus, nous avons obtenu jusqu'ici deux allophanates bien cristallisés, dont l'un est identique avec le tocophérol d'Evans, tandis que l'autre est nouveau. Il fond très bas (70°) et l'alcool qu'on en obtient par saponification est une huile de formule C<sub>19</sub>H<sub>38</sub>O ou C<sub>20</sub>H<sub>40</sub>O. L'essai biologique de toutes ces substances n'est pas encore achevé.

## LE MODE D'ACTION DES VITAMINES.

Jusqu'à ces tout derniers temps, on n'a eu que bien peu de données certaines sur le mécanisme de l'action des vitamines et, pour la plupart d'entre elles, nous ne savons encore rien à ce sujet; dans le domaine des hormones, le mode d'intervention de celles-ci dans les réactions cellulaires, n'est pas davantage éclairei. Aussi, les tentatives faites sur des bases spéculatives pour représenter la nature et le mode d'action des vitamines dans la cellule, n'ont-elles pas fait défaut.

D'après une opinion maintes fois exprimée, la vitamine A interviendrait dans l'organisme au cours des processus d'oxydation; von Euler et Ahlström (¹) observèrent sur des coupes de foies de rats normaux une respiration plus forte que sur celles d'animaux soumis à l'avitaminose A et ils en ont conclu à une influence de la vitamine A sur la respiration. On ne possède cependant pas de données plus précises sur la dépendance des facteurs de la respiration de l'action de la vitamine.

Le mécanisme de l'action de la vitamine C dans l'organisme est, lui aussi, encore peu connu. La déshydrogénation réversible de l'acide ascorbique, son très fort pouvoir réducteur, de même la circonstance que les déshydrases spécifiques de l'acide ascor-

<sup>(1)</sup> Von Euler et Ahlström, Z. physiol. Ch., 204, 1932, p. 168.

bique sont répandues, donnent à penser que ce composé participe aux oxydo-réductions cellulaires. C'est dans le même sens que l'on peut interpréter la richesse en acide ascorbique et la teneur élevée en catalyseurs d'oxydation qui caractérisent le cristallin. De plus, on a pu démontrer que la vitamine C exerce une forte influence sur différentes actions enzymatiques; elle active les enzymes cateptiques (1), (2), la catalase du sang (3-5), la papaïne (6), (7), la phosphatase de la levure (8) et elle contrarie l'action de l'amylase du froment (2). L'opinion que la vitamine C joue un rôle dans la cellule au cours des réactions enzymatiques, paraît donc reposer sur plusieurs observations.

En ce qui concerne la vitamine D, les choses sont encore plus incertaines.

Cette vitamine a aussi été considérée comme intervenant dans les phénomènes d'oxydo-réduction, bien qu'ici cette hypothèse repose sur des bases encore plus fragiles [certaine action sur la catalase du sang (9), l'activation des processus d'oxydation dans le sang (10)]. Une opinion plus répandue est que la vitamine D interviendrait directement dans les échanges intéressant le phosphate calcique (11-13); toutefois, une influence directe de la vitamine sur les phosphatases n'a pu être constatée in vitro. On ne peut donc actuellement émettre d'opinion fondée sur la fonction de la vitamine D au point de vue chimique.

(1) KARRER et ZEHENDER, Helv. Chim. Acta, 16, 1933, p. 701.

(3) Jusatz, Z. exper. Med., 87, 1933, p. 529; Klin. Woch., 1934, p. 727.

(5) Török et Neufeld, Klin. Woch., 1935, p. 919.

(6) MASCHMANN et HELMERT, Z. physiol. Ch., 224, 1934, p. 56.

(7) Punn, Biochem. J. 29, 1935, p. 5 et 13.

(\*) Von Euler et Svensson, Sv. Kem. Tidskr., 47, 1935, p. 16.

(9) Jusatz, Z. Vitaminforsch, 3, 1934, p. 268; Z. exp. Med., 87, 1933, p. 529.

(10) DHAR, J. physic, Chem., 36, 1932, p. 1846.

(12) Mc Gowan, Biochem. J., 27, 1933, p. 943.

<sup>(2)</sup> Von Euler, Karrer et Zehenden, Helv. Chim. Acta, 17, 1934, p. 157.

<sup>(4)</sup> TÖRÖK, HEDRY et NEUFELD, Klin. Woch., 1934, p. 1205 et 1816; 1935, p. 673.

<sup>(11)</sup> Mc Gowan, Cunningham et Auchinachie, Biochem. J., 25, 1931, p. 1295.

<sup>(13)</sup> KAY et GUYATT, Nature, London, 131, 1933, p. 468.

Le meilleur aperçu du mode d'action d'une vitamine a été fourni jusqu'ici par le principe Ba (lactoflavine). D'après les recherches de Warburg et Christian (1), il est un constituant du ferment jaune. Ce dernier serait constitué d'après Theorell (2) d'un acide lactoflavine phosphorique comme groupe actif et d'une protéine comme support. Le ferment jaune avait déjà été observé un peu auparavant à l'état dissous par Banga et Szent-Györgyi (3) dans des extraits de muscles cardiaques, mais on n'avait pas, à ce moment, de données sur sa nature. Ces auteurs constatèrent cependant que le pigment de ces solutions jaunes pouvait être réduit en un leuco-dérivé incolore et régénéré ensuite par oxydation. Les recherches de l'école de Warburg ont montré, par la suite, que le ferment jaune joue un rôle dans certains processus de déshydrogénation qui ne sont pas catalysés par des sels de fer (ferment respiratoire, cytochrome). Le groupe transporteur d'hydrogène, dans le sens restreint, est ici la lactoflavine, laquelle fixe de l'hydrogène en donnant 'de la dihydrolactoflavine, laquelle est ensuite oxydée par l'oxygène de l'air (ou éventuellement par un autre agent d'oxydation) en lactoflavine

<sup>(1)</sup> Warburg et Christian, Biochem. Z., 254, 1932, p. 438; Naturw., 20, 1932, p. 940.

<sup>(2)</sup> THEORELL, Biochem. Z., 275, 1934, p. 37; 278, 1935, p. 263; 279, 1935, p. 186.

<sup>(8)</sup> BANGA et SZENT-GYÖRGYI, Biochem. Z., 246, 1932, p. 203.

Il est possible qu'au cours de cette réduction, on passe par des étapes intermédiaires semi-quinoniques, avant d'aboutir à la forme dihydrée. R. Kuhn (1) a pu isoler plusieurs de ces produits intermédiaires qu'il formule comme suit :

Rhodoflavine.

Toutefois, ces produits de réduction semi-quinoniques n'ont été obtenus jusqu'ici que dans des conditions non physiologiques en milieu assez fortement alcalin ou fortement acide, de sorte que la question de savoir s'ils jouent un rôle dans les processus enzymatiques naturels n'est pas encore tranchée.

Comme la lactoflavine joue dans les systèmes de ferments naturels le rôle d'un transporteur d'hydrogène, elle doit être liée au support colloïdal (protéine spécifique, « ferment intermédiaire »). La liaison se ferait (d'après Theorell) en ordre principal par l'acide phosphorique se trouvant à l'état éthérifié dans la chaîne latérale de la lactoflavine; secondairement [R. Kuhn et Rudy (²)] par le groupement NH de l'anneau hétérocyclique de la lactoflavine. On admettra sans doute que les liens entre les groupes actifs et la protéine sont de nature saline, c'est-à-dire

<sup>(1)</sup> Kunn, Z. angew. Ch., 50, 1937, p. 221.

<sup>(2)</sup> R. Kuhn et Rudy, B., 69, 1936, p. 1974.

que les groupements acides de l'acide lactoflavine phosphorique (-P OaHe, > NH) neutralisent des radicaux basiques des composés albuminoïdes. En ce qui concerne ces relations, il est intéressant que, non seulement l'acide lactoflavine phosphorique, mais aussi la lactoflavine libre « copule » avec le ferment intermédiaire, c'est-à-dire s'unit à lui en un ferment jaune. Mais, tandis que, d'après Theorell, cette copulation entre l'acide lactoflavine phosphorique et la protéine s'accomplit quantitativement lorsque les deux composés sont présents en proportion molaire, on ne peut, d'après Kuhn (1), constater une fixation de la lactoflavine libre sur la substance de support, que si l'on utilise un très grand excès de lactoflavine. On peut en tirer la conclusion que le lien réalisé entre le groupe actif et le support au moyen du radical phosphorique est solide, peu dissociable, tandis que celui réalisé au moyen du groupe iminé se dissocie facilement et dès lors, n'est pratiquement à prendre en considération qu'en présence d'un grand excès de lactoflavine.

Des préparations d'acide lactoflavine 5' phosphorique ont été réalisées par R. Kuln, Rudy et Weygand (\*) par phosphorylation de la 2', 3', 4' triacétyl lactoflavine, la copulation en ferment jaune en fut effectuée avec le support colloïdal de Theorell, elles furent pour cette raison considérées comme identiques avec l'acide lactoflavine phosphorique naturel de la levure et du muscle cardiaque. Mais comme l'acide lactoflavine phosphorique synthétique n'a pu être préparé jusqu'ici à l'état de pureté analytique et que l'on ne dispose pas non plus pour comparaison, de préparations pures de l'acide naturel, une confirmation de la formule de l'acide lactoflavine phosphorique basée sur des arguments indiscutables était désirable.

On a pu montrer que l'acide lactoflavine phosphorique du foie, oxydé au moyen d'acide periodique, ne fournit pas de formaldéhyde, de sorte que cet acide doit contenir le groupe phosphorique en position 5', à l'extrémité de la chaîne latérale [P. Karrer, P. Frei, H. Meerwein (3)].

<sup>(1)</sup> R. Kuhn, Z. angew. Ch., 49, 1936, p. 750.

<sup>(2)</sup> Kuhn, Rudy et Weygand, B., 69, 1936, p. 1543.

<sup>(3)</sup> P. KARRER, P. FREI et H. MEERWEIN, Helv. Chim. Acta, 20, 1937, p. 79.

Au cours d'essais de copulation de l'acide lactoflavine phosphorique du foie avec le support colloïdal de la levure, il a été constaté de façon inattendue que seulement la moitié environ de l'acide s'unit à la protéine, l'autre moitié qui, dans un essai de cataphorèse migre avec la même vitesse que l'acide habituel, ne se combine pas avec la protéine (Theorell). Il doit donc s'agir ici d'un second composé, différent de l'acide flavine phosphorique de la levure (1). Si cette substance n'est pas un produit artificiel, formé seulement au cours du traitement du foie, cela donnerait à penser qu'il existe aussi une protéine spécifique avec laquelle elle pourrait s'unir.

Le ferment jaune ne remplit son rôle de transporteur d'hydrogène que lorsque les coferments sont aussi présents, lesquels s'intercalent entre le substrat (donateur d'hydrogène) et le ferment jaune et cèdent à la flavine l'hydrogène reçu du donateur. De semblables coferments sont la cozymase (ou codehydrase I ou diphosphopyridine-nucléotide), laquelle a surtout été étudiée par von Euler et son école, de même que le coferment transporteur d'hydrogène de Warburg (aussi nommé codehydrase II ou triphosphopyridine nucléotide). Ils contiennent, d'après de récentes acquisitions, de l'amide de l'acide nicotique (2), (3), à laquelle un acide pentose-5-phosphorique est lié par l'azote en formant un sel quaternaire (4); le transport d'hydrogène au moyen de ces coferments donne lieu aux transformations chimiques suivantes des groupes actifs (4):

<sup>(1)</sup> Non encore publié.

<sup>(2)</sup> O. Warburg, W. Christian et A. Griese, Biochem. Z., 275, 1934, p. 312 et 464; 282, 1935, p. 157; 285, 1936, p. 156.

<sup>(3)</sup> H. von Euler, Albers et Schlenk, Z. physiol. Ch., 237, 1935, p. 1, (4) P. Karrer, Schwarzenbach, Benz et Solmssen, Helv. Chim. Acta, 19, 1936, p. 811. — P. Karrer, O. Warburg, Biochem. Z., 285, 1936, p. 297. — P. Karrer, Ringier, Büghi, Fritzsche et Solmssen, Helv. Chim. Acta, 20, 1937, p. 55.

Groupe actif du coferment.

Groupe actif du ferment jaune réduit.

+ II, (do denateur)

Groupe actif du coferment réduit.

$$\begin{array}{c} \text{CH}_{2}(\text{CH OH})_{3}\text{CH}_{2}\text{O PO}_{3}\text{H}_{2} \\ \\ \text{H}_{3}\text{C} \\ \\ \text{II}_{2}\text{C} \\ \end{array} + \text{II}_{2}\text{O}_{2} \\ \\ \end{array}$$

Groupe actif du ferment jaune.

La lactoflavine, c'est-à-dire la vitamine B<sub>2</sub>, se révèle ainsi comme le constituant principal du groupement actif d'un ferment et le fait qu'elle est indispensable à l'organisme est ainsi expliqué. C'est la première vitamine qui a permis une vision profonde du mécanisme réactionnel. Très probablement, d'autres vitamines seront encore reconnues comme constituant des groupes actifs de ferments. Ceci paraît déjà démontré pour la vitamine B<sub>1</sub>, à en juger d'après de toutes récentes publications de Lohmann (¹). D'après cet auteur, la co-carboxylase, un enzyme constituant une partie du complexe fermentaire de la fermentation alcoolique aurait notamment la constitution d'une vitamine B<sub>1</sub> acide pyrophosphorique.

Elle doit aussi pour pouvoir agir comme ferment, à la façon de l'acide lactoflavine phosphorique ou des coferments transporteurs d'hydrogène, être liée à un support colloïdal. Des données précises font encore défaut actuellement sur le mécanisme de l'action de la co-carboxylase.

On pourrait admettre peut-être qu'elle facilite la décarboxylation, du fait qu'elle se combine par son groupement aminé avec le carbonyle de l'acide cétonique et que l'enlèvement de CO<sub>2</sub> s'opère à partir de cette base de Schiff. G. Hahn et Stiehl (2) ont pu montrer, notamment, en poursuivant les recherches de Langenbeck, que les acides α-cétoniques sont décarboxylés par les amines primaires, au cours des processus physiologiques dans lesquels on doit admettre les transformations suivantes :

<sup>(1)</sup> LOHMAN, Z. angew. Ch., 50, 1937, p. 221.

<sup>(2)</sup> HAHN et STIEHL, B., 69, 1936, p. 2627.

On ne sait pas encore si de semblables transformations ont lieu sous l'influence de la co-carboxylase. Lipmann (¹) a soutenu que la vitamine B<sub>1</sub> comme les coferments transporteurs d'hydrogène était réduite par l'hydrosulfite de soude en une combinaison dihydrée, ce qui rendrait probable l'intervention de l'ancurine en tant que catalyseur de réduction dans la cellule.

D'après nos propres expériences, la vitamine est effectivement transformée par l'hydrosulfite de soude en présence de bicarbonate; la réduction se produit toutefois très lentement et ne correspond pas à la fixation d'une molécule H<sub>2</sub> par molécule de vitamine. Le produit de réduction est physiologiquement inactif (l'essai a été fait par la méthode cardiographique). Nous ne pensons pas, dès lors, qu'il intervienne dans l'action de l'aneurine sur l'organisme.

Si le point de vue que les vitamines pourraient être les groupements actifs de ferments a fait faire un grand pas au problème des vitamines, celui-ci dans son ensemble abonde encore en questions non résolues.

En particulier, on ne conçoit pas actuellement le rôle des supports (fermenträger) sans la présence desquels le groupement actif est incapable de réagir. Ils doivent, d'une façon ou d'une autre, activer les groupes actifs comme le platine, le palladium ou le nickel amènent l'hydrogène à l'état d'activité. Et, comme dans ce dernier cas, le degré d'activité de l'hydrogène dépend non seulement de la nature chimique du « catalyseur » ou « support », mais aussi de son état de division, de la température, du solvant, etc., il est à prévoir que pour un même groupement actif, c'est-à-dire aussi pour une même vitamine on doit envisager non seulement la possibilité de plusieurs supports, mais aussi l'influence de facteurs secondaires tels que la température, les pH, les autres substances présentes, le solvant, etc., facteurs susceptibles de modifier l'état d'activation et, par là, la fonction des groupements actifs.

<sup>(1)</sup> F. LIPMANN, Nature, 138, 1936, p. 1097.

## DISCUSSION DU RAPPORT DE M. KARRER.

M. von Euler. — Comme l'affirme M. Karrer, la vitamine B<sub>2</sub> doit être considérée comme identique avec la lactoflavine pure et ne constitue pas un mélange de lactoflavine avec d'autres composés B.

Le point de vue de Langenbeck trouve une confirmation dans la formule attribuée à B<sub>1</sub>. En ce qui concerne l'action de la vitamine, il y a lieu de constater qu'on ne trouve pas, ou seulement rarement, l'enzyme correspondante, la carboxylase, dans les organes animaux.

- M. Karrer. La décarboxylation aisée de la cétimide est une hypothèse déjà ancienne. D'après la théorie de Wieland, la fermentation des acides aminés donnerait lieu d'abord à une déshydrogénation conduisant à la formation d'acides cétiminés qui subiraient ensuite la décarboxylation.
- M. Szent-Györgyi. Il résulte de mes expériences personnelles, que la décarboxylation et l'oxydation de l'acide pyruvique dans les tissus animaux se font simultanément. Ceci nous porte à croire que B<sub>1</sub> agit aussi comme transporteur d'hydrogène.
- M. Karrer. Lorsque se produit la décarboxylation d'acides α-cétoniques, l'aldéhyde qui en résulte doit nécessairement subir une dismutation ultérieure, les aldéhydes étant des poisons cellulaires. Il n'est toutefois pas démontré que ce processus soit aussi réalisé par la vitamine B<sub>1</sub>.
- M. DRUMMOND. Je souhaiterais commenter ce que dit M. Karrer de la vitamine E dans son Rapport. Nous avons confirmé les principales affirmations d'Evans concernant l'isolement des allophanates de l'α- et du β-tocophérol.
- M. Karrer a soulevé la question de l'homogénéité de la première de ces substances et nous pouvons ajouter qu'il nous a été fort

difficile d'obtenir un produit présentant un point de fusion bien défini. M. Evans nous a donné un échantillon d'α-allophanate de point de fusion 156°-160°. Celui-ci semblait assez pur et son hydrolyse a fourni un alcool huileux présentant une absorption sélective avec un maximum pour 2960 Å; E<sup>1,6</sup><sub>1,m</sub> = 76, valeur semblant confirmer son état de pureté.

Son activité biologique est plus grande que celle du composé β correspondant.

Le β-allophanate de point de fusion 138° peut être obtenu pur. Son hydrolyse fournit du β-tocophérol, alcool huileux de formule probable C<sub>29</sub>H<sub>50</sub>O<sub>2</sub> contenant 29 ou peut-être 30 atomes de carbone.

Il contient dans sa molécule un groupement hydroxyle non phénolique, quatre liaisons éthyléniques, trois ou peut-être quatre groupements C-CH<sub>3</sub>. Le second atome d'oxygène n'intervient pas dans une fonction cétonique, il est probable qu'il participe à une liaison d'éther. Il témoigne d'une absorption sélective marquée pour 2960 Å;  $E_{tem}^{1.6} = 79$ .

Je crois, comme M. Karrer, que l'absence de changement dans l'absorption sélective lors de la réduction, est due à la réduction des impuretés présentes dans les produits examinés.

M. Heilbron a réalisé l'hydrogénation totale d'un échantillon pur de notre β-tocophérol. L'absorption d'hydrogène correspond environ à la présence de quatre doubles liaisons, et le produit réduit ne présente plus de bandes d'absorption.

L'isolement par Fernholz de duroquinol comme produit de la décomposition thermique d'a-tocophérol a été considéré comme une indication que la vitamine pourrait être un éther du phénol

$$\begin{array}{c|c} O-C_{19}\,H_{37}\\ \hline\\ CH_3-CH_3\\ \hline\\ OH\end{array}$$

Ceci n'est pas vraisemblable, le duroquinol pouvant provenir du réarrangement d'une partie de la molécule, et l'α- et le β-tocophérol n'étant pas solubles dans les alcalis. En outre, la surface occupée par une couche mince de β-tocophérol sur l'eau est approximativement de 65 Å carrés; surface à peu près double de celle occupée par le noyau phénolique simple ou les éthers aliphatiques du duroquinol. Le film de tocophérol disparaît à la surface du permanganate de façon très suggestive par suite, non pas de l'oxydation de C OH en CO, mais bien de l'oxydation de deux et peut-être trois doubles liaisons en chaîne latérale. Les réactions colorées présentées par cette vitamine sont dans une certaine mesure semblables à celles de la série du lanostérol. Ses propriétés sont dès lors d'accord avec une structure polycyclique possédant une chaîne latérale non saturée; elles ne semblent pas indiquer que ce noyau soit lié à la duroquinone par une liaison d'étheroxyde.

M. Karrer. — Nous avons isolé une vitamine E à partir de magnifiques cristaux d'allophanate fondant plus haut que les allophanates de l' $\alpha$ - et du  $\beta$ -tocophérol d'Evans et possédant une faible activité optique droite.

M. Bertrand. — Dans la conception de plus en plus acceptée que les diastases (ou enzymes) sont des systèmes matériels comportant :

1º Une substance active, tantôt minérale, tantôt organique, généralement thermostable, et 2º une substance activante, colloïdale et thermolabile (G. Bertrand, 1896), on peut donner l'explication suivante du mode d'activation d'un système diastasique:

a. La substance active, la codiastase, suffit à produire la transformation chimique considérée, mais à la très faible concentration où elle se trouve, elle ne peut agir sur le substrat, la substance passive, qu'avec une grande lenteur.

b. La substance activante n'a pas d'action chimique sur le substrat, mais, par suite de sa constitution et de sa structure, elle tend à adsorber, elle attire vers elle, d'une part le substrat, d'autre par la substance active. Cette action, pour ainsi dire physique, rapproche au sein de la solution le substrat et la partie active, elle correspond à leur concentration dans le voisinage de la substance activante, à une accélération, en conséquence, de la vitesse de la transformation chimique.

On peut alors admettre, d'après ce qui vient d'être rappelé, deux degrés de spécificité du système diastasique : 1° une spécificité chimique, relative, l'action pouvant s'étendre à tous les substrats de constitution voisine, et 2° une spécificité physique, stricte, dépendant, et plus spécialement, des structures spaciales de la partie activante et du substrat.

M. Bigwood. — M. Karrer a suggéré que le Conseil émette des vœux quant à la nomenclature des vitamines, et il a suggéré le terme d'axerophtol pour désigner la vitamine A. Ne serait-il pas préférable d'adopter un terme qui, plutôt que de désigner la manifestation pathologique qui provient de la carence en cette vitamine, rappelle au contraire sa constitution chimique, ou tout au moins le groupe de substances auquel elle appartient. Sans doute ma proposition n'est-elle pas encore applicable à toutes les vitamines; mais en ce qui concerne la vitamine A, la connaissance de sa constitution est suffisamment approfondie pour pouvoir l'envisager. Aussi préférerais-je un terme comme hémicarotinol.

M. Ruzicka. — M. Karrer fut le premier à isoler la vitamine A, à tirer au clair sa formule brute et sa constitution. Il convient qu'on lui laisse le droit de donner à la vitamine A le nom qui lui paraît le plus adéquat, en l'occurrence celui d'axérophtol.

M. Kögl. — Je propose aussi d'adopter pour la vitamine A, le nom d'axérophtol préconisé par M. Karrer. En principe, on devrait donner un nom à une substance dès que celle-ci a été isolée à l'état pur.

Très souvent, à ce moment, sa constitution n'est pas entièrement connue, dès lors, seuls les noms vulgaires sont à envisager. Celui qui l'a découverte, a non seulement le droit, mais aussi le devoir de faire une proposition, car il devient, plus difficile plus tard de rallier tout le monde au même point de vue.

M. Zunz. - Je pense qu'on doit remercier M. Karrer d'avoir

appelé l'attention sur l'importance de la question de la nomenclature des vitamines. Actuellement, différents auteurs désignent parfois la même substance sous des noms différents. On a vu aussi donner le même nom à des vitamines différentes.

Ne pourrait-on pas profiter de la réunion actuelle du Conseil pour tâcher de baptiser, comme le propose M. Karrer, les vitamines réellement existantes et qui sont encore sans état-civil bien établi.

M. Karrer. — Le nom d'axérophtol a été proposé pour la vitamine A à cause de son rôle dans la xérophtalmie, et, par suite aussi, de son caractère alcoolique (terminaison ol).

Il a été tenu compte de ces mêmes principes lors du choix du nom des autres vitamines (aneurine, acide ascorbique, calciférol, etc.).

M. Swarts. — M. Karrer a souhaité de voir le Conseil s'intéresser à l'initiative d'une nomenclature plus explicite des vitamines. Je me rallie très volontiers à cette proposition : la nomenclature actuelle est basée surtout sur les actions physiologiques et ne renseigne aucunement sur la nature chimique.

De plus, l'emploi de lettres et d'indices complémentaires rend particulièrement facile les confusions pour le chimiste non initié.

M. Reichstein. — La question de la nomenclature des vitamines étant discutée, j'attirerai l'attention sur le concept de « prévitamine » pour demander s'il ne serait pas souhaitable de le supprimer dans bien des cas, notamment dans celui de la prévitamine A.

Les recherches de M. von Euler présentent le carotène comme une véritable vitamine A répondant en tous points à la définition donnée par M. Karrer dans son introduction.

Le fait qu'elle se scinde dans l'organisme de beaucoup d'animaux en un alcool à 20 atomes de carbone, désigné actuellement sous le nom d'axérophtol, constitue une découverte importante, mais qui n'a rien à voir avec sa nature vitaminique.

Sans quoi, se basant sur des considérations analogues; on

devrait considérer la lactoflavine, elle aussi, comme prévitamine; en effet, suivant l'interprétation actuelle, elle ne devient active qu'après éthérification par l'acide phosphorique. On ne devrait donc qualifier de vitamine complète (fertiges Vitamin) que l'acide lactoflavine phosphorique (ou même le ferment jaune).

M. Karrer. — Peut-être disposerons-nous du temps nécessaire avant la clôture de ce Conseil pour discuter à nouveau la question de la nomenclature des vitamines. Cette question est toutefois secondaire au point de vue des progrès à faire dans ce domaine.

## PROPRIÉTÉS PHYSIOLOGIQUES ET THÉRAPEUTIQUES

DES

## VITAMINES

PAR M. A. SZENT-GYÖRGYI Szeged.

Un des aspects les plus caractéristique de la physiologie actuelle est d'avoir à enregistrer des succès remarquables associés à une profonde ignorance. Nous faisons des choses étonnantes sans les comprendre. Les substances biologiquement actives, isolées au cours de la dernière décade, nous permettent de produire à volonté, à peu près n'importe quelle modification des fonctions biologiques sans que nous comprenions du tout le mécanisme de cette action. On peut, par exemple citer l'insuline, qui ressuscite un mort, pourrait-on dire. Et cependant, nous sommes dans une complète ignorance du mécanisme de son action. Cette dualité dans notre savoir résulte de notre défaut de connaissances sur le mécanisme fondamental et la fonction du protoplasme. Nous pouvons accélérer le mouvement d'une automobile en appuyant sur la pédale des gaz, sans connaître le fonctionnement du moteur. De même, pour modifier une fonction biologique, il nous suffit d'avoir la substance appropriée. Pour comprendre ce changement, nous devrions connaître le mécanisme fondamental de la cellule elle-même, sur lequel nous agissons. La physiologie et la biochimie, encore en enfance, ont grand besoin de lumières sur le mécanisme fondamental de la vie.

Nous retrouvons la même dualité caractéristique dans notre science des vitamines. En supprimant ces substances dans l'alimentation, nous pouvons produire de graves troubles dans la matière vivante, troubles que nous pouvons faire disparaître de la façon la plus saisissante en administrant d'infimes quantités de ces vitamines. Quelques cas mis à part, nous sommes incapables de donner la moindre explication de l'activité de ces vitamines.

L'étendue de notre ignorance du mécanisme d'action des vitamines est masquée par une grande abondance de faits relatifs à la Chimie et aux effets de ces vitamines. Nous sommes assez près de tout savoir en ce qui concerne leur molécule. Les symptômes de maladies par carence ont été soigneusement étudiés; et, à première vue, il semble que nous devrions connaître aussi à peu près tout concernant leur action. Ainsi par exemple, nous pouvons donner une description complète du scorbut et apparemment aussi une explication des symptômes de cette maladie en attribuant ceux-ci au défaut de développement du tissu intersticiel. à une lésion des odontoblastes, à une fragilité des capillaires, etc. Et cependant, toutes ces observations compliquées, lorsqu'on les examine de plus près, ne donnent aucune explication sur la manière dont l'acide ascorbique agit sur le protoplasme. Il est évident que nous ne pouvons pas comprendre l'action de la molécule d'acide ascorbique du moment que nous ne comprenons pas l'autre membre de la relation, c'est-à-dire le protoplasme lui-même, Toutes les perturbations au niveau des odontoblastes, des espaces intersticiels, des capillaires, etc., ne sont que des conséquences du trouble de cette réaction fondamentale inconnue.

L'étude des symptômes pathologiques, des maladies par carence, à laquelle les vitaminologistes ont passé une grande partie de leur temps, n'apporte que peu de lumière sur les problèmes fondamentaux en question. Dans la plupart des cas, c'est une grande erreur de tirer des conclusions quelconques d'un symptôme pathologique quant à la fonction biologique réelle d'une substance. Si, par exemple, Burr et Burr trouvent qu'en l'absence de certains acides gras non saturés, un rat perd sa queue, on ne gagne pas grand'chose à appeler ces substances « substances antiperte de queue », ainsi que nous disons vitamines anti-névritiques, antiscorbutiques, etc.

Il n'est donc pas surprenant que, pour autant que l'on ait fait quelque progrès dans la compréhension de la réelle activité physiologique des vitamines, cela ne soit pas à l'actif des vitaminologistes, mais bien des chercheurs qui, étudiant la cellule et essayant de comprendre sa fonction, ont rencontré accidentellement les vitamines. Ceci nous paraîtra évident si nous essayons de résumer le maigre savoir que nous possédons sur la fonction cellulaire des vitamines. Examinons les vitamines l'une après l'autre dans l'ordre suivant :

Vitamine A. — A part sa fonction spéciale dans la formation du pourpre rétinien, nous ne savons rien de son rôle dans la vie cellulaire. Sa présence largement répandue dans le règne végétal comme dans le règne animal, suggère un rôle important dans quelque activité cellulaire fondamentale (1).

Vitamine B<sub>1</sub> (aneurine, B. C. P. Jansen). — Ces dernières années, on a établi une relation, principalement à la suite des travaux de Peters et de ses collaborateurs, entre les symptômes nerveux de carence en vitamine B<sub>1</sub> et certaines phases du métabolisme des hydrates de carbone, notamment du métabolisme de l'acide pyruvique. H. A. Krebs attribue à la vitamine B<sub>1</sub> une fonction de coenzyme dans la transformation de l'acide pyruvique. K. Lohmann a rapporté récemment que ses observations sur la décarboxylation de l'acide pyruvique l'ont conduit à l'isolement d'un composé phosphoré, qui semblait être identique

<sup>(1)</sup> La vitamine A est produite, dans notre corps, par la prévitamine, le carotène. La molécule de ce dernier est dédoublée par la cellule animale pour former la vitamine A. Il y a peu de doute que le rôle de la vitamine A, dans la cellule animale, ne soit le même que celui du carotène chez les végétaux. La signification de cette transformation est inconnue. Je pense que cela représente probablement un principe important. La distribution du carotène dans les végétaux est très inégale et le carotène liposoluble est difficilement éliminé par l'animal. Si le carotène jouait un rôle dans le mécanisme de la cellule animale, la concentration de ce principe actif dépendrait du facteur accidentel de l'apport alimentaire et l'animal pourrait être exposé à une hypervitaminose éventuelle. Par le fait que le carotène est inactif, mais qu'il se transforme par clivage en principe actif, la cellule animale a la possibilité d'assurer un réglage de la concentration de ce principe actif et d'être indépendant du facteur accidentel de l'apport alimentaire.

à la vitamine B<sub>1</sub>, et qui agissait comme coenzyme dans la décarboxylation de l'acide pyruvique (l'expression « coenzyme » ne signifie rien de plus que le fait que cette substance est impliquée d'une façon quelconque dans le mécanisme de la réaction chimique considérée). On peut cependant espérer, si la découverte de Lohmann se confirme, que la lumière se fera très prochainement sur le véritable mécanisme chimique de l'activité de la vitamine B<sub>1</sub>.

Vitamine B<sub>2</sub>. — Elle est actuellement identifiée par Györgyi, Kuhn et Wagner-Jauregg avec une substance originellement appelée flave par Banga et Szent-Györgyi. Ces premiers chercheurs à qui nous devons également son isolement, ont appelé cette substance flavine, terme plutôt malheureux, considérant la confusion inévitable avec les flavones, les colorants de phénylbenzo-γ-pyrone.

On sait, grâce au travail fondamental de Warburg et Christian, que ce pigment forme un complexe avec une protéine et exerce une fonction de catalyseur sous cette forme combinée. Ce complexe rentre dans la définition des enzymes. Donc, si nous tenons aux définitions, nous pouvons appeler la vitamine B<sub>2</sub>: le groupement prosthétique d'un enzyme, dénommé « ferment jaune » par l'auteur qui l'a découvert. H. Theorell a montré que le complexe colloïde-pigment est réversiblement dissociable.

Le caractère essentiel de cette substance est son oxydabilité réversible.

Elle peut être rapidement réduite et réoxydée (Banga et Szent-Györgyi) et constitue aussi un système réversible thermodynamiquement. Toutefois, la propriété la plus remarquable de cette substance est sa faculté de former un radical libre (Kuhn et Wagner-Jauregg), stable même au pH physiologique (Michaelis, Shubert, Smythe), propriété très rarement observée parmi les substances réversiblement oxydables. La formation d'un radical libre signifie que la substance est capable de fixer ou de libérer des électrons un à un, au lieu de deux à la fois, ainsi que le font la plupart des autres substances.

Étant donné que cette faculté de former un système oxydoréducteur réversible et des radicaux libres est la propriété la plus caractéristique de cette molécule, nous pouvons difficilement nous tromper en supposant que cette substance doit intervenir dans le mécanisme du transfert d'électrons, c'est-à-dire dans les processus d'oxydo-réduction, comme accepteur intermédiaire d'un ou de deux électrons, c'est-à-dire d'accepteur d'hydrogène. La véritable réaction dans laquelle la substance est impliquée, n'est pas encore connue. On dit qu'elle intervient dans l'oxydation de l'acide malique (Wagner-Jauregg), laquelle oxydation est, si l'on s'en rapporte aux travaux étendus de mes propres collaborateurs, une réaction d'importance générale. Il semble que le ferment jaune intervienne dans tous les processus typiques de déshydrogénation, à l'exception du cas de la succinodéshydrogénase. Le fait est d'importance au point de vue énergétique; car, d'après Euler et Adler, il intervient dans la déshydrogénation, non seulement de l'acide malique, mais aussi des acides lactique, citrique, de l'alcool, du glucose, des hexose-mono et diphosphates. La vitamine Ba réduite est également autoxydable. Warburg a montré que certaines déshydrogénases sont capables de réduire cette substance quand elle est adsorbée sur son support colloïdal. On ne sait pas encore, sauf dans certains cas isolés, si l'autooxydation de la substance a une importance biologique générale.

Le pigment ne semble être capable d'exercer sa fonction qu'en liaison avec son support colloïdal, ce qui, d'après R. Kuhn et Boulanger, entraîne un déplacement du potentiel réducteur de la substance (E'<sub>0</sub> =— 0,185 V à 20° et pH = 7) du côté positif (E'<sub>0</sub> =— 0,060 V à 38° et pH = 7). D'après les plus récentes publications de E. Haas, du laboratoire de Warburg, le support colloïdal augmente également la stabilité du radical libre du groupement flavinique de l'enzyme.

Dans les tissus, nous trouvons la vitamine, sous forme de son composé protéique, lié à l'acide phosphorique (H. Theorell). La phosphorylisation du pigment libre se produit facilement et s'effectue déjà dans le tube digestif (H. Rudy). Étant donné que le transfert de phosphate d'une substance à une autre est l'un des phénomènes les plus importants du métabolisme intermédiaire, et aussi l'un des plus importants moyens de transfert d'énergie d'une réaction chimique à une autre, il ne semble pas improbable que B<sub>2</sub> (et aussi B<sub>1</sub>) soit également impliqué dans

ce processus de phosphorylisation. F. Verzar a publié des observations du plus haut intérêt, suggérant une telle fonction.

Pour résumer, nous pouvons dire que la vitamine B<sub>2</sub>, quoique identifiée seulement récemment, est la vitamine dont la fonction est la mieux connue. Bien que nous ne soyons pas encore capables jusqu'à présent de préciser son rôle exact, il est évident qu'elle intervient dans la production et le transfert d'énergie de la cellule, à titre d'accepteur intermédiaire d'hydrogène, c'est-à-dire de transporteur d'électron, ou bien encore d'acide phosphorique.

Vitamine C (acide ascorbique). — Bien que cette substance ait déjà été isolée il y a huit ans, et bien que nous connaissions tout ce qui concerne sa molécule, sa fonction dans la cellule reste encore inconnue. Nous ne pouvons que la deviner, conduits par ses propriétés physiques et chimiques tout à fait particulières.

La seule propriété chimique évidente de cette substance est son pouvoir réducteur élevé et sa capacité de former un système oxydo-réducteur chimiquement et thermodynamiquement réversible. Nous ne risquons pas de nous tromper en supposant que l'activité de la vitamine est liée à cette propriété.

Nous basant sur la logique au lieu de l'expérience, nous pouvons dire que l'acide ascorbique est, soit un tampon oxydo-réducteur, soit l'un des termes d'un système oxydo-réducteur. « Tampon oxydo-réducteur » signifie simplement qu'il maintient l'état réduit de certains groupements atomiques oxydables des enzymes, du protoplasme, dont le potentiel est plus positif. « Membre d'un système d'oxydation » signifierait que l'acide ascorbique fait partie de quelque cycle, en libérant ou captant ses deux atomes d'hydrogène labiles, agissant ainsi comme transporteur d'hydrogène. Nous savons 'que l'acide déhydro-ascorbique est rapidement réduit dans la cellule aussi bien par des groupes SH (Hopkins) que par certaines déshydrogénases. Cependant, nous ne connaissons aucun système chez l'animal, qui pourrait oxyder l'acide ascorbique et nous savons aussi que la consommation d'oxygène n'est nullement diminuée dans les tissus scorbutiques. Ceci ne nous permet naturellement pas d'exclure sa fonction dans quelque système accessoire d'oxydo-réduction. Ainsi que je le montrerai tout à l'heure pour la vitamine P, l'acide ascorbique semble faire

partie, chez les végétaux, d'un système respiratoire « peroxydasique ». On peut induire de ce fait l'indication que sa fonction chez l'animal est similaire. Cependant, si nous résumons honnêtement nos connaissances sur la fonction de l'acide ascorbique dans les tissus animaux, nous pouvons dire que nous n'en savons rien.

En disant que la fonction de l'acide ascorbique est en rapport avec son pouvoir réducteur, c'est-à-dire avec ses deux atomes d'hydrogène labiles, je ne veux pas dire que la configuration stérique de sa molécule n'est d'aucune importance pour l'activité. Des composés voisins ayant le même pouvoir réducteur sont inactifs, ou relativement faiblement actifs comme vitamines. S. Zilva a montré toutefois que ces composés, ayant le même pouvoir réducteur, mais pas d'activité vitaminique, ne sont pas fixés par la cellule; ces corps ne seraient donc actifs comme vitamines que pour autant que la cellule est capable de les fixer. Tandis que la fonction biologique de la substance semble être ainsi liée à son groupement réductible diénolique, sa configuration stérique semble être une condition essentielle de sa fixation.

Vitamine D. — Sa fonction est inconnue. Les altérations produites dans le métabolisme du phosphore et du calcium sous l'influence de cette substance ne constituent qu'un symptôme, qui ne donne aucune explication de la fonction cellulaire réelle, c'est-à-dire du mécanisme moléculaire d'action.

On a encore moins de connaissances sur les vitamines désignées par les lettres de l'alphabet postérieures à C. On peut faire exception pour la vitamine P, qui est identique à certains pigments jaunes hydrosolubles, très répandus dans le règne végétal, appelés flavones (ou encore flavonoles ou flavanones). La détermination de la consommation d'oxygène dans le jus de plantes peroxydasiques suggère (Huszák) que cette substance, de même que l'acide ascorbique, sont des membres d'un système d'oxydation. Elles sont toutes deux engagées dans le transfert d'hydrogène entre le substrat et l'oxygène moléculaire. La chaîne de réactions observées est la suivante : l'oxygène moléculaire réagit avec un enzyme spécifique, l'oxydase de l'acide ascorbique, et oxyde réversible-

ment une molécule d'acide ascorbique en donnant naissance à une molécule de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>. La vitamine P joue un rôle dans l'utilisation de ce peroxyde. Le peroxyde réagit avec la peroxydase, oxydant réversiblement la vitamine qui, à son tour, oxyde une nouvelle molécule d'acide ascorbique. De cette façon, les deux atomes de la molécules O<sub>2</sub> sont utilisés dans l'oxydation de deux molécules d'acide ascorbique. L'acide ascorbique oxydé peut être à nouveau réduit par des déshydrogénases. Les deux molécules d'acide ascorbique peuvent fixer 4 atomes d'hydrogène provenant d'une déshydrogénation et les transférer à O<sub>2</sub>.

Il reste à montrer jusqu'à quel point des phénomènes analogues jouent un rôle dans la respiration normale des plantes. Ces expériences font penser cependant que chez la plante, les deux substances, la vitamine P et la vitamine C, jouent un rôle dans la respiration. Ceci suggère à son tour qu'elles doivent avoir un rôle analogue chez l'animal. Le caractère vitaminique des flavones et de l'acide ascorbique fait croire qu'il doit exister chez l'animal un système semblable au système peroxydasique des végétaux. On a montré que la vitamine P, ou plutôt son absence, a une influence sur la perméabilité du système capillaire. Ceci signifie seulement que la paroi capillaire est un des premiers organes à souffrir de l'absence de cette substance. C'est une parfaite erreur de considérer cette substance comme régulatrice de la perméabilité.

Pour résumer donc notre maigre savoir sur la fonction réelle des vitamines, nous pouvons dire que le peu que nous savons indique que les vitamines ne sont, principalement dans leur fonction biologique, en aucune manière différentes d'un grand nombre d'autres substances, dont l'intégrité et le concours harmonieux assurent la vie et son mécanisme.

Si nous examinons une à une les caractéristiques des vitamines qui ont conduit à leur classement en groupes, nous trouvons qu'aucune des propriétés par lesquelles l'action d'une vitamine pourrait être caractérisée n'est spécifique.

On a renchéri pendant longtemps sur la petitesse des quantités par lesquelles les vitamines agissent. Cette toute petite quantité nécessaire a contribué beaucoup à la mystique qui entoure les vitamines. Le cas de la vitamine C, dont l'homme emploie des quantités relativement grandes, 50 mg ou plus par jour, a rendu cette notion caduque.

Les vitamines sont par définition, des substances que l'animal est incapable de fabriquer. Ceci a conduit à supposer que la molécule des vitamines devait avoir quelque chose de tout à fait particulier qui rendait sa synthèse impossible par la cellule animale. De nouveau, la vitamine C a montré la fausseté de l'hypothèse. On a constaté, il y a plusieurs années, que le rat est capable de synthétiser la vitamine C (H. Parsons). Aujourd'hui, nous savons que, probablement, tous les herbivores vivant originellement dans des climats comme le nôtre, savent synthétiser l'acide ascorbique. Il est tout naturel qu'il en soit ainsi. L'acide ascorbique est indispensable à la vie, et si les animaux vivant dans nos climats ne pouvaient pas en faire la synthèse, ils devraient mourir de scorbut pendant l'hiver, quand il n'y a pas de végétaux à feuilles vertes disponibles. Les seuls animaux de laboratoire chez lesquels on puisse produire le scorbut, et qui sont donc incapables de synthétiser l'acide ascorbique, sont le cobave et le singe, tous deux, des animaux d'origine tropicale. La raison de l'inaptitude d'un tissu animal à synthétiser l'acide ascorbique, ou probablement toute autre vitamine, ne doit donc pas résider dans la structure de la molécule de vitamine. Elle gît uniquement dans cette loi naturelle fondamentale : la paresse. La nature ne fait pas de luxe ni de choses inutiles. Toute fonction superflue se perd. Ainsi les cobayes et les singes qui trouvaient continuellement dans leur pays d'origine des végétaux à feuilles vertes, leur fournissant l'acide ascorbique, ont perdu la faculté de le fabriquer. Notre propre susceptibilité de faire du scorbut prouve notre origine tropicale.

Ainsi, l'incapacité de certains animaux à synthétiser certaines vitamines ne repose pas sur un principe général, et si nous appelons une substance vitamine, nous devons spécifier pour quel animal c'est une vitamine.

La vitamine A, qui est préparée par l'animal à partir de la prévitamine, le carotène, est analogue à la vitamine C à ce point de vue. Les chats sont incapables de faire cette transformation. Le chat étant carnivore et recevant de la vitamine A toute faite en proportion adéquate, n'a pas besoin d'en produire. Je ne parviens pas à trouver une propriété qui puisse donner un sens scientifique général au mot « vitamine ». Je ne nie pas la grande importance pratique de la nature vitaminique d'une substance, qui justifie pleinement le cas spécial qu'on en fait. Cependant, « vitamine » ne signifie guère plus qu'une substance que nous devons ingérer pour nous maintenir en bonne santé, plutôt une considération culinaire que scientifique.

Je ne voudrais pas me faire mal comprendre. Les vitamines, de même que n'importe quelle autre substance biologiquement active, sont d'un intérêt et d'une importance considérables, seulement leur nature vitaminique n'ajoute pas grand'chose à leur intérêt scientifique.

Il y a seulement un point sur lequel, à mon sens, la nature vitaminique d'une substance devient de la plus grande importance scientifique. Dans plusieurs cas, cette importance résidait dans la nature vitaminique de ces substances, dans les maladies par carence, produites par l'absence de ces corps et qui ont conduit à leur découverte. Mais ce sont ces maladies par carence qui nous ont fait reconnaître que certaines substances importantes du règne végétal sont indispensables aussi à la vie de la cellule animale. Cette constatation a mené à une des conceptions les plus harmonieuses de la biochimie moderne. C'est l'étude des vitamines qui nous a fourni la première preuve de la grande unité chimique de la nature vivante, animale ou végétale. C'est l'étude de la xérophtalmie qui, finalement, nous a fait voir que le grand groupe des pigments végétaux liposolubles, qui sont élaborés par la nature à l'état de fraîcheur chaque année, en grande quantité, et qui doivent jouer un rôle très important dans la vie de la cellule végétale, sont également indispensables à la cellule animale. De même, c'est l'étude de la vitamine P qui nous a révélé qu'un autre pigment végétal important intervient aussi dans la vie de la cellule animale. L'étude du béri-béri a montré que la cellule de notre cerveau emploie dans sa fonction la même substance qu'utilise la levure ou les cellules de la pellicule des grains de riz. Des témoignages analogues sont apportés par n'importe quelle nouvelle vitamine, montrant que les catalyseurs fondamentaux chez les plantes et chez l'animal, sont identiques. Mais, si les catalyseurs sont identiques, les mécanismes qui travaillent avec

69

ces catalyseurs, et leurs principes, doivent également être identiques. Ainsi, la nature vitaminique, la démonstration d'une nouvelle maladie par carence, peut être aussi de première importance scientifique, montrant que la substance en question intervient dans la vie de la cellule animale aussi bien que végétale, preuve nouvelle de l'unité fondamentale de la nature vivante.

La dépréciation comme l'appréciation de l'idée de vitamine ont toutes deux plus qu'une importance philosophique. Je voudrais revenir un instant à la dépréciation. J'ai essayé de montrer que la nature vitaminique d'une substance est moins fondée sur la fonction, propriété ou mode d'action particulier de cette substance, que sur des circonstances secondaires, telles que les habitudes de vie d'un animal ou les propriétés de son milieu ambiant originel.

J'insiste sur ce point parce que beaucoup d'encre a été gaspillée en fantaisies sur l'équilibre de différentes vitamines, et l'équilibre des vitamines et des hormones. « Vitamines » n'ayant en soi-même aucune signification, ne constituant aucun groupe spécial, « équilibres » ou « relations entre diverses vitamines » ou entre « vitamines et hormones » n'ont de même aucun sens. Non que je veuille nier la valeur de ces observations nombreuses et passionnantes, dans lesquelles certaines relations entre l'action de différentes vitamines ou entre vitamines et hormones, ont été mises en évidence. Naturellement, il peut exister des relations étroites entre une vitamine et une autre, ou entre une vitamine et une hormone. F. Verzar a montré récemment un exemple d'une telle relation entre la vitamine Be et la glande surrénale. Ce que je veux dire, c'est que les vitamines ne constituant pas un groupe spécial de substances actives, n'étant reliées que par des considérations accidentelles et utilitaires, c'est une erreur de les traiter comme un groupe indépendant de substances déterminées, agissant d'une certaine façon, ayant des relations toutes particulières avec les sécrétions internes, se comportant comme une entité, et dont l'action dépend moins des quantités absolues de chaque vitamine, que de leurs concentrations relatives.

Pour me résumer, les vitamines ne constituent donc pas un groupe spécial de substances, caractérisées par une propriété quelconque qui leur soit particulière. Le seul point par lequel elles peuvent être distinguées des autres substances est leur comportement paradoxal dans l'alimentation : elles nous rendent malades si nous ne les ingérons pas, tandis que toutes les autres substances au monde ne nous rendent malades que si nous les ingérons. Non seulement nous devenons malades si nous ne les consommons pas, mais nous pouvons ensuite nous guérir en les ingérant. C'est cette application thérapeutique des vitamines à laquelle je veux consacrer le reste du temps dont je dispose, principalement parce que le principe de cette application passe, pour le moment, par un stade révolutionnaire.

Il y a quelques années, le principe de l'application thérapeutique des vitamines semblait élucidé. La situation était claire et il ne restait en suspens aucun problème d'ordre général. Le manque de vitamine causait la maladie par carence correspondante, comme le scorbut, le béri-béri, etc. Les maladies pouvaient être guéries par l'administration de vitamine appropriée. Tant qu'il n'y avait pas de maladie par carence nettement apparente, tout était parfait et il n'y avait nul besoin de vitamine.

Les rapides progrès accomplis dans le domaine de la chimie des vitamines, la possibilité de leur dosage et la facilité de les administrer ont conduit à des observations qui firent apparaître tout le problème de l'effet thérapeutique sous un jour entièrement différent. L'inexactitude des premières conceptions est pleinement reconnue, de nouvelles voies sont tracées, et, pour le moment, tout le problème de l'application thérapeutique des vitamines se trouve dans un état de révolution, dont on ne peut encore prévoir la fin ni le résultat.

Le problème entier évolue et se développe à une telle vitesse, qu'il serait vain et inutile de ma part d'essayer de résumer notre savoir actuel. Je peux seulement essayer d'examiner quelques-unes des observations qui amenèrent ces changements et de deviner la voie de leur développement ultérieur.

La première vitamine qui put être dosée par de simples méthodes chimiques, est la vitamine C, et elle contribua par là pour une grande part au changement de nos idées. De la vitamine C, nous savions que son absence produit le scorbut. Si l'on soumet un cobaye à un régime scorbutigène, il continue à se développer pendant une semaine, commence à maigrir au bout de 15 jours, présente des symptômes de scorbut à partir de la troisième semaine,

et meurt à la fin de la quatrième semaine. Le premier signe d'altération de la santé est l'arrêt de la croissance. On a soigneusement étudié les quantités minima de vitamine C suffisantes pour assurer une croissance normale et éviter l'apparition des symptômes scorbutiques. Cette dose minima journalière fut considérée comme celle indispensable à l'animal pour se maintenir en parfaite santé.

Mais si maintenant nous suivons la concentration de la vitamine dans l'organisme de l'animal pendant le cours de l'expérience, nous trouvons que dès le premier jour déjà du régime carencé, le contenu de l'organisme en vitamine présente une chute marquée. Tandis que la croissance normale se maintient encore, la réserve vitaminique tombe, jusqu'au cinquième jour, à un niveau très bas. Ceci est vraiment très frappant, car la croissance normale était considérée jusqu'à présent comme l'expression la plus fidèle de la santé parfaite, de l'intégrité de toutes les fonctions. Donc, soit ce critère est mauvais, soit le manque de vitamine n'a pas d'importance. Que ce critère soit mauvais, c'est-à-dire que la croissance normale ne signifie pas nécessairement une santé parfaite, et que l'arrêt de la croissance ne soit donc qu'un symptôme déjà tardif, a été mis en évidence par des méthodes histologiques récentes perfectionnées, qui montrent que dès le cinquième jour déjà il apparaît des altérations anatomiques, telles que la rétraction des dendrites des odontoblastes, révélant une atteinte grave à la santé. Étant donné que les altérations anatomiques, de par leur nature même, constituent déjà des lésions tardives, évoluées, nous pouvons conclure que n'importe quel abaissement de la concentration normale de la vitamine dans l'organisme est préjudiciable à la santé, que les critères primitifs étaient insuffisants et que la dose journalière minima indispensable était évaluée trop bas.

L'erreur de considérer la croissance normale comme un signe certain de bonne santé, est également mise en évidence par des observations récentes de Irving et Richards sur l'avitaminose A, dans laquelle des altérations histologiques graves peuvent se faire jour dans le système nerveux central, tandis que la croissance normale se maintient.

Alors que l'on ne peut plus considérer la croissance normale

comme un signe certain de bonne santé, le scorbut doit être envisagé comme un syndrome prémortel. Nous devons conclure qu'il existe une marge étendue entre la santé et le scorbut, sans symptôme clinique avertisseur, une marge dans laquelle le fonctionnement de l'organisme peut être sévèrement atteint, ce dernier ne fonctionnant plus qu'imparfaitement, et étant incapable de faire face à une sollicitation supplémentaire ou à une lutte contre une infection.

Si, au lieu de soumettre l'animal à un régime complètement dépourvu de vitamine, nous lui donnons une ration insuffisante en vitamine, l'animal restera indéfiniment dans cette condition de moindre résistance, sans présenter de symptôme avertisseur de cette condition; son état précaire est prêt à céder à l'occasion d'une sollicitation supplémentaire.

Mes collaborateurs Benthsáth et Das, qui conservaient des animaux à notre régime d'hiver habituel, ont donné récemment un bon exemple de ce cas. Les animaux présentaient une croissance normale. Si on les soumettait au régime du test de la vitamine P, ils fléchissaient brusquement, alors que des animaux soumis au régime d'été continuaient à bien se porter pendant plus longtemps.

C'est justement ce manque partiel de vitamines, non le scorbut, mais cet état de moindre résistance, sans symptômes cliniques, qui est de la plus grande importance en pathologie humaine, qui semble être très fréquent. Il y a là concernant les vitamines un champ d'expériences, des plus prometteurs, bien que, entièrement négligé par les expérimentateurs.

La nourriture de l'homme est rarement entièrement dépourvue de vitamines et ce n'est donc pas l'avitaminese, mais bien l'hypovitaminese, qui est intéressante pour la santé humaine.

On ne peut pas résoudre le problème, simplement en augmentant la dose journalière minima, car l'étude de la vitamine C a montré que le besoin journalier de l'organisme n'est pas une grandeur fixe, mais dépend des circonstances et de l'effort qui lui est demandé.

En ce qui concerne la vitamine C, nous nous trouvons dans la situation exceptionnelle de posséder une méthode pour estimer le besoin de l'organisme en cette substance. Le principe de cette méthode est le suivant : la vitamine est ingérée en excès, le surplus étant éliminé par le rein. La quantité excrétée est mesurée et sert à évaluer la quantité retenue. S'il y avait une grande déficience, l'organisme en retiendrait beaucoup. La quantité retenue est donc la mesure de la déficience existante. De cette manière, nous pouvons mesurer la valeur de ce qui manque et voir si une certaine quantité journalière est capable de saturer l'organisme et de le maintenir tel (Harris, Ray et Ward).

Cette méthode démontre que n'importe quel effort demandé à l'organisme, tel qu'un travail fatigant, de la fièvre, la lutte contre une infection, augmentera beaucoup le besoin de vitamine. Ceci n'est pas vrai seulement pour la vitamine C, mais aussi pour la vitamine D, car le rachitisme commence souvent à l'occasion d'une infection. Cela est vrai également pour la vitamine B<sub>1</sub>, dont l'organisme a un plus grand besoin au printemps, durant la grossesse, l'allaitement, ou un régime plus riche en hydrates de carbone.

Il arrive donc que l'organisme souffrira d'avitaminose, justement au moment où il doit combattre une infection, lorsqu'il a le plus besoin de toutes ses ressources. Nous n'aurons aucun avertissement de la déficience en vitamine par des symptômes cliniques. L'hypovitaminose se déclarera d'elle-même seulement dans une circonstance grave ou une aggravation de l'infection. De cette manière, un manque partiel de vitamine pourrait jouer un rôle dans n'importe quelle maladie et intervenir ainsi dans toute la médecine.

A quel degré les vitamines sont-elles réellement en relation avec les infections et autres maladies, c'est ce que seules des études statistiques très méticuleuses pourraient établir, dont malheureusement l'organisation manque complètement. Ce domaine de recherches, qui constitue l'application thérapeutique la plus prometteuse des vitamines a été tout à fait négligé jusqu'à présent, malgré les débuts encourageants de Cameron et d'autres. Pour les vitamines autres que C, nous ne nous trouvons pas dans une situation aussi favorable quant à l'estimation de la dose minima journalière. Cette dose a été établie par des travaux très minutieux et complets pour toutes les vitamines, cette grandeur étant la base même de la nutrition par rapport à

des facteurs alimentaires accessoires. Cependant, comme tout fut basé sur des courbes de croissance et des symptômes cliniques, qui ne sont ni les unes ni les autres des références sûres, qui n'indiquent que des troubles graves, un doute plane sur l'exactitude de toutes ces estimations. Quelques milligrammes d'acide ascorbique par jour suffisent à mettre un homme à l'abri du scorbut. Cependant, il en faut 50 mg pour le maintenir saturé et dans une condition parfaite.

Les effets thérapeutiques remarquables obtenus récemment avec certaines vitamines font penser également que les doses journalières minima ont été fortement sous-estimées.

La synthèse de la vitamine B, a ouvert la voie à l'administration de quantités relativement grandes de cette substance. On a obtenu des effets thérapeutiques inattendus dans des cas apparemment sans aucune relation avec des avitaminoses. comme par exemple dans des névrites périphériques, et aussi dans des cas où, selon nos conceptions actuelles, le régime était satisfaisant et ne comportait aucun défaut de vitamines. On peut expliquer ce résultat de deux façons. Nous pourrions dire simplement que la vitamine B, est un médicament, une substance pharmacologiquement active, capable de guérir des maladies. Cependant, jusqu'à présent, nous avons considéré les vitamines comme des agents participant à une réaction biologique, comme des substances dont un excès ne peut faire aucun bien, de même qu'il est inutile de graisser exagérément une machine. Les vitamines ne peuvent, selon nos idées courantes, exercer d'influence bienfaisante, que si les fonctions organiques ont été altérées par disette de ces substances. Considérer les vitamines comme des substances pharmaceutiques, serait un point de vue tout à fait neuf, que l'on ne peut pas accepter sur d'aussi faibles preuves. Mais il y a aussi une autre explication, plus simple : on a peut-être sous-estimé les besoins en vitamines. Dans la plupart des cas, une insuffisance de vitamine B, ne conduit pas à la maladie. Mais si elle se combine à quelque accident toxique, ou une disposition personnelle, elle pourrait se déclarer d'elle-même par une névrite, qui, jusqu'à présent, a été considérée comme un symptôme d'avitaminose. Le fait qu'une affection telle que la névrite périphérique peut être guérie par la vitamine, fait penser sérieusement

à une origine pathogénique d'avitaminose, et le régime considéré comme satisfaisant, qui n'amène aucun trouble dans la majorité des cas, était en fait, insuffisant en vitamine.

Je crois pour ma part, qu'en fin de compte, on trouvera qu'aucun aliment ne contient assez de vitamines, ce qui n'était pas le cas des aliments de nos ancêtres, dans le milieu ambiant de notre race à ses origines.

La question de la névrite nous amène à un autre problème passionnant. On a montré récemment que le type vasculaire du purpura hémorragique pouvait être guéri par l'administration de vitamine P, ce qui, à mon avis, prouve presque certainement que le défaut de cette vitamine se trouve à l'origine de cette affection. L'alimentation ordinaire de ces malades ne présentait aucune différence sensible avec celle des autres gens. La question se pose alors de savoir pourquoi justement ces individus-là ont-ils été atteints de cette maladie plutôt rare. On ne peut donner qu'une réponse probable à cette question, et c'est que deux facteurs intervenaient dans ces cas spéciaux : une insuffisance de vitamine et une disposition particulière du malade.

Je ne veux pas développer davantage une discussion détaillée à ce sujet, car je pense que ces deux exemples valent par eux-mêmes, avec suffisamment de clarté, tout nouveau développement. Jusqu'à présent, nous avons trop schématisé. Le seul facteur que nous pensions devoir prendre en considération, était la quantité de vitamine. S'il n'y avait pas de vitamine, survenait alors la maladie par carence, avec ses symptômes bien étudiés. Si n'importe quelle affection présentait d'autres symptômes, alors ce n'était pas une maladie par carence. Le présent Rapport suggère clairement que des maladies peuvent survenir, dans lesquelles une avitaminose partielle est associée avec une disposition particulière du patient ou une influence extérieure nocive quelconque, aucun de ces facteurs n'étant capable tout seul de se manifester par des symptômes cliniques. Cependant, lorsqu'ils sont combinés, ils peuvent amener des maladies susceptibles d'un traitement par les vitamines, maladies qui, d'après leurs symptômes, n'ont pas été classées parmi les maladies par carence. Donc, l'un des développements de cette question, les plus récents et les plus importants, est que des états pathologiques qui n'ont

auparavant jamais été considérés comme des maladies par carence, sont en relation avec les vitamines, et sont susceptibles d'un traitement vitaminique.

Une question passionnante à examiner est celle de savoir ce qui serait advenu de nos sujets atteints de purpura ou de névrite, s'ils avaient reçu de plus grandes quantités de vitamines avant de devenir malades. Ils ne seraient probablement jamais devenus malades et l'on peut espérer prévenir beaucoup de maladies chez l'homme, si l'on arrive à évaluer correctement les besoins en vitamines de l'organisme humain et si l'on peut également s'assurer qu'il reçoit cette quantité journalière nécessaire.

Le temps dont je dispose est malheureusement trop limité pour que je puisse entreprendre la discussion des si intéressants travaux de E. Mellanby, qui montrent que ce n'est pas seulement les quantités absolues de vitamines qui sont à considérer. Un autre facteur important à prendre en considération, est le rapport équilibré des vitamines avec les autres constituants de l'alimentation normale. La rupture de cet équilibre pourrait amener des perturbations responsables de maladies très répandues comme le lathyrisme. Cette conception ouvre de nouvelles voies à la recherche et probablement promet d'amener dans le domaine de la vitaminologie, des affections restées jusqu'à présent incomprises.

On ne peut prévoir à quelle vitesse s'effectuera ce changement dans notre savoir. Il n'est pas douteux que beaucoup de nos idées considérées comme bien établies il y a quelques années, devront être abandonnées, que l'on a obtenu des résultats inattendus, et que de nouvelles perspectives sont ouvertes. En compensation de notre certitude perdue, nous avons acquis des possibilités entièrement nouvelles et inattendues de soulager les souffrances humaines grâce à ces vitamines que nous cherchons à faire sortir de leur domaine mystique pour les amener sous la forme de poudres simples sur la table du chimiste, nous essayons de rendre accessible à chacun et nous avons réuni ici ce qui pouvait contribuer à en élucider le problème.

## DISCUSSION DU RAPPORT DE M. SZENT-GYÖRGYI.

M. VON EULER. — Je partage l'opinion de M. Szent-Györgyi qu'il n'y a pas de différence fondamentale entre les vitamines et les hormones. En effet, les vitamines ne doivent pas nécessairement être fournies toutes préparées à l'animal; celui-ci peut, dans certains cas, les fabriquer lui-même à partir d'une prévitamine, par exemple le carotène. D'autre part, l'organisme animal n'est pas capable de synthétiser toutes les hormones.

D'après les observations faites dans mon Institut à Stockholm, la vitamine P de Szent-Györgyi contribue à provoquer une forte augmentation des érythrocytes dans le sang de cobayes préalablement anémiés par carence en vitamine C.

M. Drummond. — M. Szent-Györgyi a attiré l'attention sur un point très important lorsqu'il a insisté sur la difficulté qu'il y a à établir d'après des expériences faites chez l'animal, le rapport qui existe entre la dose de vitamine nécessaire pour éviter l'apparition de certains symptômes, et celle qui est nécessaire au maintien d'une santé parfaite. Il a cité à l'appui de sa thèse l'exemple très intéressant de la sous-évaluation qu'on avait faite des besoins de l'homme en acide ascorbique. Puis-je citer à mon tour un cas où il y a au contraire surévaluation?

On évalue généralement à 1000 unités internationales au moins les besoins journaliers d'un nourrisson en vitamine D. Pourtant, jusqu'au milieu du xvue siècle, le rachitisme, très répandu dans le nord de l'Allemagne et aux Pays-Bas, était une maladie rare en Angleterre. Je signale en passant, que si on l'a appelée « maladie anglaise », c'est parce qu'elle fut décrite pour la première fois, d'une façon détaillée par l'Anglais Glisson; mais il aurait été plus opportun de l'appeler « maladie allemande » ou « maladie hollandaise ». Le rachitisme était, disions-nous, presque inconnu en Angleterre à une époque où le régime alimentaire des Anglais ne comportait certainement pas plus de 50 à 100 unités internationales de vitamine D par jour. En effet, il ne pouvait être

question de médicaments antirachitiques à ce moment, d'huile de foie de morue ou de « calciferol » et parmi les aliments usuels, seuls le lait et les œufs apportaient un peu de vitamine D. La dose journalière de vitamine D chez l'enfant nourri au sein était en Angleterre comme ailleurs, nettement inférieure à 1000 unités internationales, dose que l'on juge aujourd'hui indispensable. Cependant, il y avait à cette époque peu de rachitisme en Angleterre. Pour expliquer ce fait, il faut considérer, je pense, la teneur en calcium et en phosphore des aliments.

Nous constatons que le rachitisme est aujourd'hui très répandu en Angleterre où beaucoup de gens ont un régime alimentaire ne comportant pas plus de og,6 de calcium et de 18,2 de phosphore par jour. Ces quantités sont très petites et, de plus, le rapport Ca/P (0,5) est inférieur à celui qui est nécessaire à la formation des os. Il faut alors une forte dose de vitamine D pour rétablir l'équilibre et faciliter l'assimilation du phosphore et du calcium. Notre alimentation moderne, mal équilibrée, peut exiger 1000 unités internationales de vitamine D. mais il en fallait peut-être dix fois moins pour obtenir une bonne calcification à l'époque où l'alimentation des pauvres comportait beaucoup de lait et d'œufs et fournissait peut-être à la mère du nourrisson jusqu'à 2g de calcium et 3g de phosphore par jour. Le rachitisme a fait son apparition en Angleterre avec la misère, quand, au cours de la première moitié du xviie siècle, les conditions d'existence devinrent rapidement très mauvaises, et que les pauvres ne purent plus se procurer le lait ni les autres aliments nourrissants, dont ils disposaient auparavant en suffisance. Leur « standing » de vie devint alors comparable à celui des paysans de l'Allemagne du Nord et des Hollandais. Or, dans ces pays, le rachitisme était si répandu depuis des siècles que tous les petits enfants représentés dans les tableaux des maîtres flamands du xve et du xvie siècle ont l'abdomen gonflé, la tête déformée et les membres arqués caractéristiques de cette maladie.

M. Karrer. — On ne peut, en parcourant la bibliographie relative à l'acide lactoflavine-phosphorique, se faire une idée très exacte des faits. En réalité, on n'a pas réussi à préparer cette substance à l'état pur, ni par l'action des ferments intestinaux

sur la lactoflavine (Rudy) ni par phosphorylation directe de la lactoflavine par l'oxychlorure de phosphore (R. Kuhn). Ces deux precédés conduisent en fait à des mélanges assez complexes. De même, l'acide lactoflavine-phosphorique extrait du foie est toujours souillé d'acide adénylique. On doit certainement considérer aujourd'hui encore l'acide lactoflavine-phosphorique comme un produit que l'on ne peut isoler que très difficilement.

M. LAQUEUR. — J'insiste sur le fait qu'il est utile, pour le moment du moins, de conserver la distinction que l'on fait entre hormones et vitamines, et de ne pas confondre les deux entités comme on a tendance à le faire. Une définition peut n'être qu'imparfaitement juste tout en restant cependant plus ou moins utile. Or, vitamines et hormones sont des termes d'origine physiologique et médicale et ils ont comme tels une réelle signification pratique ainsi que tous les membres du Conseil le savent.

En général, les hormones se forment dans le corps, et c'est seulement en cas de maladie qu'on doit les y introduire, tandis que les vitamines doivent toujours venir de l'extérieur et c'est leur absence qui entraîne des maladies. L'emploi du mot ergone pour désigner l'ensemble des vitamines et des hormones peut être utile, mais il n'aura plus guère de valeur si M. von Euler englobe dans le groupe des ergones des substances telles que l'acide succinique parce que, dans ce cas, les ions H<sup>+</sup>, l'oxygène moléculaire, les hydrates de carbone, etc., qui sont eux aussi des sources d'énergie devraient de ce fait également entrer dans le groupe des ergones.

Plus une définition est précise, mieux cela vaut, car on voit mieux dans ce cas ce qui se distingue et ce qui ne se distingue pas; c'est la raison pour laquelle il existe des termes inutiles et d'autres dont l'utilité est grande. Dans le même ordre d'idées, je dirai qu'il faut être très prudent lorsqu'on emploie des expressions telles que augmentation de la résistance de l'organisme, ou accélération de la croissance, ou inhibition de la croissance pour caractériser des phénomènes attribuables aux vitamines.

M. Szent-Györgyi. — Les mots « vitamine et « hormone » sont fort utiles et il faut donc certainement les conserver, mais il ne faut point essayer d'en donner une définition précise. Nous pouvons employer un mot soit quand nous savons ce qu'il signifie, soit quand nous savons que nous ignorons ce qu'il signifie.

M. Bigwood. — 1. Au début de son exposé, M. Szent-Györgyi nous a montré comment, à son avis, la vitamine B<sub>2</sub> (ou ferment jaune de Warburg) est liée dans son action au mécanisme de la respiration par l'oxydase de Keilin-Warburg. Ne faudrait-il pas s'attendre, si ces deux agents concourent réellement à un même mécanisme catalytique, à ce que l'acide cyanhydrique dilué n'entraîne qu'un ralentissement de la consommation d'oxygène plutôt qu'un arrêt pratiquement complet de cette consommation?

En effet, l'hydrogénation du ferment jaune et sa réoxydation spontanée à l'air ne sont pas entravées par la présence d'acide cyanhydrique : ce poison ne paralyse que l'hémine-oxydase. En absence du poison, ces deux systèmes fermentaires se trouvent donc en compétition pour la fixation de O<sub>2</sub> et le système au fer l'emporte de loin sur la vitamine B<sub>2</sub>, de sorte que l'on peut concevoir que le ferment jaune puisse servir au transfert de l'hydrogène d'un substrat fixe à un autre (réaction du type anaérobie), malgré la présence de O<sub>2</sub>; mais du moment où l'on paralyse l'hémine-oxydase, ne doit-on pas s'attendre à ce que l'autoxydabilité à l'air du leucodérivé de la vitamine B<sub>2</sub> entre en ligne de compte malgré la présence de cyanure et entraîne une consommation d'oxygène, limitée sans doute, mais cependant mesurable?

C'est d'ailleurs la raison, je pense, pour laquelle Warburg n'admet pas que le ferment jaune fonctionne dans le même système catalytique que le ferment transporteur d'oxygène. Les cellules dépourvues de ce dernier ferment et qui contiennent du ferment jaune présentent une consommation modérée mais mesurable de l'oxygène qui n'est pas influencée par le cyanure. Il me semble rationnel de penser que, dans les cellules qui contiennent l'hémine-oxydase et le ferment jaune, mais dans lesquelles le premier d'entre eux est paralysé par H CN, la situation doit être comparable à celle des cellules qui contiennent la vitamine B<sub>2</sub> à l'exclusion du système aux hémines.

2. M. Szent-Györgyi a parlé des difficultés du problème si

important de la détermination des besoins de l'organisme en vitamines. Ces difficultés résultent, entre autres choses, du choix du test qui sert à évaluer ces besoins, des différences individuelles qu'il peut y avoir dans l'utilisation de ces principes et de l'influence que d'autres facteurs alimentaires que les vitamines peuvent avoir sur les besoins.

En ce qui concerne le choix approprié du test, M. Szent-Györgyi a montré qu'il doit reposer sur la précocité avec laquelle le test permet de déceler une carence très légère, encore inapparente cliniquement.

Je voudrais signaler quelques particularités au sujet de ces questions, touchant les vitamines A, C et D. Pour la précarence C, le rapporteur a montré que la mesure de la saturation des tissus de l'organisme en acide ascorbique est préférable à la recherche des manifestations pathologiques des dents et surtout aux signes cliniques du scorbut parce qu'elle constitue un signe de loin plus précoce de la précarence. Chez l'homme, le test de saturation ne peut se faire que par des analyses urinaires et il n'est pas certain qu'il présente encore les mêmes garanties de rigueur dans ces conditions. Un autre test, considéré par certains comme précoce est celui de la mesure de la fragilité capillaire. Des observations faites à Bruxelles par M. Adant, il résulte que l'acide ascorbique injecté dans la circulation élève la résistance vasculaire, tandis que par ingestion ce même acide n'exerce pas la même influence.

De plus, la mesure de la résistance capillaire conduit aussi à des résultats assez variables chez des sujets qui semblent, au contraire, se comporter à peu près de même vis-à-vis du test de saturation. Il semble donc que d'autres facteurs que la vitamine C influencent la résistance capillaire. D'après Göthlin, toutefois, le test vasculaire serait bien apte à établir les besoins de l'organisme en vitamine C, à la condition d'étudier l'action de doses de vitamine C répétées quotidiennement pendant plusieurs semaines au lieu de chercher à déceler une influence d'une seule dose massive de principe actif.

Quant aux besoins de l'organisme en vitamine D, M. Drummond nous a rappelé que les quantités absolues de calcium et de phosphore ingérées, ainsi que le rapport entre ces quantités, influencent notablement les besoins en vitamine D. Il pense que, d'après les observations faites en Angleterre à des époques différentes, on est en droit de penser que ces besoins sont d'autant plus élevés que la ration de calcium est plus basse.

Il me paraît difficile de tirer des conclusions fermes à cet égard pour le moment, car l'expérience donne dans d'autres pays des résultats absolument opposés : dans la majorité des régions du Congo belge, par exemple, la ration de calcium semble être particulièrement basse, probablement inférieure au chiffre og,6 par jour dont parlait M. Drummond il y a un instant, la ration de phosphore étant, par contre, relativement élevée. Dès l'époque du sevrage, c'est-à-dire vers l'âge de 2 ou 3 ans, les enfants cessent définitivement et complètement de consommer du lait; de plus, on ne consomme jamais de fromages dans la majeure partie de cette colonie. Or, ce sont là les deux sources alimentaires principales de calcium. Cependant, il n'y a aucune trace de rachitisme ni de carie dentaire dans ces régions. Sans doute pensera-t-on que l'activation des stérols cutanés est particulièrement prononcée dans les régions tropicales, mais j'insiste toutefois sur ce fait important du faible apport de calcium dans l'alimentation des peuplades congolaises.

Enfin, en ce qui concerne le test de l'héméralopie latente, dont on se sert actuellement pour déceler précocement la prévitaminose A, il résulte de recherches faites actuellement à Bruxelles que chez des enfants frères et sœurs d'apparence bien portants, vivant dans un même milieu et chez lesquels le facteur alimentaire est à peu de chose près le même, on peut trouver que les uns répondent normalement à ce test, alors que d'autres se comportent comme déficients. Ce fait semble bien indiquer des différences individuelles des besoins de l'organisme en vitamine et qu'à égalité d'apport en vitamine dans le régime, les besoins de certains sujets paraissent satisfaits, tandis qu'il n'en est pas de même pour d'autres.

M. Szent-Györgyi. — D'après Theorell, le ferment jaune n'est guère autoxydable à la tension d'oxygène existant dans les tissus animaux. Or, c'est uniquement dans les tissus animaux que le système mentionné a été étudié.

La fragilité des capillaires n'est pas un bon guide parce que

c'est un symptôme tardif; d'autres facteurs peuvent la produire. Ainsi, le type vasculaire du purpura hémorragique n'est pas dû à un défaut de vitamine C; mais il est guéri par la vitamine P.

M. Zunz. — A propos de ce qui vient d'être dit, sur l'influence des vitamines C et P, toute une série de travaux semblent prouver que l'acide ascorbique ne joue pas ou guère de rôle dans la coagulation du sang, mais intervient plutôt pour ce qui a trait à la fragilité globulaire et au temps de saignement. Au contraire, la vitamine P est indispensable pour maintenir la coagulation sanguine dans les conditions normales. Dès lors, il se pourrait fort bien que certains symptômes caractéristiques du scorbut soient dus à la déficience simultanée des vitamines C et P ainsi que M. Szent-Györgyi le pense.

M. Laqueur a émis de sérieuses objections aux conclusions tirées trop souvent de constatations effectuées chez des rats ou d'autres animaux carencés en une vitamine donnée, même chez un très grand nombre d'individus. Tout déficit en une vitamine a une action défavorable pour l'organisme. Mais, précisément, le fait que la carence en tant de substances à composition chimique si différentes a des conséquences semblables, semble vouloir dire qu'elle ne provient pas directement de cette carence, mais plutôt de modifications dans certains de nos organes ou de nos tissus qui apparaissent aussi bien à la suite de cette carence que dans d'autres circonstances.

On a tantôt appelé l'attention sur les propriétés antitoxiques si remarquables de l'acide ascorbique vis-à-vis de la toxine diphtérique et d'autres poisons. Or, on a constaté la même chose pour le glutathion. Ces deux substances se trouvent dans l'organisme dans les mêmes régions en grande quantité entre autres dans la portion corticale des capsules surrénales. Dès lors, l'action antitoxique de l'acide ascorbique est peut-être indirecte.

D'après M. Szent-Györgyi, les vitamines se caractérisent par le fait que leur absence occasionne des troubles dans l'organisme, alors qu'au contraire les poisons ordinaires ne deviennent nocifs que quand ils agissent en grande quantité.

Mais pourtant on sait qu'un excès de vitamine D provoque les troubles de l'hypercalcémie qui ont parfois des conséquences très graves. Si nous éliminons aisément l'excès d'acide ascorbitique, les conditions ne sont plus les mêmes pour la vitamine D. Par conséquent, tout au moins dans ce cas, la définition proposée par M. Szent-Györgyi prête peut-être à quelques critiques.

M. G. Bertrand. — M. Szent-Györgyi a critiqué avec de bonnes raisons l'expression de « vitamines » et aussi celle « d'hormones ». Personnellement, je suis tout à fait d'accord avec lui. Et si je pouvais, à cette occasion, faire une proposition de nomenclature, je demanderais, sans oublier le point de vue physiologique et même médical, mais en me plaçant surtout au point de vue chimique, de considérer dès à présent les substances dénommées vitamines et hormones comme des catalyseurs indispensables au fonctionnement normal de la vie et je les appellerais tout simplement des « biocatalyseurs ». Il y aurait alors les biocatalyseurs minéraux, comprenant les éléments dont j'ai traité hier dans mon Rapport, et les biocatalyseurs organiques, ceux-ci étant subdivisés à leur tour en groupes, d'ailleurs plus nombreux qu'on ne l'envisage d'ordinaire, renfermant chacun des substances de constitution chimique et d'action physiologique différentes.

Ceci dit, je voudrais comparer certaines observations apportées par M. Szent-Györgyi sur les biocatalyseurs que je qualifierai de vitaminiques, pour ne pas négliger radicalement une appellation en usage, et des observations que vous connaissez déjà, portant sur des biocatalyseurs minéraux.

En général, on apprécie une activité vitaminique en déterminant la plus petite dose qui permet à un animal de croître normalement. M. Szent-Györgyi montre que ce n'est pas là un test à l'abri de toute critique, qu'il ne faut pas confondre une avitaminose avec une hypovitaminose, cette dernière étant d'ailleurs beaucoup plus intéressante à considérer pour la santé humaine. Il est rare qu'un homme se trouve placé dans une condition d'avitaminose dont les effets sont à la fois rapides et désastreux; mais il est souvent en état d'hypovitaminose plus ou moins apparente, parfois même inapparente. On le croit normal, il n'est en réalité que dans un état de santé précaire et il suffit d'une circonstance telle qu'une infection pour qu'on s'en aperçoive. C'est ainsi qu'une dose de quelques milligrammes

d'acide ascorbique par jour dans la ration journalière suffisent à mettre un homme à l'abri du scorbut, mais qu'il en faut 50 mg pour le maintenir saturé et dans un état de santé tel qu'il puisse résister à une atteinte microbienne.

Nous avons vu hier quelque chose d'analogue à propos du bore et de la betterave. Tant que cette plante trouve dans le sol une proportion suffisante de bore, elle est en santé parfaite et capable de résister aux infections. Quand une partie du bore vient à manquer, elle se laisse envahir par le *Phoma betæ* et succombe à la maladie connue sous le nom de maladie du cœur de la betterave. On guérit l'infection de la betterave par une petite adjonction de bore comme on rétablit un béri-bérique avec de la vitamine B<sub>1</sub>.

L'intervention de l'acide ascorbique dans l'état de santé précaire ou parfait de l'organisme animal, suivant sa proportion, rappelle d'autre part les faits constatés au sujet de l'intervention du manganèse dans la vie de l'Aspergillus niger. Vous vous rappelez qu'une dose de métal qui assure le développement du mycélium ne permet pas à celui-ci de fructifier. Pour que les organes reproducteurs apparaissent, il faut donner à la moisissure une dose plus élevée de manganèse. Dans les observations de M. Szent-Györgyi, comme dans les miennes, un même catalyseur peut intervenir dans des fonctions vitales différentes selon sa concentration.

De telles comparaisons montrent que l'on ne saurait séparer dans l'étude du mécanisme vital, les biocatalyseurs minéraux des biocatalyseurs organiques et qu'il y a une grande analogie dans le comportement général entre les uns et les autres.

M. Delépine. — Dans les rapports de M. Szent-Györgyi et de M. Karrer, il est fait mention d'actions favorisantes de vitamines employées simultanément. N'est-il pas permis de parler également d'actions contrariantes? Tout récemment, on a signalé que l'emploi simultané des vitamines C et Λ conduirait à des résultats physiologiques à peu près nuls. Je puis signaler un exemple un peu spécial.

On sait que l'on cherche à utiliser les vitamines en thérapeutique; ainsi, la vitamine C semble devoir trouver une application dans la désensibilisation vis-à-vis de certaines intoxications, par exemple, contre les érythèmes provoqués par les arsénicaux; on réussit assez souvent. Des expériences sur les animaux ont montré que si l'on utilise en même temps la vitamine A, la désensibilisation peut faire défaut. Y a-t-il une explication à cet antagonisme? Une des conséquences les plus importantes serait toutefois que si une vitamine se localise ou agit d'une certaine façon sur une fonction organique déterminée, l'autre agit en sens contraire sur la même fonction. Il y aurait là un programme de recherches possibles et, en tout cas, une indication pour l'usage des vitamines mélangées; il ne saurait être quelconque.

Sir William Pope. - Un des aspects les plus importants du Rapport de M. Szent-Györgyi consiste en ce qu'il a essayé de placer la discussion sur un terrain philosophique. Je ne prétends pas juger si cette façon de traiter le sujet doit augmenter ou. au contraire, diminuer la valeur scientifique de la discussion; elle ajoute certainement à son intérêt, mais comporte en même temps de réels dangers. En effet, pour classer les faits expérimentaux d'une science biologique, il faut faire intervenir ce que M. Szent-Györgvi appelle des lois naturelles fondamentales; or, le caractère particulier de pareilles lois réside dans le fait qu'on peut, en général, soutenir le contraire de ce qu'elles expriment. Un seul exemple suffira pour illustrer ceci : M. Szent-Györgyi affirme que la raison de l'inaptitude du singe à synthétiser de l'acide ascorbique gît uniquement dans cette loi naturelle fondamentale : la paresse. La nature ne fait pas de luxe, ni de choses inutiles. Toute fonction superflue se perd. J'ai des soupçons graves à l'égard de cette « loi ». La faculté de calculer est possédée par tout homme instruit et le génie mathématique est répandu. Ces produits de l'intelligence ne sont d'aucune utilité pour l'homme dans son état naturel ou non civilisé; la fonction qui les provoque est donc un luxe dont la nature nous a doués. Tous ceux qui cherchent à évaluer la contribution apportée par les mathématiciens à la physique ultra-moderne sont quelquefois tentés d'aller plus loin et dire que la loi naturelle fondamentale réside au contraire dans le fait d'une activité incessante. La nature est

prodigue de luxe, et crée énormément de choses inutiles. Toute fonction superflue ne se perd pas.

M. Szent-Györgyi. — L'un des buts que je m'étais proposé en rédigeant mon Rapport était de provoquer des remarques intéressantes et il me semble que j'y ai pleinement réussi.

M. Briner. — La question que je désire poser est relative au mode d'action des vitamines. Il faut savoir gré à MM. Karrer et Szent-Györgyi d'avoir cherché à dégager de l'ensemble très touffu des faits, quelques points touchant à cette question générale de nature à intéresser aussi les participants à ce Conseil qui ne sont pas spécialisés dans le domaine des vitamines.

Certaines des vitamines seraient éventuellement capables de favoriser la consommation d'oxygène des tissus, c'est-à-dire de favoriser leur respiration (vitamine A). D'autres favorisent le transfert d'hydrogène (lactoflavine), d'autres agissent comme agent d'oxydo-réduction (acide ascorbique). Mais les vitamines partagent ce genre de propriété avec de nombreux autres corps. Pourquoi, dès lors, l'exceptionnelle spécificité des vitamines dans les milieux dans lesquels elles travaillent? Je relève ici un point sur lequel M. Szent-Györgyi a insisté au début de son Rapport : la nécessité d'atteindre les cellules et le protoplasme. Cela étant, est-ce que l'ensemble - qui peut être très complexe - d'un système vitaminique ne réalise pas précisément une constitution, un état physique ou chimique - qui permet au groupe actif d'atteindre mieux l'espèce de molécule à transformer, dans un milieu donné? Pour préciser ma question, je prendrai l'exemple suivant : pour opérer l'hydrolyse des huiles et des graisses, on a recours à des agents fournissant des ions H+, l'acide sulfurique par exemple. Mais il faut alors, pour réaliser une hydrolyse suffisamment rapide, porter le système graisse-catalyseur, à des températures supérieures à 1500, c'est-à-dire sous pression, en utilisant l'autoclave. On accélère énormément la vitesse d'hydrolyse au point qu'on peut opérer à 1000 et à la pression ordinaire en mettant en œuvre des agents d'hydrolyse tels que les réactifs de Twytchell (acides benzène-stéarine-sulfonique ou naphtalènestéarine-sulfonique) dans lesquels l'acide est associé à un groupe

stéarique. Le catalyseur participe alors de la nature des graisses et son activité sur celles-ci est fortement amplifiée. On a donc ici compliqué à dessein la molécule apportant le groupe actif (ion H) pour favoriser le contact avec les molécules qu'il doit transformer dans le milieu donné.

Partant de là, on peut se demander si la spécificité extraordinaire des actions vitaminiques et aussi des actions hormonales, n'est pas due en partie, tout au moins, au fait que le support complexe du groupe actif donne à l'ensemble un état physique ou chimique qui permet à ce groupe d'entrer mieux en contact avec les molécules à transformer dans le milieu où elles se trouvent.

M. Szent-Györgyi. — La question posée par M. Briner touche un problème fondamental et nous avons donc essayé d'y répondre. Nous avons trouvé que ce n'est pas en diminuant la chaleur d'activation que les protéines agissent. Leur effet résulte, soit d'un accroissement local de la concentration, soit encore, et c'est cette dernière hypothèse qui me paraît la plus probable, d'une orientation convenable des molécules réagissantes.

M. SWARTS. — Comment explique-t-on que la croissance ne se poursuive pas indéfiniment par apport constant de vitamines de croissance?

Quel est le catalyseur négatif qui s'oppose à cet effet ?

M. G. Bertrand. — Sans répondre à la question de M. Swarts, je puis peut-être donner un peu d'éclaircissement. Quand un organisme supérieur vient au monde, l'analyse montre qu'il est particulièrement riche en catalyseurs minéraux. A mesure qu'il grandit, la concentration diminue et peut, à un moment donné, devenir insuffisante pour permettre la croissance.

M. von Euler. — La remarque de M. Bertrand s'applique également à la vitamine C.

M. Zunz. — L'arrêt de croissance est surtout déterminé par certains produits toxiques de notre métabolisme. Ceci résulte nettement des expériences de Carrel et d'autres auteurs qui sont parvenus à maintenir pendant de longues années en vie des tissus en ayant soin de les débarrasser de ces substances toxiques. On a, en outre, prétendu qu'il existait dans l'organisme des substances s'opposant à la croissance et dont la quantité s'accroîtrait avec l'âge.

L'expression de vitamine de croissance, employée par M. Swarts, ne répond plus à l'état actuel des choses. Les vitamines sont nécessaires pour permettre la croissance, mais elles n'interviennent pas à un titre plus spécial que les protéines, les graisses et tous les autres constituants de l'organisme.

# VITAMINE ANTIRACHITIQUE

PAR M. A. WINDAUS (1).

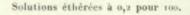
L'histoire de la découverte de la vitamine antirachitique et de la prévitamine activable par la lumière a été déjà racontée si souvent que je puis la laisser de côté dans cet exposé.

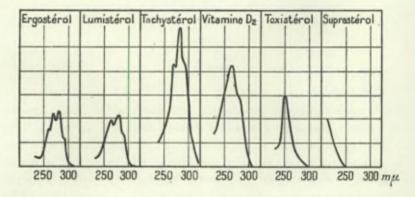
Ma contribution à l'étude de la vitamine antirachitique a commencé par la démonstration, effectuée au semestre d'hiver 1926-1927, du fait que l'ergostérol, le stérol typique des champignons, est une prévitamine antirachitique. Elle présente le même spectre que la prévitamine contenue dans les autres stérols et, comme celle-ci, elle est activable par les radiations ultraviolettes. J'en ai alors déduit que le cholestérol brut ou la prévitamine contenue dans le phytostérol brut devait être identique ou tout au moins très semblable à l'ergostérol.

Les années suivantes ont été consacrées à l'étude du processus photochimique conduisant de l'ergostérol à la vitamine. Je reconnus bientôt qu'il ne s'établit aucun équilibre entre l'ergostérol et ses produits de transformation photochimique, mais qu'après une action suffisamment prolongée de la lumière, l'ergostérol

<sup>(</sup>¹) En l'absence de M. Windaus, empêché d'assister aux réunions du Conseil, M. Heilbron a bien voulu se charger de la présentation de ce Rapport.

disparaît complètement (¹). La vitamine elle-même est détruite par un éclairage prolongé, ce que l'on peut démontrer facilement par des expériences sur animaux. Elle constitue donc un produit intermédiaire de la transformation photochimique. Celle-ci est visiblement très compliquée, comme cela ressort également des modifications difficiles à expliquer du spectre d'absorption de la solution, se produisant au cours de la transformation. Pour préciser la marche des réactions, il ne restait donc rien d'autre à faire qu'à isoler à l'état pur et à caractériser les produits formés. Bien que cette tache se soit montrée très difficile, on a réussi





finalement à isoler à l'état pur cinq produits de la réaction photochimique, et un sixième a été décélé avec certitude par son spectre. On a pu également déterminer l'ordre d'apparition de ces produits soit notament:

La figure reproduit les spectres de ces substances et le tableau I donne leurs points de fusion et leurs pouvoirs rotatoires.

<sup>(1)</sup> On détermine facilement la teneur en ergostérol des solutions soumises au rayonnement, car l'ergostérol forme avec la digitonine un digitonide insoluble, tandis que les produits de la décomposition photochimique ne sont pas précipités par ce réactif.

#### TABLEAU I.

Produit.	Points de fusion.	Pouvoirs rotatoires $[\alpha]_0^{20}$ .	Solvant.
Ergostérol	. 163	-13%	Chloroforme
Lumistérol	. 118	+191,5	Acétone
Tachystérol		- 70	Benzène
Vitamine D <sub>2</sub>		+103	Alcool
Suprastérol 1	. 104	- 76	Chloroforme
Suprastérol II		+69,9	Chloroforme

On arrive à préparer ces divers produits à l'état pur en opérant comme suit.

Le lumistérol s'obtient à côté de la vitamine D<sub>2</sub> en poussant la transformation photochimique de l'ergostérol jusqu'à 60 pour 100 et en utilisant l'ultraviolet proche, au-dessus de 290<sup>mµ</sup>. Il se forme des cristaux d'un racémate partiel de lumistérol et de vitamine D<sub>2</sub> que l'on fractionne en séparant le lumistérol sous forme d'acétate et la vitamine sous forme de dinitrobenzoate.

Le tachystérol ne se forme dans ces conditions qu'en petite quantité. On l'obtient par l'ultraviolet de longueurs d'ondes inférieures à 280<sup>mµ</sup> et en arrêtant l'action de la lumière quand la transformation a atteint 60 pour 100. On le sépare de la vitamine D<sub>2</sub> qui l'accompagne en le combinant avec l'anhydride citraconique ou en le transformant en méthyldinitrobenzoate. La vitamine peut être récupérée dans le filtrat, soit telle quelle, soit sous forme de dinitrobenzoate. On n'obtient dans ces conditions que peu de lumistérol.

Les produits de la transformation photochimique peuvent être enrichis en toxistérol en faisant agir la lumière jusqu'à l'extinction du spectre dans l'ultraviolet proche et l'apparition du spectre dans la région de 248<sup>mp</sup>.

Les deux suprastérols s'obtiennent en arrêtant l'action de la lumière quand le spectre au-dessus de 240<sup>mµ</sup> a disparu en grande partie. On sépare les deux produits sous forme d'allophanates. La fraction difficilement soluble fournit le suprastérol I et la fraction plus soluble le suprastérol II, caractérisé par un méthyl-dinitrobenzoate peu soluble.

De ces six produits de réaction, seul le toxistérol n'a pas été préparé à l'état pur, ce qui fait qu'on ne peut pas affirmer avec certitude qu'il constitue un produit intermédiaire du passage de la vitamine D<sub>2</sub> aux deux suprastérols. Ceux-ci ne sont pas modifiés par la lumière de la lampe à mercure.

Un processus photochimique dans lequel un composé organique se transforme pour le moins en six produits différents est exceptionnel, ce qui rendait son étude particulièrement pressante. Mais la condition préalable de cette étude était l'établissement de la formule de constitution de l'ergostérol. Cela nous a réussi en 1934 et nous sommes arrivés à la formule suivante :

L'ergostérol a pour formule brute C28H44O. L'étude du lumistérol, du tachystérol, de la vitamine D2 et des suprastérols I et II a montré que tous ces produits ont cette même formule brute, c'est-à-dire qu'ils sont des isomères de l'ergostérol. Tous conservent aussi le groupe alcool et la double liaison dans la chaîne latérale, entre les carbones 22 et 23. J'ai considéré dès lors comme vraisemblable un mécanisme photochimique produisant des déplacements des doubles liaisons et des regroupements stériques. Mais l'étude expérimentale a révélé des relations de structure beaucoup plus complexes. Lettré a constaté notamment que le nombre des doubles liaisons est modifié au cours de la réaction photochimique et qu'il se trouve tantôt augmenté par ouverture de cycles, tantôt diminué par cyclisation. On a alors déterminé aussi exactement que possible les nombres des doubles liaisons dans les produits de la photolyse et l'on est arrivé aux résultats suivants :

691					
100	A D	T 127	A TI	П	

	Nombre	
Produit.	de =.	d'anneaux.
Ergostérol	. 3	4
Lumistérol		4
Tachystérol	. 4	3
Vitamine D <sub>2</sub>		3
Toxistérol		?
Suprastérols	. 3	4

Le passage du lumistérol au tachystérol ou à la vitamine D<sub>2</sub> est donc lié à l'ouverture d'un anneau avec apparition d'une nouvelle double liaison. Au contraire, il y a formation d'un cycle supplémentaire avec disparition d'une double liaison lors du passage de la vitamine aux suprastérol.

Le premier produit de la photolyse dont la constitution a été élucidée complètement est la vitamine D<sub>2</sub> elle-même (calciférol). Elle s'additionne 4 molécules d'hydrogène, comme cela a été prouvé par Kuhn et Möller. La perhydrovitamine D<sub>2</sub> a la formule C<sub>28</sub>H<sub>52</sub>O. C'est un produit saturé. Le déficit de 6 atomes d'hydrogène par rapport à la paraffine correspondante résulte de la présence de trois anneaux. Par l'alcool et le sodium, on obtient à partir de la vitamine deux produits, la dihydrovitamine et l'isodihydrovitamine, qui tous deux consomment trois atomes d'oxygène lorsqu'on les titre avec l'acide perbenzoïque. Le trioxyde de la dihydrovitamine est bien cristallisé.

D'après ces observations, la vitamine D<sub>2</sub> est certainement quatre fois non saturée et renferme 3 cycles. Sa formation est donc accompagnée de l'ouverture d'un anneau avec apparition d'une double liaison supplémentaire.

Le spectre d'absorption de la vitamine et sa faculté de se combiner avec l'anhydride maléique indiquent qu'elle contient deux doubles liaisons conjuguées. Mais à quel endroit se produit, au cours de la photolyse, l'ouverture d'un anneau? Il est vraisemblable, d'après les recherches de O. Schmidt, que les liaisons simples au voisinage immédiat d'une double liaison (position  $\alpha$ ) ont une stabilité accrue, tandis que celles se trouvant d'un échelon plus loin (en position  $\beta$ ), sont relâchées par la présence de la

double liaison. Si cela est exact, c'est la liaison simple  $C_{\theta}$ - $C_{10}$  de l'ergostérol, qui est en position  $\beta$  par rapport à deux doubles liaisons, qui doit être la moins stable et qui doit se rompre le plus facilement. S'il n'y a aucune autre modification de la molécule, en particulier si les positions des deux doubles liaisons

initiales restent inchangées, le produit résultant de la décyclisation doit répondre à l'une des trois structures suivantes :

Or, on peut prouver que la formule II convient pour la

vitamine. En effet, l'action de l'ozone conduit à de la formaldéhyde provenant du groupe méthène, ce qui n'a pas lieu avec l'ergostérol. D'autre part, en dégradant par oxydation la vitamine D<sub>2</sub>, on obtient une aldéhyde α,β non saturée C<sub>21</sub>H<sub>34</sub>O, une cétone non saturée C<sub>19</sub>H<sub>32</sub>O et un acide cétonique C<sub>13</sub>H<sub>20</sub>O<sub>3</sub>. L'aldéhyde a pour formule

et se forme par oxydation qui rompt la molécule entre C<sub>5</sub> et C<sub>6</sub>. La cétone non saturée a pour formule

l'oxydation produisant dans ce cas une rupture entre C<sub>7</sub> et C<sub>8</sub>. L'acide cétonique répond à la structure

et se forme quand l'oxydation produit une rupture entre  $C_7$  et  $C_8$  et une autre entre  $C_{22}$  et  $C_{23}$ .

La démonstration complète de la formule de la vitamine D<sub>g</sub> a été faite par l'étude des acides vitamine-maléiques. Ces acides se forment par fixation de l'anhydride maléique sur C<sub>0</sub> et C<sub>18</sub>, ce qui aboutit au produit

Par hydrogénation en  $C_{22}$  et  $C_{23}$  on obtient l'acide 22-dihydromaléique

qui, sous l'action de l'ozone, donne une cétone saturée C<sub>19</sub>H<sub>34</sub>O de constitution

Cette cétone dérive de l'acide dihydro-vitamine-maléique par oxydation produisant la rupture entre C<sub>7</sub> et C<sub>8</sub>.

Par déshydrogénation de l'acide vitamine-maléique sur le platine ou le sélénium, on obtient des dérivés de la naphtaline, apparemment par rupture entre C<sub>6</sub> et C<sub>7</sub>. Le platine conduit à la naphtaline et à l'acide β-naphtoïque.

En opérant avec le sélénium, le produit principal est la 2.3-diméthyl-naphtaline. Cela nous paraissait d'abord incompréhensible, mais nous avons constaté ensuite que dans le cas des systèmes alicycliques les réactions de déshydrogénation sont accompagnées d'hydrogénation et de réduction aboutissant, par exemple, à la formation de deux méthyles à partir d'un groupe anhydride d'acide.

Ces réactions démontrent, à notre avis, l'exactitude de la formule de la vitamine D<sub>2</sub> que nous avons indiquée. Toutefois, je ne voudrais pas passer sous silence le fait que Bernal rejette cette formule en se basant sur les röntgénogrammes, qui sont tout à fait analogues pour la vitamine D<sub>2</sub> et pour l'ergostérol, ce qui, d'après Bernal, serait impossible dans le cas de deux substances aussi différentes que celles répondant à nos formules de structure. Je ne suis pas assez compétent dans l'interprétation des diagrammes de Röntgen pour me prononcer à ce sujet et je me borne à constater que les données chimiques ne me paraissent pas pouvoir être interprétées autrement que par les formules auxquelles je me suis arrêté.

De la formule attribuée à la vitamine, on peut déduire également celle de la dihydro-vitamine, qui ne donne plus la réaction du méthène. Il est très probable qu'elle réponde à la constitution

Toutefois, des observations effectuées sur d'autres substances du groupe des stérols rendent possible la formule

c'est-à-dire un déplacement vers C<sub>8</sub>-C<sub>14</sub> d'une des doubles liaisons. Mais cela reste incertain.

Il est remarquable que la vitamine De perde en quelques heures son activité physiologique lorsqu'on la chauffe à 1600. Il était souhaitable de déterminer les modifications chimiques liées à cette perte d'activité. On a réussi à isoler après chauffage deux pyrovitamines qui ont reçu les noms de pyrocalciféral et d'isopyrocalciférol. Toutes deux ont la même formule brute que l'ergostérol, presque le même spectre et lui sont aussi très semblables au point de vue chimique. Elles renferment trois doubles liaisons et quatre anneaux. Le chauffage de la vitamine D, a donc produit la fermeture d'un cycle avec disparition d'une double liaison. Le système des cycles initiaux a pourtant été conservé, comme cela résulte du fait que la déshydrogénation au moyen du sélénium transforme les pyrovitamines en γ-méthyl-cyclo-pentanophénanthrène, dont la formation est caractéristique de l'armature carbonée des stérols. L'oxydation par l'acide nitrique transforme les pyrovitamines en acide méthyl-benzène-tétracarbonique, qui se forme également par oxydation des stérols contenant deux doubles liaisons dans l'anneau B (1). Les deux doubles liaisons des pyrovitamines sont-elles aussi conjuguées, comme cela résulte du spectre d'absorption et de la formation de produits d'addition avec l'anhydride maléique.

On est ainsi conduit à envisager pour les pyrovitamines l'une des deux formules suivantes :

<sup>(1)</sup> Cet acide pourrait se former également à partir des stérols contenant deux doubles liaisons dans l'anneau C. Mais on ne connaît pas d'exemples de ce genre.

La formule (I), qui contient les doubles liaisons aux mêmes endroits que la vitamine D<sub>2</sub>, est la plus probable. Elle est identique à la formule de structure de l'ergostérol. La différence entre l'ergostérol et les pyrovitamines pourrait résulter dans ce cas d'un arrangement stérique différent autour de C<sub>9</sub> et C<sub>10</sub>. Ces deux atomes de carbone, qui ont perdu dans la vitamine leur asymétrie, redeviendraient asymétriques par la fermeture de l'anneau. On peut s'attendre alors à quatre stéréoisomères, dont deux sont connus, comme l'a montré Dimroth, notamment l'ergostérol et l'isopyrocalciférol. Ces deux composés donnent, en effet, par déshydrogénation au moyen de l'acétate mercurique, le même produit, le déhydro-ergostérol. Ce produit renferme quatre doubles liaisons dont trois en positions conjuguées dans les anneaux B et C. Il répond à la formule (')

(1) Le fait que la position de la double liaison dans l'anneau B est la même dans l'ergostérol et le déhydro-ergostérol résulte de l'identité des composés d'addition que forment avec l'anhydride maléique l'ergostérol et le déhydro-ergostérol perhydrogénés. La nouvelle double liaison du déhydro-ergostérol est en conjugaison avec celle qui préexistait, et il est probable, à la suite des travaux de M. MÜLLER, qu'elle occupe la position 9-11.

Si l'ergostérol et l'iso-pyrocalciférol donnent le même produit de déshydrogénation, cela signifie qu'ils ne diffèrent que par la disposition stérique des atomes d'hydrogène autour de C<sub>9</sub>, mais possèdent à part cela une structure identique, notamment autour des centres d'asymétrie C<sub>3</sub> et C<sub>10</sub>. La formule de structure de l'iso-pyrocalciférol doit donc être la suivante:

Si l'on désigne arbitrairement par + la disposition des centres d'asymétrie C<sub>9</sub> et C<sub>10</sub> dans l'ergostérol, il faut attribuer à l'isopyrocalciférol la disposition C<sub>9</sub> — et C<sub>10</sub> +. L'un de ces isomères est visiblement le pyrocalciférol, l'autre, comme il sera démontré dans la suite, est représenté par le lumistèrol.

Il est tout à fait surprenant, étant donnée l'étroite parenté entre l'ergostérol et les pyrovitamines, que celles-ci ne se transforment pas en pinacones par déshydrogénation photochimique et qu'elles ne fournissent pas à la lumière la vitamine D<sub>2</sub>.

Le tachystérol constitue l'étape qui précède la vitamine D<sub>2</sub>. Il renferme quatre doubles liaisons, comme cela a été démontré pour la première fois par Lettré. L'une de ces doubles liaisons a été décelée par l'anhydride de l'acide citraconique, deux autres par hydrogénation catalytique du produit d'addition, la quatrième en titrant avec l'acide perbenzoïque l'acide tétra-hydrotachystérol citraconique. Trois doubles liaisons sont certainement conjuguées, comme cela résulte du spectre d'absorption. On peut affirmer que la constitution du tachystérol est très voisine de celle de la vitamine D<sub>2</sub>. Ainsi, l'hydrogénation par l'alcool et le sodium conduit à plusieurs dérivés dihydrogénés dont l'un est identique à la dihydrovitamine. Mais le tachystérol se distingue de la vitamine D<sub>2</sub> par l'absence du groupe méthène, car il ne fournit pas d'aldéhyde par ozonisation. Une des formules possibles est

donc la suivante :

Cette formule paraît très plausible, car elle diffère le moins possible de celle de la vitamine. Si j'hésite à l'admettre, c'est que nous n'avons pas réussi à obtenir à partir du tachystérol ni l'aldéhyde non saturée  $C_{21}H_{34}O$  ni la cétone non saturée  $C_{19}H_{32}O$  que fournit facilement la vitamine  $D_3$  et que devrait fournir également le tachystérol s'il répondait à la formule (I). Grundmann, qui a étudié dernièrement le tachystérol, préfère la formule

L'examen attentif des modifications du spectre d'absorption a montré qu'il existe encore un autre produit entre le lumistérol et le tachystérol: un pro-tachystérol se transformant très rapidement en tachystérol par une réaction purement thermique. Je ne puis rien dire de ce pro-tachystérol. Il est possible qu'un arrangement allénique apparaisse en C<sub>6</sub>, C<sub>7</sub> et qu'il se défasse rapidement. Mais cela est tout à fait incertain.

Le lumistérol constitue le premier produit de la transformation photochimique de l'ergostérol et lui est extraordinairement semblable (¹). Il possède presque le même spectre d'absorption que l'ergostérol et, comme celui-ci, trois doubles liaisons et quatre anneaux. L'armature cyclique est également la même, car on aboutit par le sélénium au γ-méthyl-cyclo-pentenophé-

<sup>(2)</sup> Toutefois, le lumistérol n'est pas lévogyre comme l'ergostérol, mais dextrogyre, et il ne donne aucun produit d'addition avec la digitonine.

nanthrène. Les deux doubles liaisons faisant partie d'un cycle sont conjuguées, car le lumistérol s'additionne à l'anhydride maléique. Ces deux doubles liaisons appartiennent à l'anneau B, car le lumistérol fournit l'acide méthyl-benzène-tétracarbonique. De même, par rapport à presque tous les autres réactifs, à l'acide chlorhydrique par exemple, il se comporte comme l'ergostérol. Il doit donc répondre à l'une des deux formules

$$\begin{array}{c|c} CH_3 & C_0 H_1, \\ CH_3 & C_0 H_1, \\ CH_3 & C_0 H_{17} \\ CH_3 & C_0 H_{17} \\ \end{array}$$

C'est la formule I qui est exacte. En effet, Heilbron et Dimroth ont réussi à fixer, au moyen de l'acide perbenzoïque, deux groupes OH sur l'une des doubles liaisons et à montrer que l'un des hydroxyles est fixé sur un carbone tertiaire, ce qui n'est possible que dans le cas de la formule (I). Le lumistérol est donc un stéréoisomère de l'ergostérol. A quel endroit s'est donc produit le regroupement stérique? Le plus probablement sur Ca. car le lumistérol ne donne pas de précipité avec la digitonine, ce qui est le cas également des épi-dérivés des stérols formés par regroupement autour de Ca. Mais cette hypothèse envisageant le lumistérol comme un épi-ergostérol est contredite par le fait que la perhydrogénation ne conduit pas à un épi-ergostanol, mais à l'hexahydro-lumistérol isomère. De même, l'iso-lumistérol, qui se forme à partir du lumistérol sous l'action de l'acide chlorhydrique, ne fournit pas d'épi-ergostanol par perhydrogénation. Mais on pourrait en tout cas faire l'hypothèse que l'isomérisation en C<sub>3</sub>, influe de telle sorte sur la fixation de l'hydrogène qu'il se forme un anneau de *cis*-décaline au lieu de *trans*-décaline.

Il résulte toutefois des recherches de Dimroth que les choses se passent en réalité de façon différente. Le lumistérol et le pyrocalciférol donnent par déshydrogénation le même déhydrolumistérol. Celui-ci, qui se forme exactement comme le déhydroergostérol et possède un spectre d'absorption presque identique, a certainement aussi la même formule de structure et renferme la nouvelle double liaison entre C<sub>9</sub> et C<sub>11</sub>. Il apparaît dès lors que le lumistérol et le pyrocalciférol ne se distinguent que par la disposition stérique autour de C<sub>9</sub>.

Or, il a déjà été indiqué plus haut que le pyrocalciférol et l'isopyrocalciférol doivent différer par la disposition stérique autour de C<sub>10</sub>. Le lumistérol a en C<sub>10</sub> la même disposition (—) que le pyrocalciférol. En ce qui concerne l'iso-pyrocalciférol, il a été prouvé qu'il renferme le groupe OH en C<sub>3</sub>, dans la même position que l'ergostérol. Il n'y a aucune raison de supposer qu'il en soit autrement pour le pyrocalciférol et par conséquent aussi

pour le lumistérol.

Si l'on désigne par + les centres d'asymétrie C<sub>3</sub>, C<sub>9</sub> et C<sub>10</sub> de l'ergostérol, on aboutit aux quatre isomères suivants :

#### TABLEAU III.

Isomère.	Cy.	C <sub>s</sub> .	G <sub>19+</sub>
Ergostérol	+	+	+
Lumistérol	+	+	-
Pyrocalciférol	+	-	_
Iso-pyrocalciférol	+	-	+

Il est possible bien que peu probable que les signes + et — intéressant C<sub>9</sub> doivent être intervertis pour le lumistérol et le pyrocalciférol.

Comment s'explique dès lors le fait que le lumistérol et le pyrocalciférol ne sont pas précipités par la digitonine? La précipitation par ce réactif se produit quand C<sub>3</sub> et C<sub>10</sub> sont tous les deux en position + (première position cis), comme c'est le cas, par exemple, de l'ergostérol. L'iso-pyrocalciférol précipite aussi par la digitonine, mais le précipité est plus soluble, ce qui doit

être attribué sans doute à une autre disposition stérique autour de C<sub>9</sub> (¹). Les stérols dans lesquelles les substituants en C<sub>3</sub> et C<sub>10</sub> sont en position trans ne donnent pas de précipités, par exemple l'épi-ergostanol avec C<sub>3</sub> — et C<sub>10</sub> +. C'est le cas également du lumistérol et du dihydrolumistérol, dans lesquels on a C<sub>3</sub> + et C<sub>10</sub> —. Mais si le groupe hydroxyle est épimérisé, on a le signe — aussi bien pour OH sur C<sub>3</sub> que pour le méthyle sur C<sub>10</sub> (deuxième position cis) et l'on observe de nouveau la précipitation. Cela s'applique au pyrocalciférol comme au lumistérol.

La transformation photochimique de l'ergostérol semble donc pouvoir être interprétée par les formules suivantes :

(4) Que l'on compare le comportement du cholestérol et du coprastérol qui différent par la disposition stérique autour de C<sub>5</sub>.

On ne peut dire malheureusement que peu de chose au sujet des autres produits de la photolyse. Le toxistérol a le même spectre que les iso-ergostérols, dans lesquels on admet la répartition sur deux anneaux des doubles liaisons conjuguées. Cela s'applique peut-être également au toxistérol.

Les suprastérols, qui constituent les produits finaux de la transformation photochimique, renferment, comme l'ergostérol, trois doubles liaisons et quatre anneaux. Leur formation à partir de la vitamine est donc accompagnée de la fermeture d'un cycle. La double liaison dans la chaîne latérale reste inchangée, mais à en juger d'après le spectre, les suprastérols ne contiennent plus de doubles liaisons conjuguées. On ne sait rien au sujet des deux doubles liaisons rattachées cycliquement.

Contrairement à l'ergostérol, au lumistérol, au pyrocalciférol et à l'isopyrocalciférol, les suprastérols ne contiennent plus d'armature carbonée des stérols, car la déshydrogénation sur le sélénium ne conduit pas au γ-méthyl-cyclopenteno-phénanthrène. Toute hypothèse concernant l'armature carbonée des suprastérols sera prématurée tant qu'on ne possédera pas à ce sujet de nouvelles données expérimentales.

Pour terminer, faisons encore quelques remarques concernant l'action physiologique des produits de la transformation photochimique de l'ergostérol. De tous ces produits, seule la vitamine D<sub>2</sub> est douée d'une action antirachitique. A forte dose, elle provoque un enrichissement notable du sang en calcium et peut alors amener des calcifications pathologiques et d'autres phénomènes d'empoisonnement. Des autres produits de la photolyse, les uns n'agissent ni comme antirachitiques ni comme toxiques et il se peut qu'ils ne soient pas du tout résorbés. Quelques autres augmentent, il est vrai, la teneur en calcium du sang et deviennent toxiques à forte dose, mais restent inactifs au point de vue antirachitique.

L'augmentation de la teneur en calcium du sang ne suffit donc pas par elle-même à produire une action antirachitique. L'hormone de Collip elle aussi enrichit le sang en calcium sans être douée d'effet antirachitique.

On a émis l'hypothèse qu'il y a lieu de distinguer dans le sang

diverses formes du calcium. L'augmentation de la teneur en ions de ce métal n'exercerait pas d'action curative antirachitique, mais, au contraire, une action toxique à forte dose. Pour guérir le rachitisme, le sang devrait être enrichi en composés du calcium non ionisés.

Le tableau IV indique l'action physiologique de l'ergostérol et de ses produits de transformation.

TABLEAU IV.

		Action	
Produit.	toxique.	antirachitique.	
Ergostérol		_	
Lumistérol		-	
Tachystérol	. +	-	
Vitamine	. +	+++	
Dihydrovitamine		Talling I	
Iso-dihydrovitamine	. +	-	
Pyrocalciférol		-	
Iso-pyrocalciférol	+ -	-	
Toxisterol	. +	-	
Suprastérols		-	

Les produits que l'on obtient en chauffant le tachystérol ou en l'hydrogénant par l'alcool et le sodium agissent également comme poisons sans exercer d'effet antirachitique. Des préparations de ce genre, se comportant comme l'hormone de Collip, ont été appliquées à sa place au traitement du tétanos thyréoprivique.

Les recherches dont il a été question nous ont largement renseignés sur les processus accompagnant la transformation photochimique de l'ergostérol. Mais la question importante de savoir si la prévitamine des autres stérols est identique à l'ergostérol n'avait pas encore reçu de réponse, pas plus que celle concernant l'identité ou la non identité de la vitamine de l'huile de foie et de la vitamine  $D_{\tilde{z}}$ .

La solution de ce problème a été finalement obtenue par des chercheurs américains en étudiant l'action de l'huile de foie et de la vitamine D<sub>2</sub> sur divers animaux. Il s'est montré que 10 mg

d'huile de foie de morue produisaient chez les rats une action équivalente à celle de 0,04γ de vitamine D2, ce qui correspond à un rapport de 250 000 : 1. Mais appliqués à des poulets, 10mg d'huile agissaient comme 27 de vitamine ce qui donne un rapport de 5000 : 1, c'est-à-dire, 50 fois plus faible que dans les expériences sur les rats (1). Sur l'homme par contre, l'action de la vitamine de l'huile de foie s'est montrée peu différente de celle de la vitamine-ergostérol en prenant comme terme de comparaison les résultats obtenus sur les rats. Ces recherches ont prouvé sans aucun doute possible que la vitamine de l'huile de foie n'est pas identique à la vitamine De. Les prévitamines contenues dans le cholestérol des mammifères se sont également montrées différentes de l'ergostérol. Ce cholestérol, soumis à l'action de la lumière, donnait sur les rats et les poulets des résultats analogues à ceux obtenus avec l'huile de foie, tandis que les prévitam nes des phytostérols se comportaient, après l'action de la lumière, comme la vitamine Da.

L'expérience suivante est très intéressante à ce sujet : la très faible teneur en vitamine antirachitique du lait de vache peut être accrue, soit en donnant à la vache des aliments, de la levure par exemple, ayant été soumis à l'action de la lumière, soit en soumettant à des radiations le lait lui-même. Dans le premier cas, le lait contient une vitamine antirachitique du caractère de la vitamine D<sub>2</sub>, dans le deuxième une vitamine se comportant comme celle de l'huile de foie. Il est donc établi qu'il existe plusieurs prévitamines et plusieurs vitamines D<sub>2</sub>.

En quoi consiste la différence entre ces diverses prévitamines et vitamines ? Il est à présumer qu'il s'agit de différences analogues à celles qui existent entre les autres stérols du règne végétal et animal. Cette hypothèse est devenue susceptible d'une vérification expérimentale grâce aux grands progrès réalisés dans l'étude chimique des principaux stérols, dont on a réussi à établir les formules de constitution. Nous reproduisons les formules du cholestérol, de l'ergostérol, du stigmastérol et du sitostérol. Ces quatre substances ont le même système de quatre anneaux. Mais

<sup>(1)</sup> Ces valeurs sont des moyennes de résultats assez variables et devront sans doute être modifiées dans l'avenir.

le cholestérol ne renferme qu'une double liaison, sa chaîne latérale de 8 atomes de carbone est saturée et il y a en tout 27 atomes de carbone, tandis que le stigmastérol contient deux doubles liaisons séparées et une chaîne latérale non saturée de 10 C, en tout 29 C; l'ergostérol trois doubles liaisons dont deux conjuguées et une dans la chaîne latérale non saturée de 9 C, ce qui donne en tout 28 C; enfin, le sitostérol renferme, comme le cholestérol, une seule double liaison, mais avec une chaîne latérale saturée de 10 C, en tout 29 C.

$$\begin{array}{c} CH_3 \\ CH_3 \\ CH - CH = CH \\ CH - C_2H_3 \\ CH - CH_3 \\ CH - CH_3 \\ CH_5 \\ CH_5 \end{array}$$

Parmi ces substances, seul l'ergostérol est activable. Il se distingue des autres par deux doubles liaisons conjuguées dans l'anneau B. Ces liaisons déterminent l'absorption dans l'ultraviolet entre 260 et 310 mµ et la fragilité de la molécule sous l'action de la lumière ultraviolette. Les nombreux isomères de l'ergostérol préparés artificiellement, dans lesquels les doubles liaisons de l'anneau occupent d'autres positions, ne sont pas activables.

Nous nous trouvions dès lors devant la tâche consistant à préparer d'autres stérols possédant la disposition caractéristique des doubles liaisons dans l'anneau B et se différenciant comme les stérols connus par le degré de saturation et le nombre d'atomes de carbone de la chaîne latérale. Le premier stérol de ce genre que nous avons préparé est le 22-dihydro-ergostérol. Son mode de préparation est indiqué par le schéma suivant :

$$\begin{array}{c} \text{CH}_3 \\ \text{CH}_2 \\ \text{CH}_3 \\ \text{CH}_4 \\ \text{CH}_4 \\ \text{CH}_5 \\ \text{CH}_6 \\ \text{CH}_7 \\ \text{CH}_3 \\ \text{CH}_7 \\ \text{CH}_3 \\ \text{CH}_7 \\ \text{CH}_8 \\$$

Ergostérol.

$$\begin{array}{c|c} CH_3 \\ CH_2 \\ CH-CH_2-CH_3 \\ CH-CH_3 \\ CH-CH_3 \\ CH_3 \end{array}$$

$$\begin{array}{c|c} CH_3 \\ CH_2 \\ CH - CH = CH \\ CH - CH_2 \\ CH - CH_2 \\ CH - CH_2 \\ CH_3 \\ CH - CH_2 \\ CH_3 \\ CH - CH_2 \\ CH_3 \\ CH - CH_3 \\ CH - CH_2 \\ CH_3 \\ CH - CH_3 \\ CH_3 \\ CH - CH_3 \\ CH - CH_3 \\ C$$

Anhydride maléique-ergostérol.

22-Dihydro-ergostérol.

Le 22-dihydro-ergostérol ainsi obtenu donne le même spectre et les mêmes réactions colorées que l'ergostérol. Il lui ressemble extraordinairement par presque toutes ses propriétés. Sous l'action de la lumière, il fournit un produit brut qui, dans les expériences sur les rats, se montre environ 10 fois moins actif que la vitamine D<sub>2</sub>, mais dans les expériences sur les poulets son activité se révèle plutôt supérieure à celle de la vitamine, comme cela a été montré en premier lieu par les chercheurs américains. On a d'ailleurs réussi à isoler du 22-dihydroergostérol une vitamine cristallisée, que nous avons nommée provisoirement vitamine D<sub>4</sub>. Elle agit sur les rats deux fois moins que la vitamine D<sub>2</sub>.

Nous avons préparé ensuite le 7-déhydrocholestérol, suivant le schéma

Ce composé présente lui aussi le même spectre et donne les mêmes réactions colorées que l'ergostérol. A la lumière, il fournit un produit brut agissant sur les rats deux fois moins que l'ergostérol irradié dans les mêmes conditions, mais il est 25 fois plus actif que celle-ci sur les poulets (1).

Nous avons également préparé le 7-déhydro-sitostérol, lui aussi

<sup>(1)</sup> W. GRAB, Z. f. physiol. Chem., 243, 1936, p. 63.
INSTITUT SOLVAY (CHIMIE).

très analogue à l'ergostérol, mais se montrant après irradiation ao fois moins actif sur les rats que le vitamine-ergostérol.

Le 7-déhydro-stigmastérol soumis à l'action de la lumière n'agit presque pas sur les rats. Cela est d'autant plus surprenant que le stigmastérol ne diffère de 'ergostérol que par le remplacement d'un méthyle par un éthyle.

Parmi les prévitamines préparées artificiellement, la plus intéressante est le 7-déhydro-cholestérol. Nous l'avons donc étudiée plus attentivement, surtout au point de vue photochimique. Nous avons réussi à préparer à l'état pur le produit actif au point de vue antirachitique qui se forme dans l'action de la lumière à partir du 7-déhydro-cholestérol et nous l'avons caractérisé sous forme de dinitrobenzoate cristallisé. Ce produit actif possède le même spectre et donne les mêmes réactions colorées que la vitamine de l'ergostérol. Nous lui donnons provisoirement le nom de vitamine D<sub>3</sub>.

Pendant que le Dr Schenck et moi-même étions occupés à ces recherches, le Dr Brockmann, qui avait travaillé au Kaiser-Wilhelm-Institut de Heidelberg, sous la direction de Richard Kuhn, à l'analyse chromatographique par adsorption, vint à Göttingen. Je lui ai demandé d'entreprendre encore une fois la préparation de la vitamine pure de l'huile de foie, ce qu'il a fait avec succès. Il a obtenu, par des méthodes de démixtion et d'adsorption, à partir de l'huile de foie du thon, des fractions très actives qu'il a transformées en dinitrobenzoates et qu'il a amorcées au moyen du dinitrobenzoate cristallisé provenant du 7-déhydro-cholestérol irradié. Les produits ainsi préparés étaient cristallisés et les cristaux se sont montrés identiques à ceux de dinitrobenzoate de la vitamine Da. La vitamine de l'huile de foie du thon est donc le produit qu'on obtient en irradiant le 7-déhydrocholestérol, ce qui résolvait un problème longtemps discuté, La constitution de la vitamine de l'huile de foie du thon et du flétan se trouvait ainsi élucidée et l'on pouvait la préparer artificiellement à partir du cholestérol.

Restait encore à préparer les prévitamines des règnes animal et végétal et à les comparer avec les prévitamines connues. Nous avons d'abord étudié les stérols des vertébrés. La teneur en prévitamine s'est montrée très variable suivant la classe et l'organe des animaux étudiés. Ainsi, nous avons trouvé 0,016 pour 100 de prévitamine dans le stérol de cervelle de bœuf, 0,18 pour 100 dans celui des œufs de poule et 4,6 pour 100 dans celui de la couenne de porc.

La prévitamine du stérol des œufs est constituée en grande partie par l'ergostérol. D'après les essais effectués, cet ergostérol provient probablement des aliments. La prévitamine de la couenne de porc s'identifiait au 7-déhydro-cholestérol pur. Chez les invertébrés également la teneur en prévitamine des stérols bruts est extraordinairement variable, mais en général sensiblement plus élevée que chez les vertébrés. Une faible teneur (0,3 pour 100) a pourtant été observée chez les étoiles de mer et les petites écrevisses. On a trouvé par contre des teneurs extrêmement élevées chez les vers de farine et de terre et chez tous les mollusques (9 à 27 pour 100). La prévitamine des limaces rouges, des moules et des vers de terre est constituée en majeure partie par l'ergostérol; par contre, celle des escargots contient surtout le 7-déhydrocholestérol pur.

Nous avons commencé également l'étude des prévitamines du règne végétal. Dans le stérol du chou blanc nous avons trouvé 0,02 pour 100 de prévitamine, dans le stérol de l'huile des graines du cotonnier 5 pour 100. La prévitamine provenant de ces graines s'est montrée, à notre grand étonnement, identique à l'ergostérol.

Le 7-déhydro-cholestérol est la seule prévitamine que nous ayons trouvée chez le porc et l'escargot, tandis que l'ergostérol a été constaté chez les oiseaux (les poules), les limaces, les mollusques et les vers, sans que nous puissions affirmer avec certitude s'il n'est pas accompagné du 7-déhydro-cholestérol. Chez les plantes supérieures (graines du cotonnier), la prévitamine est constituée par l'ergostérol que l'on a décelé également dans de nombreux champignons.

Pour finir, je voudrais dire quelques mots des problèmes qui restent encore à résoudre dans le domaine des stérols, des prévitamines et de la vitamine antirachitique. Ce domaine est si étendu et touche à tant d'autres problèmes qu'il est encore loin d'être exploré complètement, malgré le travail considérable déjà effectué. Les formules de structure du cholestérol, de l'ergostérol et du stigmastérol sont en tout cas établies (1). Par contre, un certain nombre de questions d'ordre stérique restent encore obscures et ne seront probablement pas élucidées de sitôt.

Au sujet des sitostérols, qui constituent probablement des mélanges de substances étroitement apparentées, on ne sait pas quelles sont les particularités structurales ou stériques qui les différencient.

Les prévitamines d'origine animale et surtout végétale doivent encore être étudiées d'une façon plus approfondie, et il faut chercher s'il n'existe pas d'autres prévitamines naturelles que celles déjà connues.

Pour faire ressortir plus nettement les relations entre la constitution et l'activité des prévitamines, il faudra en préparer un plus grand nombre par voie semi-synthétique.

En ce qui concerne la prévitamine la plus importante, le 7-déhydro-cholestérol, elle devrait être examinée plus complètement au point de vue chimique. En particulier, l'action de la lumière devrait être étudiée d'une façon approfondie.

Il faudrait déterminer les processus énergétiques et les rendements quantiques de la transformation photochimique de l'ergostérol. Le toxistérol est à préparer à l'état pur. Les suprastérols sont à étudier au point de vue de leur constitution.

Il y a encore trois problèmes à résoudre :

1º Celui de la transformation des stérols en œstrone, c'est-à-dire le problème de l'aromatisation de l'anneau A.

2º Celui de la transformation des stérols en cardiagénines, problème dont la solution semble difficile.

3º Celui de la synthèse complète des stérols.

Enfin, il y a des problèmes physiologiques à résoudre : comment se forment les stérols dans les organes des animaux et végétaux, d'où provient la vitamine D<sub>2</sub> qu'on trouve dans l'huile de foie et quel est le mécanisme de l'action physiologique de la vitamine.

<sup>(</sup>¹) Bien qu'on connaisse la formule de structure de l'ergostérol, certaines de ses réactions sont difficiles à comprendre, surtout sa transformation dite pinaconique et son passage en néo-ergostérol ainsi que la constitution de l'iso-ergostérol.

### DISCUSSION DU RAPPORT DE M. WINDAUS.

M. Heilbron. — Le point de départ des travaux auxquels est consacré ce Rapport a été l'ensemble des observations concernant l'absorption de la lumière par la prévitamine D (¹). On a ensuite publié une série de recherches destinées à élucider la constitution du calciférol (²) et la structure des isomères de l'ergostérol auxquels on arrive par voie photochimique ou thermique, notamment du lumistérol, du tachystérol, du pyrocalciférol et de l'isopyrocalciférol (³). Ces travaux ont été suivis de l'isolement de la vitamine D₃ à partir de l'huile de foie du thon et du flétan (⁴) et de la preuve de l'identité de cette vitamine avec le photoisomère antirachitique du 7-déhydrocholestérol (⁵). On a finalement discuté la question de la spécificité des actions physiologiques attribuables à la structure de la prévitamine D (⁶).

M. Ruzicka. — Il est question dans le Rapport de M. Windaus de données röntgénographiques qui conduiraient pour le calciférol à une formule à quatre anneaux au lieu de trois. Bernal est arrivé à cette conclusion en admettant que l'ouverture de l'anneau B de l'ergostérol doit produire nécessairement un allongement de la molécule, tandis que les röntgénogrammes indiquent que les molécules d'ergostérol et de calciférol ont les mêmes

<sup>(1)</sup> HEILBRON, KAMM et MORTON, J. Soc. Chem. Ind., 45, 1926, p. 932. — ROSENHEIM et WEBSTER, Ibid., p. 932. — Pöhl, Nachr. Ges. Wiss., Göttingen, 1926, p. 142.

<sup>(2)</sup> Heilbron, Samant et Spring, Nature, 135, 1935, p. 1072. — Heilbron et Spring, J. Soc. Chem. Ind., 54, 1935, p. 795. — Windaus et Thiele, Annalen, 521, 1935, p. 160. — Heilbron, Jones, Samant et Spring, J. Chem. Soc., 1936, p. 905. — Windaus et Grundmann, Annalen, 524, 1936, p. 295.

<sup>(8)</sup> HEILBRON, SPRING et STEWART, J. Chem. Soc., 1935, p. 1221. — DIMROTH, Ber., 68, 1935, p. 539. — HEILBRON, MOFFET et SPRING, J. Chem. Soc., 1937, p. 411. — WINDAUS et DIMROTH, Ber., 70, 1937, p. 376.

<sup>(4)</sup> BROCKMANN, Z. physiol. Chemie, 241, 1937, p. 104 et 245, 1937, p. 96.

<sup>(</sup>b) Windaus, Lettre et Schenck, Annalen, 520, 1935, p. 98. — Windaus, Schenck et Werder, Z. physiol. Chemie, 241, 1936, p. 100.

<sup>(6)</sup> BANN, HEILBRON et SPRING, J. Chem. Soc., 1936, p. 1274.

dimensions linéaires. Mais, en réalité, cela n'est pas incompatible avec la formule du calciférol contenant l'anneau B ouvert, car cet anneau peut être situé dans le même plan que le reste de la molécule et occuper une position spaciale analogue à celle de l'anneau fermé de l'ergostérol.

M. Karrer. — Le calciférol contient deux doubles liaisons entre les anneaux A et C. La position spaciale de l'anneau A est, par suite, stabilisée et cela probablement en position cis, car la chaîne aliphatique contenant les deux doubles liaisons provient de l'ouverture d'un anneau (de l'anneau B).

M. Cook. — La discordance des conclusions auxquelles conduisent les mesures cristallographiques par les rayons X et les données chimiques ne permet pas de considérer comme résolu le problème de la structure du calciférol et nécessite un nouvel examen de la question. Les mesures röntgénographiques de Bernal montrent que le calciférol et le dihydrocalciférol ont tous deux des dimensions moléculaires voisines de celles des stérols tétracycliques. Si le calciférol a une configuration trans par rapport à la double liaison de l'anneau C [formule (I)], sa molécule doit être plus allongée que celle du stérol correspondant, tandis que dans le cas d'une configuration, cis, on devrait s'attendre à une molécule beaucoup plus courte. Des mesures récentes effectuées par Langmuir sur des films superficiels ont montré que la molécule de calciférol est, en fait, moins longue que celle du stérol, mais l'écart n'est pas aussi grand que le ferait supposer la formule (II).

Une comparaison cristallographique par les rayons X des composés (III) et (IV) que j'ai préparés par synthèse pourrait peut-être contribuer à la solution de ce problème. Il faut remarquer, toutefois, que la constatation d'une différence entre les dimensions de ces deux molécules ne serait pas décisive en ce qui concerne la structure du calciférol, car l'absence de doubles liaisons dans mes composés rend l'analogie incomplète.

Je me demande, d'autre part, si l'augmentation notable du pouvoir absorbant dans l'ultraviolet du tachystérol par rapport au calciférol n'indiquerait pas une différence de structure plus profonde que celle se ramenant à un simple transfert de la double liaison du groupe méthylène à l'anneau A.

M. Timmermans. — Je désirerais attirer l'attention des membres du Conseil sur la prudence avec laquelle il faut employer les résultats de l'étude des radiogrammes pour élucider la configuration stéréochimique des composés organiques. Celle-ci a généralement été déduite en utilisant des méthodes purement chimiques appliquées aux substances à l'état fluide (vapeur, liquide ou solution), tandis que les radiogrammes nous renseignent sur la structure des cristaux. Or, s'il est évident que l'interprétation de ces derniers résultats doit être en complète harmonie avec les données chimiques proprement dites, il ne faut pas oublier que les nécessités imposées par la symétrie du réseau cristallin peuvent conduire à des restrictions supplémentaires concernant la configuration stéréochimique de la molécule dans le cristal. Ainsi, dans l'exemple suivant :

on peut concevoir l'existence possible d'une infinité de configurations par rotation d'une moitié de la molécule par rapport à l'autre moitié considérée comme se trouvant fixée dans le plan du dessin. Toutes ces configurations sont équivalentes au point de vue chimique, et l'on ne peut isoler qu'une seule substance, ce qui est conforme au principe de la simple liaison mobile de van't Hoff. Mais il n'en est pas de même dans le cristal : là, une seule de ces configurations sera exclusivement représentée. et par des méthodes physiques qui ne détruisent pas le cristal. on pourra chercher à la préciser. Il y a donc ici une stéréochimie des cristaux qui vient s'intégrer dans les cadres moins rigides de la stéréochimie des mêmes molécules étudiées dans les fluides. Et il serait parfaitement possible que l'étude des radiogrammes conduise à admettre que le cristal contient exclusivement des molécules de la configuration trans, sans que cela empêche l'existence en solution d'une proportion notable de molécules cis. Cela est vrai a fortiori pour le composé de M. Cook, qui ne contient pas de doubles liaisons. Si donc les radiogrammes conduisaient à la structure trans dans les cristaux, cela ne pourrait en aucune manière être invoqué comme argument infirmant la structure cis considérée comme probable pour le corps dissous.

# VITAMINES DU TYPE CAROTÉNOÏDE

PAR M. H. VON EULER.

Le présent Rapport concerne l'état actuel de nos connaissances sur les vitamines du type caroténoïde, le premier groupe de substances dont la constitution ait été élucidée (P. Karrer). Conformément au programme de ce Congrès, mon Rapport traitera principalement de la Chimie et de la Biochimie de la vitamine A, pour laquelle Karrer vient de proposer le nom d'« axérophtol » et de ses prévitamines, tandis que les points de vue médicaux seront développés ailleurs.

## I. — Développement des recherches sur la vitamine A.

Je ne puis signaler ici que les principales étapes du développement historique des recherches sur la vitamine A.

Après les recherches fondamentales de Sir Frederik Gowland Hopkins (1) et les observations de Stepp (2) qui datent de la même période, le premier grand progrès dans le domaine des vitamines liposolubles consista dans la démonstration qu'il existe deux vitamines liposolubles différentes; l'une favorise la croissance des jeunes rats (vitamine A), l'autre possède la

<sup>(1)</sup> HOPKINS, J. of Physiol., 44, 1912, p. 425.

<sup>(2)</sup> STEPP, Biochem. Z., 22, 1909, p. 452; Zeitschr. J. Biol., 57, 1911; 59, 1912.

propriété d'influencer la formation des os (Mc Collum et ses collaborateurs) (1).

On a observé que la déficience en vitamine A a pour effet, en premier lieu, chez les hommes et chez les rats, de troubler la croissance et d'amener la xérophtalmie; beaucoup plus tard seulement on reconnut que cette seconde propriété n'est qu'une manifestation secondaire de la diminution générale de la résistance des muqueuses aux infections. La preuve biologique de la présence de la vitamine A fut faite tout d'abord par le test de la croissance; celui-ci était déjà complètement au point en 1929 et conduisit à une connaissance relativement complète de la répartition de la vitamine A. Au cours des années 1925-1928, le diagnostic chimique de la vitamine A se limitait à quelques réactions de coloration, en particulier à la réaction de coloration bleue que prend une solution chloroformique de vitamine A sous l'influence de AsCla, méthode employée d'abord par Drummond et Rosenheim, et qui fut bientôt modifiée par Carr et Price en faisant usage de SbCl3. On emploie encore aujourd'hui utilement cette méthode dans l'étude en série de certains matériaux. Déjà relativement tôt furent faits quelques essais pour établir les relations de la vitamine A avec le carotène [Steenbok (2) et Drummond et Coward (3)], mais l'hypothèse qu'une telle relation existe fut complètement abandonnée par suite des résultats négatifs obtenus de divers côtés (4).

La preuve définitive que le carotène a un effet durable sur la croissance, même en quantités de 5 γ, fut donnée par Euler. Euler et Hellström (<sup>5</sup>) qui ont montré notamment, en collaboration avec Karrer (<sup>6</sup>), par l'emploi d'échantillons très purs,

<sup>(1)</sup> Mc Collum, Simmonds, Becker et Shipley, J. Biol. Chem., 53, 1932, p. 293.

<sup>(\*)</sup> Science, 50, 1919, p. 353. — STEENBOCK et BOUTWELL, J. Biol. Chem., 41, 1920, p. 81.

<sup>(3)</sup> DRUMMOND et COWARD, Biochem. J., 14, 1920, p. 243.

<sup>(4)</sup> DRUMMOND, CHANNON et COWARD, Biochem. J., 19, 1925, p. 1047.

<sup>(\*)</sup> EULER, EULER et HELLSTRÖM, Sv. Kem. Tidskr., 40, 1928, p. 256; Biochem. Z., 203, 1928, p. 370. — Karrer, Euler et Eulen, Sv. Vet. Akad. Ark. f. Kemi, 10 B, no 2, 1928.

<sup>(6)</sup> EULER, DEMOLE, KARRER et WALKER, Helv. Ch. Acta, 43, 1930, p. 1078.

que d'autres caroténoïdes connus à ce moment, qui présentent également la réaction à SbCl<sub>2</sub>, n'ont pas d'influence durable sur la croissance des jeunes rats. La purification soignée et la régénération à partir de dérivés, l'iodure (¹), (²) par exemple, ensuite l'étude spectroscopique comparative du carotène et de l'huile de poisson, enfin des mesures spectrophotométriques sur les combinaisons bleues formées avec SbCl<sub>3</sub>, ont démontré que c'est le carotène lui-même et non les impuretés dont il pourrait être souillé, qui est l'agent actif dans la vitamine A.

En même temps, cependant, ces réactions ont démontré que, dans le liquide hépatique, ce n'est pas le carotène lui-même, mais une autre substance probablement très proche de lui, qui produit les effets de la vitamine A. Lorsqu'en 1930 Moore (3) eut découvert que le carotène ingéré par le sujet en expérience a pour effet l'accumulation de vitamine A dans le foie, la relation entre les deux substances fut démontrée.

### II. - Découverte de la constitution du carotène.

De cette manière le carotène, cet hydrocarbure non saturé, qui avait déjà fait l'objet d'études approfondies, a pris une importance nouvelle.

Ce sont surtout les travaux de Karrer et de ses collaborateurs (4) sur le carotène extrait de carottes, qui ont établi la constitution de ce corps. La connaissance de la formule brute C<sub>40</sub> H<sub>56</sub> (Willstätter) et la preuve de l'existence de onze doubles liaisons (5) ont démontré que la formule doit contenir deux cycles. Par

<sup>(1)</sup> Euler, Karren, Hellström et Rydnom, Sv. Kem. Tidskr., 43, 1931, p. 105.

<sup>(2)</sup> Kuhn et Brockmann, Ber, 64, 1930, p. 1859.

<sup>(3)</sup> MOORE, Lancet, 23, 1929, p. 380; Biochem. J., 24, 1930, p. 692.

<sup>(4)</sup> Karrer et Helfenstein, Helv. Acta, 12, 1929, p. 1142. — Karrer, Helfenstein, Wehrli et Wettstein, Helv. Acta, 13, 1930, p. 1084. — Karrer et Morf, Helv. Acta, 14, 1931, p. 1033.

<sup>(5)</sup> ZECHMEISTER, CHOLNOKY et VRALÉLY, Ber, 61, 1928, p. 566; 66, 1933, p. 123.

dégradation oxydante, d'abord au permanganate alcalin, Karrer a obtenu les acides

2. 2-Diméthylsuccinique.

z, z-Diméthylglutarique.

Par dégradation à l'ozone on a obtenu en outre de l'acide géronique

De cette façon on reconnut qu'un cycle du carotène était identique à celui de la β-ionone. A la suite d'expériences quantitatives de comparaison entre la \(\beta\)-ionone et le \(\beta\)-carotène (les isomères du carotène avaient été découverts dans l'intervalle), il devint évident qu'une molécule de carotène fournit presque deux fois autant d'acide géronique qu'une molécule (1) de β-ionone; il en résulte que le β-carotène contient deux de ces cycles, conclusion à laquelle Karrer avait également abouti à partir d'autres considérations (2).

<sup>(1)</sup> Kannen et More, Helv. Acta, 14, 1931, p. 1033.

<sup>(2)</sup> KARRER, HELFENSTEIN, WEHRLI et WETTSTEIN, Helv. Acta, 13, 1930, p. 1084.

L'oxydation permanganique fournit, outre les acides cités plus haut, également 4 molécules d'acide acétique. Or, dans les conditions de l'expérience, seul le radical =CH—C= fournit de l'acide

CH<sub>3</sub>

acétique avec un rendement quantitatif; Karrer en a conclu que sur les deux cycles (¹) du carotène, se fixent quatre radicaux isoprène. Les différents résultats ont conduit Karrer à la formule suivante :

qui est celle du β-carotène comme on le sait aujourd'hui.

Cotte formule met en évidence la parenté intime (2) avec l'isoprène, que Willstätter et Mieg avaient déjà admise et que Karrer et Salomon (3) et Kuhn et Winterstein (4), avaient déjà mise en lumière pour d'autres caroténoïdes. Les huit radicaux isoprène, dont deux entrert dans la formation de chaque cycle, ne sont pas, comme on le voit, simplement enchaînés l'un à l'autre. La formule de Karrer est symétrique et il admet donc une inversion du radical isoprène lui-même au centre de la molécule, ce qui fait penser à une formation du carotène dans les tissus par condensation de deux molécules formées chacune de quatre radicaux isoprène. Cet important principe d'inversion de radical a d'abord été vérifié par Karrer pour un très proche parent du carotène, le lycopène, et pour le squalène.

La formule symétrique du lycopène (Karrer, Helfenstein, Wehrli, et Wettstein) a pu être démontrée, parce qu'on a réussi

<sup>(1)</sup> Kuhn, Winterstein et Karlovitz, Helv. Acta, 12, 1929, p. 66. — Karrer et Helpenstein, Helv. Acta, 12, 1929, p. 11/3. — Pummerer et Rebmann, Ber., 66, 1933, p. 798.

<sup>(4)</sup> WILLSTTÄTER et MIEG, Lieb. Ann., 355, 1907, p. 1.

<sup>(</sup>a) Karrer et Salomon, Helv. Acta, 10, 1927, p. 397; 15, 1932, p. 1218.

<sup>(4)</sup> Kuhn et Winterstein, Helv. Acta, 11, 1928, p. 427.

à obtenir plus d'une molécule d'acétone par l'oxydation ménagée de ce caroténoïde à l'aide d'ozone : ceci démontre que les deux extrémités de cette longue molécule ont la même constitution

Le squalène est un triterpène aliphatique extrait de l'huile de foie de requin, qui est très proche parent des caroténoïdes; ses produits de dégradation ont été mis en évidence par Heilbron (1) et par Karrer, et sa constitution parfaitement symétrique a été démontrée par Karrer et Helfenstein (2), en réalisant sa synthèse à partir de deux molécules de bromure de farnésyle

Karrer a encore pu confirmer la formule du carotène en se basant sur celle de la vitamime A qu'il avait proposée dès 1931 et qu'il a démontrée définitivement en 1933 par la synthèse du dérivé perhydrogéné. Comme je l'ai déjà signalé, Moore a démontré la transformation in vivo du carotène en vitamine A; si l'on accepte les formules de Karrer, cette transformation correspond tout simplement à une scission de la molécule par hydrolyse.

Heilbron, Owens et Simpson, J. Chem. Soc., 1929, p. 873. — Heilbron et Thompson, 1929, p. 887.

<sup>(2)</sup> KARRER et HELFENSTEIN, Helv. Acta, 14, 1931, p. 78.

En 1935, Kuhn et Brockmann (1) ont encore confirmé la formule de Karrer pour le carotène en opérant par oxydation progressive et ménagée à l'aide d'acide chromique ou de tétracétate de Pb, de manière à obtenir l'aldéhyde β-carotinique. Cette oxydation a lieu en passant au moins par quatre produits inter-

1º Le β-oxycarotène qui avait été reconnu auparavant comme un glycol dont deux groupes OH sont fixés à la double liaison (²) de l'un des cycles ionone.

<sup>20</sup> La semi-β-carotinone, dans laquelle les deux groupes OH du β-oxycarotène ont été oxydés en radicaux CO avec rupture du cycle; cette combinaison avait déjà été obtenue auparavant par oxydation chromique du β-carotène.

(1) Kuhn et Brockmann, Lieb. Ann., 516, 1935, p. 15.

médiaires qui ont tous été isolés.

<sup>(2)</sup> Kuhn et Brockmann, Ber, 65, 1932, p. 894; 67, 1934, p. 1408. — Kannen, Euler et Solmssen, Helv. Acta, 47, 1934, p. 1169.

3º La β-oxy-semi-carotinone et la β-carotinone dans laquelle le second cycle d'ionone a également subi l'oxydation précédente.

Par une oxydation ultérieure l'un des radicaux ionone est éliminé et l'on obtient l'aldéhyde β-carotinique C<sub>27</sub>H<sub>36</sub>O<sub>3</sub> et par passages successifs à la monoxime et au nitrile on aboutit à l'amide anhydroazafrinonique. Par saponification partielle du nitrile à l'état d'amide, le cycle du second radical ionone s'est fermé avec perte d'eau, ce qui conduit à un radical cyclopenténique

Le fait que ces produits intermédiaires et l'aldéhyde β-carotinique elle-même n'ont jamais pu être retrouvés que sous une même forme, confirme la découverte de Karrer suivant laquelle la formule du β-carotène est symétrique.

Kuhn et Brockmann ont réussi à préparer la même amide à partir d'azafrine et de la sorte la constitution de ce corps est ramenée à celle du β-carotène.

Enfin, par oxydation ménagée de l'azafrine, Kuhn et Brockmann sont parvenus à déterminer la position des radicaux méthyle fixés latéralement sur la chaîne polyénique et ont démontré à ce point de vue également le bien-fondé de la formule de Karrer.

# III. - LES ISOMÈRES DU CAROTÈNE COMME PRÉVITAMINES.

Déjà en 1929 (1), on avait montré que par des recristallisations répétées du carotène, la température de fusion indiquée par Willstätter pouvait être notablement élevée et Karrer en avait

KARRER, Z. angew. Chem., 42, 1929, p. 933. — EULER, KARRER et Rydbom, Ber., 62, 1929, p. 2447.

déduit la probabilité d'existence d'un mélange d'isomères. En 1931, Karrer (1) d'une part et Kuhn et Lederer de l'autre (2) sont parvenus simultanément à séparer par fractionnement le carotène de différentes origines en deux constituants : le β-carotène optiquement inactif et peu soluble et l'a-carotène très soluble et dextrogyre. Kuhn et Lederer ont purifié les deux isomères par un processus d'absorption fractionnée (analyse chromatographique d'après Tswett). Le 3-carotène est de loin le plus répandu dans la nature et se rencontre même souvent sans être souillé d'a-carotène dans les feuilles d'ortie, les épinards et l'herbe; l'α-carotène fut préparé à l'état de pureté complète lorsque Karrer et Walker (3) eurent découvert deux absorbants particulièrement efficaces pour l'analyse chromatographique de ces substances, l'hydrate et l'oxyde de calcium; ils réussirent de la sorte à obtenir une séparation presque quantitative des deux composants à la suite d'une seule opération.

Plus tard, Kuhn et Brockmann (4) ont découvert un troisième isomère également optiquement înactif, le γ-carotène qui ne représente qu'une très petite fraction, environ 1/1000e de la plupart des mélanges de carotènes. L'isolement de ce polyène montre de nouveau les services éminents que peut rendre la méthode chromatographique; un adsorbant particulièrement favorable pour le γ-carotène est Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub>.

Un quatrième isomère dont la constitution n'est pas encore connue n'est pas une prévitamine A.

Constitution des carotènes α, β et γ. — Après avoir préparé le β-carotène pur, Karrer et Morf l'ont soumis au même processus d'oxydation ménagée appliqué précédemment au carotène brut. Ils découvrirent ainsi que la formule donnée précédemment

<sup>(1)</sup> KARRER, HELFENSTEIN, WEHRLI, PIEPER et MORF, Helv. Acta, 14, 1931, p. 614. — KARRER, EULER et HELLSTRÖM, Sv. Akad. Ark. f. Kemi., 10 B, no 15, 1931.

<sup>(2)</sup> Kunn et Lederen, Naturwiss., 19, 1931, p. 306; Ber., 64, 1931, p. 1349.

<sup>(8)</sup> KARRER et WALKER, Helv. Acta, 16, 1933, p. 641. — KARRER, WALKER, Schöpp et Morf, Nature, 132, 1933, p. 26.

<sup>(4)</sup> Kunn et Brockmann, Ber., 66, 1933, p. 407.

convient pour le β-carotène et rend compte de son inactivité optique.

Karrer, Morf et Walker (1) en soumettant à l'oxydation l' $\alpha$ -carotène ont obtenu, parmi les produits observés dans la dégradation du  $\beta$ -carotène, de l'acide isogéronique; ils en ont déduit la formule suivante qui contient un cycle d' $\alpha$ -ionone et un de  $\beta$ -ionone, ce qui explique l'activité optique de ce corps :

Acide isogéronique.

Pour le γ-carotène Kuhn et Brockmann ont proposé la formule suivante qui explique la formation d'une molécule d'acétone au cours de la dégradation par oxydation:

Les trois isomères possèdent l'activité de la vitamine A, plus forte chez le composé β, plus faible et égale chez les deux autres.

<sup>(1)</sup> KARRER, MORF et WALKER, Helv. Acta, 16, 1933, p. 975.

# Comparaison des propriétés des prévitamines A naturelles (1).

	α-carotène.	β-carotène.	γ-carotène.	Crypto- xanthine.	Échiné- none.
Formule  Point de fusion corresp. (°) [\alpha] dans le benzol	$C_{40} H_{56}$ $187-188$ $+385$	C <sub>40</sub> H <sub>56</sub> 183–184	C40 H56	C <sub>40</sub> H <sub>56</sub> O	C <sub>40</sub> H <sub>58</sub> O±H 192-193
Maximum d'absorption : dans la benzine (mµ)	478-477,5	483,5–485 452, 424	495, 46 <sub>2</sub> 43 <sub>1</sub>	485, 452 ) 424	9 -
1	.,,	520-521 484-485,5, 452 590(5>8, 493, 465	533, 496 463 ) 590	520, 484 452	520, 488 450
Nombre de cycles	2 actif	2 très actif	ı actif	2 actif	2 actif

Chevalier, Dubouloz et Manuel (3) ont étudié les produits de dégradation de la vitamine A par des réactions photochimiques.

Dans le chloroforme et les hydrocarbures, le carotène est monomoléculaire, avec l'eau il fournit non pas de vraies solutions mais des solutions colloïdales. L'état du carotène dans les solutions formées par les liquides de l'organisme est d'un grand intérêt biologique pour apprécier de quelle manière le carotène pénètre dans le sang et est transformé ensuite en vitamine A et éventuellement en d'autres substances importantes au point de vue physiologique. Comme l'étude du spectre le démontre, le carotène ne se trouve pas dans le sang sous forme colloïdale. Il paraît important de rappeler que l'on peut dissoudre le carotène dans l'eau sous l'action de sels de l'acide gallique (4), soit qu'on le fonde avec un excès d'acide gallique et qu'on triture ensuite le

<sup>(1)</sup> ZECHMEISTER, Chem. u. Techn. des Fetteu. Fett-produkte, Band I, Abt VII, Lipochrom und Vitamin A, p. 149 (Springer 1936). — Rudy, Naturwiss, 24, 1936, p. 497.

<sup>(2)</sup> Voir Karrer, Walker, Schoen et Morf, Nature, 132, 1933, p. 26.
(3) Chevallier, Dubouloz et Manuel, C. R. Soc. Biol., 121, 1936, p. 1495. — Chevallier et Dubouloz, Bull. Soc. Chim. Biol., 18, 1936, p. 703.

<sup>(4)</sup> EULER et KLUSSMANN, Sv. Vet. Akad. Kemi. Ark., t. 11, no 17, 1933; Z. physiol. Chem., 219, 1933, p. 215; 213, 1932, p. 21.

produit de la fusion avec une solution alcaline diluée, soit qu'on agite le carotène en poudre fine et à chaud avec une solution à 1 pour 100 d'acide gallique. Dans de telles solutions le carotène est excessivement sensible à l'action de l'oxygène (1).

### IV. - LES AUTRES PRÉVITAMINES A.

a. Les prévitamines A naturelles. — Outre les trois isomères précédents du carotène, il existe deux autres prévitamines A naturelles : la cryptoxanthine (²) et l'échinénone (³); de même que l'α et le γ-carotène ces deux composés contiennent un cycle de β-ionone intact.

La cryptoxanthine peut être considérée comme un monooxy-β-carotène et est donc une phytoxanthine. Elle a d'abord été extraite de différents coquerets, et d'après Kuhn et Grundmann constitue le principal caroténoïde de croissance actif du maïs jaune.

La séparation de la cryptoxanthine du β-carotène et de la zéaxanthine réussit le mieux par chromatographie à l'oxyde d'aluminium. La zéaxanthine est retenue dans le haut de l'appareil, la cryptoxanthine dans le milieu et le carotène dans le bas. La séparation de la lycopine réussit le mieux à l'aide du carbonate de calcium.

Le caroténoïde de croissance particulièrement actif que l'on trouve dans le froment et particulièrement dans l'embryon, parait être la cryptoxanthine; on ne l'a pas définitivement identifié jusqu'ici (4).

L'échinénone que Lederer a extraite des capsules génitales de l'oursin (*Echinus esculentus*) possède la composition C<sub>40</sub>H<sub>58</sub>O±H<sub>2</sub>; d'après son spectre elle occupe une position intermédiaire entre le carotène et la semi-β-carotinone décrite plus haut et serait donc une monocétone. Température de fusion 192-193°. Dans

<sup>(1)</sup> DRUMMOND et WALTER, J. of. Physiol, 83, 1934, p. 236.

<sup>(2)</sup> Kuhn et Grundmann, Ber., 66, 1933, p. 1746; 67, 1934, p. 593.

<sup>(</sup>a) LEDERER et MOORE, Nature, 137, 1936, p. 996.

<sup>(4)</sup> Euler et Malmberg, Biochem. Z., 284, 1936, p. 238.

le processus d'isolement on retrouve l'échinénone dans la couche de pétrole.

b. Les dérivés artificiels du carotène comme prévitamines A. — Parmi les dérivés du carotène actifs sur la croissance, il faut citer tout d'abord le terme d'oxydation inférieure du carotène : l'oxyde de carotène C<sub>40</sub>H<sub>56</sub>O (¹); on l'obtient sous forme d'un joli produit cristallisé par l'action d'une molécule d'acide perbenzoïque sur une molécule de β-carotène. L'atome d'oxygène vient très probablement s'intercaler dans le cycle des atomes de carbone à l'emplacement de la double soudure, comme le montre la formule suivante :

L'autre cycle reste inaltéré.

On a déjà (p. 127) décrit d'autres produits d'oxydation qui possèdent un cycle  $\beta$ -ionone inaltéré. Ils sont actifs sur la croissance, contrairement à la  $\beta$ -oxy-semi-carotinone et à la  $\beta$ -carotinone déjà mentionnés où ce second cycle a été également oxydé. La monoxime et le dérivé anhydre de la semi- $\beta$ -carotinone sont également des prévitamines  $\Lambda$ .

Sont également des prévitamines A :

- Le dihydro-β-carotène (²);
- Le dihydro-z-carotène (²);
- Le diiodo-carotène (3);
- Et enfin des produits de la réaction de PBr<sub>3</sub> sur la xanthophylle et la zéaxanthine (4).

(1) EULER, KARRER et WALKER, Helv. Acta, 15, 1932, p. 1507.

<sup>(2)</sup> EULER, KARRER, HELLSTRÖM et RYDBOM, Helv. Arkiv. Acta, 14, 1931, p. 839. — KARRER, EULER et HELLSTRÖM, Sv. Vetl. Akad. j. Kemi, 10 B, no 13, 1931.

<sup>(3)</sup> EULEB, KARRER et RYDBOM, Ber, 62, 1929, p. 3445. — KARRER, SOLMSSEN et WALKER, Helv. Acta, 17, 1934, p. 418.

<sup>(4)</sup> EULER, KARRER et ZUBRYS, Helv. Acta, 17, 1934, p. 24.

Toutes les prévitamines A, naturelles ou artificielles, ont ceci de commun qu'elles contiennent au moins un cycle de β-ionone inaltéré, et inversement tous les caroténoïdes inactifs étudiés jusqu'ici ne contiennent pas le cycle β-ionone non substitué. Pour vérifier la valeur générale de cette règle Karrer et Solmssen ont préparé des produits d'oxydation de l'α-carotène et ont étudié leur activité sur la croissance (Karrer, Euler et Solmssen) (¹). Ils ont montré de la sorte que l'oxydation attaque de préférence le cycle β-ionone et que les produits de la réaction qui ne contiennent plus qu'un cycle d'α-ionone inaltéré ont perdu leur activité à ce point de vue. Comme le montre la formule, la vitamine A (p. 127) de l'huile de foie de morue contient également un cycle β-ionone; il est donc improbable qu'on y découvre une α-vitamine A.

Pour les actions physiologiques et les doses minimum, voir p. 145 et 155.

### V. — LA FORMATION DES PRÉVITAMINES À DANS LES TISSUS.

On a signalé à la page 125 que le carotène est formé par la condensation de deux fois quatre radicaux d'isoprène déshydrogénés; il peut être intéressant de rappeler à ce point de vue la synthèse du perhydrolycopène que Karrer, Helfenstein et Widmer (2) sont parvenus à réaliser à partir de deux molécules de bromure de dihydrophytyle (on obtient cette substance à partir du phytol)

Le rapport très important au point de vue biochimique entre la lycopine et le phytol (formule p. 125) est donc devenu très vraisemblable et puisque le squelette carboné du carotène ne diffère

<sup>(1)</sup> KARRER, EULER et Solmssen, Helv. Acta, 17, 1934, p. 1165.

<sup>(2)</sup> KARRER, HELFENSTEIN et WIDMER, Helv. Acta, 11, 1928, p. 1201.

de celui de la lycopine que par la fermeture de deux cycles, les mêmes considérations peuvent également valoir pour le carotène.

La formation simultanée du carotène et de la chlorophylle par éclairement des jeunes pousses étiolées du froment a été découverte par Euler et Hellström (1). D'après Euler et Klussmann (2) des caroténoïdes apparaissent souvent là où a lieu l'assimilation et l'on doit envisager que les mêmes systèmes d'enzymes interviennent dans la formation de la chlorophylle et du carotène, et parmi eux celui de l'oxydo-réduction; d'autres catalyseurs agissent sans doute en commun dans ces deux réactions.

On peut souvent observer sur des fruits en maturation, même isolés, la disparition de la chlorophylle avec formation simultanée de colorants polyéniques. Cependant Kuhn et Brockmann (\*) ont constaté que le phytol libéré à partir de la chlorophylle est tout à fait insuffisant en quantité pour la formation des caroténoïdes; mais Zechmeister (\*) prétend que l'existence du phytol est parfaitement possible indépendamment de la chlorophylle; ceci changerait complètement le bilan matériel de la synthèse biochimique. Kuhn et Grundmann (\*) envisagent la possibilité qu'un diterpène aliphatique inconnu ou l'un de ses dérivés constituerait le produit intermédiaire commun dans la formation du carotène et du phytol, manière de voir que Karrer, Helfenstein et Widmer (\*) ont déjà défendue.

Euler (7) [ainsi que Euler et Klussmann, Bernhauer et Irrgang (8)] discutent la formation de chaînes polyéniques, ainsi que la formation de cycles du type géraniol, par condensation

<sup>(1)</sup> EULER et HELLSTRÖM, Z. physiol. Chem., 183, 1929, p. 177.

<sup>(2)</sup> EULER et KLUSSMANN, Sv. Kemisk. Tidskr., 44, 1932, p. 198.

<sup>(</sup>a) Kuhn et Brockmann, Z. physiol. Chem., 206, 1932, p. 411.

<sup>(4)</sup> Zechmeister, Carotinoïde, Berlin, 1934, p. 19.

<sup>(5)</sup> KARRER, HELFENSTEIN et WIDMER, loc. cit. — KARRER et TACKAHASHI, Helv. Acta, 16, 1933, p. 287.

<sup>(6)</sup> Kunn et Grundmann, Ber., 65, 1932, p. 1880.

<sup>(7)</sup> Eulen, Grundl. u. Ergbn. d. Pflanzenchemie, Vieweg u. Sohn, Braunschweig, Teil III, 1900, p. 219.

<sup>(6)</sup> Bernhauer et Irrgang, Lieb. Ann., 525, 1936, p. 43.

aldolique de l'aldéhyde méthyl-crotonique. Dans mon traité de Chimie végétale, j'ai exprimé cette manière de voir de la facon suivante : « Nous admettons qu'ici également une décomposition partielle de la molécule de sucre précède la véritable synthèse et que l'acétaldéhyde et la dioxyacétone se trouvent parmi les produits de décomposition. Éventuellement, ce dernier corps sera réduit jusqu'à l'état de cétone, mais seulement après que l'enchaînement moléculaire a eu lieu. L'aldéhyde et l'acétone se combinent sous forme d'aldéhyde \$-méthylcrotonique dont deux molécules subissent une condensation aldolique; un processus de réduction modérée conduit directement à la formation de géraniol..., tandis que dans la synthèse des matières grasses, les chaînes carbonées normales proviennent de la simple condensation aldéhydique; d'après nous la formation de chaînes latérales dans les terpènes résulterait de la part prise par l'acétone dans la condensation... lorsque l'aldéhyde β-méthylcrotonique subit une ou plusieurs condensations aldoliques il doit se former évidemment des corps dont le nombre d'atomes de carbone est un multiple de cinq. »

Les conditions dans lesquelles se produit la condensation de l'aldéhyde crotonique signalée dans le travail d'Euler et Klussmann ne sont pas encore éclaircies.

## VI. - Constitution et synthèse de la vitamine A.

En même temps que les recherches pour établir la formule des isomères du carotène, commença le travail de détermination de la formule de la vitamine A.

Les premiers essais (1) exécutés avec de l'huile de foie de morue avaient montré que, pour la préparation de la vitamine A pure, il était indispensable de choisir une matière première de forte concentration; Euler et Karrer examinèrent ensuite un grand nombre d'huiles de divers poissons et firent usage tout d'abord d'huile de foie d'hippoglossus et ensuite de celle de Sombresox saurus.

<sup>(1)</sup> DRUMMOND et BAKER, Biochem. J., 23, 1929, p. 274.

Par saponification dans une atmosphère d'azote, élimination des cristaux de stérol et adsorption sur de l'alumine en filaments, Karrer (¹) réussit à préparer un extrait donnant une réaction de Carr-Price environ cinq cents fois plus forte que le produit original; un peu plus tard Heilbron et ses collaborateurs (²) obtinrent le même résultat par distillation dans un vide très poussé (0,000016 de millimètre à 137-1380).

Lorsqu'un extrait déjà très pur eut été ainsi obtenu par distillation, Karrer, Morf et Schöpp réussirent à établir la formule de la vitamine A.

L'extrait de vitamine A, encore purifié davantage par adsorption fractionnée, peut être estérifié; on a donc affaire à un alcool. L'analyse élémentaire et la détermination du poids moléculaire rendaient très probable la formule brute  $C_{20}$   $H_{30}$  O. Par dégradation à l'aide d'ozone Karrer obtint de l'acide géronique, comme à partir de  $\beta$ -carotène, ce qui démontre la présence d'un cycle de  $\beta$ -ionone. Le nombre de doubles soudures, ainsi que la quantité d'acide acétique fournie par oxydation chromique ou permanganique, conduisirent Karrer à la formule suivante :

Vitamine A.

L'exactitude de cette formule fut démontrée définitivement en 1933 par l'élégante synthèse de la perhydrovitamine A réalisée par Karrer et ses collaborateurs (³). Le processus de synthèse est le suivant : comme précédemment on part de l'ester β-ionylydène acétique (formule 1), synthétisé à partir de β-ionone et de l'ester bromacétique suivant Reformatski (4).

<sup>(1)</sup> KARRER, MORF et Schöpp, Helv. Acta, 14, 1931, p. 1037 et 1131.

<sup>(2)</sup> HEILBRON, HESLOP, MORTON, WALKER, REA et DBUMMOND, Biochem. J., 26, 1932, p. 1178.

<sup>(3)</sup> KARRER, MORF et Schöpp, Helv. Acta, 16, 1933, p. 557. — KARRER et Morf, Helv. Acta, 16, 1933, p. 625.

<sup>(4)</sup> KARRER, SALOMON, MORF et WALKER, Helv. Acta, 15, 1932, p. 878.

Le produit synthétique a été comparé de façon rigoureuse avec la perhydrovitamine A obtenue par réduction de la vitamine A et actuellement leur identité est absolument démontrée.

La chimie des caroténoïdes nous a donc appris que les substances étudiées jusqu'ici, dont l'action physiologique est celle de la prévitamine A, contiennent toutes le radical β-ionone; on peut admettre que la présence de ce radical est indispensable aussi dans la vitamine A pour que l'action physiologique se produise. Afin de se rendre compte si, ou à quel point, la chaîne latérale peut être transformée sans que cesse l'action physiologique caractéristique, on a réalisé la synthèse de plusieurs substances proches parents de la vitamine A.

Comme je l'ai indiqué plus haut, déjà en 1932 Karrer et ses collaborateurs avaient fait la synthèse d'un éther à trois doubles liaisons par l'action de la β-ionone sur l'acide bromacétique en présence de Zn (synthèse de Reformatski) [formule (I), p. 138]; le chlorure acide correspondant donne (Karrer et Morf) avec l'iodure de zinc-méthyle une cétone à trois doubles liaisons, la β-euionone [formule (II)] qui par réduction donne l'alcool de formule (III).

D'après Davies, Heilbron, Jones et Lowe (1), l'alcool primaire, à 15 atomes de carbone, correspondant à (III), est également inactif au point de vue physiologique.

L'euionone fut à son tour soumise à la synthèse de Reformatski et l'acide ainsi obtenu qui contenait quatre doubles liaisons, traité par l'iodure de zinc-méthyle, fournit une nouvelle cétone à quatre doubles liaisons [formule (IV)].

<sup>(1)</sup> DAVIES, HEILBRON, JONES et Lowe, J. Chem. Soc., 1935, p. 584.

$$H_3C$$
  $CH_3$   $CH_3$   $CH_3$   $CH_3$   $CH_3$   $CH_4$   $C-CH=CH-C=CH-CO$   $C-CH_3$   $C-CH_3$ 

Les combinaisons (II), (III) et (IV) n'ont pas d'action sur la croissance (1).

A la suite de leur étude sur les terpènes et des terpénoïdes Ruzicka et Fischer (2) ont réalisé l'intéressante synthèse de la tétrahydrovitamine A. La substance servant de point de départ est la dihydro-β-ionone; les principaux stades de ce processus de synthèse sont les suivants : condensation de cette cétone avec l'acétylène, réduction du carbinol acétylénique formé à l'état de composé éthylénique, et transformation de celui-ci, suivant le schéma bien connu de la transformation du linalool en géraniol.

$$H_2$$
  $C$   $CH_3$   $CH_3$   $CH_3$   $CH_3$   $CH_4$   $C-CH_2-CH_2-C=CH-CH_2-CH_2-CH_3$   $C-CH_3$   $C-CH_3$   $C-CH_3$   $C-CH_3$   $C-CH_4$   $C-CH_5$   $C-C$ 

Cette substance ne contient pas de doubles liaisons conjuguées; aucune activité sur la croissance n'est à prévoir, c'est ce qui fut vérifié expérimentalement.

Une dihydro-vitamine A synthétisée par Gould junior est également inactive au point de vue physiologique

(2) RUZICKA et FISCHER, Helv. Acta, 17, 1934, p. 633.

<sup>(1)</sup> KARRER et MORF, Helv. Acta, 15, 1932, p. 883; 17, 1934, p. 3.

On n'a donc pas réussi jusqu'ici à découvrir une combinaison jouissant de l'activité de la vitamine A et qui contienne moins de cinq doubles liaisons conjuguées (1).

Karrer (2) a préparé récemment le β-carotinal, qui possède une forte activité de vitamine A, d'après les mesures effectuées à l'Institut de Stockholm

Différents essais pour la synthèse de la vitamine A elle-même ont été entrepris notamment par Davies, Heilbron, Jones et Lowe (3) et par Fuson et Christ (4), mais ils n'ont pas abouti à une substance active sur la croissance.

Cette année cependant Kuhn et Morris (5) ont annoncé qu'ils avaient réussi la synthèse de la vitamine A. La substance n'a pas encore été isolée; d'après l'intensité de la réaction de Carr-Price, le produit obtenu contiendrait 7,5 pour 100 de vitamine A pure. Ce produit fournit avec SbCl<sub>3</sub> une solution bleu foncé dont la bande d'absorption se trouve à la même place (606<sup>mµ</sup> au spectroscope à réseau Löwe-Schumm) qu'une vitamine naturelle extraite de l'huile de foie de morue et examinée dans les mêmes conditions.

Enfin des essais d'alimentation à l'aide du produit synthétique ont montré qu'il possède les mêmes propriétés que la vitamine naturelle, quant au rapport des unités C.L.O. de la réaction Carr-Price et de l'action physiologique.

Ces auteurs sont partis de l'ester β-ionylydène acétique de Karrer [formule (I)]; par l'action de l'o-CH<sub>5</sub>C<sub>6</sub>H<sub>4</sub>NHMgI on prépare

<sup>(1)</sup> Sur un ester de la vitamine cristallisé et capable d'influencer la croissance, Hamano, Sc. Papers, Tokyo, 26, 1935, p. 87; 32, 1937, p. 44.

<sup>(2)</sup> KARRER et SOLMSSEN, Helv. Acta, 20, 1937, p. 682.

<sup>(2)</sup> DAVIES, HELBRON, JONES et Lowe, J. Chem. Soc., 1935, p. 584.

<sup>(4)</sup> Fuson et Christ, Science, 84, 1936, p. 294.

<sup>(5)</sup> Kunn et Morris, Ber., 70, 1937, p. 853.

l'o-toluidide [formule (II)], qui en passant par le chlorure d'imide [formule (III)] et la base de Schiff [formule (IV)] fournit la β-ionyly-dène-acétaldéhyde [formule (V)]. Celle-ci, en présence du catalyseur à la pipéridine de Hoffer et Badstübner, donne lieu, avec la β-méthyl-crotonaldéhyde [formule (VI)], à la synthèse polyénique qui conduit à l'aldéhyde [formule (VII)] cinq fois non saturée. Cette dernière n'a pas encore pu être isolée à l'état de pureté. Elle a été réduite à l'état d'alcool correspondant, c'est-à-dire en vitamine A [formule (VIII)].

### VII. — Propriétés de la vitamine A.

Il n'a pas été possible jusqu'ici d'obtenir une vitamine A à l'état cristallisé; la préparation la plus pure fournit une huile jaune claire. Elle est caractérisée par son spectre dans l'ultraviolet; l'absorption présente un maximum caractéristique à 328m4 (1).

Avec SbCl, en solution chloroformique la vitamine A donne une coloration bleue (réaction de Carr-Price) qui ne peut être différenciée directement de la coloration produite par les caroténoïdes; ce n'est que par la différenciation des maxima optiques que cette réaction devient spécifique. La bande d'absorption caractéristique se trouve à 622-620m4, son coefficient d'extinction maximum ε est 5000 d'après Carr et Jewell (2) tandis que Heilbron a trouvé 4650 (3). Les différents auteurs ne sont pas d'accord au sujet d'une seconde bande à 583m4. Pour une troisième à 693my, Carr et Jewell indiquent un coefficient d'extinction de 465, tandis que Heilbron donne 450.

Par l'emploi d'hydrate de calcium comme adsorbant, Karrer (4) a réussi à diviser en deux parties la préparation la plus pure obtenue jusque là pour la vitamine A.

1º La fraction principale, la fraction β, possède tous les caractères physiologiques et analytiques de la vitamine A, ainsi que son absorption caractéristique dans l'U.V.; le produit de sa réaction avec SbCl3 possède seulement la bande 620-622 m2.

20 Une fraction beaucoup plus petite, la fraction α, ou hepaxanthine, possède une bande d'absorption dans l'U.V. à 270mp et donne une coloration violette avec SbCla dont le maximum d'absorption se trouve à 580mp. On possède peu d'autres renseignements sur les propriétés de cette fraction. Déjà précédemment

<sup>(1)</sup> MORTON et HEILBRON, Biochem. J., 22, 1928, p. 987.

<sup>(2)</sup> Carr et Jewell, Nature, 131, 1933, p. 92.

<sup>(3)</sup> Heilbron, Biochem. J., 26, 1932, p. 1178.

<sup>(4)</sup> KARRER et MORF, Helv. Acta, 16, 1933, p. 625. - KARRER, EULER et Zubrys, Id., 17, 1934, p. 24 et 28. - Van Eekelen, Emmerie, Julius et Wolff, Proc. Kon. Akad. Wetensch., 35, nº 10, 1932, p. 1347.

Heilbron, Gillam et Morton (1) avaient découvert que les bandes d'absorption à 572-583 et à 606-620<sup>mp</sup> ne possèdent pas toujours la même intensité relative; ces auteurs parlent d'un vieillissement du produit qui consisterait en un renforcement de la bande 606<sup>mp</sup>.

Mais ce « vieillissement » ne correspond pas à un affaiblissement de la bande  $572^{m\mu}$  et la bande  $328^{m\mu}$  n'en est pas non plus affectée. Toutefois dans sa monographie The application of absorption spectra to the study of vitamins and hormones, Hilger, London 1934, Morton attribue aux maxima 620 et  $583^{m\mu}$  les coefficients d'extinction

$$\mathcal{E}_{1^{\text{cm}^2}}^{1^{\text{0}/_0}} \quad \begin{array}{l} 620^{\text{m}\mu} = 5000, \\ 583^{\text{m}\mu} = 2600. \end{array}$$

Comme on l'expliquera plus loin en détail la question de l'homogénéité de la vitamine A n'est pas encore résolue; peutêtre est-ce là que l'on trouvera l'explication de la variabilité des constantes (2).

### VIII. - PASSAGE DU CABOTÈNE A LA VITAMINE A.

Chez le rat vivant le carotène se transforme en vitamine A, comme l'ont démontré sans réserve les expériences fondamentales de Moore (3). Ses premières expériences furent souvent étendues et complétées surtout par ce savant lui-même. Il est à remarquer que la capacité du foie, de transformer le carotène en vitamine A, est très différente chez les divers animaux. Il semble que chez les vrais carnivores, tels que les chats, le carotène ne subisse pas de transformation dans le foie. De même, d'après ce que nous savons, les oiseaux de proie (4), sont incapables de faire usage du carotène comme source de vitamine A. Ces différents faits sortent du cadre de mon Rapport, mais je n'ai pas cru pouvoir

<sup>(1)</sup> Heilbron, Gillam et Morton, Biochem. J., 25, 1931, p. 1352.

<sup>(2)</sup> Voir aussi Rosendal, Nord. illed. Tidskr., 11, 1936, p. 589.

<sup>(3)</sup> Moone, Biochem. J., 23, 1929, p. 1267; Lancet, 1929, p. 499; Biochem. J., 25, 1931, p. 275; 26, 1932, p. 1.

<sup>(4)</sup> EULER et EULER, Sv. Kem. Tidskr., 43, 1931, p. 174. — KARRER, EULER et Schöpp, Helv. Acta, 15, 1932, p. 493.

éviter de signaler les nouvelles et importantes recherches de Moore (¹) concernant les réserves en vitamine A de l'homme adulte, bien portant et malade. A ce point de vue, il y a lieu de signaler encore que, dans une recherche comparative entre la vitamine A et le β-carotène, Moore (²) a trouvé que ces deux substances étaient équivalentes au point de vue des doses minimum agissant sur des rats. Cette expérience l'a amené à conclure qu'à des doses très faibles le β-carotène est transformé quantitativement dans l'organisme. Euler, Karrer et Zubrys (³), au contraire, ont trouvé que les doses journalières minimum pour les rats sont notablement plus faibles pour la vitamine A que pour le β-carotène.

Olcott et Mc Cann (4) ont annoncé en 1931 avoir réussi la formation in vitro de vitamine A à partir du carotène en travaillant avec du foie de rat ou des extraits de ce foie. A plusieurs reprises ces expériences ont été soumises au contrôle (5), mais, sans que l'on ait jamais pu confirmer les données de ces auteurs.

Dans les expériences réalisées à notre Institut, on a étudié la capacité d'absorption, de transformation et d'accumulation du carotène, non seulement dans le foie, mais aussi dans d'autres organes, en particulier dans les organes sexuels, végétaux et animaux, parmi lesquels, le corps jaune, le placenta et l'hypophyse (6).

# IX. - ACTIONS PHYSIOLOGIQUES.

(Voir aussi le Rapport général sur les vitamines, par M. P. Karrer.)
Les premières observations de Hopkins et de Stepp concernant
l'influence d'une déficience en vitamine ont fait découvrir une
diminution ou un arrêt total de l'augmentation de poids des
jeunes rats. Cette action est évidemment secondaire et extra-

<sup>(1)</sup> MOORE, Biochem. J., 31, 1937, p. 155.

<sup>(\*)</sup> MOORE, Biochem. J., 27, 1933, p. 898. — DAVIS et MOORE, Biochem. J., 28, 1934, p. 288.

<sup>(</sup>a) Euler, Karrer et Zubrys, Helv. Acta, 16, 1933, p. 24.

OLCOTT et Mc CANN, J. Biol. Chem., 194, 1931, 185.
 EULER et KLUSSMANN, Sv. Kem. Tidskr., 44, 1932, p. 223.

<sup>(6)</sup> EULER et KLUSSMANN, Biochem. Z., 250, 1932, p. 1.

ordinairement compliquée au point de vue chimique. Du point de vue biochimique se présente de suite la question de savoir dans quels organes et par quelles réactions la vitamine A intervient spécifiquement. Que de telles actions, plus ou moins nettement spécifiques, se passent dans l'organisme animal pour la vitamine A, est d'autant plus probable que nous savons que d'autres vitamines remplissent un rôle spécifique, par exemple celui de coenzyme. Ainsi la vitamine B<sub>2</sub> à l'état phosphorylé, forme le groupe actif de l'enzyme de la flavine et la vitamine B<sub>1</sub> sous forme de phosphate complète la carboxylase.

Il est naturel de rapprocher l'action de la vitamine A dans certains organes animaux avec sa faculté mesurée par Euler et Ahlström (1) d'absorber et de transporter de l'oxygène; on pourra donc accepter l'hypothèse émise par ces auteurs suivant laquelle la vitamine A est un catalyseur d'oxydation, même si le mécanisme de la réaction et son substrat spécifique n'ont pas encore été découverts. Déjà Arnould en 1889 avait démontré que le carotène était capable d'absorber l'oxygène, Kuhn et ses collaborateurs (2) ont également fait des recherches sur les actions catalytiques d'oxydation des caroténoïdes.

La comparaison des extraits de différents organes met en évidence les rapports existant entre l'intensité d'oxydation et le contenu en vitamine A. Il y a lieu d'attirer également l'attention sur l'effet des globules rouges ou de l'hémine sur de l'extrait de foie contenant de la vitamine A. Au même titre que la vitamine A, le carotène et d'autres caroténoïdes s'oxydent spontanément très vite en solution dans les esters d'acides gras non saturés suivant les données de Franke de l'Institut de Stockholm (3).

Avec l'hémine une augmentation de l'auto-oxydation est produite par le lipochrome dans les huiles neutres.

<sup>(1)</sup> Euler et Ahlström, Z. physiol. Chem., 214, 1931-1932, p. 168.

<sup>(2)</sup> Kuhn et collaborateur.

<sup>(3)</sup> W. Franke, Z. physiol. Chem., 212, 1932, p. 234; Lieb. Ann., 498, 1932, p. 132. — Monacan et Schmitt, J. Biol. Chem., 96, 1932, p. 387. — Chevalier et Roux, C. R. Soc. Biol., 148, 1935, p. 1348, n'ont pas observé de rapport entre le contenu en vitamine A du foie et sa respiration in vitro, sans doute par suite de la présence de beaucoup d'autres substances réductrices.

Des accélérations ont été observées aussi dans la dégradation anaérobie du sucre (glycolyse et fermentation). A ce point de vue il faut citer les expériences de Willheim qui cependant demandent confirmation et d'après lesquelles la glycolyse du sang des cancéreux n'est pas influencée par la présence du carotène, contrairement à ce qui se passe dans le sang de personnes bien portantes. De plus cette action du carotène n'est pas spécifique non plus, mais est provoquée également par d'autres caroténoïdes [Fritsch, Lederer et Willheim (1)]. Sure, Kik et Buchanan (2) ont étudié l'influence de la carence de la vitamine A sur la constitution des enzymes dans le sérum et dans les divers tissus. Ils ont trouvé une diminution de l'estérase du sérum et une augmentation de la lipase hépatique.

# ACTION PROTECTRICE SUR L'ÉPITHÉLIUM DE LA VITAMINE À ET DE LA PRÉVITAMINE À.

1. Xérophtalmie. — Le premier phénomène reconnu comme étant une conséquence de la carence en vitamine A fut la xérophtalmie, si on laisse de côté bien entendu l'arrêt ou le retard de la croissance chez les rats et chez les enfants. Bloch (3) et Blegvad (Thèse, Copenhague, 1923) avaient déjà attiré l'attention sur les rapports existant entre la xérophtalmie et le régime alimentaire. Quand la nourriture des enfants ne contient pas d'autres sources de vitamine A ou de prévitamines A, l'absence de beurre peut conduire à l'avitaminose A; chez les rats la xérophtalmie et la kératomalacie apparaissent après les débuts de l'arrêt de croissance et la guérison est obtenue relativement vite par l'ingestion de vitamine A.

Il est de plus en plus évident que la xérophtalmie est un des symptômes si variés de l'avitaminose A : elle résulte de la sclérotisation de l'œil.

<sup>(1)</sup> FRITSCH, LEDERER et WILLHEIM, Biochem. Z., 254, 1932, p. 364.

<sup>(5)</sup> Sure, Kik et Buchanan, Amer. Journ. Dig. Diseases a. Nutr., III, 1936, p. 493.

<sup>(3)</sup> BLOCH, Il. of. Dairy Science (U.S.A.), 7, 1924, p. 1.

 Héméralopie. — Une avitaminose intéressante au point de vue physiologique est la cécité nocturne ou héméralopie (¹).

En déterminant le degré d'héméralopie, Friderichsen et Edmund ont trouvé le moyen d'indiquer et d'évaluer une avitaminose A même très légère chez les petits enfants (2).

Cela nous conduirait trop loin d'examiner ce phénomène de plus près : il fera bientôt l'objet d'une mise au point de l'auteur du présent Rapport concernant l'influence des vitamines sur la physiologie et la pathologie de l'œil. Quelques données d'orientation suffiront ici. Les premières observations sur la régénération du rouge de l'œil sont dues à Fredericia et Holm (3). La rétine contient beaucoup de vitamine A et de carotène. Euler et Adler (4) ont fait des observations sur la présence des caroténoïdes dans le pigment épithélial de l'œil des bœufs et des poissons ainsi que dans le pourpre rétinien. A peu près en même temps George Wald (5) a publié ses études chimiques si remarquables sur le pourpre rétinien; suivant cet auteur, ce dernier contient une protéine à vitamine A du type de l'astacine (6). Il suffira encore de citer la découverte de Tansley (7) suivant laquelle le pourpre rétinien se développe plus lentement qu'à l'ordinaire dans la rétine des rats nouveau-nés, quand ceux-ci sont nés souffrant d'une carence en vitamine A. De nombreuses observations sur la présence des caroténoïdes dans la rétine des oiseaux et des poissons sont données par Lönnberg (8).

3. Kolpokératose. — Hohlweg et Dohrn (\*) ont indiqué le moyen d'évaluer la carence en vitamine A à l'aide de la kolpokératose; voici la base de cette méthode : ainsi que Evans et Bishop les

<sup>(1)</sup> HESS et Kirkby, Amer. J. Publ. Health, 23, 1933, p. 935; concernant l'apparition simultanée d'ophtalmie et de cécité nocturne aux États-Unis.

<sup>(2)</sup> FRIDERICHSEN, Hospitalstid, 79, 1936, p. 689. — FRIDERICHSEN et EDMUND, Id., p. 1081 et 1253.

<sup>(3)</sup> FREDERICIA et HOLM, Amer. J. Physiol., 73, 1925, p. 63.

<sup>(4)</sup> EULER et Adler, Sv. Vet. Akad. Arkiv. f. Kemi, 11 B, nº 20 et 21, 1933,

<sup>(5)</sup> Wald, Nature, 134, 1934, p. 65; 136, 1935, p. 832; 136, 1935, p. 913.

<sup>(4)</sup> J. gen. Physiol., 18, 1934, p. 905; 19, 1935, p. 351.

<sup>(7)</sup> TANSLEY, Proc. Roy. Soc., 114, 1933, p. 79.

<sup>(8)</sup> LÖNNBERG, Sv. Vet. Akad. Arkiv. f. Zool., 28 A, nº 4, 1935.

<sup>(9)</sup> Hohlweg et Dohrn, Z. f. ges. exp. Med., 71, 1930, p. 763.

premiers (1), puis Macy, Outhouse, Long et Graham (1927) et Coward (2) l'ont trouvé, la déficience en vitamine A entraîne un œstrus permanent. Les recherches de Wolbach et Howe ont révélé que dans ce cas également il s'agit d'une kératinisation de l'épithélium; l'apparition d'un œstrus durable chez les jeunes rats femelles à la suite d'un régime dépourvu de vitamine A est mise en évidence par la formation dans le vagin de cellules épithéliales durcies facilement reconnaissable au microscope.

Cet œstrus persistant résultant d'une avitaminose A est guéri par l'ingestion de vitamine A ou de carotène (Wolf et Overhoff) (a), Klussmann et Simola ont également observé la kolpokératose chez les cobayes.

# PROTECTION CONTRE LES INFECTIONS A L'AIDE DE LA VITAMINE À ET DU CAROTÈNE.

Mori en 1922 a attiré l'attention sur les transformations de l'épithélium résultant d'une avitaminose A, Mauthner ainsi que Cramer et Kingsbury (4) ont reconnu le rapport existant entre la carence en vitamines et le développement des maladies infectieuses; on a beaucoup écrit depuis lors sur l'action antiinfectieuse du carotène que Mellanby (5) a signalée le premier dans une série de travaux extraordinairement intéressants. Parmi les travaux qui sont en relation avec ce problème, signalons encore les recherches de Zilva (6).

Pendant l'hiver et le printemps des années 1931-1932, dans la section de mon Institut consacrée à l'étude des vitamines, avait

<sup>(1)</sup> Evans et Bishop, Anat. Rev., 23, 1922, p. 17.

<sup>(2)</sup> COWARD, J. of physiol., 67, 1929, p. 26.

<sup>(9)</sup> Wolff et Overhoff, Neerl. Tijdschr. Geneesk., I, 1931, p. 1662. — Van Eekenen, Arch. Neerl. de Physiol., 16, 1931, p. 281. — Klussmann et Simola, Bioch. Z., 258, 1932-1933 p. 194.

<sup>(4)</sup> CRAMER et KINGSBURY, Brit. J. exp. Path., 5, 1924, p. 300.

<sup>(5)</sup> MELLANBY, Brit. med. J. 1926, I., p. 515; Brit. med. J., 1924, 1, p. 895.
— Green et Mellanby, Brit. med., 8, 1928, II, p. 691; Brit. J. exper. Path., 11, 1930, p. 81.

<sup>(6)</sup> ZILVA, Brit. J. exper. Path., 11, 1930, p. 489. — Voir aussi les travaux de Mc Collum et Drummond, Bioch. j., 13, 1919, p. 81.

surgi une infection de pasteurellose des rats (Bacterium Hæmosepticum); elle a fourni un matériel important et conduisant à des conclusions indiscutables pour l'étude de la question précédente. Parmi les 770 rats observés pendant la période d'infection, furent seuls atteints ceux qui étaient nourris sans carotène ou vitamine A. Parmi les rats qui avaient recu du carotène depuis le moment du sevrage aucun n'avait été atteint de pasteurellose (1). Ceci démontre sûrement et sans laisser aucun doute le rôle protecteur du carotène. Une étude sérologique de Euler et Gard (2) sur cet important matériel expérimental a montré qu'un effet protecteur caractérisé du carotène ne peut être expliqué par une production plus forte des anticorps. Ce résultat négatif est en contradiction avec les observations de Yudkin et Lambert (3), mais en accord avec celles de Werkman (4) et avec les nouvelles recherches de Jusatz (5). Puisqu'une influence de la formation d'anticorps n'entre pas en jeu, il faudrait rappeler le point de vue souvent défendu que, dans les maladies accompagnées de fièvre, se produit simplement une consommation plus forte de carotène et de vitamine A. Cette explication du rôle de la vitamine A ne paraît cependant acceptable que dans des cas particuliers.

Par contre on s'est demandé si tous les effets biologiques du carotène ne doivent pas être attribués à la même action primaire (6). Si nous rattachons l'action antiinfectieuse à la kolpokératose et considérons comme origine de la diminution à la résistance aux infections, le changement d'état des muqueuses qui ne sont pas régénérées d'une façon normale par suite d'un manque en vitamines, le problème se pose alors de la manière suivante : quels sont les processus de formation et de régénération des muqueuses qui sont directement sous la dépendance de la vitamine A et qui sont gênés par la carence en cette vitamine?

Nous sommes partis de l'hypothèse que dans l'action protectrice de la vitamine A, sur l'épithélium, le remplacement normal

Euler, Bull. Soc. Chim. Biol., 14, 1932, p. 838.

<sup>(2)</sup> Eulen, Finska Chemistsamf. Med., no 1, 1931.

<sup>(3)</sup> YUDKIN et LAMBERT, J. Soc. exp. Med., 38, 1933, p. 17.

<sup>(4)</sup> WERKMAN, J. Inf. Diss., 32, 1933, p. 247, 255.

<sup>(6)</sup> JUSATZ, Z. J. Immunitätsf, 88, 1936, p. 472, 483.

<sup>(6)</sup> Euler et Malmierg, Z. physiol. Chem., 232, 1935, p. 1.

de la muqueuse est garanti parce que le développement des cellules est influencé par la vitamine A ou le carotène; des preuves irréfutables de cette assertion ne pouvaient encore être fournies.

L'action protectrice de l'épithélium sous l'action du carotène pourrait être en relation avec ce fait bien connu des amateurs de chevaux qu'une nourriture riche en carottes, donne aux chevaux une robe bien brillante.

D'après les expériences d'Oelrichs (1), chez des rats soumis à un régime privé de vitamine A, la résistance aux infections artificielles provoquées par différentes espèces de micro-organismes, est plus faible que chez des animaux nourris normalement. Les animaux privés de vitamine A, soumis à l'immunisation à l'aide de bactéries mortes, ont également montré plus souvent des accidents d'inoculation que les animaux de contrôle.

Corkill (2) a pu protéger contre la méningite ménégococcique épidémique, la moitié des jeunes gens qu'il a étudiés en leur faisant prendre des préparations de vitamine A.

# FORMATION DES CALCULS DANS LA VESSIE ET LA VÉSICULE BILIAIRE.

La formation des calculs, considérée comme résultant d'une avitaminose A, a été étudiée par plusieurs savants; ainsi Osborne, Mendel, Saiki, van Leersum, G. Hammarsten (3), Perlman et Weber (4) la considèrent à juste titre comme une conséquence du trouble de la protection épithéliale. Il faut sans doute tenir aussi compte de l'influence de la vitamine A sur l'alcalinité du sang; l'échange des matériaux minéraux au contraire est à peine troublé.

# CHANGEMENT DE L'ASPECT SANGUIN.

On a souvent prétendu que le déficit en vitamine A produit de l'anémie. Euler et Malmberg (5) ont traité les changements

(2) CORKILL, J. trop. Med., 39, 1936, p. 1.

<sup>(1)</sup> OELRICHS, Zj. Hyg., 117, 1936, p. 684.

<sup>(3)</sup> Greta Hammarsten, Fysiogr. Sellsk. Handl., N. F., 47, no 12, 1937.

<sup>(4)</sup> PERLMAN et WEBER, Münch. Med. woch., 75, 1928, p. 2167.

<sup>(5)</sup> EULER et MALMBERG, Z. physiol. Chem., 243, 1936, p. 121; Naturwiss., 45, 1936, p. 713.

de l'aspect sanguin comme de l'avitaminose A. D'autre part, dans mon Institut on a montré la présence du carotène dans la moelle des os, ce qui rend probable une action sur la formation des globules rouges, par conséquent une augmentation du nombre des réticulocytes. Mais dans aucun des cas on ne paraît avoir observé de l'anémie qui puisse être considérée comme pure avitaminose A; au contraire se manifeste ici comme dans beaucoup d'autres cas, l'action simultanée de plusieurs vitamines.

Les phénomènes causés par la carence de plusieurs vitamines, les vitamines A et C par exemple, sont relativement peu étudiés. Sans nous étendre sur ces actions qui appartiennent pour la plupart au domaine de la médecine, contentons-nous de signaler ici une série de remarquables travaux de Simola (1).

#### VITAMINES ET HORMONES.

Dans ces derniers temps on s'est rendu compte qu'il n'y a pas de limite tranchée entre les vitamines et les hormones : les deux groupes de corps sont des substances activantes au nombre desquelles il faut également compter d'autres catalyseurs vitaux, notamment les métaux à action spécifique, tels que le Mn, le Zn, et le Fe, etc., dont le rôle vital si important a été signalé par Gabriel Bertrand, à la suite de recherches expérimentales approfondies.

Il y a lieu de remarquer que la plupart des substances activantes remplissent leur rôle biologique en corrélation avec les enzymes, en général avec des substances à poids moléculaire élevé, si bien que l'on peut parler de vitazyme et de hormozyme. Le carotène et la vitamine A, tout comme quelques autres caroténoïdes, se combinent sans doute aux protéines, et il est bien possible que la vitamine A elle-même n'atteigne son efficacité maximum qu'en combinaison avec un support à poids moléculaire élevé.

# VITAMINE A, CAROTÈNE, THYROXINE.

Les actions curatives de préparations de vitamine A font partie du champ réservé à un autre Rapport. Cependant une seule de

<sup>(1)</sup> Simola, Acta Soc. Med. Fenn., « Duodecim », 16, 1932.

ces actions sera citée ici, parce qu'elle mérite des recherches plus étendues d'un intérêt purement biochimique; je veux parler de l'action antagoniste de la vitamine A et du carotène à l'égard de la thyroxine et d'une manière plus générale à l'égard des hormones de la glande thyroïde. Notre première découverte à ce sujet est résumée dans le petit tableau suivant qui indique le changement de poids quotidien des rats auxquels on fournit les quantités indiquées de thyroxine et de carotène :

2,5
$$\gamma$$
-carotène + 10 $\gamma$ -thyroxine 10 $\gamma$ -thyroxine 2,5 $\gamma$ -carotène - 8 $\epsilon$  + 7 $\epsilon$  7,5 $\gamma$ -carotène + 10 $\gamma$ -thyroxine 10 $\gamma$ -thyroxine 7,5 $\gamma$ -carotène - 8 $\epsilon$  + 12 $\epsilon$ 

Comme le montre cette série d'expériences, ainsi que beaucoup d'autres ultérieures, l'augmentation du poids des jeunes rats sous l'action de la vitamine A ou du carotène, est compensée par des injections de thyroxine. Chaque effet, dû à la présence de vitamine A dans le corps d'un animal, est influencé par la sécrétion de la glande thyroïde, comme Euler et Klussmann (1) l'ont proclamé.

Dès nos premières recherches sur cet antagonisme nous avons proposé d'essayer systématiquement l'action du carotène sur le développement de la maladie de Basedow; on a commencé de divers côtés des recherches à ce sujet, aussi bien sur des animaux que dans le domaine clinique; signalons parmi les résultats qui confirment les nôtres, çeux décrits par Stepp (2) dans son intéressante monographie.

#### X. — MÉTHODE DE DOSAGE.

Pour le dosage quantitatif des produits en vitamine A, ou prévitamine A, il existe trois voies :

 a. La détermination de la dose journalière minimum qui produit un effet physiologique déterminé;

<sup>(1)</sup> EULER et KLUSSMANN, Sv. Vet. Akad. Ark. j. Kemi., 10 B, nº 20; 11 B, nº 11, 1932.

<sup>(\*)</sup> Stepp, Kühnau et Schroeder, Die Vitamine, Stuttgard, Enke, 1936.

- b. La mesure de l'intensité de la coloration bleue produite par Sb Cl<sub>a</sub>;
- c. La mesure de l'intensité de l'absorption lumineuse produite, soit par la vitamine A elle-même, soit par sa combinaison bleue avec Sb Cl<sub>3</sub>.

La méthode biologique de diagnostic est la seule qui donne des résultats indiscutables, les autres méthodes ne sont satisfaisantes que dans la mesure où elles sont d'accord avec la méthode biologique. Celle-ci est basée sur le fait bien connu que les manifestations de déficience, résultant d'un apport insuffisant en vitamine A, peuvent disparaître de nouveau par addition aux aliments d'une quantité minimum de la vitamine. Au lieu de mesurer la dose curative minimum (méthode curative), on peut aussi déterminer quelle quantité suffit précisément pour empêcher l'apparition de symptômes de déficience (méthode prophylactique). Les doses prophylactiques minima constituent à peu près le dixième des doses curatives. Les méthodes biologiques qui sont appliquées en se servant presque exclusivement de rats comme sujets d'expérience, sont basées sur trois actions physiologiques distinctes de la vitamine A : influence sur la croissance, protection contre la xérophtalmie, protection contre la kératinisation de la muqueuse vaginale (kolpokératose). En prenant les rats comme sujets d'expérience, ces méthodes permettent de doser le total de la vitamine A+ la prévitamine A.

a. L'action de la vitamine A et de la prévitamine A favorisant la croissance a été étudiée d'une façon très approfondie; on a déterminé tout spécialement l'activité du β-carotène pur qui a été choisi, par le Bureau d'hygiène de la Société des Nations comme substance étalon pour la détermination de la vitamine A.

L'unité de la vitamine A a été fixée par la Conférence de 1934 consacrée à l'étude de cet étalon, en la fixant comme égale à o<sup>mg</sup>,0006 ou 0,6γ de β-carotène; une préparation contient donc une unité internationale lorsque, dans des conditions identiques, elle produit le même effet physiologique que 0,6γ de β-carotène (¹).

<sup>(</sup>¹) La grande importance du choix d'un solvant approprié pour le carotène a été signalée par Ниме et Спіск, Med. Res. Council, Rep. on Biol., Standard IV.

La quantité journalière minimum qui cause la croissance normale chez le rat dont le développement a été complètement arrêté par la déficience en vitamine A, ne peut pas être déterminée généralement d'une manière tout à fait simple. On doit d'abord définir ce que l'on appelle « croissance normale ». Dans mon Institut nous avons défini celle-ci comme une augmentation de poids de 0°,7 par jour ou de 5° par semaine. Cette augmentation de poids dépend cependant d'autres facteurs que la vitamine A : de la composition de la ration alimentaire, de l'état physiologique général des sujets en expérience qui dépend lui-même en outre de la nourriture fournie à ses parents, etc. Pour rendre comparables les résultats obtenus dans différents laboratoires il est donc très important que l'on fasse usage d'une méthode aussi uniforme que possible et en particulier que son mode d'application soit aussi égal que possible.

Nous considérons comme dose quotidienne active minimum 2 à 2,5 γ de β-carotène. Kuhn (¹) admet la même dose quotidienne minimum de β-carotène; pour l'α-carotène de même que pour toutes les autres prévitamines, il prend le double, soit 5γ.

Kuhn explique ce rapport simple entre les activités des différentes prévitamines par le fait que 1 molécule de β-carotène fournit 2 molécules de vitamine A. Or les autres prévitamines qui ne contiennent toutes qu'un seul cycle de β-ionone ne peuvent fournir que i molécule de vitamine A; nous n'avons pas pu confirmer ce rapport simple. Pour que cette règle fut exacte, il faudrait que toutes les prévitamines soient absorbées et hydrolysées au même degré dans l'organisme, ce qui n'est guère vraisemblable. Pour la dose journalière minimum de vitamine A on a indiqué différentes valeurs 0,5 à ο 1γ; Moore par une comparaison précise des doses minimum a démontré que le 3-carotène et la vitamine A pris à la dose journalière de 1 à 3y ont la même efficacité, ce qui tend à prouver que le rendement de leur transformation réciproque serait presque quantitatif. Cependant ces expériences n'ont pas été exécutées avec des préparations de vitamine A pure, mais avec des poids de vitamines qui ont été

<sup>(1)</sup> Kuhn et Brockmann, avec Scheinert et Schieblich, Z. physiol. Chem., 221, 1933, p. 129.

calculés à partir de données physiques, procédé qui, jusqu'ici, a donné des résultats inexacts dans beaucoup de cas (Moore, Biochem. J., 27, 1933, p. 898).

### EXAMEN DE L'EFFET DE CROISSANCE.

Comme il est souhaitable d'exprimer en unités internationales les résultats des mesures sur l'action de la vitamine A, de manière à pouvoir comparer directement les résultats obtenus dans divers laboratoires, je désirerais recommander particulièrement la méthode indiquée par la Commission d'hygiène de la Société des Nations; elle est décrite, sous sa forme curative comme sous sa forme prophylactique, dans le Rapport publié en 1936 par la Commission de la Pharmacopée britannique. De plus je tiens à citer les travaux suivants :

Concernant la ration alimentaire des animaux en expérience : Coward, Key, Dyer et Morgan (Biochem. J., 25, 1931, p. 551); Bacharach (Biochem. J., 27, 1933, p. 5); Bacharach et Smith (Biochem. J., 27, 1933, p. 17). Concernant la ration alimentaire des parents : Coward, Cambden et Lee (Biochem. J., 26, 1932, p. 679).

Sur l'utilisation statistique des résultats et sur les rapports entre la dose de vitamine A et l'augmentation du poids des animaux en expérience, voir : Coward (Biochem. J., 26, 1932, p. 691); Coward, Key, Dyer, Morgan (Biochem. J., 24, 1930, p. 1952; 25, 1931, p. 551) (Appendice); Coward, Dyer, Morton et Gaddum (Biochem. J., 25, 1933, p. 1102); Hume et Henderson-Smith (Biochem. J., 22, 1928, p. 504); Coward (Biochem. J., 27, 1933, p. 445, 873).

Concernant la méthode de mesure de la croissance: Collison, Hume, Smedley-Maclean et Henderson-Smith (Biochem. J., 23, 1929, p. 634); Coward et Key (Biochem. J., 22, 1928, p. 1019); Dyer, Key et Coward (Biochem. J., 28, 1934, p. 875); Culhane, Lathbury et Greenwood (Biochem. J., 28, 1934, p. 875); Schmidt-Nielsen et Schmidt-Nielsen (Norske Vidensk. Selskaps Forh., 2, 1930, p. 1551); Scheunert et Schieblich (Biochem. Z., 263, 1933, p. 444, 454); S. V. Gudjonsson, Versuche über den Vitamin A

Mangel von Ratten, Kopenhagen, 1931; Bomskow, Methodik der Vitaminforsch., Leipzig, 1935, etc.

### PROTECTION CONTRE LA XÉROPHTALMIE.

L'action curative de la vitamine A et de la prévitamine A à l'égard de la xérophtalmie a servi occasionnellement à caractériser l'activité de cette vitamine. Cependant en général cette méthode de mesure n'est pas recommandable, parce que l'apparition de la xérophtalmie est soumise à de grandes fluctuations individuelles et que les symptômes de la maladie des yeux ne disparaissent que lorsqu'on a atteint la vitesse de croissance maximum.

### MÉTHODE DE LA KOLPOKÉRATOSE.

Cette méthode développée par Hohlweg et Dorn (1) est basée sur l'apparition de l'œstrus permanent ou kolpokératose par suite de la déficience en vitamine A. Cette méthode a sur la méthode de croissance l'avantage qu'elle permet de déterminer l'activité en vitamine A d'un produit à l'aide d'une seule dose, ce qui est très important quand la substance est très labile. Par usage de cette méthode on peut réaliser les expériences en un temps plus court que pour la détermination de la courbe de croissance; en particulier la période de déficience est plus courte, si bien que les animaux ne subissent pas un dommage aussi profond, à la suite de la déficience en vitamine que lorsque l'on doit attendre une perte de poids. Toutefois Coward, Cambden et Lee (2) signalent que la précision de cette méthode est plus faible que celle de la croissance. Le mode du dosage de la vitamine par cette méthode est le suivant (3). Des rates châtrées reçoivent une nourriture privée de vitamine A. Après trois semaines environ se fait le premier essai de raclage de la muqueuse vaginale, peu à peu la quantité de mucus diminue et enfin apparaît l'œstrus

<sup>(1)</sup> Hohlweg et Dorn, Z. ges. exper. Med., 71, 1930, p. 762.

<sup>(2)</sup> COWARD, CAMBDEN et LEE, Biochem. J., 29, 1935, p. 275.

<sup>(8)</sup> Klussmann et Simola, Biochem. Z., 258, 1933, p. 194.

proprement dit, sans procestrus préliminaire, et cela à un moment où le poids des rates continue encore à augmenter; la préparation à étudier est alors administrée et l'on suit son action sur l'état de la muqueuse vaginale.

D'après Coward, le temps nécessaire à la disparition de l'état d'œstrus sert de mesure pour l'activité de la dose administrée et est proportionnel au logarithme de cette dose.

## Dosage colorimétrique.

Le dosage colorimétrique mesure la coloration bleue produite en solution chloroformique par Sb Cl<sub>3</sub> (¹); cette coloration est généralement comparée à celle de verres colorés de Lovibond en faisant usage du teintomètre de Rosenberg et Schuster (²); les unités de coloration bleue sont indiquées en gramme de substance par centimètre cube de solution ou en unité C. L. O.

Pour le calcul

10 unités de bleu = 1 unité C. L. O.

= valeur lue au bleu × 20 mg de substance par cm³ de réactif au SbCl3

Une remarquable amélioration de la méthode est obtenue en remplaçant le teintomètre de Lovibond par le photomètre de Pulfrich (Zeiss).

Pour les détails de cette méthode voir les travaux de : B. von Euler et Karrer (Helv. Acta, 15, 1932, p. 496); Brockmann et Tecklenburg (Z. physiol. Chem., 221, 1932, p. 124); Davies (Biochem. J., 27, 1933, p. 1770); Rosenthal et Erdélyi (Biochem. J., 28, 1934, p. 41). Pour les différentes unités voir Moore (Biochem. J., 24, 1930, p. 692); van Eekelen, Emmerie et Wolf (Acta Brev. Neerl., IV, p. 172). Résumés de la méthode : Karrer et Wehrli (25 Jahre der Vitaminforschung, Nova Acta Leopold, Neue Folge, Bd. 1, 1933, p. 175); Ritsert (E. Mercks, Jahresberichte, 1935, p. 19); Pharmacopaeia, Commission Reports, Report of Codliveroil test subcom., London, 1931.

CARR et PRICE, Biochem. J., 20, 1926, p. 493.

<sup>(2)</sup> Rosenberg et Schuster, Biochem. J., 21, 1927, p. 1329.

La réaction de Carr-Prince est malheureusement, non seulement la même qualitativement pour la vitamine A et pour la prévitamine A, mais elle s'applique à tous les caroténoïdes et est donc produite par plusieurs substances qui n'ont pas la même action physiologique que la vitamine A. De plus, les impuretés ont une influence sur l'intensité de la coloration bleue (¹); de telles impuretés ont été extraites du foie de morue et du beurre (²). Il est donc recommandable d'opérer par cette méthode de dosage de la vitamine, seulement après un essai de saponification du milieu.

Il résulte de ce que je viens de dire que la méthode colorimétrique de Carr-Price n'a qu'une application limitée. Ainsi quand on veut évaluer l'activité vitaminique du beurre et qu'on emploie dans ce but cette méthode appliquée au résidu insaponifiable, on mesure, outre la coloration bleue produite par la vitamine A, non seulement celle fournie par le carotène, substance pour laquelle le rapport unité de bleu-activité physiologique a une valeur inférieure à ce qu'il est pour la vitamine A, mais on compte encore, comme vitamine, la xanthophylle, substance qui ne possède pas les caractères d'une prévitamine A. Aussi cette méthode est-elle insuffisante pour la comparaison de différents beurres, puisque le rapport vitamine A-carotène-xanthophylle, varie beaucoup avec la race des vaches qui ont fourni le beurre (3).

En tout cas la méthode colorimétrique de Carr-Price permet des déterminations faciles et rapides. Elle a rendu de grands services dans la purification de la vitamine A et de nombreux travaux (4) ont montré que pour les huiles de foie et les extraits qu'on en retire, elle fournit des valeurs qui coïncident avec les

<sup>(1)</sup> Corbet et collaborateur, J. of Biol. Chem., 100, 1933, p. 657. — Emmerie, Nature, 131, 1933, p. 364; Acta, Neerl. Physiol., 2, 1933, p. 156.

<sup>(2)</sup> COWARD, DYER, MORTON et GADDUM, Biochem. J., 25, 1931, р. 1119. — Wise et Heyl, J. Amer. Pharm. Ass., 21, 1932, р. 1144. — Dyer, Pharm. J., 431, 1933, р. 1929. — Вооти, Kon, Dann et Moore, Biochem. J., 27, 1933, р. 1189.

<sup>(3)</sup> GILLAM, MORTON, HEILBRON, BISHOP et DRUMMOND, Méthode de dosage du carotène, vitamine A et xanthophylle l'un à côté de l'autre (Biochem. J., 27, 1933, p. 878). — KARRER et SCHÖPP, Helv. Acta, 15, 1932, p. 745.

<sup>(4)</sup> Haines et Drummond, Brit. Med. J., 1, 1933, p. 559. — Josephy, Acta Brev. Neerl. Phys., 3, 1933, p. 133.

résultats des mesures sur les animaux; il en est d'ailleurs de même pour toutes les substances homogènes où la réaction ne peut être influencée par aucune impureté.

La méthode de dosage spectrophotométrique est basée sur les travaux de Morton et Heilbron (1), Drummond et Morton (2), ainsi que sur ceux de Coward, Dyer (3), Morton et Gaddum; elle fournit la concentration en vitamine A d'une huile par l'intensité de l'absorption de la lumière par la bande de 328m<sup>µ</sup>.

Un appareil très pratique, notamment pour l'usage technique, est le vitamimètre de Hilger, de Londres. Dans les laboratoires scientifiques, il vaut mieux faire usage du photomètre à échelons.

Des données bibliographiques et une description détaillée de la méthode sont fournies par Chevalier et Chabre (4).

Comme je l'ai déjà dit, la vitamine A n'a pas encore été obtenue à l'état cristallisé et l'on discute encore l'homogénéité des extraits, même les plus actifs.

Les différents auteurs donnent des valeurs différentes pour le coefficient d'extinction de la bande 328<sup>mµ</sup>, même pour leurs échantillons les plus purs.

L'intensité de la coloration bleue varie également très fort d'un échantillon à l'autre. Voici la comparaison de ces données obtenues dans trois Instituts différents et la comparaison avec l'activité physiologique des mêmes échantillons :

Auteurs.	ε <sup>1</sup> % 328 mμ.	C. L. O.	minimum par jour.
Karrer et collaborateurs	1600-1700	10500	0,57
Heilbron et collaborateurs (5)	1370	6500	0,17
Carr et Jewell (6)	1600	8000	0,67

A la demande de « The vitamine A Sub-Committee of the accesory

MORTON et HEILBRON, Biochem. J., 22, 1928, p. 987; Nature, 122, 1928, p. 10.

<sup>(2)</sup> DRUMMOND et MORTON, Biochem. J., 23, 1929, p. 785.

<sup>(3)</sup> COWARD, DYER, MORTON et GADDUM, Biochem. J., 25, 1931, p. 1102.

<sup>(4)</sup> CHEVALIER et CHABRE, Biochem. J., 27, 1933, p. 298.

<sup>[5]</sup> HEILBRON, HESLOP, MORTON et WEBSTER, Biochem. J., 26, 1932, p. 1178.

<sup>(6)</sup> CARR et JEWELL, Nature, 131, 1933, p. 92.

food factors Committee of the Lister Institut and the Medical Research Council of Great Britain » (1) une série de savants ont recherché dans quelles conditions la mesure spectrophotométrique de la concentration en vitamine A d'un échantillon, coïncide avec son activité biologique.

L'Ouvrage cité contient un compte rendu précis des résultats obtenus. On ne peut citer ici tous les détails, mais les recherches exécutées dans sept Instituts différents ont montré que les mesures spectrophotométriques doivent être exécutées sur la fraction insaponifiable des huiles et que l'on doit employer comme dissolvant le cyclohexane ou l'alcool éthylique, et non pas le chloroforme. Trois méthodes utilisables pour la saponification ont été décrites. A la suite de ces recherches on a proposé le facteur 1600 pour transformer en unités internationales le coefficient d'extinction  $\varepsilon \frac{1}{1 \text{ cm}} 328^{\text{m}\mu}$ ; ce facteur a été accepté provisoirement par le Comité International d'Étalonnage réuni à Londres en 1934. Cependant sa valeur a été soumise à la critique à la suite des recherches ultérieures de Bacharach (2) et Drummond et Morton (3). Bacharach a trouvé que dans beaucoup de cas ce facteur est compris entre 1000 et 1200.

A la suite de nouvelles recherches, Hume (4) réfute cette critique tout au moins pour les huiles autres que l'huile de foie de flétan; pour cette dernière elle indique la valeur 1470.

Dans le travail cité ci-dessus, Morgan, Edisbury et Morton donnent l'équivalent en vitamine A de 22 huiles et extraits, d'une part à la suite d'essais biologiques, et de l'autre en unités Lovibond et d'après des mesures spectrophotométriques. A partir de ces résultats, ils calculent l'activité physiologique de la vitamine A pure pour chacune de ces huiles; ils obtiennent des valeurs variant entre 1,23 et 3,38 millions d'unités internationales par gramme, quand ils font usage de la mesure de la coloration bleue, et des valeurs de 1,08 à 2,9 millions d'unités internationales

Hume et Chick, Medical Research Council, Special Report Series, no 202.

<sup>(2)</sup> BACHARACH, DRUMMOND et MORTON, Nature, 137, 1936, p. 148.

 <sup>(3)</sup> MORGAN, EDISBURY et MORTON, Biochem. J., 29, 1935, p. 1645.
 (4) Hume, Nature, 139, 1937, p. 467.

par gramme, quand ils basent leurs calculs sur des valeurs du coefficient d'extinction. Ces divergences sont trop fortes pour pouvoir être attribuées à des erreurs d'expérience.

Étant donné que l'unité internationale est définie comme équivalente à 0,6 γ de β carotène pur et en supposant que le carotène se transforme quantitativement en vitamine A, cette vitamine à l'état pur doit correspondre à 1,56 millions d'unités internationales par gramme. Ces auteurs discutent les divergences observées par rapport à cette valeur; les valeurs expérimentales trop faibles peuvent provenir de l'absorption lumineuse et de la coloration bleue due à la présence d'impuretés influençant ces facteurs; mais les valeurs trop fortes indiquent la présence d'une substance biologiquement active qui présenterait une absorption et une coloration bleue par SbCl<sub>3</sub>, nulles ou beaucoup plus faibles que la vitamine A. La question de l'homogénéité de la vitamine est donc mise en doute de différents côtés et l'on doit encore attendre sa solution.

## DISCUSSION DU RAPPORT DE M. VON EULER.

M. Heilbron. — 1. Étant donné que les alcools aliphatiques polyéthyléniques sont généralement solides et que le β-cyclogéraniol lui-même a une température de fusion de 430 à 440, il semble hautement probable que la vitamine A pure doit être elle aussi un solide cristallin. Des essais faits dans le but de préparer des dérivés cristallisés de la vitamine A selon la méthode de Hamano (1) avant échoué, nous avons songé à la possibilité de transformer la vitamine en aldéhyde, que l'on pourrait purifier par l'intermédiaire de sa semicarbazone ou d'un autre dérivé cristallisé, dont on pourrait ensuite régénérer la vitamine par réduction. Nous avons effectivement oxydé, par le butoxyde tertiaire d'aluminium en suivant les indications d'Oppenauer (2), une solution concentrée de vitamine A et nous avons ainsi obtenu un produit qui, après purification par une méthode chromatographique suivie d'un traitement au réactif de Grignard, se présentait sous l'aspect d'une huile jaune orangé très visqueuse accusant un maximum d'absorption unique et bien défini pour une longueur d'onde de 401 µ

$$E_{1 \text{ cm}}^{1 \%} = 1450.$$

Ce composé forme une semicarbazone dont le point de fusion est de 217-218°, et une p-chlorbenzoylhydrazone de point de fusion 198-199°. L'analyse de ces trois dérivés a montré qu'ils correspondaient, non pas à l'aldéhyde prévue C<sub>20</sub>H<sub>28</sub>O, mais à un composé de formule brute C<sub>23</sub>H<sub>32</sub>O qui ne pouvait être que la cétone

Sci. Pap. Inst. Phys. Chem. Research, 28, 1935, p. 69 et 32, 1937, p. 44.
 Rec. Trav. Chim., Pays-Bas, 36, 1937, p. 141.

Des essais préliminaires semblent indiquer que cette substance est physiologiquement inactive. Il est possible que ceci doive être attribué à l'absence dans la molécule du groupe central conjugué

qui est présent dans toutes les prévitamines A naturelles.

2. Le Dr Gillam et moi, ainsi que les Drs Lederer et Rosanava, de l'Institut vitaminique de Léningrad, avons récemment étudié par une méthode spectrographique quantitative, des huiles de foie et des extraits provenant de divers poissons d'eau douce de Russie. Nous les avons trouvés anormaux, en ce sens, qu'en solution dans le trichlorure d'antimoine, ils accusaient un maximum d'absorption aux environs de 697 mμ. En plus, le chromogène ordinaire de la vitamine A, 620 mμ, est également présent, et le rapport des deux coefficients d'absorption 693/620 est de l'ordre de 2 (pour les poissons marins, il est généralement inférieur à 0,2). Le spectre ultraviolet des huiles de foie de poissons d'eau douce se différencie également de ceux des poissons marins en ce que le maximum d'absorption est déplacé de 328 mμ à 345-350 mμ avec apparition fréquente d'une autre bande à 280-285 mμ.

Le composé responsable du chromogène 693, qui est peut-être une seconde vitamine A, et peut-être un alcool à six liaisons éthyléniques conjuguées, est en ce moment soumis à l'examen chimique. On a déjà préparé un extrait concentré ayant les caractéristiques spectroscopiques suivantes :

il contient, vraisemblablement, par analogie avec la vitamine A ordinaire, 50 pour 100 du chromogène.

Les propriétés chromogéniques des deux classes d'huile de foie dont il est question ici sont très analogues à celles qui ont été signalées récemment par Wald (1) pour les rétines des poissons de mer et d'eau douce (2).

(1) Nature, 138, 1937, p. 1017.

<sup>(2)</sup> Edisbury, Morton et Simkins, Nature, 140, 1937, p. 234.

M. Karrer. — On peut soumettre les caroténoïdes à une oxydation permanganique ménagée. On obtient alors, à partir du β-carotène

deux aldéhydes différentes, le  $\beta$ -carotinal et l'apo-4-carotinal, selon que la rupture se fait en a ou en b.

De même, les deux formes stéréoisomères de la bixine

donnent chacune trois aldéhydes différentes (I), (II) et (III), suivant que la rupture se fait en a, b ou en c.

De ces trois aldéhydes les deux premières s'obtiennent chacune sous deux formes différentes, suivant que l'on part de la forme stable ou de la forme labile de la bixine. Par contre, les deux bixines donnent la même aldéhyde lorsque la rupture se fait à la troisième double liaison, et l'on doit donc admettre que la stéréoisomérie résulte d'un arrangement différent des groupements autour de cette troisième double liaison.

M. Bertand. — Il est peut-être intéressant de signaler ici, pour montrer l'analogie des biocatalyseurs minéraux et organiques, qu'un antagonisme analogue à celui décrit par M. von Euler, a été observé dans le cas de l'action du sulfate de zinc et de la thyroxine sur les têtards de grenouilles. En présence d'une petite dose de sulfate de zinc, les têtards grandissent davantage qu'à l'état normal; en présence de thyroxine, ils se transforment avant d'avoir atteint leur taille habituelle. En présence d'un mélange convenable de sulfate de zinc et de thyroxine, le développement reste normal. Peut-être M. von Euler trouvera-t-il intéressant de refaire son expérience, non plus avec des rats, mais avec des têtards.

M. Bigwood. — Je voudrais aussi dire quelques mots à propos de l'action antagoniste entre la vitamine A et la thyroxine que M. von Euler mentionne dans son Rapport. On peut se demander s'il s'agit réellement d'une action antagoniste au sens propre du mot, c'est-à-dire un effet contrecarrant de l'un des agents portant directement sur l'activité physiologique de l'autre. Le carotène active la croissance, tandis que la thyroxine fait maigrir; ceci ne concerne pas le phénomène de croissance, néanmoins, en dernière analyse, au point de vue des effets sur le poids de l'animal, il s'agit de modifications qui se compensent ou qui s'opposent. Il peut toutefois s'agir de phénomènes physiologiques étrangers l'un à l'autre.

M. SWARTS. — Je voudrais savoir s'il est un groupement fonctionnel actif auquel paraît devoir être attribué l'action physiologique de la vitamine A, et en particulier si le groupement alcoolique terminal combiné avec les doubles liaisons conjuguées de la chaîne latérale est nécessaire à cette activité.

M. von Euler. — Je ne sais pas par quel mécanisme l'effet de la thyroxine et celui du carotène se contrarient, car je n'ai pu qu'observer l'effet global et il ne m'a pas été possible d'élucider les substrats de leur action.

La seule propriété chimique connue jusque maintenant du carotène et de la vitamine A qui puisse jouer un rôle en Biologie consiste en ce que ces substances forment des combinaisons instables avec l'oxygène. Elles peuvent donc servir de transporteurs d'oxygène, et de catalyseurs d'oxydation des acides gras non saturés, par exemple.

M. Bertrand. — M. Swarts demande à quelle partie de la molécule on peut attribuer l'action de la vitamine A.

Outre la fonction alcoolique à laquelle on pense tout d'abord, comme un des points de la molécule de la vitamine susceptibles d'entrer en relation chimique avec la matière vivante, il semble qu'il y ait lieu d'attribuer aussi aux doubles liaisons de la longue chaîne latérale, une grande importance.

L'activité physiologique d'autres substances naturelles est liée à l'existence de telles liaisons non saturées. C'est le cas, par exemple, pour le laccol. Cette substance se trouve à l'état de fine émulsion dans le latex du Rhus succedanca de l'Indochine; il se transforme en laque sous l'influence de la laccase qui l'accompagne, en solution, dans le latex. Son action sur la peau est très énergique; de très faibles quantités produisent, du moins chez certaines personnes, du prurit, de la rubéfaction et même une vésication souvent intense et durable. Personnellement, il me suffit d'un millième de milligramme de laccol, placé sur la peau de l'avant-bras, pour avoir une réaction nette.

Il y a quelques années nous avons obtenu, avec M. G. Brooks, le laccol à l'état pur et cristallisé. Il possède la constitution d'un pyrocatéchol pourvu d'une longue chaîne latérale contenant 16 atomes de carbone. Cette chaîne latérale n'est autre que le squelette hydrocarburé de l'acide palmitique, mais avec deux doubles liaisons éthyléniques

On pourrait croire que l'action irritante et vésicante du laccol provient des deux hydroxyles phénoliques, la présence de la longue chaîne hydrocarbonée apportant des propriétés lipoïdiques qui faciliteraient, par exemple, la pénétration et l'action sur le tissu nerveux.

Or, la saturation des liaisons éthyléniques, par fixation à froid d'hydrogène en présence de noir de platine, transforme le laccol en tétrahydrolaccol, corps très bien cristallisé, pratiquement inactif sur la peau.

Ainsi, l'existence de deux doubles liaisons dans la longue chaîne latérale du laccol a beaucoup plus d'importance sur l'action physiologique de ce corps que celle des fonctions phénoliques. On devra, sans doute, tenir compte de cette circonstance dans l'interprétation du mode d'action de la vitamine A.

# SUR LA VITAMINE B<sub>1</sub>

PAR M. A. WINDAUS (1).

Je ne parlerai pas de l'histoire de la découverte de l'aneurine : elle est suffisamment connue. Je veux seulement rappeler qu'après de longs tâtonnements on a finalement reconnu comme exacte, en 1935, la formule C<sub>12</sub>H<sub>18</sub>N<sub>4</sub>OSCl<sub>2</sub> que nous avons établie pour le chlorhydrate d'aneurine.

L'aneurine est une base diacide. Chauffée avec les alcalis dilués, elle libère une molécule d'ammoniac et une molécule d'hydrogène sulfuré et perd en même temps son activité physiologique. Une molécule d'ammoniac s'élimine également en chauffant avec un acide dilué, mais dans ce cas le soufre n'est pas libéré. L'analyse a montré que dans cette transformation un groupe NH<sub>2</sub> est remplacé par un groupe OH. Sous l'action de l'acide chlorhydrique concentré, le chlore se substitue à l'hydroxyle. Ces produits de transformation sont également inactifs au point de vue physiologique.

Produits de dégradation de l'aneurine.

En oxydant avec précaution l'aneurine par l'acide nitrique, Grewe a obtenu à Göttingen deux produits de réaction : un

<sup>(</sup>¹) En l'absence de M. Windaus, empêché d'assister aux réunions du Conseil, M. Barger a bien voulu se charger de la présentation de ce Rapport.

acide  $C_5H_5O_2NS$  et une substance qui ne se laisse concevoir que comme un nitrate d'ester éthylique de formule  $C_7H_{11}O_5N_3$ . Nous avons d'abord considéré cette substance comme un nitrate d'un ester d'acide imidazol-carbonique, par exemple :

Nous sommes arrivés entre temps, par voie synthétique et par l'étude des spectres d'absorption, à exclure la possibilité d'un anneau d'imidazol. Nous tendions ensuite à voir dans notre produit d'oxydation un composé d'addition de l'acide nitrique à un éther dioxy-pyrimidine-monoéthylique et nous lui avons attribué la formule suivante, par analogie avec les produits préparés par H. Biltz:

$$CH_3 C OH COH$$

Il est établi aujourd'hui que le composé en question est un dérivé de la pyrimidine, mais l'exactitude de notre formule est encore incertaine.

L'autre produit d'oxydation obtenu par Grewe, C<sub>5</sub>H<sub>5</sub>O<sub>2</sub>NS, est un acide. Nous savons aujourd'hui, grâce aux travaux de Williams et Clarke, que c'est l'acide 4-méthyl-thiazol-5-carbonique. Il est un peu mortifiant pour nous de ne pas l'avoir reconnu précédemment et il nous paraît utile d'expliquer les causes de cette omission.

Sous l'action des alcalis dilués, l'acide C<sub>5</sub>H<sub>5</sub>O<sub>2</sub>NS libère très facilement de l'hydrogène sulfuré et de l'ammoniac. D'autre part, Neisser prépara un acide α-thio-pyrrol-carbonique de formule

et montra que sous l'action d'alcalis dilués il se comporte comme notre produit de dégradation, en libérant très facilement l'hydrogène sulfuré et l'ammoniac. Cela nous a amené à la conviction que notre acide devait être un acide α-thio-méthyl-pyrrol-carbonique. Pourquoi n'avons-nous pas vérifié s'il ne s'agissait pas d'un acide méthyl-thiazol-carbonique? Nous avons bien discuté la question de savoir si le soufre pouvait faire partie du cycle, mais nous avons attiré l'attention sur le fait que l'anneau du thiophène et celui du thiazol appartiennent aux systèmes cycliques les plus stables, de sorte qu'il paraissait exclu qu'ils puissent être rompus par les alcalis dilués avec séparation d'hydrogène sulfuré. A cela s'ajoutait la constatation qu'on n'avait jamais observé dans le règne végétal des dérivés du thiophène ou du thiazol. Cela explique pourquoi nous n'avons pas comparé notre acide avec l'acide 4-méthyl-thiazol-5-carbonique que l'on connaissait déjà à cette époque.

Le progrès décisif dans l'établissement de la constitution de l'aneurine a été réalisé par Williams, Clarke et leurs collaborateurs. Ils trouvèrent une réaction très surprenante de l'aneurine : cette base, qui reste stable à 100° en présence d'acide chlorhydrique dilué, se décompose déjà à la température ordinaire sous l'action du bisulfite de sodium, et il se forme dans cette décomposition deux produits, une base C<sub>6</sub>H<sub>9</sub>ONS et un acide C<sub>6</sub>H<sub>9</sub>O<sub>3</sub>N<sub>3</sub>S.

La base renferme un hydroxyle qui se laisse estérifier ou bien remplacer par le chlore. Par oxydation, elle fournit l'acide C<sub>5</sub>H<sub>5</sub>O<sub>2</sub>NS que nous avions obtenu antérieurement et que Clarke reconnut comme étant l'acide 4-méthyl-5-thiazol-carbonique. A la place du groupe COOH, la base C<sub>6</sub>H<sub>9</sub>ONS contient le reste hydroxylé C<sub>2</sub>H<sub>5</sub>O, c'est-à-dire CHOHCH<sub>3</sub> ou CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>OH. Cette dernière éventualité est plus probable; car la base ne donne pas la réaction de l'iodoforme et se

montre optiquement inactive, comme la vitamine. On a ensuite établi par synthèse la formule suivante de la base :

La synthèse de Clarke a été réalisée comme suit :

$$\begin{array}{c} CH_{3}CO \\ CH_{2} \\ CH_{2} \\ CH_{2} \\ COOR \\ \\ COOR \\ \\ COOR \\ \\ CH_{2} \\ CH_{2} \\ CH_{2} \\ COOR \\ \\ CH_{3}CO \\ CH_{2} \\ CH_{2} \\ CH_{2} \\ CH_{3}CO \\ CH_{3}COOR \\ \\ CGI \\ \\ CGI \\ \\ CGI \\ \\ CH_{2}C \\ \\ OC_{2}H_{5} \\ \\ CH_{3}COOR \\ \\ CH_{2}COOR \\ \\ CGI \\ \\ CH_{3}COOR \\ \\ COOR \\ \\ CH_{3}COOR \\ \\ CH_{3}COOR \\ \\ CH_{3}COOR \\ \\ COOR \\ \\ CH_{3}COOR \\ \\ CH_{3}COOR \\ \\ COOR \\ \\ CH_{3}COOR \\ \\ CH_{3}COOR \\ \\ COOR \\ \\ CH_{3}COOR \\ \\ CH_{3}COOR \\ \\ CH_{3}COOR \\ \\ COOR \\ \\ CH_{3}COOR \\ \\ CH_{3}COOR$$

Une synthèse un peu différente a été réalisée par Andersag

et Westphal à la I. G. Farbenindustrie A. G. Elberfeld :

Plus tard, Todd et d'autres chercheurs ont travaillé directement avec la thioformamide. Ces synthèses ont élucidé la structure d'une moitié de la molécule de l'aneurine.

Au premier abord, on ne peut rien dire de certain au sujet de l'autre moitié, correspondant à la formule  $C_6H_9O_3N_3S$ . Le chauffage avec l'acide chlorhydrique dilué remplace un groupe amine par OH, comme dans la vitamine  $B_1$  elle-même. Le soufre semble s'y trouver sous forme d'un acide sulfonique. La présence d'un cycle de pyrimidine est probable mais nullement prouvée. Williams a soumis à la discussion la formule suivante de l'acide sulfonique:

qui n'est pourtant qu'une des nombreuses formules possibles. Comment sont reliés les deux fragments provenant de la scission de l'aneurine? Comme les groupes primaires d'alcool et d'amine existent déjà dans l'aneurine, la liaison entre le cycle du thiazol et l'autre partie de la molécule n'est possible que par l'atome d'azote du thiazol, qui doit donc être pentavalent dans la vitamine B<sub>1</sub>. On arrive alors pour l'aneurine à une formule du genre de celle-ci :

Le titrage de la vitamine B<sub>1</sub> par les alcalis a fourni de nouveaux arguments en faveur d'une formule représentant le chlorhydrate d'aneurine comme un sel d'ammonium quaternaire.

L'image de l'aneurine proposée par Williams s'est maintenue dans son ensemble. Ce n'est que dans la partie gauche de sa formule qu'on a dû introduire quelques modifications.

Grewe à Göttingen a réalisé un progrès important en isolant une base diacide C<sub>6</sub>H<sub>10</sub>N<sub>4</sub> par oxydation modérée de l'aneurine au moyen du permanganate de potassium. D'après la formule de Williams, cette base devrait être une 4,5-diamino-6-éthylpyramidine. Cela nous a paru impossible a priori, car nous avions préparé par oxydation avec l'acide nitrique une substance qui, à notre avis, doit dériver d'une méthyl-dioxy-pyrimidine. On a d'ailleurs réussi plus tard à synthétiser l'éthyl-diamino-pyrimidine, que Williams considérait comme un des éléments de structure de l'aneurine, et l'on a prouvé qu'elle diffère de la substance de Grewe. Nous-mêmes penchions d'abord à attribuer à la base de Grewe la formule

Il n'y avait contre cette hypothèse que le fait de l'absence de la réaction chinoxalique avec la phénanthrènequinone. Mais nous avons appris peu de temps après que la base correspondant à cette formule avait été préparée synthétiquement par la I. G. Farbenindustrie à Eberfeld et qu'elle s'était montrée différente de la base de Grewe. C'est le cas également de la base isomère

L'hypothèse que l'un des deux groupes amines pouvait se trouver non pas dans l'anneau de la pyrimidine, mais dans une chaîne latérale a été énoncée en premier lieu par les chercheurs japonais Makino et Imai, qui ont proposé la formule suivante :

Le Mémoire de ces auteurs est parvenu à la rédaction de la Zeitschrift für physiol. Chemie le 14 février 1936. Nous avons discuté précédemment cette possibilité à Göttingen et la I. G. Farbenindustrie avait déjà pris le 27 février 1936 un brevet concernant la préparation de composés contenant l'anneau de pyrimidine lié à celui du thiazol par un groupe méthylène.

La structure de la base de Grewe a été définitivement établie par synthèse. Celle-ci a été d'abord réalisée par Andersag et Westphal, à la I. G. Farbenindustrie, et peu après par Grewe en suivant une voie différente. Il s'est montré que la base de Grewe répond à la formule

Voici le schéma de la synthèse de la I. G. Farbenindustrie (Andersag et Westphal):

Le schéma de la synthèse de Grewe est le suivant :

Grâce à ces synthèses, la structure de l'aneurine s'est trouvée établie avec certitude. Il lui revient la formule

La synthèse de l'aneurine pouvait dès lors être effectuée sans aucune difficulté. La base synthétique C<sub>6</sub>H<sub>10</sub>N<sub>4</sub>, traitée par l'acide nitreux, a donné l'alcool primaire et celui-ci, par l'acide bromhydrique, le bromure (¹)

<sup>(</sup>¹) Ce bromure donne avec le bisulfite de sodium l'acide sulfonique de Williams.

qui se combine directement avec le méthyl-oxyéthylthiazol en donnant le bromhydrate d'aneurine.

L'aneurine est ainsi devenue facile à obtenir. Quelque trois mois plus tard, Williams effectua sa synthèse par une méthode différente :

Ce produit est identique à celui de la I. G. Farbenindustrie et se combine directement au dérivé du thiazol pour donner le bromhydrate de l'aneurine.

#### SUR LE THIOCHROME.

L'étude chimique de l'aneurine s'est trouvée en princîpe terminée par les synthèses qui précèdent. Mais il me reste encore à parler d'une substance intéressante, le thiochrome, que Kuhn a isolé de la levure et dont la formule C<sub>12</sub>H<sub>14</sub>N<sub>4</sub>OS indique une relation étroite avec la vitamine B<sub>1</sub>. Cette relation existe en effet, car Barger et ses collaborateurs ont pu obtenir le thiochrome par oxydation de l'aneurine au moyen d'une solution alcaline de ferricyanure de potassium. Le mécanisme de la réaction est probablement le suivant : l'hydroxyde quaternaire correspondant à l'aneurine se transpose en un carbinol; le groupe alcool secon-

daire est oxydé en groupe cétonique et celui-ci se condense avec le groupe d'amine primaire en un nouveau cycle, comme l'indique le schéma suivant :

Dans ce cas également, la formule proposée a été vérifiée par synthèse, notamment par Todd et ses collaborateurs. Le produit de départ a été la pyrimidine synthétique de la I. G. Farbenindustrie

$$CH_2C \underbrace{ \begin{matrix} C \\ N \end{matrix} }_{C}C - CH_2 - CO \ O \ C_2 \ H_2$$

Celle-ci a été dégradée par la méthode de Curtius

et transformée par l'acide nitreux en

qui donne avec POCl3 le composé

Ce composé a été condensé avec un dérivé du thiazol préparé en premier lieu par Neisser

qu'il vaut mieux écrire ici sous la forme

La condensation conduit au thiochrome

### DISCUSSION DU RAPPORT DE M. WINDAUS.

M. Barger. — En présentant le Rapport de M. Windaus, dont nous regrettons tous l'absence à ces réunions, je voudrais apporter certains détails complémentaires concernant l'aneurine.

Je rappellerai d'abord que l'emploi des méthodes de précipitation par l'acide phosphotungstique, par le sublimé, etc., dont j'ai fait usage vers 1910 pour isoler l'histamine de l'ergot, ont conduit Funk à donner le nom de vitamine à une substance que l'on trouve dans le riz et qui guérit le polyneuritis gallinarum d'Eykman. Mais en réalité Funk n'a isolé du riz que l'acide nicotinique impur, tandis que les petites quantités de la substance active véritable étaient entraînées et adsorbées par les précipités. Ce fut le mérite de Jansen d'avoir isolé cette substance active elle-même, la vitamine B1, en employant précisément, pour les concentrations préliminaires, les phénomènes d'adsorption responsables des difficultés auxquelles se sont heurtés antérieurement Funk, Suzuki, et d'autres chercheurs. Quant au nom d'aneurine, adopté il y a quelques années par Jansen, il a déjà été employé précédemment dans les publications du laboratoire d'Édimbourg, et je me réjouis de le voir accepté généralement aujourd'hui.

Je voudrais ensuite insister sur le fait que les synthèses de l'aneurine indiquées dans le Rapport de M. Windaus ont fait l'objet de brevets et n'ont pas été publiés avec tous les détails que comportent des publications scientifiques ordinaires (¹). La première synthèse de l'aneurine décrite complètement est celle de Todd et Bergel (Journ. Chem. Soc., mars 1937, p. 364). Elle se distingue de celles de la I. G. Farbenindustrie et de Williams en ce qu'on ne soude pas le noyau du thiazol préalablement formé à la bromo-amino-pyrimidine, mais qu'on soumet l'amino-méthyl-amino-pyrimidine à l'action d'un nouvel agent, l'acide

<sup>(</sup>¹) Un mémoire détaillé vient d'être publié, après la clôture de ce Conseil, par H. Andersag et K. Westphal, Ber. d. deustch. Chem. Ges., 70, 1937, p. 2035.

dithioformique. Après thioformylation, le noyau du thiazol est formé par l'action d'une chlorocétone acétylée

Cette méthode donne un rendement en vitamine supérieur à ceux des synthèses antérieures. Elle a permis, d'autre part, à Todd et à ses collaborateurs, de réaliser des synthèses qu'il est impossible d'accomplir par d'autres voies, notamment celles de composés contenant un noyau de thiazol soudé directement à un noyau de pyrimidine, sans le groupe méthylène intermédiaire préconisé plus tard par Makino et Imai. Ces composés ont une structure correspondant à la première formule de Williams et ne donnent pas par oxydation, contrairement à l'aneurine, des produits fluorescents analogues au thiochrome. C'est cette absence de fluorescence après oxydation qui a été invoquée comme un des premiers arguments contre la formule initiale de Williams.

Bien que la transformation de l'aneurine en thiochrome fluorescent ne soit pas quantitative, Jansen a décrit une méthode de dosage de la vitamine B<sub>1</sub> basée sur la mesure de cette fluorescence, en utilisant comme terme de comparaison un échantillon-type traité de la même manière que la préparation analysée. Cette méthode me paraît d'une grande utilité. Il convient encore de faire remarquer que le chlorhydrate d'aneurine synthétique, préparé par les méthodes de Williams ou de Todd et Bergel, a un point de fusion plus bas (232-234°) que le produit naturel ordinaire (249-250°), ce qui semble indiquer que l'aneurine est dimorphe. L'activité physiologique de ces deux formes possibles est en tout cas identique.

M. von Euler. — Je voudrais demander à M. Barger quelles sont, à son avis, les meilleures méthodes de dosage de l'aneurine. Les méthodes chimiques ou physicochimiques sont-elles aussi sensibles et précises que les méthodes biologiques ? En particulier, quelle est la valeur du procédé de dosage de Jansen au point de vue de la sensibilité ?

M. Barger. — Ce procédé est surtout avantageux au point de vue de la spécificité.

M. DRUMMOND. - Un de mes collègues, M. Pyke, a fait une étude de la méthode chimique de dosage de la vitamine B, décrite en premier lieu par Jansen. Elle s'est montrée très précise dans le cas de la vitamine pure, des extraits concentrés ou des préparation enrichies par adsorption. Mais elle a dû être modifiée avant de donner des résultats satisfaisants dans les dosages de l'aneurine contenue dans les aliments. Actuellement, la méthode est au point, et les résultats qu'elle fournit concordent avec ceux de la bradycardia method de Birch et Harris. Sa précision est probablement supérieure à celle de la méthode biologique. J'ajoute que les difficultés rencontrées au début dans les dosages chimiques de la vitamine B, dans l'urine ont été surmontées aussi bien au laboratoire de Jansen que par M. Pyke. Ces dosages conduisent à présent à des résultats exacts, alors que les méthodes biologiques donnent, dans le cas des « adsorbés » de l'urine, des résultats trop faibles, parce qu'on n'arrive pas à réaliser l'adsorption quantitative de l'aneurine.

M. Delépine. — Je voudrais dire quelques mots au sujet du complément apporté par M. Barger au Rapport de M. Windaus, relativement à la synthèse de l'aneurine par la méthode de Todd et Bergel. Il est évidemment du plus haut intérêt qu'après s'être donné bien du mal pour édifier le groupement —CH<sub>2</sub>—NH<sub>2</sub>, on puisse éviter de le détruire, comme cela est nécessaire dans les synthèses de Williams, de l'I. G. Farbenindustrie et de Grewe. Je demanderai toutefois si le rendement de la condensation du dérivé thioformylé avec la chlorocétone est aussi bon que celui que fournit la condensation de l'amino-aminométhyl-pyrimidine transformée en chlorure (CH<sub>2</sub>Cl) avec le thiazol.

M. Barger. — Je suis persuadé qu'à partir de l'étape pyrimidine diaminée, le rendement en vitamine est meilleur par la méthode de Todd et Bergel que par celles de ses prédécesseurs.

M. Karrer. — Je voudrais demander à M. Barger si les substances ayant la structure de la vitamine B<sub>1</sub> mais avec des chaînes latérales différentes, sont également actives au point de vue physiologique.

En ce qui concerne l'action de l'aneurine, je signalerai que, dans les cas d'avitaminose B<sub>1</sub>, on observe sur des organes isolés (coupes pratiquées dans les tissus du foie, des reins, du cœur et surtout du cerveau) une diminution de la consommation de l'oxygène et une augmentation de la teneur en acides lactique et pyruvique par rapport aux tissus normaux. Cela va d'accord avec un accroissement de la teneur du sang en substances cétoniques, et l'on a pu aussi déceler CH<sub>2</sub>CO CHO. Ces perturbations du métabolisme des hydrates de carbone sont accélérées par une alimentation riche en sucre. Tout cela indique que la vitamine B<sub>1</sub> intervient dans le métabolisme des hydrates de carbone. Une nouvelle confirmation de ce fait a été fournie par Lohmann, qui constata que l'acide aneurine-pyrophosphorique est identique à la co-carboxylase.

M. Barger. — En réponse à la question de M. Karrer, je puis indiquer que nous avons étudié des dérivés de l'aneurine obtenus en modifiant la chaîne latérale du thiazol. Ces substances ne présentaient qu'une faible activité physiologique.

M. Bigwood. - Au sujet du métabolisme des glucides dans

l'avitaminose B<sub>1</sub>, j'ai fait remarquer, au cours de la discussion du Rapport de M. Karrer, que, s'il est exact que le catabolisme du glucose s'arrête principalement au stade de l'acide pyruvique, on devrait s'attendre à observer, au cours de cet état de carence, un état d'acidose facilement décelable. Je voudrais préciser que cela ne veut pas dire qu'une telle acidose doive jouer nécessairement un rôle déterminant dans les accidents polynévritiques du béri-béri. On connaît, en effet, des états d'acidose même prononcée qui ne s'accompagnent jamais de manifestations pathologiques de ce genre.

M. Szent-Györgyi. — L'arrêt de la réaction de décarboxylation ne conduit pas nécessairement à des quantités notables d'acide pyruvique; car cet acide résulte d'une longue chaîne de réactions et toute cette chaîne est arrêtée par des traces de pyruvate. D'autre part, je ne crois pas que l'avitaminose B<sub>1</sub> touche uniquement le système nerveux central. Ce système est seulement plus sensible et souffre davantage.

## VITAMINE B2 OU LACTOFLAVINE

PAR M. H. VON EULER.

#### I. - Introduction.

La lactoflavine (1), comme on doit dénommer maintenant la vitamine B<sub>2</sub>, est d'un intérêt si varié que, dans les limites de cet exposé, je ne traiterai de la chimie de ce corps que pour autant qu'elle constitue la base de la compréhension de son comportement biochimique.

La lactoflavine mérite une attention particulière comme groupement actif de l'enzyme de la flavine; car elle constitue un exemple particulièrement instructif et probablement très typique, de la manière dont un corps actif, une ergone (vitamine ou hormone), intervient dans les échanges nutritifs et par là aussi dans les processus du développement de l'organisme.

Des recherches fondamentales concernant la physiologie de la nutrition ont ouvert un champ de recherches expérimentales fécond dans le domaine des vitamines; ensuite avec l'aide de la Chimie organique, on a réussi à isoler, à déterminer la constitution

<sup>(</sup>¹) Les avis sont encore partagés sur le point de savoir si l'on doit désigner la lactoflavine comme seule vitamine B₂, ou si le terme « vitamine B₂ » doit être appliqué à tout un groupe de vitamines capables de provoquer les effets que l'on attribuait antérieurement à la vitamine B₂. J'estime qu'il convient de donner à la lactoflavine le nom de vitamine B₂ et dans le cas où un doute pourrait subsister, d'employer le terme lactoflavine qui est défini chimiquement d'une façon tout à fait claire comme étant la ribityl-iso-alloxazine.

et à faire la synthèse de ces corps; le temps est donc venu à mon avis où l'on doit s'efforcer d'éclaircir le rôle biochimique des vitamines dans l'organisme animal, en les considérant comme des catalyseurs de réactions spécifiques, de manière à comprendre, à partir de ce point de départ, leurs actions physiologiques et cliniques.

Vers la fin du siècle dernier Eijkman a découvert la vitamine B et, comme on le sait, au cours des dix dernières années, on est parvenu à y différencier au moins six composants dénommés de B<sub>1</sub> à B<sub>6</sub>. Parmi ces corps les vitamines B<sub>1</sub> et B<sub>2</sub> sont déjà connues si complètement en ce qui concerne leur constitution qu'on a réussi à réaliser leur synthèse.

La vitamine B<sub>2</sub>, appelée primitivement vitamine antipellagreuse ou antidermatique, a été identifiée dès 1933 par Kuhn, György et Wagner-Jauregg (¹) avec une matière colorante à fluorescence verte, soluble dans l'eau et dans les liquides humoraux, qui avait déjà été entre les mains de Blyths (1879) et de Bleyer et Kallmann (1925). Dans deux articles parus simultanément Kuhn, György et Wagner-Jauregg (loc. cit.) et Ellinger et Koschara (²) annonçaient qu'ils avaient réussi à isoler à l'état cristallisé à partir de blanc d'œuf et du petit lait, une substance pour laquelle les premiers ont proposé le nom de flavine et les autres celui de lyochrome (³).

Peu après Karrer (4) a isolé à partir du foie une flavine cristallisée (hepto-flavine), et Koschara une uroflavine à l'état cristallisé à partir de l'urine.

Kuhn et ses collaborateurs de même que Ellinger et Koschara, ont immédiatement reconnu la relation existant entre cette sub-

<sup>(1)</sup> Kuhn, György et Wagner-Jauregg, Ber., 66, 1933, p. 317 et 1577.

<sup>(2)</sup> Ellinger et Koschara, Ber., 66, 1933, p. 315, 808, 1411.

<sup>(</sup>a) Ellinger et Kuhn se sont mis d'accord pour choisir le terme de lyochrome comme nom général du groupe dont les différents représentants seraient appelés des flavines, uroflavine, lactoflavine, etc. Toutes ces flavines extraites de différents organes et liquides humoraux, à l'exception de l'urine, se sont révélées identiques à la lactoflavine.

Actuellement on dénomme flavines tous les dérivés des iso-alloxazines.

<sup>(4)</sup> KARRER, SALOMON et SCHÖPP, Helv. Chim. Acta, 17, 1934, p. 419.

stance fluorescente et la cytoflavine que Szent-Györgyi (1) venait de découvrir et avec la matière colorante du ferment jaune de Warburg et Christian (2). Ainsi qu'on l'a reconnu plus tard, la cytoflavine est du phosphate de flavine, tandis que le ferment jaune de Warburg est la combinaison de ce phosphate avec une protéine déterminée (Kunn et Rudy, Z. physiol. Chem., 239, 1936, p. 47).

## II. - FRÉQUENCE DE LA LACTOFLAVINE.

Warburg et Christian ont fourni des données concernant le contenu en flavine de quelques levures et bactéries; bientôt fut démontrée la présence très fréquente de flavine dans les plantes et les animaux. Parmi les premières données quantitatives à ce sujet, citons les résultats de Euler et Adler (3):

	Contenu en y de flavine par gramme de poids frais.	Matériaux observés.	Contenu en y de flavine par gramme de poids frais.
Bœuf, Foie	10-20 10-20 5-10 5-10 1-5	Placenta humain	0,5-1,0 1-5 0,5-1,0 1-5 0,5-1,0
Génisse Ovaire (stroma)  " " (follicule)  " " (jus folliculaire)  Bœuf Rate	1-5	OEil (lapin)	
Poumon  Hypophyse (bœuf): lobe antérieur lobe postérieur	0,5-1,0 0,5-1,0 0,025-0,5	Sérum (bœuf) Sarcome (poule) (Roux) Sarcome (rat) (Jensen),	0,025

Nos données à ce sujet sont bien d'accord avec les observations de Charite et Khaustov (4) concernant les chats et les lapins.

<sup>(1)</sup> BANGA et SZENT-GYÖRGYI, Biochem. Z., 246, 1932, p. 203.

<sup>(2)</sup> Warburg et Christian, Biochem. Z., 254, 1932, p. 438; 257, 1933, p. 492.

<sup>(\*)</sup> EULER et ADLER, Z. physiol. Chem., 223, 1933, p. 105.

<sup>(4)</sup> Charite et Khaustov, Biochem. J., 29, 1934, p. 34.

Matériaux végétaux (¹).	Quantité utilisée.	γ de flavine par gramme de matière fraiche.
Choux-fleurs, choux blanes	200€	0,5
Tomates	2005	0,5
Épinards (jus) (extrait de 1kg d'épinards)	600em2	0,8
Épinards (séchés dans le vide)	2005	8-10 (par g. poids sec).
Citron (jus)	145cm2	0,03
Citron (écorce et résidu de pressage)	235#	0,06
Pommes de terre	2005	0,1
Froment	200g	0,2
Maïs	2005	1,0
Herbe (fraiche)	10005	0,5
Herbe (séchée dans le vide)	1300g	6 (par g. poids sec).
Pollen de bouleau	05,7	9
Pollen de Pinus montana	25	2

On obtient un accord satisfaisant si l'on compare les quantités de flavine ainsi trouvées avec les données de la littérature concernant l'activité vitaminique de B<sub>2</sub> des mêmes matériaux végétaux [en particulier avec celles de Roscoe (2) et Aykroyd et Roscoe (3)].

Le bilan des flavines dans le corps animal. — On ne possède que peu de données concernant l'intéressante question des transformations des flavines. Vivanco (4) a exécuté un travail d'orientation dans mon Institut; il a montré que de jeunes rats, après deux mois de régime privé de lactoflavine, possèdent encore 30 pour 100 du contenu normal en flavine dans le foie, le cœur et les reins, on n'a pas observé d'élimination de flavine par le rein au cours de la période où la nourriture ne contenait pas de vitamine B<sub>2</sub>. Ces observations peuvent démontrer que l'organisme s'efforce de combler le déficit dans l'arrivée de vitamine B<sub>2</sub> par l'arrêt complet de l'élimination de ce corps. Nous nous proposons d'effectuer des essais correspondants sur l'homme.

Le besoin journalier de l'homme est évalué à 1 mg de lacto-

<sup>(1)</sup> Euler, Adler et Schlötzer, Z. physiol. Chem., 226, 1934, p. 87-

<sup>(2)</sup> Roscoe, Biochem. J., 24, 1930, p. 1754; 25, 1931, p. 2050.

<sup>(</sup>a) AYKROYD et ROSCOE, Biochem. J., 23, 1934, p. 483.

<sup>(4)</sup> VIVANCO, Sv. Vet. Akad. Arkiv. f. Kemi, 12 A, nº 3, 1935.

flavine, mais les quantités ingérées sont notablement plus fortes. On trouvera les résultats de Kuhn, Wagner-Jauregg et Kaltschmitt (1) dans le tableau suivant :

Matériaux.	Lumiflavine (mg).	Lactoflavine (mg),
11 jus d'orange (stérilisé)	0,059	0,089
Iks bananes (pelées) Iks abricots (séchés)	0,050	0,075
1ks fruits d'églantier (frais)	0,046	0,069
1ks tomates (Boschi et Figli)	0,13	0,71
1 <sup>ks</sup> épinards (séchés) 1 <sup>ks</sup> épinards (frais)	3,80	5,70
1ks foin (luzerne sèche)	4,78	7,17
1ks pommes de terre (Industrie, Palatinat	1). 0,050	0,075
1kg malt (extrait) (E. Löflund)	( 1 25	0,33
1 bière claire (Spaten, Munich)	( 1,507	0,29
11 vin blanc (Palatinat 1933, Oberhaardt 1ks miel de sapin (1933)	) 0,083	0,125 1,060

La preuve que dans les organismes animaux et végétaux, la plus grande partie de la lactoflavine se présente sous forme de flavine-enzyme, est d'un grand intérêt biochimique (2). La flavine, ou son phosphate, agissent comme des groupes catheptiques et, de même que dans beaucoup d'autres cas, l'action de ces corps augmente considérablement par liaison à un apoenzyme.

Matériaux.	de flavine par gramme de poids frais.	Fraction de flavine combinée en pour 100 du contenu en flavine.	
Bœuf. Foie	9-18 7/g	70-80	
» Rein	8-16 "	70-80	
» Corps jaune	4-8 "	70-80	
Cerveau (homme)	2 0	70-80	
Levure séchée	18-21 "	90	
Apozymase	16-20 W	70	
Jaune d'œuf	5-6 »	90-100	
Blanc d'œuf	4-5 "	90-100	
Lait de vache	2-3 Y/cm2	20-25	
Urine humaine	0,3-0,5 »	0	

Kuhn, Wagner-Jauregg et Kaltschmitt, Ber., 67, 1934, p. 1452.
 Euler et Adler, Sv. Vet. Akad. Arkiv. f. Kemi, 11 B, no 28, 1934.

Euler et Adler ont trouvé de la flavine, en majeure partie à l'état libre, dans la rétine des yeux de poisson. La flavine libre domine aussi dans le lait (Ellinger et Koschara, Kuhn et Kaltschmitt, Ber., 68).

Dans de remarquables recherches, Bradley Pett (1) a montré que le contenu en flavine ou en flavine-enzyme peut être notablement augmenté, si l'on cultive les levures dans un milieu contenant des cyanures alcalins; en outre une certaine quantité de phosphate est indispensable pour l'obtention d'une teneur normale en flavine.

Dosage de la lactoflavine: Méthodes optiques. — La présence de vitamines bien définies au point de vue chimique peut naturel-lement être prouvée par des méthodes chimiques et physiques. C'est ainsi que dans certaines conditions on peut évaluer directement la richesse en lactoflavine d'après l'intensité de la fluorescence (²). Plus tard nous avons dosé la lactoflavine par transformation en lumilactoflavine soluble dans le chloroforme que l'on évalue fluorométriquement à l'aide du photomètre à échelons (³). Kuhn, Wagner-Jauregg et Kaltschmitt (⁴) ont mesuré la concentration en lactoflavine par colorimétrie au photomètre à échelons après transformation en lumilactoflavine.

Concernant le dosage de la lactoflavine par consommation d'oxygène (test catalytique). Voir Kuhn et Rudy, Ber., 69, 1936, p. 2557.

#### III. - CHIMIE DE LA LACTOFLAVINE.

La lactoflavine constitue une matière colorante jaune que Kuhn a obtenue sous forme d'aiguilles orangées (température de fusion avec décomposition 292-293° corr.).

BRADLEY PETT, Sv. Vet. Arkiv. f. Kemi, 11 B, nº 53, 1935.

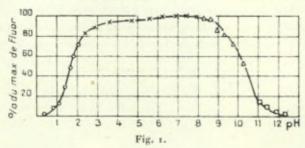
<sup>(2)</sup> EULER et Adler, Sv. Kem. Tidskr., 45, 1933, p. 276; Z. physiol. Chem., 223, 1934, p. 105. — Suplee et collaborateur, Jl. Dairy Science, 19, 1936, p. 215.

<sup>(3)</sup> EULER, ADLER et Schlötzer, Z. physiol. Chem., 226, 1934, p. 87. — VIVANCO, Naturwiss., 23, 1935, p. 306; Sv. Vet. Akad. Arkiv. f. Kem., 12 A, no 3, 1935.

<sup>(4)</sup> KUHN, WAGNER-JAUREGG et KALTSCHMITT, Ber., 67, 1934, p. 1452.

Kuhn a montré que ces cristaux avaient la composition C<sub>17</sub>H<sub>20</sub>N<sub>4</sub>O<sub>6</sub>.

La lactoflavine est caractérisée par la forte fluorescence jaune verdâtre de ses solutions; celle-ci disparaît en milieu fortement acide ou alcalin; Kuhn et Moruzzi (1) ont représenté dans le diagramme suivant les rapports entre la fluorescence et l'acidité.



Cette figure démontre que les molécules électriquement neutres (Zwitterionen) sont seules fluorescentes. On peut considérer la courbe d'acidité de la fluorescence comme la courbe de dissociation de la flavine fonctionnant comme électrolyte amphotère. Le point isoélectrique se trouve à pH = 6,0.

On peut précipiter la flavine à l'état de sel de thallium jaune ou de sel d'argent rouge.

Dans la lumière visible, la lactoflavine subît une transformation caractéristique :

1º En solution alcaline la lactoflavine ainsi que le groupement actif du ferment jaune de Warburg (2) se transforme en lumiflavine C<sub>13</sub>H<sub>12</sub>N<sub>4</sub>O<sub>2</sub> (3).

2º En solution neutre ainsi que l'a découvert Karrer (4) il se forme du lumichrome (voir plus loin).

Enfin la 'actoflavine est encore caractérisée par son spectre qui a d'abord été mesuré par Kuhn, György et Wagner-Jauregg;

<sup>(1)</sup> Kuhn et Mohuzzi, Ber., 67, 1934, p. 888.

<sup>(2)</sup> WARBURG et CHRISTIAN, Biochem. Z., 254, 1932, p. 438; 257, p. 492; 258, p. 496.

<sup>(3)</sup> KUHN, RUDY et WAGNER-JAUREGG, Ber., 68, 1935, p. 625.

<sup>(4)</sup> KARRER, SALOMON, SCHÖPP, SCHLICKLER et FRICKE, Helv. Acta, 17, 1934, p. 1010.

on y reconnaît des maxima bien prononcés à 270, 373, et 445<sup>mp</sup>. Ce spectre ressemble beaucoup à celui de la lumiflavine mesuré par Warburg et Christian (*Biochem*, Z., 258).

En solution faiblement alcaline la lactoflavine est lévogyre (1) et le pouvoir rotatoire dépend de la concentration; par addition de borax la solution devient fortement dextrogyre.

Alors que la lactoflavine résiste très bien à l'oxydation, elle se transforme en leuco-lactoflavine sous l'action de l'hydrosulfite, du zinc et d'autres réducteurs; cette leuco-flavine est réoxydée

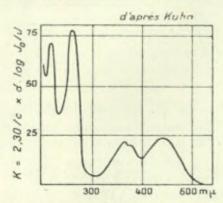


Fig. 2. — Spectre d'absorption de la lactoflavine. Ordonnées × 10-1,

à l'état de flavine par l'oxygène atmosphérique (Warburg et Christian; Kuhn, Wagner-Jauregg et György).

Le potentiel d'oxydo-réduction a été déterminé par beaucoup d'auteurs et notamment par Barron et Hastings (2), Bierich (3), Stern (4), Kuhn et Moruzzi (5), Kuhn et Boulanger (6), Stare (7).

Comme valeur moyenne pour un mélange équimoléculaire de lactoflavine et de dihydrolactoflavine on a trouvé un potentiel de — 0,21 volt. Il en résulte que la leuco-base, la dihydrolacto-

<sup>(1)</sup> Kuhn et Rudy, Ber., 68, 1935, p. 169; Kuhn, Rudy et Weygand, 68, 1935, p. 625.

<sup>(2)</sup> BARRON et HASTINGS, J. Biol. Chem., 105, 1934, p. 7.

<sup>(3)</sup> Bierich, Lang et Rosenbohm, Z. physiol. Chem., 223, 1934, p. 180.

<sup>(4)</sup> STERN, Nature, 1933, p. 132; Biochem. J., 28, 1934, p. 949.

<sup>(5)</sup> Kuhn et Moruzzi, Ber., 67, 1935, p. 1220.

<sup>(6)</sup> Kuhn et Boulanger, Ber., 69, 1936, p. 1557.

<sup>(7)</sup> STARE, J. of biol. chem., 112, 1935, p. 223.

flavine ou leuco-lactoflavine, est un réducteur très puissant, tandis que la lactoflavine ne constitue qu'un oxydant faible.

Le potentiel d'oxydo-réduction du flavine-enzyme, d'après les mesures de Kuhn et Boulanger, est, de façon inattendue, plus positif que celui de la matière colorante libre; il équivaut en effet à + 0,06 volt.

Dans le passage de la lactoflavine à la leuco-lactoflavine, Kuhn et Ströbele (1) distinguent trois stades différents, caractérisés par une grande facilité de cristallisation, une coloration très forte et une composition bien définie.

Flavine 

rhodo-flavine 

chloro-flavine 

rhodo-flavine 

leuco-flavine.

Les adsorbants retiennent la lactoflavine et certains avec beaucoup de force. Kuhn a employé la terre à foulon en suspension dans H Cl o, 1 N, pour extraire la lactoflavine du petit lait.

La franconite absorbe la lactoflavine d'une solution neutre purifiée au préalable.

L'élution réussit le mieux avec des mélanges pyridine-eaualcool méthylique.

On peut extraire la lumilactoflavine de solutions acides à l'aide du chloroforme.

Les alcalis à chaud détruisent la lumilactoflavine avec formation d'urée. D'après Kuhn et Rudy (2) la constitution de ce corps est la suivante ;

Kuhn, Reinemund et Weygand (\*) ont confirmé cette formule par une importante synthèse du produit à partir d'alloxane et de 4.5-diméthyl-o-phénylènediamine-N-monométhylée.

Karrer (4) a proposé pour le lumichrome qu'il a découvert,

(\*) Kuhn, Reinemund et Weygand, Ber., 67, 1934, p. 1460.

Kuhn et Ströbele, Ber., 70, 1937, p. 753.
 Kuhn et Rudy, Ber., 67, 1934, p. 1298.

<sup>(4)</sup> KARRER, SALOMON, SCHÖPP, SCHLITTLER et FRITSCHE, Helv. Chim. Acta, 17, 1934, p. 1010.

la formule de constitution suivante :

Le spectre du lumichrome qui est une alloxazine est différent de celui de la lumiflavine (1).

Synthèse de la lactoflavine. — Karrer a réalisé la synthèse totale de la lactoflavine de la manière suivante :

On soumet à l'hydrogénation un mélange d'une molécule de d-ribose et d'une molécule de 1-amino-2-carbéthoxyamino-4.5diméthylbenzène; la ribamine que l'on obtient ainsi est représentée par la formule (I)

on en fait la saponification alcaline et l'on chauffe ensuite la 2-amino-4.5-diméthyl-phényl-ribamine [formule (II)] avec une solution acide d'alloxane [formule (III)]; la flavine ainsi obtenue est identique à la lactoflavine naturelle (2)

(1) Kunn et Rudy, Ber., 67, 1934, p. 892.

(2) Karrer, Schöpp et Benz, Helv. Chim. Acta, 18, 1935, p. 426. — Euler, Karrer, Malmberg, Schöpp, Benz, Becker et Frei, Id., 18, 1935, p. 522.

Ceci démontre que la lactoflavine est la 6.7-diméthyl-9-dlribityl-iso-alloxazine (voir aussi le Rapport de M. Karrer).

Il serait naturel de mettre en parallèle ce dérivé du ribose avec les ribosides de la purine et de la pyrimidine, si importants au point de vue biologique, et de comparer en particulier l'acide flavine-phosphorique avec les nucléotides. Mais on doit faire remarquer particulièrement à ce sujet que dans la lactoflavine ce n'est pas le radical du ribose même qui est présent mais celui de l'alcool correspondant, le groupe ribityle. Le riboside correspondant de la flavine a été préparé par Kuhn et Ströbele (¹); il n'a pas d'action sur la croissance.

Karrer (2), ainsi que Kuhn (3) et leurs collaborateurs ont préparé, à peu près simultanément, une grande série d'autres flavines; la plupart n'ont aucune action sur la croissance et ne rentrent donc pas dans le cadre de ce Rapport.

## IV. — ACTION BIOLOGIQUE.

a. Spécificité de l'action des flavines sur la croissance. — L'action sur la croissance, si caractéristique de la vitamine B<sub>2</sub>, n'est cependant pas strictement limitée à la lactoflavine, bien qu'on n'ait découvert jusqu'ici aucune autre flavine dont l'action soit aussi forte. La constitution et la configuration déterminent à un haut degré l'action sur la croissance.

En ce qui concerne le noyau benzénique, Karrer, Euler, Malmberg et Schöpp (4) ont trouvé que, par la disparition d'un groupe méthyle, la lactoflavine ne perd pas encore tout à fait son activité, mais la présence d'un groupement méthyle au moins est indispensable à cette activité. Quant au radical pentite, nous avons trouvé à Stockholm au début de nos expériences sur les animaux, que la 6.7-diméthyl-9.ll'-arabityl-iso-alloxazine stimule la crois-

<sup>(1)</sup> Kuhn et Ströbele, Angew. Chemie, 49, 1936, p. 6.

<sup>(2)</sup> KARRER et collaborateurs, Helv. Chim. Acta, 18, 1935, p. 522.

<sup>(3)</sup> Kuhn et Weygand, Ber., 67, 1934, p. 2084; 68, 1935, p. 166.

<sup>(4)</sup> KARRER, EULER, MALMBERG et Schöpp, Sv. Kem. Tidskr., 47, 1935, p. 153.

sance, ce que Kuhn et ses collaborateurs (1) ont confirmé. On n'est pas encore d'accord au sujet de l'action de la d-arabityl-iso-alloxazine correspondante (Cf. aussi Helv. Acta, 18, 1935, p. 1336). En ce qui concerne la l-araboflavine; voir aussi p. 203.

D'après Kuhn et Rudy la formation d'un flavine-enzyme n'est possible que si le radical NH en position 3 reste libre; le remplacement de NH par N—CH<sub>3</sub> rend toutes les flavines incapables de former avec des sels alcalins des combinaisons fluorescentes et en même temps incapables de former avec les protéines les combinaisons non fluorescentes, qui sont douées d'action catalytique.

Les flavines dont le radical pentite en position 9 est remplacé par des groupements alkyles ou aryles sont inactives, étant donné qu'elles sont incapables de former des esters phosphoriques.

Enfin l'acide lactoflavine phosphorique produit le même effet de croissance que la lactoflavine elle-même.

b. Mesure de l'action sur la croissance. — La vitamine B<sub>2</sub> est un facteur de croissance soluble dans l'eau et qui est indispensable; s'il fait défaut dans l'alimentation, un arrêt de la croissance se produit, mais qui disparaît par ingestion de lactoflavine. Les bases biologiques de l'évaluation de la vitamine B<sub>2</sub> sont dues surtout à Chick et Hume.

Voici la ration de base utilisée, dans les recherches biologiques sur l'influence de la lactoflavine :

Caséine	1005
Amidon de riz	300
Huile d'arachides durcie	65
Mélange de sels	25

On ajoute à 500g de cette ration fondamentale,  $15^{cm^3}$  d'huile de foie de morue  $+ 1^{mg}$  d'acide ascorbique par animal et par semaine, en outre  $3 \gamma$  de vitamine  $B_1$  (aneurine) par jour et par animal.

<sup>(1)</sup> Karrer, Euler, Malmberg, Schöpp, Benz, Becker et Frei, Helv. Chim. Acta, 18, 1935, p. 522.

## Composition du mélange salin :

1	our 100.		Pour 100.
Na Cl	10,0	Lactate de Ca	9,5
KH2PO4	40,0	Fe Cl3	1,00
Ca H, (PO,)2	30,0	KI	0,03
MgSO,	9,5	Cu SO4	0,0001

En dehors des ions salins courants Na', Ca'', Mg'', Cl', SO', PO', nous considérons encore comme particulièrement importants; I', F', Fe'', Cu''.

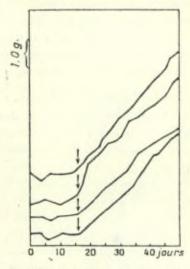


Fig. 3. — Dose journalière 5 γ de lactoflavine. Courbe de croissance d'après Karrer, Euler et Malmberg.

Jansen ajoute au mélange salin tous les anions et cations que l'on trouve dans les organismes vivants et obtient de cette manière de bons résultats.

A cette ration il faut encore ajouter les composants B que nous préparons à partir de l'extrait de levure traitée à l'ébullition suivant le procédé de Chick et Copping; on en extrait la flavine par adsorption sur de la franconite, ce qui n'entraîne pas de pertes notables des facteurs B<sub>4</sub>, B<sub>6</sub>, etc.

Nous opérons de la façon suivante ; 200g de levure sèche sont agités avec 800cm3 d'eau et portés un instant à l'ébullition; ce

mélange est centrifugé et l'extrait agité i heure ou deux avec 10g de franconite. On sépare ensuite la solution par centrifugation et l'on réduit le volume par évaporation dans le vide. Enfin dans cette liqueur concentrée, le contenu en flavine est régulièrement dosé par fluorométrie sur une prise d'essai.

On a observé les courbes d'augmentation de poids ci-dessus pour des rats pesant de 40 à 50 g soumis à ce régime et à une dose journalière de 5 y de lactoflavine.

c. Choix d'une unité pour l'évaluation de la vitamine B<sub>2</sub>. — On n'a pas encore abouti à des décisions définitives quant aux unités en vitamine B<sub>2</sub>. Comme substance étalon, il faut choisir, sans doute possible, la lactoflavine, substance qui est complètement définie par ses propriétés chimiques et physiques, qui est stable en solution aqueuse et qui peut être obtenue en quantité suffisante.

Influence de la lactoflavine sur la croissance. — Une dose journalière de 5 γ de lactoflavine, administrée dans les conditions d'alimentation décrites plus haut, produit chez de jeunes rats une croissance normale, c'est-à-dire une augmentation de poids de 0,8 à 15,0 par jour. La quantité de 5 γ devrait donc être choisie comme Unité Internationale pour la vitamine B<sub>2</sub>.

Il faut encore ajouter ce qui suit concernant le test biologique; la croissance est toujours la résultante d'une série de processus biochimiques inconnus, directs ou indirects; elle est donc soumise à une série d'influences que nous ne pouvons pas contrôler, d'une manière complète. On devra donc toujours préférer comme test la guérison d'une avitaminose spécifique.

Malheureusement on n'a pas pu démontrer, pour la lactoflavine, l'existence d'une telle avitaminose. Un déficit en lactoflavine se fait remarquer par l'apparition de symptômes dermatiques; pour le développement normal de la peau et de la four-rure, la lactoflavine est nécessaire mais non suffisante et, en particulier, l'on peut considérer comme démontré, qu'outre la vitamine B<sub>2</sub>, il existe au moins encore une autre vitamine qui influence notablement le développement de la fourrure des rats. Le besoin de telles vitamines B<sub>1</sub>, G, B<sub>V</sub> résulte de la composition de la ration fondamentale, en particulier de l'apport en albumine. Il y a donc lieu de signaler ici que les symptômes de dermatite ne peuvent

certainement pas servir de test de la lactoflavine, avant que les autres facteurs influençant le développement de la fourrure ne soient connus et dosables.

Tous ces faits démontrent que la lactoflavine, de même que les autres flavines, n'a pas d'action complète sur l'organisme animal, lorsqu'elle est isolée, mais bien en présence d'une albumine spécifique permettant de former un flavine-enzyme. Dans ce dernier on a affaire d'après Theorell, et comme il a déjà été dit, à une combinaison de l'albumine avec du phosphate de flavine.

D'après Kuhn les complexes de l'albumine avec la flavine elle-même sont également actifs, bien qu'à un degré moindre.

Le flavine-enzyme est un vitazyme typique; d'autre part, comme Kuhn l'a proposé, on peut classer la lactoflavine au nombre des coenzymes dont l'action complète celle des apoenzymes, et en fait des catalyseurs enzymatiques complets.

## V. — Actions physiologiques de la lactoflavine libre (en collaboration avec E. Adler).

Comme je l'ai déjà signalé plus haut, la lactoflavine libre se trouve en si faible quantité par rapport au flavine-enzyme dans les tissus animaux (sauf dans la rétine), que, pour cette seule raison, une fonction biologique de cette matière colorante à poids moléculaire faible est très peu probable.

Au début des recherches sur la flavine on a émis l'opinion que la lactoflavine était capable d'agir comme transporteur d'hydrogène dans les oxydo-réductions; cette manière de voir que Wagner-Jauregg (¹) a exprimée en qualifiant la flavine, de « bleu de méthylène des cellules » ne repose guère sur des bases réelles. Les expériences de dialyse qui permettent de doser l'une à côté de l'autre la flavine libre et la flavine combinée, ont démontré la prépondérance de cette dernière forme; de tels essais ne peuvent fournir qu'une valeur limite inférieure pour la quantité de flavine combinée, parce qu'au cours même de la dialyse des extraits une séparation enzymatique du colorant est parfaitement possible.

<sup>(1)</sup> WAGNER-JAUREGG, Erg. d. Enzymf., 4, 1935, p. 333, 347.

Action excitatrice sur la respiration. — Cependant, chez les microorganismes, la flavine libre paraît remplir un rôle physiologique déterminé. Immédiatement après la découverte de la flavine, on a entrepris des recherches pour savoir si cette substance appartient au même groupe de colorants que le bleu de méthylène et excite la respiration. Warburg (1) avait attribué l'action excitatrice de tels colorants sur les érythrocytes à la transformation de l'hémoglobine en méthémoglobine, de sorte que cette dernière substance serait le véritable transporteur d'oxygène. Mais Wagner-Jauregg (2) et Wollschitt ont montré que la flavine ne favorise pas la formation de méthémoglobine; ceci est en accord avec les observations de Brookens (3) et avec les nôtres (4), d'après lesquelles la flavine et la lumiflavine ne produisent pas une accélération de la respiration des érythrocytes.

D'après Barron et Hamburger (5), l'augmentation de la respiration sous l'action de colorants oxydo-réducteurs, peut réussir également en l'absence de catalyseurs contenant du fer, ainsi qu'on l'a montré sur des cellules privées d'hémoglobine. On pouvait supposer qu'une telle action se produirait également en présence de flavine, mais il fallait découvrir un matériel de cellules, perméables à la flavine et capables de produire la réduction de ce corps. Nous avons découvert un tel matériel expérimental dans le « thermobacterium helveticum » (Casei ɛ), cultivé dans le lait peptonisé, pouvant alors fonctionner comme bactérie lactique ansérobie. La flavine et la lumiflavine produisent une élévation de la consommation d'oxygène de ces cellules, lavées et mises en suspension dans une solution de glucose, et cela dans la même mesure qu'avec le bleu de méthylène; enfin cette fonction oxydante ne peut être arrêtée par H CN (6).

Il est intéressant de remarquer que ces bactéries ont été cultivées dans un milieu, le lait, qui contient de la flavine libre et il est fort possible que, dans cette action particulière de la flavine, il s'agisse

<sup>(1)</sup> WARBURG, KUBOWITZ et CHRISTIAN, Biochem. Z., 227, 1930, p. 245.

<sup>(2)</sup> Wagner-Jauregg, Naturwiss., 22, 1934, p. 107.

<sup>(3)</sup> BROOKENS, Ber., 66, 1933, p. 1298.

<sup>(4)</sup> Expériences inédites.

<sup>(5)</sup> BARRON et HAMBURGER, J. of biol. chem., 96, 1932, p. 299.

<sup>(6)</sup> ADLER et EULER, Z. physiol. Chem., 225, 1934, p. 41.

d'un phénomène d'adaptation. L'action que nous avons observée concernant la flavine est réellement un processus physiologique, ce qui est confirmé par les expériences de Orla-Jensen (1); suivant cet auteur, certaines bactéries lactiques ne prospèrent, sur des milieux de culture synthétiques, que par addition de lactoflavine et la concentration la plus favorable (1 pour 100) est précisément la même que la concentration normale de la flavine dans le lait.

On a découvert des quantités notables de flavine dans toute une série de microorganismes (bactérie butyrique, bactérie acétique, bacterium Delbruckii) (2), mais dans aucun cas on n'a pu décider jusqu'ici si la flavine se trouve dans les cellules sous sa forme isolée à poids moléculaire faible ou sous sa forme combinée à poids moléculaire élevé. Par analogie avec la levure on acceptera sans doute cette dernière alternative. En tout cas il faut se souvenir des observations de Warburg et Christian d'après lesquelles le spectre de la flavine du bacterium Delbruckii est un peu déplacé par rapport à celui du flavine-enzyme isolé.

En ce qui concerne l'action de la flavine libre il faut encore signaler les recherches de Laser (3); celui-ci a pu démontrer sur des cultures en tissu conjonctif que, sous l'action de la lactoflavine, la glycolyse aérobie subit une diminution sans que la respiration devienne toujours plus active. Le flavine-enzyme s'est montré inactif dans les expériences, sans doute parce qu'il lui manquait le moyen de pénétrer dans les cellules.

Flavine dans la rétine. — La rétine est le seul organe dans lequel on ait trouvé que la flavine se trouve à l'état libre et non sous sa forme enzymatique. On a découvert une très grande concentration en flavine dans la rétine de beaucoup de poissons (4); ainsi celle de la morue contient 500 γ de flavine par gramme de matière sèche, c'est-à-dire un pourcentage 200 fois plus grand que dans les organes des mammifères les

<sup>(1)</sup> ORLA-JENSEN, Nature, 135, 1935, p. 915. — ORLA-JENSEN, OTTE et SNOG-KJAER, Kgl. Danske Vidensk. Selsk. Skr., Nat.-Math. Avd., 9, VI, no 5.

<sup>(2)</sup> WARBURG et CHRISTIAN, Biochem. Z., 266, 1933, p. 377.

<sup>(</sup>a) LASER, Biochem. Z., 268, 1934, p. 451.

<sup>(4)</sup> ADLER et EULER, Sv. Kem. Tidskr., 45, 1933, p. 276. — EULER et ADLER, Z. physiol. Chem., 223, p. 105; 228, 1934, p. 1.

plus riches en flavine (foie, reins) ou 300 fois autant que dans la levure. En préparant à froid l'extrait de rétine des poissons, le liquide obtenu par dialyse contient presque la totalité de la flavine. Ceci ne constituerait pas en soi une preuve de la présence de flavine libre, puisqu'on pourrait avoir aussi bien affaire à une combinaison facilement dissociable qu'au corps isolé; en tout cas il ne s'agit pas du flavine-enzyme ordinaire, puisque celui-ci n'est pas du tout dissocié en milieu neutre. Une indication importante tendant à montrer que la flavine rétinienne est à l'état libre, c'est que dans une coupe fraîche et congelée de l'œil, la flavine peut être décelée au microscope à fluorescence, par sa fluorescence verte (1), alors que comme on le sait le flavineenzyme ne présente pas cette fluorescence. Chez les poissons étudiés la flavine est localisée dans la couche pigmentée de la rétine; dans une coupe la diffusion de la flavine se produit très rapidement vers les tissus environnants.

On ne sait encore rien de certain, concernant la fonction de la flavine rétinienne. Comme corps fluorescent et par sa sensibilité à la lumière, la flavine constitue un composé naturel prédestiné aux réactions photochimiques; que l'organisme animal fasse usage non seulement du pouvoir réducteur réversible, mais encore de la sensibilité photochimique de cette vitamine, constitue une hypothèse très séduisante; on pourrait par exemple se figurer que le rôle joué par la flavine rétinienne dans le processus de la vision, consiste en une utilisation particulière des rayons bleus de courte longueur d'onde résultant de leur transformation, sous l'action de la flavine, en une lumière de fluorescence verte, couleur pour laquelle l'œil humain par exemple possède une sensibilité maximum.

## VI. — LE FLAVINE-ENZYME, FORME ACTIVE DE LA FLAVINE DANS LES ORGANISMES ANIMAUX ET VÉGÉTAUX.

 a. Préparation et propriétés du flavine-enzyme. — Comme on le sait Warburg et Christian (2) ont découvert en 1932, en recher-

Euler, Hellström et Adler, Z. vergl. Physiol., 21, 1934-1935, p. 739.
 Warburg et Christian, Biochem. Z., 254, 1932, p. 438; 237, p. 492;

<sup>(\*)</sup> WARBURG et CHRISTIAN, Biochem. Z., 254, 1932, p. 438; 257, p. 492; 266, 1933, p. 377.

chant dans la levure un ferment respiratoire résistant à l'acide cyanhydrique, une combinaison de la lactoflavine à poids moléculaire élevé, peu de temps avant l'isolement de la flavine ellemème par Kuhn et Ellinger et peu avant la démonstration de son identité avec la vitamine de croissance B<sub>2</sub> par Kuhn et György. Le « ferment jaune » fut étudié d'une manière très approfondie par ceux qui l'ont découvert, tant au point de vue de sa composition, comme combinaison d'une matière colorante et d'un support à poids moléculaire élevé, que de son oxydabilité réversible.

Les résultats de ces recherches fondamentales seront considérés ici comme connus et ne feront donc l'objet que d'un court résumé.

Voici le système dans lequel fut étudié d'abord l'action de transport d'hydrogène du flavine-enzyme (nom donné au ferment jaune sur notre proposition) : du monophosphate d'hexose, un enzyme incolore extrait de la levure ou des globules sanguins et un coferment découvert dans les cellules sanguines par Warburg et Christian, réunis, constituent un système qui réduit le flavine-enzyme à l'état de leuco-combinaison. L'oxygène libre ou le bleu de méthylène pourraient réoxyder le leucoflavine-enzyme jusqu'au stade coloré. Avant d'étudier en détail le mécanisme de cette réaction, résumons le développement ultérieur de la connaissance de la nature du flavine-enzyme, en particulier à la suite des travaux de Theorell.

A l'aide de l'appareil de cataphorèse qu'il avait construit, Theorell (1) réussit à purifier les préparations de Warburg et Christian. Avec un pH = 4,5 le flavine-enzyme migre à la cathode, ce qui le sépare des principales impuretés du produit brut, c'està-dire des polysaccharides; par précipitation fractionnée avec le sulfate ammonique cette solution purifiée fournit du flavine-enzyme pur. D'après Theorell il est excessivement probable que le flavine-enzyme de la levure, tel qu'il a été préparé, constitue un individu chimique homogène. Par détermination de l'absorption lumineuse (2), comme à l'aide de la centrifugation et de la diffusion (3), on a obtenu pour le poids moléculaire des valeurs

<sup>(1)</sup> Theorett, Biochem. Z., 278, 1935, p. 263.

<sup>(2)</sup> THEORELL, Biochem. Z., 278, 1935, p. 279.

<sup>(</sup>a) Kekwick et Pederson, Biochem. J., 30, 1936, p. 2201.

suffisamment concordantes d'environ 75 000. Toutes ces déterminations montrent qu'une molécule d'albumine et une molécule de matière colorante sont combinées dans le flavine-enzyme.

b. Le groupe prosthétique du flavine-enzyme; l'acide lacto-flavine-5-phosphorique. — Il était admis dans le temps que le ferment jaune de Warburg comprend comme groupe actif la lactoflavine avec une protéine comme support; mais Theorell (¹) a découvert que, par la décomposition du ferment jaune, on obtient de l'acide lactoflavine phosphorique.

L'acide phosphorique constitue le radical de liaison entre la lactoflavine et la protéine. Probablement que la lactoflavine ingérée par voie bucale est transformée dans le corps de l'animal en flavine-enzyme par combinaison avec l'acide phosphorique. Avant la formation de la combinaison phosphorée, la flavine se comporte en quelque sorte comme une prévitamine et le flavine-enzyme peut en tout cas être considéré comme un vitazyme.

Theorell réussit à isoler l'acide lactoflavine phosphorique par décomposition du ferment jaune sous l'action du méthanol à 40° et par précipitation du phosphate de lactoflavine à l'aide de sels de Hg et Ca; C<sub>17</sub>H<sub>19</sub>N<sub>4</sub>O<sub>6</sub>Ca PO<sub>3</sub>. Dans son appareil à cathaphorèse, Theorell a séparé, sous un pH = 7,0, la lactoflavine de l'acide lactoflavine phosphorique.

Plus tard Kuhn et Rudy (2) ont découvert que le cytoflave extrait des muscles du cœur par Banga et Szent-Györgyi (3) est également un acide lactoflavine phosphorique. Les mêmes savants ont aussi préparé un acide lactoflavine phosphorique par traitement de la lactoflavine en solution pyridique par PO Cl<sub>3</sub>, mais cet acide est différent de celui extrait de l'ester de Theorell. Un acide lactoflavine phosphorique synthétisé par Kuhn, Rudy et Weygand (4) s'est révélé comme identique au produit naturel,

THEORELL, Naturwiss., 22, 1934, p. 289; Biochem. Z., 272, 1934,
 p. 155; 275, 1934, p. 37, 344, 416.

<sup>(2)</sup> Kuhn et Rudy, Z. physiol. Chem., 239, 1936, p. 47.

BANGA et SZENT-GYÖRGYI, Biochem. Z., 246, 1932, p. 203.
 KUHN, RUDY et WEYGAND, Ber., 69, 1936, p. 1543.

ce qui fournit pour cet acide la formule suivante :

La synthèse de cet acide peut également être réalisée par voie enzymatique sous l'action de la muqueuse intestinale du rat (1).

L'identité de l'acide synthétique avec le groupe prosthétique du flavine-enzyme ressort très sûrement du fait, que le produit synthétique, combiné au radical à poids moléculaire élevé du flavine-enzyme (de l'apoflavine-enzyme), fournit un enzyme synthétique dont l'activité est la même que celle de l'enzyme naturel (Kuhn, Rudy et Weygand, loc. cit.). Le point de départ de cette démonstration est l'importante recherche de Theorell sur la décomposition réversible du flavine-enzyme.

c. Dédoublement réversible du flavine-enzyme (2). — A la température ordinaire et aux environs de la neutralité, le flavineenzyme n'est pratiquement pas dissocié; il peut être soumis très longtemps à la dialyse sans perte du composant coloré et dans les expériences de cataphorèse le flavine-enzyme migre comme un tout. Mais si l'on fait la dialyse, en solution aqueuse à 0° en présence de H Cl 0,02 N, la solution se décolore peu à peu. Ensuite si l'on continue la dialyse, en présence d'eau pure jusqu'à disparition de H Cl, on obtient une solution du composant albuminoïde à l'état libre. Enfin si l'on met en présence de cette solution du phosphate de flavine libre, la fluorescence de cette matière colorante disparaît, par suite de l'entrée de ce corps dans la molécule du flavine-enzyme actif.

H. Theorell (1937) a étudié la protéine (l'apoenzyme) du flavineenzyme; il l'a caractérisé comme une albumine et a fait des observations très intéressantes sur sa thermo-inactivation réversible.

<sup>(1)</sup> Rudy, Naturwiss., 23, 1935, p. 286.

<sup>(2)</sup> THEORELL, Biochem. Z., 272, 1934, p. 155; 278, 1935, p. 263; 290, 1937, p. 297.

Kuhn, Rudy et Weygand ont également préparé l'ester 5'phosphorique de la l-arabo-flavine; celui-ci se combine également
à l'apoenzyme préparé suivant Theorell, mais fournit un enzyme
dont l'activité catalytique à l'égard du système hexose monophosphaté de Warburg, ne présente environ que 60 pour 100
de l'activité du produit naturel. L'action vitaminique B<sub>2</sub> de
la l-arabo-flavine également ne représente que les deux tiers
environ de celle de la lactoflavine (¹); ces auteurs supposent donc
que, pour les différentes flavines synthétiques, il existe un parallélisme entre l'action vitaminique d'une part, et de l'autre la
capacité de transfert de l'hydrogène sous l'action des enzymes
préparés à partir de ces flavines.

Suivant Kuhn et Rudy (2) la lactoflavine libre, non phosphorylée, se combine également à l'apoflavine-enzyme en donnant un ferment actif, mais par opposition au flavine-enzyme naturel, la combinaison à poids moléculaire élevé de la flavine non phosphorylée est déjà fortement dissociée pour un pH = 7; un grand excès de lactoflavine est donc nécessaire pour produire un transport d'hydrogène dans le système de déshydrase correspondant.

Pour toutes les flavines synthétiques étudiées jusqu'ici l'action sur la croissance et le test catalytique se manifestent qualitativement de la même façon.

En se basant sur leurs recherches, Kuhn et ses collaborateurs se font également une opinion de la manière dont se produit la liaison entre l'acide lactoflavine phosphorique et l'apoflavine-enzyme; la liaison avec l'albumine se produirait au moins par deux points de la molécule de flavine : par l'acide phosphorique et par l'atome d'azote en position 3.

Le parellélisme que nous venons de signaler entre l'activité vitaminique et l'action catalytique dans les expériences in vitro, constitue une confirmation importante de l'hypothèse, suivant laquelle la flavine à grosse molécule combinée existe réellement dans tous les tissus, sous forme de flavine-enzyme et a donc la même constitution que le flavine-enzyme de la levure, le seul pour lequel celle-ci ait été complètement élucidée jusqu'ici.

<sup>(1)</sup> Kuhn et Weygand, Ber., 67, 1934, p. 2084.

<sup>(2)</sup> Kunn et Rudy, Ber., 69, 1936, p. 2557.

Cette hypothèse a été acceptée tacitement, bien qu'aucune preuve n'en ait été fournie, et qu'au contraire on ne puisse citer en sa faveur que quelques arguments isolés. Il est certain que, dans les tissus animaux également, la flavine existe sous forme de son ester phosphorique, car Theorell, Karrer et Schöpp (1) ont extrait du foie un phosphate de lactoflavine capable de se combiner à l'apoflavine-enzyme de la levure et Kuhn et Rudy (2) ont identifié la cytoflavine préparée par Banga et Szent-Györgyi comme étant de l'acide lactoflavine phosphorique. Déjà antérieurement Rudy (3) avait montré que la lactoflavine donne une combinaison phosphorylée par phosphatèse sous l'action de la muqueuse intestinale. Plus tard Laszt et Verzar (4) ont pu démontrer que, in vitro également, la formation d'une combinaison phosphorylée constitue une condition nécessaire à l'activité vitaminique de la lactoflavine; chez les animaux en expérience la flavine libre, aussi bien que le phosphate de flavine, montrent ordinairement une activité vitaminique analogue, tandis que les sujets empoisonnés à l'acide iodacétique sont sensibles à l'action du complexe phosphorylé, mais pas à celle de la flavine libre. L'hypothèse la plus simple consiste à admettre que l'acide iodacétique empêche la formation enzymatique du complexe phosphorylé. Si cette hypothèse est exacte on pourra supposer qu'il existe de plus une relation entre la formation du complexe phosphorylé et certains phénomènes oxydo-réducteurs, et l'on pourra considérer que ces derniers constituent la réaction intermédiaire, bloquée par l'action de l'acide iodacétique. A ces arguments vient s'ajouter un autre résultat des recherches sur la déshydrase; une solution de déshydrase de foie, à l'état brut, est capable de réduire le glucose avec un maximum de vitesse quand le coferment est présent en excès. Avec une solution d'enzyme purifiée, l'activité réductrice est plus faible, mais augmente par addition du flavine-enzyme de la levure. Il semble donc que dans la solution de déshydrase brute, la flavine, existant sous forme

<sup>(1)</sup> THEORELL, KARRER, SCHÖPP et Frei, Helv. Chim. Acta, 18, 1935, p. 1022.

<sup>(2)</sup> Kuhn et Rudy, Z. physiol. Chem., 239, 1936, p. 47.

<sup>(3)</sup> Rudy, Naturwiss., 23, 1935, p. 286.

<sup>(4)</sup> Laszt et Verzar, Pflüg. Arch., 236, 1935, p. 693.

de combinaison à poids moléculaire élevé, se présente en concentration optimum comme flavine-enzyme normal, tandis que dans la solution de déshydrase purifiée, le flavine-enzyme proprement dit soit en déficit et a dû être remplacé par le flavine-enzyme de la levure. Il y aurait grand intérêt à exécuter des expériences pour décider s'il existe seulement un flavine-enzyme, ou s'il y en a plusieurs, différant l'un de l'autre par l'intensité de leur action et par l'étendue de leur champ d'activité.

### VII. - FONCTIONS DU FLAVINE-ENZYME.

Les conséquences d'une flavine-avitaminose, arrêt de croissance et mort, ne donnent aucun renseignement sur le point d'attaque du flavine-enzyme dans l'organisme. Pour se renseigner sur ce point on en est donc également réduit aux expériences in sitro.

Dès les premières recherches de Warburg et Christian, il est apparu comme à peine douteux que le rôle physiologique du flavineenzyme devait être interprété par un transport d'hydrogène.

Pour serrer de plus près le mécanisme et le champ d'action de l'enzyme, il fallait rechercher d'une part quel système biologique était sensible in vitro à l'action du flavine-enzyme; il fallait rechercher d'autre part les substances connexes au flavine-enzyme dans de tels systèmes : le donateur et l'accepteur d'hydrogène; il fallait éclaircir le mécanisme de la réaction dans les deux sens.

a. Le système de la déshydrase. — La connaissance de l'enzyme réducteur dont la découverte évoque les noms de Wieland et de Thunberg a subi un notable enrichissement, lorsqu'on a découvert que dans la plupart des cas son action est liée à la présence d'une série de coenzymes (Euler et Nilsson, Holmberg, Andersson); on a reconnu tout d'abord que la cozymase est un coenzyme de l'hydrogénant (codéhydrase nº 1). Warburg a découvert ensuite que pour la réduction de l'acide hexose monophosphorique un coenzyme différent de la cozymase (codéhydrase nº 2) était nécessaire, outre la déshydrase et le flavine-enzyme; ensuite les expériences de Wagner-Jauregg et les nôtres ont montré que, pour toute une série de déshydrases à substrat spécifique,

la présence simultanée d'un des deux coferments et du flavineenzyme était nécessaire pour réaliser une déshydrogénation rapide du substrat (mesurée par réduction du bleu de méthylène ou absorption d'oxygène). Ceci ressort de l'examen du tableau suivant où l'on a réuni les systèmes de déshydrases pour lesquelles l'intervention du flavine-enzyme a été démontrée.

Auteurs.	Littérature.	Substrat du système de la déshydrase.	Origine de la déshydrase.
Warburg et Christian	Bio, Z. 266	ester de Robinson	levure
Wagner-Jauregg	H. 231	ester de Neuberg	muscle
Euler et Adler	H. 226	alcool	levure
Adler et Euler	H. 232	glucose	foie
Wagner-Jauregg	H. 233	acide malique	muscle
W W	H. 233	acide lactique	34
Adler et Michaelis	H. 238	19	muscle du cœur
Wagner-Jauregg	H. 233	acide citrique	muscle et graines
	H. 241	acide dioxyacétone phosphorique	levure
Euler et Adler	Ark. 12B, 16	acide glycérinaldéhyde phosphorique	levure
	Ark, 12B, 16	acide glycérinaldéhyde	muscle
Wagner-Jauregg	Н. 239	acide glycérine phosphorique	graines de concombre
Adler et Sreenivaraya	H. 249	acide formique	pois
Euler, Adler et Steenhoff.	H. 248	acide glutaminique	levure

On pouvait espérer que l'explication plus complète du mécanisme de la réaction dans ces systèmes de déshydrases permettrait de comprendre le rôle vitaminique de la lactoflavine, c'està-dire la fonction du flavine-enzyme.

Tout d'abord par l'étude d'une réaction photochimique curieuse, nous avons pu démontrer que la codéshydrase doit être en relation fondamentale avec la déshydrase de poids moléculaire élevé (¹) : étudions l'action de la déshydrase (par exemple par la déshydrogénation de l'alcool éthylique sous l'action de la déshydrase extraite de la levure, de la cozymase et du flavine-enzyme) suivant la technique au bleu de méthylène de Thunberg, tout en éclairant la préparation; le flavine-enzyme indispensable dans une expérience

<sup>(1)</sup> Euler et Adler, Z. physiol. Chem., 232, 1935, p. 16.
INSTITUT SOLVAY (CHIMIE).

à l'obscurité se montre tout à fait superflu à la lumière, contrairement aux autres composants. Le bleu de méthylène ainsi activé par la lumière a donc directement adsorbé l'hydrogène libéré, avec l'aide de la déshydrase et de la cozymase; dans l'expérience à l'obscurité au contraire, le flavine-enzyme constitue un intermédiaire indispensable. La réduction du substrat proprement dit a donc dû se passer premièrement sans intervention du flavine-enzyme, celui-ci n'intervenant que pour le transport d'hydrogène; bientôt nous avons découvert également que les deux codéshydrases, la cozymase et le coferment de Warburg. présentent de la spécificité quant au système de déshydrase. Nous avons conclu de ces découvertes (1) que les codéshydrases constituent les groupes prosthétiques des molécules qui leur servent de support spécifique et que l'on avait caractérisées jusqu'ici comme les déshydrases; ces codéshydrases possèdent donc le caractère d'une combinaison oxydo-réductrice (2). Les rapports des codéshydrases avec le flavine-enzyme sont caractérisés par Adler et Michaelis (3) de la manière suivante : « la réoxydation du coenzyme réduit est produite normalement d'une manière spécifique par l'oxydant enzymatique, le flavine-enzyme »; cette manière de voir a été confirmée complètement par la suite.

La solution du problème des déshydrases a fourni en même temps la confirmation des vues précédentes concernant le rôle du flavine-enzyme, tout au moins en ce qui concerne l'apport d'hydrogène nécessaire à la réduction du flavine-enzyme. Warburg et Christian (4) ont montré tout d'abord que le coferment des hématies (codéshydrase 2) contient notamment un noyau d'amide nicotinique et leurs expériences ont rendu probable que le premier stade dans la réaction de déshydrogénation résulte de l'absorption de deux atomes d'hydrogène par le noyau pyridique du coferment; des expériences types de Karrer (5) ont confirmé cette manière de voir; la codéshydrase 2, aussi bien que l'iodométhylate de l'amide

Euler et Adler, Schlenk et Günther, Z. physiol. Chem., 233, 1935,
 Euler et Adler, Z. physiol. Chem., 238, 1936, p. 233.

<sup>(2)</sup> Z. physiol. Chem., 233, 1935, p. 120, 146.

<sup>(3)</sup> Adler et Michaelis, Z. physiol. Chem., 235, 1935, p. 154.

<sup>(4)</sup> WARBURG et CHRISTIAN, Biochem. Z., 274, 1934, p. 116.

<sup>(5)</sup> Karrer et Warburg, Biochem. Z., 285, 1936, p. 297.

nicotinique, ont pu être transformés en dérivés hydrogénés sous l'action de l'hydrosulfite et dans les deux cas les deux combinaisons pouvaient être oxydées par le flavine-enzyme.

On avait poursuivi entre temps la purification de la cozymase, et éclairci sa constitution comme étant celle d'un dinucléotide contenant également de l'amide nicotinique (1). Nous avons pu démontrer tout d'abord que la cozymase est transformée en dérivé dihydrogéné, par l'alcool en présence de son apodéshydrase spécifique, et que la combinaison formée est capable à son tour de réduire le flavine-enzyme (2).

On peut représenter comme suit le mécanisme de la réaction réductrice dans ce système de codéshydrase.

I. 
$$SH_2 + D-Co = S + D-CoH_2$$
.  
II.  $CoH_2 + F = Co + FH_2$ .  
III.  $FH_2 + A = F + AH_2$ .

Dans ces équations il faut lire :

 $SH_2 = substrat$ , S = produit déshydrogéné, D = apodéshydrase, Co = codéshydrase, D-Co = holodéshydrase, F = flavine-enzyme,  $A = accepteur (O_2 ou bleu de méthylène)$ .

L'apodéshydrase et la codéshydrase sont en équilibre de dissociation l'une avec l'autre (3); au contraire l'acide lactoflavine phosphorique et l'apoflavine-enzyme ne sont pratiquement pas dissociés au pH physiologique. Une apodéshydrase n'est pas nécessaire pour que la réaction entre la dihydrocodéshydrase et le flavine-enzyme soit possible; nos récentes expériences tendent à montrer que la présence de l'apodéshydrase est à peu près sans influence sur la réaction 2. La dihydrocodéshydrase est probablement liée à l'apoflavine-enzyme, à la manière d'un simple substrat; cette liaison est probablement de nouveau une réaction à équilibre et il y a lieu d'admettre que l'affinité de la codéshydrase réduite est plus grande pour l'apoflavine-enzyme que celle de la codéshydrase non réduite.

NEGELEIN et HAAS, Biochem. Z., 282, 1935, p. 206.

<sup>(1)</sup> EULER, ALBERS et Schlenk, Z. physiol. Chem., 237, 1935, p. 1.

<sup>(2)</sup> EULER, ADLER et HELLSTRÖM, Sv. Kem. Tidskr., 47, 1935, p. 290.
(3) EULER et ADLER, Sv. Vet. Akad. Arkiv f. Kemi., 12 B, nº 5, 1935. —

b. Spécificité du flavine-enzyme comme accepteur biologique d'hydrogène pour la dihydrocodéshydrase. — Des vues ont surgi quelquefois d'après lesquelles le flavine-enzyme ne serait pas un oxydant spécifique de la dihydrocodéshydrase, mais pourrait être remplacé dans cette fonction par d'autres colorants oxydoréducteurs à poids moléculaire faible, tels que le bleu de méthylène, la flavine, la pyocyanine, l'adrénaline-quinone, etc.

D'après nos recherches, il est cependant démontré que de tels colorants oxydent la dihydrocodéshydrase avec une vitesse beaucoup plus faible que le flavine-enzyme lui-même; si dans certaines actions de la déshydrase sur des solutions enzymatiques extraites de tissus animaux, on observe l'absence d'une catalyse sous l'action du flavine-enzyme, il doit s'agir d'après nous d'un arrêt de l'auto-xydation du flavine-enzyme formé, ce que Wagner-Jauregg a d'ailleurs rendu probable. D'après les observations encore inédites d'Adler et Euler, il existe dans certains tissus animaux un catalyseur enzymatique remplaçant le flavine-enzyme comme transporteur d'hydrogène, qui oxyde la dihydrocozymase.

La réduction du flavine-enzyme par le dihydrocoenzyme paraît être extraordinairement spécifique et constitue la réaction biologique proprement dite; la réoxydation du leucoflavine-enzyme, au contraire n'a aucun caractère spécifique.

La question de savoir par quel processus biologique est essentiellement produit le transport ultérieur de l'hydrogène provenant du leucoflavine-enzyme présente un grand intérêt pour la compréhension de la fonction vitaminique réelle de la flavine.

c. Réoxydation du leucoflavine-enzyme par le cytochrome C. — Parmi les substances naturelles qui peuvent agir comme accepteur d'hydrogène à l'égard du leucoflavine-enzyme, il faut compter également, d'après les expériences de Theorell (¹), le cytochrome C, que ce chercheur est parvenu à séparer à l'état de pureté (²); Theorell a découvert que, sous la pression d'oxygène existant dans les cellules, la réoxydation du flavine-enzyme par l'oxygène libre ne peut être que d'une importance tout à fait secondaire,

THEORELL, Nature, 138, 1936, p. 687; Biochem. Z., 288, 1936, p. 317.
 THEORELL, Biochem. Z., 279, 1935, p. 463.

tandis que dans les mêmes conditions le cytochrome est rapidement réduit.

Theorell a montré cependant que le nombre de transformations (« Wechselzahl ») du flavine-enzyme, c'est-à-dire le nombre indiquant combien de fois par minute une molécule de flavine-enzyme change de degré d'oxydation, n'est pas beaucoup plus grand par transport d'hydrogène du dihydrocoferment sur le cytochrome C, que dans le transport de l'hydrogène sur l'oxygène moléculaire. Par conséquent, si la méthode expérimentale de Theorell correspond aux fonctions physiologiques, la fraction de la respiration cellulaire qui se produit, par l'intermédiaire du flavine-enzyme et du cytochrome, ne peut pas être beaucoup plus grande que la respiration résistant à l'empoisonnement par l'acide cyanhy-drique.

d. Le flavine-enzyme et la respiration cellulaire. — Warburg et Christian (1) ont observé les premiers, sur des bactéries lactiques, une action de transport d'oxygène par le flavine-enzyme contenu dans ces bactéries; le nombre de transformations est d'environ 50. Étant donné que ces bactéries ne possèdent aucun enzyme respiratoire contenant du fer, l'action du flavine-enzyme observée doit bien être attribuée à une réaction directe entre le flavine-enzyme et l'oxygène; cependant la respiration enzymatique dans ces bactéries privées de catalase est liée à la formation de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, ce qui devrait entraîner graduellement la mort des bactéries; Warburg en a conclu que le transport d'oxygène ne peut pas être la fonction biologique du flavine-enzyme, mais que celui-ci prend part sans doute à des processus d'oxydation anaérobie.

Les expériences avec les bactéries lactiques sont comparables à celles exécutées sur la levure ou sur un tissu animal, empoisonnés par H CN. Dans ce cas on pourrait s'attendre à ce que l'intensité de la respiration soit proportionnelle au pour 100 en flavine-enzyme, mais à ce sujet les opinions des différents chercheurs sont encore divergentes : Torres (2) n'observe aucun paral-

<sup>(1)</sup> Warburg et Christian, Biochem. Z., 266, 1933, p. 377.

<sup>(2)</sup> Tornes, Biochem. Z., 280, 1935, p. 114.

lélisme entre l'intensité de la respiration résistant à un empoisonnement par H CN et le contenu en flavine des tissus animaux; Ogston et Green (1) ont prouvé que la respiration sur différents substrats est presque complètement arrêtée par addition d'HCN, malgré la concentration élevée de la levure en flavine; récemment au contraire Gourewitch (2) est arrivé à la conclusion que, dans les enzymes animaux, le pour 100 en flavine et la respiration résistant à l'acide cyanhydrique varient parallèlement. Le contenu en flavine de différents tissus suffit pour expliquer cette respiration résiduelle et le nombre de transformations observé concorde suffisamment pour les différents tissus avec la valeur indiquée par Warburg et Christian.

Cette respiration résiduelle après empoisonnement cyanhydrique ne représente cependant en général qu'une fraction négligeable (quelques pour 100) de la respiration cellulaire totale, aussi est-il à peine vraisemblable que le rôle biologique du flavineenzyme se limite à combattre une aussi faible partie de la respiration cellulaire; si tel était le seul rôle du flavine-enzyme on pourrait à peine comprendre qu'il soit si indispensable.

On doit donc chercher à découvrir une réaction dans laquelle le flavine-enzyme joue un rôle beaucoup plus important, c'està-dire où son nombre de transformations soit notablement plus élevé, si l'on veut prouver quantitativement que le flavine-enzyme prend une part importante à la respiration cellulaire.

Le vrai problème consiste donc à découvrir un accepteur biologique de l'hydrogène pour le leucoflavine-enzyme. Nous sommes occupés à faire des recherches expérimentales en partant de l'hypothèse suivante : supposons que, lors de la déshydrogénation d'un substrat par la codéshydrase, il se forme de la dihydrocodéshydrase et que la réaction se continue par le transport de l'hydrogène sur une autre déshydrase, dont le groupement prosthétique ne soit pas la même codéshydrase que celle de la réaction déshydrogénante primaire; dans de telles conditions, le flavine-enzyme pourrait fonctionner comme transporteur d'hydrogène de la codéshydrase vers une seconde

<sup>(1)</sup> OGSTON et GREEN, Biochem. J., 29, 1935, p. 1983.

<sup>(2)</sup> GOUREWITCH, Bull. Soc. Chim. Biol., 19, 1937, p. 527.

déshydrase. Un tel mécanisme de la réaction permettrait de fournir, pour la théorie de Szent-Györgyi sur la catalyse de la respiration cellulaire par l'acide fumarique, une image en accord avec l'état actuel de nos connaissances sur le transport d'hydrogène. On pourrait admettre l'hypothèse que c'est le flavine-enzyme qui transporte l'hydrogène sur le système de succino-déshydrase, en réduisant l'acide fumarique.

e. Le flavine-enzyme et les réactions anaérobies. — Nous avons recherché il y a quelque temps quelle possibilité existe pour l'intervention du flavine-enzyme dans les réactions d'oxydo-réduction accompagnant la fermentation et la glycolyse (¹). Nous savons qu'un processus d'oxydo-réduction catalysé par la cozymase est observable dans la fermentation alcoolique de la levure, aussi bien que dans la glycolyse au sein des tissus animaux. Dans un système donneur, la réduction du fournisseur d'hydrogène se poursuit sous l'action d'une apodéshydrase spécifique de la cozymase. La dihydrocozymase fournie agit alors sur une seconde apodéhydrase qui, dans une réaction d'acceptation (« Akzeptorreaktion ») produit la réduction de l'accepteur d'hydrogène. Dans le cas de la glycolyse le processus peut être formulé de la façon suivante:

I. 
$$R-CHO + D^T-Co = R-COOH + D^T-CoH_2$$
.  
II.  $D^L-CoH_2 + CH_3CO-COOH = D^L-Co + CH_3-CHOH-COOH$ ,

dans ce schéma

R-CHO = acide triosephosphorique;
R-COOH = acide phosphoglycérique;
DT = triosephosphate-apodéshydrase;
DL = lactico-apodéshydrase;
Co = cozymase;
Co H<sub>z</sub> = dihydrocozymase.

Le transport d'hydrogène d'un système de déshydrase à un autre système est sans doute réalisé dans ce cas par la dissociation du complexe déshydrase + codéshydrase. L'intercalation

<sup>(1)</sup> Euler, Adler et Hellström, Z. physiol. Chem., 241, 1936, p. 239.

du flavine-enzyme entre I et II, si elle avait une influence sur la vitesse de réaction, nécessiterait l'introduction d'hypothèses particulières.

Néanmoins une intervention raisonnable du flavine-enzyme, dans le processus biologique du transfert d'hydrogène, peut être comprise à l'aide des hypothèses exposées plus haut, quand il s'agit du passage de l'hydrogène d'une codéshydrase I ou II à une autre déshydrase (par exemple la succino-déshydrase). Ici le flavine-enzyme pourrait jouer le rôle de charnière entre les deux systèmes; le sens du transport d'hydrogène sera de préférence celui où l'on part de la codéshydrase pour aboutir au second système, parce que la réduction du flavine-enzyme par la dihydrocodéshydrase constitue le sens privilégié de la réaction partielle. On aboutit ainsi à une réduction du substrat du second système. Quand d'autres systèmes d'oxydation catalytique, tels que celui des catalyseurs au fer, viennent se rattacher au produit de la réaction précédente, le processus anaérobie catalysé par le flavine-enzyme en revient à un stade préparatoire de la respiration.

#### DISCUSSION DU RAPPORT DE M. VON EULER.

M. Szent-Györgyi. — Il me semble que le nom de flavine n'est pas heureux, car il rend inévitable la confusion avec les flavones. Celles-ci constituent un groupe classique très important. Le nom de flave que j'avais utilisé en premier lieu est peut-être meilleur, même s'il n'est pas parfait.

Je ne crois pas que le ferment jaune réduit puisse être directement oxydé dans la cellule par le cytochrome. Le cytochrome n'oxyde que le succinate, et c'est l'acide fumarique formé qui oxyde le ferment jaune. On doit être très prudent avant d'appliquer aux tissus vivants les expériences faites avec des modèles.

Il m'est venu à l'esprit aujourd'hui que la substance que j'avais désignée sous le nom « d'oxydase de l'acide ascorbique » n'était en réalité qu'une protéine activant la vitamine, protéine analogue à la moitié protéique du ferment jaune.

M. von Euler. — Je suis tout à fait d'accord avec M. Szent-Györgyi sur le fait que le nom lactoflavine est peu satisfaisant et je suis tout prêt pour ma part à adopter, sous sa forme nouvelle, de flave (ou bien de cytoflave) le nom choisi par M. Szent-Györgyi qui a découvert cette substance.

Quant au rôle de la protéine dans le flavenzyme, je crois qu'il est tout à fait analogue à celui de l'apodéshydrase; on peut dès lors admettre que cette protéine n'est autre que de l'apodéshydrase. Ce qui est caractéristique dans le cas du flavenzyme, c'est sa spécificité d'action. Le flavenzyme est un oxydant de la dihydrocosymase.

M. Briner. — M. von Euler cite (p. 209 de son Rapport) la réaction photochimique suivante qui lui a paru curieuse : le bleu de méthylène activé par la lumière a absorbé directement l'hydrogène libéré avec l'aide de la déshydrase et de la cozymase; au contraire, dans l'obscurité, le flavine-enzyme constitue un intermédiaire indispensable. On peut citer divers autres cas semblables, notamment l'autoxydation des aldéhydes dont il a été question dans le précédent Conseil. L'autoxydation des aldéhydes accélérée par la lumière peut l'être dans l'obscurité par différents corps, des sels de manganèse ou de fer, etc., et par l'ozone.

M. Karrer. — Le lumichrome se forme à partir de la lactoflavine, sous l'action de la lumière, non seulement en solution neutre et acide, mais aussi en milieu alcalin (à côté de lumiflavine), il a probablement lui aussi une certaine importance physiologique.

Il n'est pas encore certain qu'il n'existe qu'une seule flavine dans les tissus. Il semblerait même qu'il y ait, dans certains organes, une autre flavine ou un produit de transformation des flavines ayant un caractère analogue.

M. Cook. - La relation entre l'activité physiologique de quelques flavines synthétiques et leur structure n'est pas sans analogie avec ce qu'on observe dans l'étude de l'action cancérigène de certains hydrocarbures benzanthracéniques. Le benzanthracène lui-même n'a aucune activité cancérigène, l'introduction d'un groupe méthyle dans le noyau conduit à une légère activité, et l'introduction d'un second groupement méthyle amène une augmentation considérable de l'activité. Des considérations semblables s'appliquent à l'activité physiologique des homologues synthétiques de l'isoalloxazine, dans lesquelles on a introduit le radical d'un sucre approprié. Dès lors, étant donné que les dérivés cyclopenténiques 5:6 et 6:7, du 1.2-benzanthracène sont des agents cancérigènes plus actifs que les dérivés diméthylés, il serait intéressant de comparer l'activité vitaminique du composé 6 : 7-cyclo-penténo iso-alloxazine approprié avec celle de la lactoflavine.

M. Karrer. — On a préparé synthétiquement des corps du type suivant :

dans lequel R est un radical de l'arabinose. Ils sont tous physiologiquement peu actifs. On ne sait pas encore si le remplacement de deux CH<sub>3</sub> par le noyau (I) modifie l'activité des flavines qui contiennent du ribose et non de l'arabinose.

M. LAQUEUR. — Je me demande si les expériences de Rudy relatives à la synthèse de l'acide lactoflavine-phosphorique par les ferments intestinaux ont pu être répétées. Au laboratoire d'hygiène d'Utrecht du Professeur Wolff, les résultats ont toujours été négatifs.

M. Karrer. — A ma connaissance, les résultats de Rudy n'ont jamais pu être reproduits.

M. Bigwood, — La question de la spécificité d'action des agents cofermentaires des déshydrases ainsi que de la nature chimique éventuelle des déshydrases elles-mêmes a été discutée par M. von Euler.

D'après ce que le rapporteur nous a dit de la spécificité d'action des coferments, il semble se dégager la notion que cette spécificité dépendrait de deux facteurs : d'une part, la nature du coferment lui-même, c'est-à-dire du groupement capable de jouer le rôle de transporteur d'hydrogène et, d'autre part, la nature chimique du support protéique auquel ce groupement peut être lié et qui lui confère alors son activité en tant que transporteur d'hydrogène.

Voici un exemple pour fixer les idées :

Lohmann a montré, il y a peu d'années, que la dismutation du méthyl-glyoxal hydraté en acide lactique et le transfert d'hydrogène qu'elle comporte sont assurées par des déshydrases hépatiques avec le concours d'un coferment, c'est-à-dire d'un transporteur d'hydrogène : le glutathion (soit **D** la déhydrase du foie et **Co** le

coferment, ici le glutathion)

(1) 
$$CH_{3}$$
-CO-CH (OH)<sub>2</sub> +  $\mathbf{D}$  +  $\underbrace{(-S-S-)}_{\mathbf{CO}}$   $\rightarrow$   $CH_{3}$ -CO-CO<sub>2</sub>H +  $\mathbf{D}$  +  $\mathbf{2}$ (-SH),

(2) 
$$CH_3-CO-CO_2H+\mathbf{D}+2(-SH)\rightarrow CH_3-CHOH-CO_2H+\mathbf{D}+(-S-S-)$$
.

Or, d'après les travaux récents de Krebs et de Lohmann luimême, auxquels MM. Karrer et aussi M. Szent-Györgyi font allusion dans leurs Rapports, un autre coferment, la vitamine B<sub>1</sub> serait capable de faire subir à l'acide pyruvique une autre réaction, un autre transfert d'hydrogène conduisant à la décarboxylation de cet acide. Voici donc deux évolutions distinctes du même substrat, l'acide pyruvique : avec le glutathion comme coferment, il y a formation d'acide lactique; avec l'aneurine comme coferment, il y aurait décarboxylation de l'acide pyruvique. Bien entendu, il y a d'autres facteurs déterminants qui peuvent orienter l'évolution dans l'une ou l'autre de ces deux voies, par exemple la nature de l'enzyme, entre autres facteurs; mais, néanmoins, cet exemple peut servir à mettre en évidence la différence de spécificité d'action due à la différence dans la nature du groupement transporteur d'hydrogène.

D'après M. von Euler, il y aurait encore à distinguer entre spécificité d'action d'un même transporteur suivant la nature du support protéique auquel il est lié. M. von Euler pourrait-il nous donner un exemple dans lequel on saisit la modification de spécificité d'action d'un même coferment, suivant une modification de la nature chimique du support protéique de cet agent? Peut-être entend-il par là la spécificité de la déshydrase elle-même? En effet, si l'on adopte le point de vue de M. von Euler quant à la nature de la déshydrase, la spécificité dont on parle à propos du support colloïdal du coferment ne prête-t-elle pas à confusion?

La conception généralement admise dans ces dernières années peut être schématisée comme suit :

$$\begin{split} \mathrm{SH}_2 + \mathrm{D} + \mathrm{Co} & \rightarrow & \mathrm{S} + \mathrm{D} + \mathrm{Co}\,\mathrm{H}_2, \\ \mathrm{Co}\,\mathrm{H}_2 + \mathrm{A} & \rightarrow & \mathrm{Co} + \mathrm{AH}_2 \\ \mathrm{SH}_2 = \mathrm{substrat}; & \mathrm{D} = \mathrm{d\acute{e}shydrase}; \end{split}$$

Co = coferment transporteur d'hydrogène.

 $\Lambda = \operatorname{accepteur} d'hydrogène (O_2 ou substance organique).$ 

La réaction globale est

 $SH_2 + A \rightarrow S + AH_2$  (en présence de **D** et **Co**).

Sous l'influence de l'activateur **D** (ferment), l'hydrogène passe de SH<sub>2</sub> à A en passant par **Co**, le transporteur.

Co peut être la flavine, le glutathion, le coferment nicotinique de Warburg ou la cozymase de la levure ou plusieurs d'entre eux, branchés en chaîne dans le mécanisme du transfert d'hydrogène. Certains auteurs pensent maintenant que l'aneurine pourrait être comprise dans cette liste. Dans le cas de la flavine, on admet avec Warburg, qu'elle n'est active en tant que transporteur que quand elle est liée à un protide et elle constitue alors le « ferment » jaune, mais dans cette conception cette protéine conjuguée est distincte de la déshydrase (Zwischen-Ferment); elle prête son concours à la déshydrase et se comporte donc bien comme un coferment, non comme un ferment. Or, à la fin de son Rapport, M. von Euler présente une nouvelle conception intéressante par le fait qu'elle suggère une hypothèse quant à ce que doit être la déshydrase elle-même, à savoir un complexe formé de l'union d'une protéine spécifique, l'apoenzyme, et d'un coferment transporteur d'hydrogène; celui-ci n'acquerrerait sa propriété de transporteur qu'à la faveur de sa combinaison réversible avec la protéine; de la nature de cette protéine dépendrait la spécificité d'action de la déshydrase vis-à-vis du substrat.

La réaction se résumerait donc à ceci, en l'absence d'action cofermentaire :

(a) 
$$SH_2 + D \rightarrow S + DH_2$$
,

(b) 
$$DH_2 + A \rightarrow D + AH_2$$
.

Si la conception de M. von Euler était généralisée à l'ensemble des déshydrases, ne faudrait-il pas mettre au point quelques conventions de terminologie sans lesquelles des confusions deviendraient inévitables?

Par convention, une action cofermentaire est distincte d'une action fermentaire. Les deux concourrent à un même mécanisme. Dans la conception actuelle de M. von Euler, au contraire, les corps que l'on a pris l'habitude d'appeler jusqu'à présent cozymase (coferment I et coferment II de Warburg) n'exerceraient plus une action cofermentaire, puisqu'ils formeraient la déshydrase elle-même par fusion avec un groupement protidique conférant à celle-ci à la fois son activité et sa spécificité à l'égard du substrat. Ce sont donc des zymogènes.

Par contre, la flavine-protéine exerce une action cofermentaire

proprement dite; son rôle interviendrait quand la déshydrase réduite (DH<sub>2</sub>) n'est pas capable de transmettre directement l'hydrogène à l'accepteur A (réaction b, coir plus haut), sans passer par son intermédiaire (soit FH<sub>2</sub> le leucodérivé de la flavineprotéine)

 $DH_2 + F \rightarrow FH_2$ ,  $FH_2 + A \rightarrow AH_2$ .

Il y aurait donc, si l'hypothèse de M. von Euler se généralisait, à distinguer entre deux catégories de transporteurs d'hydrogène, ceux qui seraient zymogènes et formeraient des déshydrases, et ceux qui forment des transporteurs intermédiaires entre la déshydrase et l'accepteur, même s'ils sont liés eux-mêmes à un protide comme c'est le cas de la flavine-protéine.

Il y a lieu, d'ailleurs, d'insister sur le fait qu'il ne suffit pas qu'un transporteur d'hydrogène s'unisse à une protéine pour qu'il constitue, de ce fait, une déshydrase. C'est le cas précisément de la flavine-protéine, qui n'est pas une déshydrase; mise seule en présence d'un substrat, la flavine-protéine n'est jamais capable d'oxyder celui-ci. Une déshydrase est toujours nécessaire.

Peut-être m'objectera-t-on qu'il arrive aussi qu'une déshydrase seule ne suffit pes toujours pour faire passer l'hydrogène du substrat sur l'accepteur, mais dans ce cas, si la présence de la flavine-protéine est nécessaire en outre pour obtenir ce résultat, il est généralement substituable par d'autres transporteurs artificiels, par exemple le bleu de méthylène.

M. von Euler. — Je considère que l'analogie du flavine-enzyme et de la holodéshydrase est très profonde, ces deux substances ne se différenciant guère que par leur degré de dissociation qui, au pH physiologique, est très petit pour le flavine-enzyme. Il ne serait pas commode, à mon avis, d'assimiler le flavine-enzyme à un coenzyme et cela pourrait conduire à des confusions. Si l'on fait agir simultanément le flavine-enzyme, la déshydrase et la codéshydrase sur un substrat, le flavine-enzyme se comporte comme un ferment complet.

M. Szent-Györgyi. — Il est impossible de donner une définition tout à fait claire des mots enzyme, substrat et coenzyme; car, dans certains cas, les substrats et les enzymes fonctionnent comme des coenzymes. La situation est analogue à celle qui se présente dans l'étude des vitamines et des hormones; nous devons employer des termes sans pouvoir toujours les définir d'une façon tout à fait précise.

M. Kögn. — J'admets avec MM. Szent-Györgyi et von Euler que le nom de « lactoflavine » actuellement en usage n'est pas heureusement choisi. Il serait toutefois imprudent de clore les débats de ce Conseil en proposant de le remplacer par celui de « flave », sans demander l'accord du chimiste qui, le premier, isola cette substance à l'état pur et proposa le nom de « lactoflavine ». On sait, d'autre part, que le nom de « riboflavine » a été proposé en Amérique et il est à craindre que trois noms au lieu d'un seul ne soient employés.

Si, en l'occurrence, on estime que l'on peut essayer de débaptiser la lactoflavine, je proposerai que l'on choisisse cette occasion pour le faire; M. Szent-Györgyi pourrait être le porte-parole du Conseil pour régler la question d'accord avec M. Kuhn.

M. Szent-Györgyi. — Ne serait-il pas préférable qu'une personnalité neutre comme M. Kögl agisse comme coenzyme?

M. Kögl. — Je me déclare d'accord.



# LA CHIMIE DE L'ACIDE ASCORBIQUE ET DE SES ANALOGUES

PAR W. N. HAWORTH.

#### INTRODUCTION.

Chimie de la vitamine C et isolement de l'acide ascorbique.

On savait, depuis longtemps, que la maladie du scorbut était, dans une certaine mesure, liée à un régime défectueux, mais ce n'est qu'après avoir reconnu que d'autres maladies résultent de déficiences dans le régime et après la découverte des vitamines, aboutissement final de cette notion, que des progrès purent être réalisés dans la question des déficiences responsables du scorbut.

L'un des principaux faits qui ont permis d'aller de l'avant, fut l'observation, au cours d'un travail d'Axel Holst orienté actuellement vers l'étude de la polynévrite, que les cochons d'Inde peuvent être atteints de scorbut de la même façon que l'homme (1). Des méthodes expérimentales furent aussitôt élaborées permettant d'évaluer l'action antiscorbutique des aliments (2), et des recherches biochimiques furent entamées pour connaître la nature de l'agent antiscorbutique. En raison des difficultés de ce travail, nécessitant à chaque étape de laborieuses et pénibles vérifications biologiques, en raison aussi de la nature intraitable du matériel soumis à l'investigation, il est remarquable que l'étude en fut poussée aussi loin, avant que le principe actif

A. Holst, J. Hyg., London, VII, 1907, p. 619. — A. Holst et T. Frö-Lich, Ibid., p. 634; Zeit. fin. Hyg. und Infektionskr., Berlin, 72, 1912, p. 1.

<sup>(2)</sup> H. CHICK et E. M. HUME, Trans. Roy. Soc. Trop. Med. et Hyg., London, 10, 1916-1917, p. 141; Proc. Roy. Soc., London, B, 90, 1917-1919, p. 44.

ne fut isolé d'une façon tout à fait inattendue et au cours d'un travail effectué dans un domaine différent et apparemment sans relation avec le premier.

Zilva (1) est parvenu, à partir de fruits de citrus et plus spécialement de citrons, à éliminer la masse des constituants inactifs et, après précipitation du principe actif sous forme de complexe avec l'acétate de plomb, à en obtenir des produits concentrés, que l'on sait à présent avoir une composition très voisine de l'acide ascorbique pur. Ces préparations étaient toutefois instables et non cristallisées et se prêtaient mal à une identification chimique précise. Mais les résultats obtenus montraient que la vitamine en question était soluble dans l'eau, dépourvue d'azote, et possédait une grosseur moléculaire voisine de celle d'un hexose (2). La plus grande difficulté rencontrée était l'absence d'une relation simple entre le pouvoir réducteur des produits concentrés et leur activité antiscorbutique. Parfois, une forte action antiscorbutique était associée à un faible pouvoir réducteur; d'autres fois, les deux propriétés paraissaient être parallèles. En conséquence, Zilva (3) inclinait à admettre que le principe réducteur et le principe antiscorbutique n'étaient pas identiques. Par la suite, toutefois, Tillmans (4) obtint des résultats tendant à prouver que la vitamine C et le principe réducteur devaient être identiques. et il soutint que les résultats de Zilva étaient explicables en admettant que la vitamine pouvait être oxydée de façon réversible sans perdre son activité antiscorbutique.

Cette opinion a été reconnue exacte, mais il est nécessaire d'interrompre l'histoire de ces événements pour considérer les travaux de Szent-Györgyi (5), lequel était engagé dans une étude des systèmes d'oxydo-réduction dans les plantes et les animaux. Au cours de ces travaux (en 1928), il isola de la couche corticale des glandes surrénales et aussi du jus d'orange et du jus de choux,

<sup>(1)</sup> A. Hardem et S. S. Zilva, Biochem. J., 12, 1918, p. 259. — S. S. Zilva, Biochem. J., 17, 1923, p. 416; 18, 1924, p. 186; 19, 1925, p. 589.

<sup>(2)</sup> S. J. B. Connell et S. S. Zilva, Biochem. J., 18, 1924, p. 641.

<sup>(3)</sup> S. S. ZILVA, Biochem. J., 22, 1928, p. 779.

<sup>(4)</sup> J. TILLMANNS, Zeit. für Untersuch. der Lebensmitt., 60, 1930, p. 34. — J. TILLMANNS et Alii, Ibid., 63, 1932, p. 1, 21, 241, 276, 287; 63, 1933, p. 145.

<sup>(</sup>a) A. Szent-Györgyi, Biochem. J., 22, 1928, p. 1387.

une substance fortement réductrice possédant plusieurs des propriétés d'un hydrate de carbone. Elle fut appelée acide hexuronique, à cause de son acidité et de sa grande ressemblance avec les acides très réactifs des sucres et, plus tard, lorsque son identité avec la vitamine C eut été constatée, ce nom fut changé en celui d'acide ascorbique. Elle était cristallisée, de point de fusion 1920 et accusant  $[\alpha]_0 = +230$  en solution aqueuse, extrêmement sensible aux agents d'oxydation et capable de subir l'oxydation réversible par l'iode ou le phénol indophénol. La formule moléculaire fut reconnue être CaHaOa et des dispositions furent prises par Szent-Györgyi pour qu'une étude chimique détaillée de la substance fut entreprise dans les laboratoires de Chimie de l'Université de Birmingham. Sa parenté possible avec la vitamine C apparut bientôt et de plus grandes quantités de substance furent préparées par Szent-Györgyi tout d'abord à partir des glandes surrénales et, par la suite, à partir de paprica hongrois (1), source plus riche et plus pratique. Des expériences de Szent-Györgyi et Syirbely montrèrent clairement en 1931 l'activité antiscorbutique de l' « acide hexuronique » (2). Entre temps, Tillmans [loc. cit., p. 226, note (4)] avait suggéré que l'acide hexuronique et la vitamine C pouvaient être identiques et, au début de 1931, Waugh et King (3) annoncèrent qu'ils avaient obtenu, à partir du jus de citron, une substance cristallisée ayant une activité antiscorbutique, qu'ils considéraient comme identique avec l' « acide hexuronique » de Szent-Györgyi.

La question se posa alors de savoir si l'activité des différentes préparations était due à l'acide ascorbique lui-même ou bien à la contamination du produit par une substance plus active. Il y avait cependant déjà des arguments en faveur de l'opinion que l'activité était due à l'acide ascorbique lui-même. Ainsi, Svirbely et Szent-Györgyi (4) démontrèrent que le dérivé monoacétonique

<sup>(1)</sup> J. L. Svirbely et A. Szent-Györgyi, Biochem. J., 27, 1933, p. 279.

<sup>(2)</sup> J. L. Svirbely et A. Szent-Györgyi, Nature, 129, 1932, p. 576 et 690; Biochem. J., 26, 1932, p. 865. — Voir aussi T. W. Birch, L. J. Harris et S. N. Ray, Nature, 131, 1933, p. 273, et J. Tillmans, P. Hirsch et R. Vaubel, Z. Unters. Lebensmitt., 65, 1933, p. 145.

<sup>(9)</sup> W. A. WAUGH et C. G. KING, J. Biol. Chem., 97, 1932, p. 325.

<sup>(4)</sup> J. L. Svirbely et A. Szent-Györgyi, Biochem. J., 27, 1933, p. 279.

de l'acide ascorbique était actif à un moindre degré que la substance mère, mais que l'acide ascorbique qui en est régénéré acquiert à nouveau son entière activité. De même Hirst et Zilva (1) trouvèrent que le produit primaire d'oxydation de l'acide ascorbique était presque aussi actif que l'acide original et que l'acide régénéré par réduction du produit oxydé témoignait encore d'une activité intégrale. Ces constatations montrèrent que l'hypothèse de Tillmans de l'oxydabilité réversible de la vitamine C était bien exacte; celle-ci servit dès lors à expliquer les précédentes observations de Zilva, relatives au soi-disant principe réducteur. Une autre preuve de l'identité de l'acide ascorbique avec la vitamine C fut donnée par la détermination de l'activité d'échantillons préparés à partir de différentes sources, et l'observation que l'acide ascorbique synthétique obtenu à partir de matériaux complètement inactifs, accusait le même degré d'activité physiologique que l'acide naturel, en fournit finalement une preuve indiscutable (2).

Structure de l'acide ascorbique. - Les observations de Szent-Györgyi avaient conduit à la formule moléculaire CeHgOe pour l'acide ascorbique. Cette substance est un acide monobasique donnant des sels bien définis de type CaH2OaM. C'est un agent réducteur puissant et son oxydation peut être effectuée par étapes, la première d'entre elles exigeant l'équivalent d'un atome d'oxygène par molécule d'acide ascorbique. Quand l'oxydation est arrêtée à ce stade, le produit peut être réduit quantitativement en acide ascorbique par l'action d'agents réducteurs tels que l'acide iodhydrique ou l'hydrogène sulfuré. L'acide ascorbique est particulièrement sensible à l'oxydation par l'oxygène gazeux en présence de faibles traces de cuivre comme catalyseur, mais dans ces conditions la réaction évolue jusqu'au delà de l'étape réversible et entraîne la destruction de la molécule. L'étude ultérieure démontra la présence de quatre groupes hydroxyles; deux d'entre eux peuvent être méthylés par le

<sup>(1)</sup> E. L. Hirst et S. S. Zilva, Biochem. J., 27, 1933, p. 1271.

<sup>(2)</sup> R. REIGHSTEIN, A. GRÜSSNER et R. OPPENAUER, Helv. Chim. Acta, 16, 1933, p. 1019. — W. N. HAWORTH, E. L. HIRST et S. S. ZILVA, J. Chem. Soc., 1934, p. 1155.

diazométhane et sont, pour cette raison, probablement de caractère énolique (¹) [loc. cit., p. 231, note (²)]. L'acide ascorbique réagit facilement avec la phénylhydrazine (²) en donnant un produit qui a la composition d'un osazone. La présence d'au moins un groupe cétonique capable de subir l'énolisation est ainsi confirmée, ce qui est en parfait accord avec le caractère du spectre d'absorption dans l'ultraviolet (bande intense pour 245\mu en solution acide). Bien plus, l'intensité de l'absorption donne à penser que deux doubles soudures conjuguées sont présentes dans la molécule. Les propriétés mentionnées plus haut conduisent à admettre dans l'acide ascorbique l'existence du groupe (I), il offrirait dans ce cas une analogie parfaite avec l'acide dihydroxymaléique (II), lequel accuse une absorption analogue à celle de l'acide ascorbique et subit l'oxydation réversible par l'iode en solution acide (³).

Une autre propriété de l'acide ascorbique, laquelle était déjà connue à une époque antérieure de son étude et a joué un rôle important dans la détermination de sa structure moléculaire, c'est l'aplatissement exceptionnel de sa molécule, révélé par

<sup>(1)</sup> Р. Каrrer, H. Salomon, K. Schöpp et R. Morf, Helv. Chim. Acta, 16, 1933, р. 181. — Р. Каrrer, H. Salomon, R. Morf et K. Schöpp, Biochem. Z., 258, 1933, р. 4. — Р. Каrrer, G. Schwarzenbach et K. Schöpp, Helv. Chim. Acta, 16, 1933, р. 302.

<sup>(2)</sup> E. G. Cox, E. L. Hirst et R. J. W. Reynolds, Nature, 430, 1932, p. 888.

<sup>(3)</sup> R. W. Herbert, E. L. Hirst, E. G. W. Percival, R. J. W. Reynolds et F. Smith, J. Chem. Soc., 1933, p. 1270.

l'examen cristallographique et par les rayons X (¹). En tenant compte de ce critère, un choix a pu être fait entre des formules de structure qui, au début de l'étude, paraissaient satisfaire aux exigences des transformations chimiques reconnues.

L'observation que l'acide ascorbique peut être transformé presque quantitativement en furfurol [loc. cit., p. 5, note (15)], fournit un fort argument en faveur de la présence dans sa molécule d'une chaîne carbonée droite et non d'une chaîne ramifiée. Une autre preuve de ce fait et une vision dans la stéréochimie de l'acide ascorbique, résultent d'une étude sur l'oxydation (réversible) de son produit d'oxydation primaire, au moyen de l'hypoiodite de sodium (2) [loc. cit., p. 229, note (2)]. On obtint ainsi deux substances, avec un rendement presque quantitatif, à savoir l'acide oxalique et l'acide l-thréonique (IV); l'identité de ce dernier ayant été établie par transformation en triméthyl l-thréonamide (V) et en acide d-tartrique (VI). Ces faits montrent qu'en solution alcaline, le produit d'oxydation primaire de l'acide ascorbique réagit comme sel de l'acide (III) et que l'acide ascorbique se rattache stéréochimiquement au l-glucose.

En étudiant les rapports de la substance (III) avec l'acide ascorbique, le fait crucial a été l'observation que nouvellement formé, le produit primaire de l'oxydation réversible de l'acide

E. G. Cox, Nature, 130, 1932, p. 205; J. Chem. Soc., 1936, p. 769.
 E. G. Cox et E. L. Hibst, Nature, 131, 1933, p. 402.

<sup>(2)</sup> E. L. Hirst, Chemistry and Industry, 52, 1933, p. 221.

ascorbique ne possède pas de propriétés acides, mais se comporte à tous égards comme une lactone qui acquiert l'acidité lorsqu'elle est maintenue en solution aqueuse. Il en résulte que le caractère acide de l'acide ascorbique est dû à un hydroxyle énolique et non à un groupe carboxyle libre et que, pour déterminer la structure de l'acide ascorbique, il reste seulement à découvrir la nature de l'anneau lactonique du produit d'oxydation primaire. Les faits principaux intéressant la constitution de l'acide ascorbique étaient dès lors établis et sa formule de lactone de l'acide 2-céto-l-gulonique, capable de réagir sous différentes modifications tauto-mériques, fut donnée en premier lieu au début de 1933 par Hirst et ses collaborateurs de l'Université de Birmingham [(2) p. 230].

La connaissance de la nature de l'anneau lactonique résulte d'une étude du produit d'oxydation obtenu de l'acide tétraméthylascorbique par l'ozone (1) [loc. cit., p. 229, note (3)]. Micheel (2) avait montré que le dérivé diméthylé de l'acide ascorbique (obtenu par l'action du diazométhane), donne un dérivé di-p-nitrobenzoylé et que celui-ci réagit avec l'ozone pour donner un ester neutre contenant le même nombre d'atomes de carbone que le produit non oxydé. Il en résultait qu'un système annulaire devait exister dans l'acide ascorbique; mais les produits obtenus par hydrolyse de l'ester neutre (acides oxalique et l-thréonique) ne permettaient pas de faire de déductions concernant la nature de l'anneau, et l'interprétation invoquée à ce moment par Micheel n'était pas valable, du fait qu'elle comportait la présence d'un groupement carboxyle libre dans l'acide ascorbique. En se référant aux formules ci-après, on constatera que l'application d'une méthode d'oxydation analogue à l'acide ascorbique perméthylé doit permettre avec certitude la détermination du système annulaire. Il a été constaté [loc. cit., p. 229, note (3), p. 231, note (1)], que l'acide diméthylascorbique (VIII) était facilement converti en dérivé tétraméthylé correspondant (IX) par l'action de l'oxyde d'argent et de l'iodure de méthyle et que ce dérivé traité par l'ozone donnait naissance à un ester neutre (X), lequel réagissant avec l'ammoniaque fournit de

E. L. Hirst, E. G. V. Percival et F. Smith, Nature, 131, 1933, p. 617.
 F. Micheel et K. Krapt, Z. physiol. Chem., 215, 1933, p. 215.

l'oxamide et l'amide de l'acide 3.4-diméthyl-l-thréonique (XI). La présence d'un groupement hydroxyle en position α dans cette dernière substance a été prouvée par l'observation que l'amide donne une réaction de Weerman fortement positive (formation de cyanate de sodium par action de l'hypochlorite de sodium sur l'amide). Il en découle immédiatement que dans l'acide ascorbique, l'acide diméthylascorbique et l'acide tétraméthylascorbique, l'anneau lactonique est du type γ et intéresse

$$\begin{array}{c} HO \\ G=C \\ H-G=O \\ \end{array} \rightarrow \begin{array}{c} OH \\ H-G=O \\ \end{array} \rightarrow \begin{array}{c} MeO \\ H-G=O \\ \end{array} \rightarrow \begin{array}{c} OMe \\ H-G=O \\ \end{array} \rightarrow \begin{array}{c} OMe \\ G=C \\ GO \\ \end{array} \rightarrow \begin{array}{c} OMe \\ H-G=O \\ \end{array} \rightarrow \begin{array}{c} OMe \\ G=C \\ GO \\ \end{array} \rightarrow \begin{array}{c} OMe \\ H-G=O \\ \end{array} \rightarrow \begin{array}{c} OMe \\ GO \\ H-G=O \\ \end{array} \rightarrow \begin{array}{c} OMe \\ GO \\ H-G=O \\ \end{array} \rightarrow \begin{array}{c} OMe \\ GH_2OMe \\ \end{array} \rightarrow \begin{array}{c} OMe \\$$

le groupement hydroxyle porté par le quatrième carbone de la chaîne. L'acide ascorbique sera donc représenté par la formule (VII). Si, par contre, l'acide ascorbique renfermait un cycle lactonique à, les produits obtenus par l'action de l'ammoniaque sur l'ester neutre formé par ozonisation, auraient été de l'oxamide et de la 2.4-diméthyl-l-thréonamide, et cette dernière n'aurait pas donné la réaction de Weerman. La structure (VII) (forme énolique de la 2-céto-l-gulonolactone) est complètement d'accord avec toutes les propriétés chimiques de l'acide ascorbique, et si l'on construit des modèles atomiques, on voit que la structure en est presque plate et que ses dimensions s'accordent de façon satisfaisante avec les observations cristallographiques et aux rayons X. La structure (VII) offre aussi une interprétation facile

de faits observés par la suite, telles que la réduction de l'acide ascorbique en acide l-idonique, et la production de formaldéhyde lorsque l'acide diméthylascorbique est oxydé au moyen de tétraacétate de plomb (réaction de Criegee, indiquant la présence de groupements hydroxyles sur deux atomes de carbone contigus, dans le cas présent  $C_5$  et  $C_6$ ) (1).

Dérivés de l'acide ascorbique. — De nombreux dérivés de l'acide ascorbique ont été préparés et leurs propriétés ont trouvé une interprétation facile en se basant sur la structure qui vient d'être envisagée pour l'acide. Ainsi le dérivé monoacétonique (²), qui est d'importance, jouant un rôle dans la question de l'identité de l'acide l-ascorbique avec la vitamine C, possède la structure (XII) et son dérivé diméthylé [loc. cit., p. 229, note (¹)] formé par l'action du diazométhane sur le dérivé monoacétonique, a la forme (XIII). Le dérivé de triphénylméthyle (²) est représenté par (XIV) et l'acide diméthylascorbique di-p-nitrobenzoylé de Micheel et Kraft [loc. cit., p. 231, note (²)], a la structure (XV), où X = CO.C<sub>6</sub>H<sub>4</sub>.NO<sub>2</sub>, laquelle rend compte de façon satisfaisante de sa transformation en acides oxalique et l-thréonique par ozonolyse suivie d'hydrolyse.

L'attribution de formules de structure aux dérivés de phénylhydrazine de l'acide ascorbique est un problème plus difficile, si l'on tient compte des nombreuses possibilités d'isomérie et de tautomérie. Le problème a été résolu en détail par Ohle dans le cas de l'acide d-araboascorbique, et les conclusions seront résumées en prenant ce composé analogue à l'acide ascorbique comme exemple. Pour chacun des deux acides, deux dérivés bien définis sont connus [loc. cit., p. 229, note (3)], et ceux-ci paraissent

<sup>(1)</sup> F. MICHEEL et K. KRAFT, Z. physiol. Chem., 218, 1933, p. 280.

<sup>(2)</sup> L. VON VARGHA, Nature, 130, 1932, p. 846; 131, 1933, p. 363.

dériver de la forme réversiblement oxydée de la molécule. Les relations existant entre eux ont été élucidées (¹) et il apparaît que lorsque la condensation avec la phénylhydrazine a lieu en présence d'acide acétique, le produit obtenu est, en ordre principal, un pyrazolone (XVI), mais en présence d'acides minéraux, il se forme seulement une petite proportion de pyrazolone et le produit est un mélange de (XVII) et de la lactone (XVIII).

La substance (XVII) est facilement transformable en (XVIII) par recristallisation, et par traitement à chaud au moyen d'alcali la lactone est transformée en dérivé de pyrazolone (XVI). Une

<sup>(1)</sup> H. Ohle et G. BÖCKMANN, Ber., 67, 1934, p. 1750.

série parallèle d'expériences à partir d'acide l-ascorbique, indique que le dérivé jaune (point de fusion 210°) a la structure pyrozolone correspondant à (XVI) et que le produit rouge (point de fusion 197°) est le véritable osazone [structure analogue à (XVIII)]. Les acides d-araboascorbique et l-araboascorbique réagissent tous deux, ainsi que leurs produits d'oxydation primaires avec l'o-phénylènediamine, le produit formé dans le cas de l'acide d-araboascorbique ayant la forme (XIX) et étant transformé en (XX) en présence d'acide minéral. Ce dernier est une véritable lactone et donne facilement l'acide à chaîne ouverte (¹).

Ces substances dérivent du produit primaire de l'oxydation réversible de l'acide ascorbique (ou de son analogue). Une grande attention a été accordée à la chimie de ce produit d'oxydation, lequel est important au point de vue physiologique parce qu'il possède l'entière activité antiscorbutique de l'acide ascorbique. Sa chimie est toutefois extraordinairement compliquée et n'est pas encore entièrement élucidée actuellement. Au moment de sa formation, il a la structure (XXI), laquelle peut subir l'hydratation de l'un ou plusieurs groupements cétoniques, en solution aqueuse; et il est évident qu'en présence d'eau ou d'alcali, l'anneau s'ouvre et que la substance est alors capable de réagir comme acide dicétonique à chaîne ouverte (XXII).

Mais (XXII) peut réagir de différentes façons comme sucre cétosique possédant une structure cyclique et le mélange d'équilibre est, presque à coup sûr, très complexe. Des indications à ce sujet sont fournies par les changements compliqués du spectre

<sup>(1)</sup> H. OHLE et H. ERLBACH, Ber., 67, 1934, p. 555.

d'absorption, de la rotation, etc., que l'on peut observer pendant que s'établit l'équilibre en solution aqueuse, et la complexité du phénomène résulte encore du fait que (XXI) peut être quantitativement réduit en acide ascorbique par l'hydrogène sulfuré, tandis que le mélange d'équilibre n'est pas réductible par ce réactif, alors qu'il donne de l'acide ascorbique par réduction au moyen d'acide iodhydrique [loc. cit., p. 229, note (3)]. En harmonie avec ces changements, on rencontre des variations complexes du potentiel d'oxydo-réduction. Différentes phases comportant des transformations de structure ont été décelées au cours de ces études, mais leur interprétation au moyen de formules de constitution ne peut être envisagée actuellement (1).

Des problèmes intéressants, et en partie inattendus, ont surgi dans l'étude plus détaillée de l'action du diazométhane sur l'acide ascorbique. L'un des deux groupes hydroxyles énoliques est à ce point plus réactif que l'autre, que l'acide ascorbique peut être titré au moyen de diazométhane, le produit en résultant avant la composition d'un dérivé monométhylé. Ce produit est toutefois un mélange de dérivé 3-méthylé, de structure normale (XXIII) et d'un dérivé monométhylé de l'une des nombreuses modifications tautomériques possibles de l'acide ascorbique (XXIV). La substance (XXIV) méthylée sans changement de structure donne (XXV), cette dernière substance perd l'un de ses groupements méthylés lorsque maintenue en solution aqueuse, et le composé hydroxylé qui en résulte subit un réarrangement donnant l'acide 2-méthylascorbique de structure normale (XXVI). Celui-ci peut alors être méthylé par le diazométhane donnant l'acide 2.3-diméthylascorbique normal (VIII), lequel est obtenu aussi avec un rendement quantitatif par méthylation de l'acide 3-méthylascorbique (XXIII).

Le comportement de l'acide 2.3-diméthylascorbique en présence d'alcali, est celui d'une lactone ordinaire et un sel de l'acide à chaîne ouverte correspondant se forme. Ceci offre un contraste

<sup>(</sup>¹) H. Borsook, H. W. Davenport, C. E. P. Jeffreys et R. C. Warner, J. Biol. Chem., 117, 1937, p. 1. (Cet article contient une bibliographie complète des publications parues de 1928 à 1936, traitant des potentiels d'oxydation et des constantes d'ionisation de l'acide ascorbique et de ses produits d'oxydation.)

marqué avec le cas de l'acide ascorbique non substitué, lequel donne des sels par l'intermédiaire de l'un des groupements hydroxyles (probablement celui de Ca), le cycle lactonique ne s'ouvrant pas alors, même sous l'influence de l'alcali concentré. Quoi qu'il en soit, les propriétés de l'acide libre obtenu par acidification du sel (XXVII) sont fort inattendues. La lactonisation du groupement carboxyle a lieu de la façon habituelle, mais est accompagnée d'une autre fermeture d'anneau, comparable, à certains égards, à la cyclisation d'un sucre de nature cétofuranose. La formation de ce second anneau résulte de la saturation de la double soudure entre C2 et C3 au moyen du groupe hydroxyle de C6 et la substance ainsi formée (désignée comme acide iso-diméthylascorbique) a la structure (XXVIII). Le mode d'attache de l'anneau est accusé par le fait que le traitement par l'acide chlorhydrique dans l'alcool méthylique élimine un groupe méthyle, le second anneau s'ouvrant et le produit obtenu étant de l'acide 2-méthylascorbique de structure normale (XXVI). Les deux produits (VII) et (XVIII), par traitement au moyen d'ammoniaque méthylalcoolique, ont donné une amide bien définie CeH, OeN, CH,OH qui apparaît avec une molécule d'alcool méthylique de cristallisation. A un moment donné, il a paru que cette substance pouvait jouer un rôle important dans les recherches sur la structure de l'acide ascorbique, mais des investigations récentes montrèrent que les détails de sa structure ne sont pas connus avec certitude.

Le fait qu'elle ne réagit pas avec l'ozone et ne possède pas d'absorption sélective suggère qu'elle possède la structure de l'acide iso-diméthylascorbique et elle est provisoirement représentée par la formule (XXIX). Des changements analogues de la structure normale en structure iso, ont été observés aussi avec l'acide diméthylglucoascorbique; pour les détails y afférant et pour les preuves de l'existence des différents échelons représentés dans le schéma illustrant ces réactions, on voudra bien s'en référer aux mémoires originaux (¹).

<sup>(1)</sup> W. N. HAWORTH, E. L. HIRST et J. K. N. JONES, J. Chem. Soc., 1937. — W. N. HAWORTH, E. L. HIRST, F. SMITH et W. J. WILSON, Ibid. — Voir aussi F. Micheel, Annalen, 319, 1935, p. 70; 525, p. 66.

Synthèse de l'acide ascorbique et de ses analogues. — Les deux principales méthodes actuellement utilisables pour la synthèse de l'acide ascorbique et de ses analogues sont : a, l'addition d'acide cyanhydrique à un osone, suivie d'hydrolyse acide du produit d'addition, et b, le réarrangement de 2-céto-3.4-dihydroxyacides ou de leurs esters. La méthode a offre l'inconvénient d'exiger des osones comme matières premières, mais lorsque l'on peut se procurer celles-ci, c'est un moyen efficace

et certain qui a déjà été utilisé à la préparation de plusieurs analogues de l'acide ascorbique. De plus, ce fut la méthode employée simultanément par Reichstein (¹) et par Haworth et Hirst (²) pour la première synthèse des isomères d et l de l'acide ascorbique. Le mécanisme de la réaction a été l'objet de recherches approfondies et il sera illustré en se reportant à la synthèse de l'acide d-glucoascorbique (³). La première étape de la synthèse à partir de glucosone (XXX) consiste en la formation d'un produit d'addition cristallisé, C<sub>7</sub>H<sub>11</sub>O<sub>6</sub>N, lequel manifeste une forte bande d'absorption pour 275 mµ. Les propriétés de cette substance montrent qu'elle n'est pas la cyanhydrine à

$$\begin{array}{c} \text{CH O} \\ \downarrow \\ \text{CO} \\ \text{HO-C-H} \\ \text{H-C-OH} \\ \text{H-C-OH} \\ \text{H-C-OH} \\ \downarrow \\ \text{CH2OH} \\ \end{array} \\ \begin{array}{c} \text{NC} \\ \text{CH(OH)-CO} \\ \text{HO-C-H} \\ \text{HO-C-H} \\ \text{H-C-OH} \\ \text{H-C-OH} \\ \text{CH2OH} \\ \end{array} \\ \begin{array}{c} \text{HO} \\ \text{C=C} \\ \text{O-C-H} \\ \text{HN=C} \\ \text{O-C-H} \\ \text{HN=C-OH} \\ \text{H-C-OH} \\ \text{H-C-OH} \\ \text{CH2OH} \\ \end{array} \\ \begin{array}{c} \text{CH(OH)-CO} \\ \text{HN=C} \\ \text{O-C-H} \\ \text{H-C-OH} \\ \text{H-C-OH} \\ \text{CH2OH} \\ \end{array} \\ \begin{array}{c} \text{CH(OH)-CO} \\ \text{$$

chaîne ouverte (XXXI), mais le composé iminé cyclique (XXXII) qui existe en solution aqueuse à l'état de sel interne neutre, ce point étant prouvé par l'étude de la dispersion rotatoire de la substance en solution neutre et acide (lorsque l'ionisation est supprimée). Des formations cycliques analogues ont été obtenues au cours de la synthèse d'autres analogues de l'acide ascorbique et la réaction paraît être générale. Le terme iminé cyclique intermédiaire (XXXII) possède plusieurs des propriétés caractéristiques de l'acide ascorbique (notamment une bande d'absorption

<sup>(1)</sup> T. REICHSTEIN, A. GRÜSSNER et R. OPPENAUER, Helv. Chim. Acta, 16, 1933, p. 561, 1019; 17, 1934, p. 510.

<sup>(2)</sup> R. G. Ault, D. K. Baird, H. C. Carrington, W. N. Haworth, R. W. Herbert, E. L. Hirst, E. G. C. Percival, F. Smith et M. Stacey, J. Chem. Soc., 1933, p. 1419. — D. K. Baird, W. N. Haworth, R. W. Herbert, E. L. Hirst, F. Smith et M. Stacey, Ibid., 1934, p. 62.

<sup>(3)</sup> W. N. HAWORTH, E. L. HIRST, J. K. N. JONES et F. SMITH, J. Chem. Soc., 1934, p. 1192.

intense et l'oxydabilité par l'iode en solution acide); par hydrolyse au moyen d'un acide aqueux le groupe iminé est enlevé et de l'acide glucoascorbique (XXXIII) est formé.

Cette dernière substance contient le système cyclique caractéristique de l'acide ascorbique et présente des propriétés chimiques et un spectre d'absorption très analogues à ceux de l'acide ascorbique naturel. La synthèse de l'acide l-ascorbique naturel (vitamine C) se fait de façon semblable à partir de la l-xylosone (XXXIV) qui peut être obtenue [loc. cit., p. 239, note (2)] à partir de d-galactose comme aboutissement de la série de transformations suivantes : d-galactose  $\rightarrow$  1:2, 3:4-d-galactose diacétone  $\rightarrow$  acide d-galacturonique 1:2, 3:4-diacétone  $\rightarrow$  acide d-galacturonique  $\rightarrow$  l-galactonamide  $\rightarrow$  l-yxose  $\rightarrow$  l-xylosone.

Les composés analogues à l'acide l-ascorbique synthétisés de cette façon sont les suivants : acide d-glucoascorbique [loc. cit., p. 239, note (1), p. 239, note (2), p. 239, note (3)], acide l-glucoascorbique (1), acide d-galactoascorbique [loc. cit., p. 239, note (1), p. 239, note (2)], acide l-araboascorbique [loc. cit., p. 239, note (1), p. 239, note (2)], acide l-guloascorbique [loc. cit., p. 239, note (1)], acide l-alloascorbique (2), acide l-rhamnoascorbique (3), acide d-xyloascorbique [loc. cit., p. 239, note (2)], (acide d-ascorbique), sans omettre l'acide l-xyloascorbique (acide l-ascorbique naturel) [loc. cit., p. 239, note (1), p. 239, note (2)].

<sup>(1)</sup> T. Reighstein, Brit. Assoc. Advancement Sci. Rep., 1934, p. 295. — W. N. Haworth, E. L. Hirst et J. K. N. Jones, J. Chem. Soc., 1937.

<sup>(2)</sup> M. STEIGER, Helv. Chim. Acta. 18, 1935, p. 1253.

<sup>(3)</sup> T. REICHSTEIN, L. SCHWARZ et A. GRÜSSNER, Helv. Chim. Acta, 18, 1935, p. 353.

Mentionnons que la nomenclature adoptée pour faciliter l'appellation, fait dériver le nom de la substance de celui de l'osone utilisé dans la synthèse.

Cette liste montre le champ d'application de cette méthode de synthèse; toutefois, dans la préparation de l'acide l-ascorbique, il est avantageux d'éviter de faire usage de l-xylosone difficile à obtenir. Par l'application du second mode de synthèse de notables progrès ont été réalisés quant à la facilité de préparation synthétique de la vitamine C. La méthode fut d'abord appliquée à la préparation de l'acide d-araboascorbique (XXXVI) à partir

d'acide 2-céto-d-gluconique. L'acide, et plus particulièrement l'ester méthylique (XXXV) subit la cyclisation et l'isomérisation dans des |conditions très variées, parmi lesquelles l'action du méthylate de sodium peut être citée comme spécialement importante, et le produit qui en résulte possède le système annulaire de l'acide ascorbique (1), (2). Dans le cas de l'acide ascorbique naturel, l'acide cétonique nécessaire est l'acide 2-céto-l-gulonique (XL), lequel peut être facilement obtenu à partir de l-sorbose (XXXVIII) par oxydation de sorbose diacétone (XXXIX) et enlèvement ultérieur des restes cétoniques (3); l-sorbose, de son côté, peut être préparé actuellement en quantité par l'oxydation bactérienne du d-sorbitol (XXXVII) (4).

<sup>(1)</sup> H. Ohle, H. Erlbach et H. Carls, Ber., 67, 1934, p. 324 et 555.

<sup>(2)</sup> K. Maurer et B. Schmiedt, Ber., 66, 1933, p. 1054; 67, 1934, p. 1239.

<sup>(3)</sup> T. REICHSTEIN et A. GRÜSSNER, Helv. Chim. Acta, 17, 1934, p. 311.

<sup>(4)</sup> H. Schlubach et J. Vorwerk, Ber., 66, 1933, p. 1251.

Une méthode encore plus simple (¹) de synthèse de l'acide l-ascorbique consiste dans l'oxydation directe du l-sorbose, lequel, comme le d-fructose, est particulièrement sensible à l'oxydation du groupement alcoolique primaire du C<sub>1</sub>. Lorsqu'il est oxydé par l'acide nitrique dans des conditions soigneusement contrôlées, le l-sorbose est transformé directement en la substance (XL) et l'ester méthylique de cette dernière fournit le sel de sodium de

l'acide l-ascorbique lorsqu'il est traité par le méthylate de sodium. De façon analogue, le d-fructose donne naissance à l'acide 2-cétod-gluconique dont l'ester méthylique conduit au sel de sodium de l'acide d-araboascorbique (XXXVI) par traitement au méthylate de sodium.

Un autre exemple de l'application de cette seconde méthode de synthèse est la préparation de l'acide l-érythroascorbique (2),

W. N. HAWORTH, Nature, 134, 1934, p. 724. — W. N. HAWORTH,
 E. L. Hirst, J. K. N. Jones et F. Smith (sous presse).

<sup>(2)</sup> T. REICHSTEIN, Helv. Chim. Acta, 17, 1934, p. 996 et 1003.

l'un des deux analogues théoriquement possibles à 5 atomes de carbone de l'acide ascorbique. Le point de départ a été le *l*-adonose (XLI), obtenu par oxydation bactérienne de l'adonitol. Le méthyladonoside fut converti en dérivé 3:4-monoacétonique (XLII) et ce dernier fut oxydé par le permanganate, donnant après enlèvement des groupements méthyle et acétonique, l'acide 2-cétoribonique (XLIII), lequel aussitôt subit l'énolisation et la lactonisation conduisant à l'analogue de l'acide ascorbique (XLIV). La facilité avec laquelle s'effectue cette dernière transformation est particulièrement remarquable si on la compare avec le comportement d'autres acides 2-cétoniques.

Les acides 2-cétoniques nécessaires peuvent aussi être obtenus par l'oxydation soigneusement conduite des osones et cette variante de la méthode a été employée dans la synthèse de l'acide l-ascorbique à partir de l-gulosone (1), en passant par l'acide 2-céto-l-gulonique, mais la difficile obtention des osones désavantage la méthode au point de vue d'une application générale.

Le plus simple des véritables analogues de l'acide ascorbique est celui à 4 atomes de carbone (XLV), lequel a été obtenu par l'action du potassium sur le benzoyloxyacétate d'éthyle (2). Parmi d'autres substances ressemblant à l'acide ascorbique par leurs propriétés chimiques et leur structure, on peut mentionner l'acide réductique (XLVI), qui paraît avoir été obtenu à partir

F. Micheel, K. Kraft et W. Lohmann, Z. physiol. Chem., 225, 1934,
 p. 13.

<sup>(1)</sup> F. MICHEEL et F. JUNG, Ber., 66, 1933, p. 1291.

d'acide glycuronique par Thierfelden il y a déjà longtemps. Il peut être préparé par l'action de l'acide sulfurique dilué à température élevée sur des hydrates de carbone (par exemple, l'acide glycuronique, la pectine, le xylose, etc.). Comme l'acide ascorbique, il subît l'oxydation réversible par l'iode en solution aqueuse, en donnant le 1:2:3-tricétocyclopentane (XLVII). La structure de l'acide réductique, en tant que 3-céto-Δ-cyclopentène-1:2-diol, est révélée par son oxydation au moyen de carbonate d'argent qui fournit la substance (XLVIII) et par le fait que son diacétate donne par hydrogénation catalytique de l'acétate de cyclopentyle et le dérivé diacétylé du cis- cyclopentane-1:2-diol (XLIX) (¹).

Que le comportement caractéristique de l'acide ascorbique et de ses analogues, pour autant qu'il s'agisse de l'absorption spectrale et des propriétés chimiques, repose sur la présence de la double soudure énolique, résulte de la comparaison avec la réductone (2) [hydroxyméthylglyoxal: CHO.C (OH) = CH (OH)],

T. REICHSTEIN et R. OPPENAUER, Helv. Chim. Acta, 16, 1933, p. 988.
 H. von Euler et C. Martins, Svensk. Kem. Tidskr., 48, 1933, p. 73. —
 Cf. avec R. G. W. Norrish et J. G. A. Griffiths, J. Chem. Soc., 1928, p. 2837.

laquelle ressemble à l'acide ascorbique chimiquement et par l'absorption de la lumière, et aussi par la forte acidité qu'elle accuse malgré l'absence de carboxyle. Elle se forme par l'action des alcalis sur les hydrates de carbone. On peut enfin mentionner la remarquable série d'acides tétroniques substitués apparaissant comme produits de métabolisme lorsque la moisissure Pænicillium Charlerii se développe dans le milieu glucosique de Czapek-Dox. La structure de ceux-ci a été élucidée par Clutterbuck, Raistrick et Reuter (1) et un exemple typique de la série est représenté par (L) dont la structure annulaire s'apparente étroitement à celle de l'acide ascorbique.

Cette brève revue montre qu'un nombre déjà considérable d'analogues très voisins de l'acide ascorbique est à notre disposition pour l'investigation physiologique et des efforts sont faits en vue d'établir une corrélation entre l'activité physiologique et la constitution chimique dans cette série. Les résultats obtenus peuvent être résumés comme suit :

Les analogues les plus simples, optiquement inactifs, tels que la réductone [loc. cit., p. 244, note (2)]; l'acide réductique [loc. cit., p. 244, note (1)], et la substance (XLV) [loc. cit., p. 243, note (2)], n'ont pas de propriétés antiscorbutiques. Parmi les véritables analogues de l'acide ascorbique, l'acide d-ascorbique, l'acide d-glucoascorbique et l'acide d-galactoascorbique ne possèdent pas d'action antiscorbutique appréciable (2), (3). D'autre part, l'acide l-ascorbique synthétique accuse l'activité intégrale du produit naturel (4) [loc. cit., p. 245, note (2)]. Le produit d'oxydation primaire est également intégralement actif (5), mais le produit intermédiaire, l'acide iminoascorbique, obtenu au cours de la synthèse, est inactif. L'acide l-rhamnoascorbique possède environ le cinquième [loc. cit., p. 240, note (3)], l'acide d-arabo-

<sup>(1)</sup> P. W. CLUTTERBUCK, H. RAISTRICK et F. REUTER, Biochem. J., 29, 1935, p. 300, 871 et 1300.

V. Demole, Biochem. J., 28, 1934, p. 770.
 S. S. Zilva, Biochem. J., 29, 1935, p. 1612.

<sup>(4)</sup> W. N. HAWORTH, E. L. HIRST et S. S. ZILVA, J. Chem. Soc., 1934, p. 1155.

<sup>(5)</sup> E. L. Hirst et S. S. Zilva, Biochem. J., 27, 1933, p. 1271.

ascorbique environ le vingtième (¹) [loc. cit., p. 245, note (²)], et l'acide l-glucoascorbique environ le quarantième de l'activité de l'acide ascorbique (²) [loc. cit., p. 245, note (³)]. Il semble que, parmi les analogues, pour autant qu'ils aient été examinés, sont actifs seulement ceux qui possèdent des formules dans lesquelles le cycle intéresse un groupe hydroxyle situé à droite de la chaîne carbonée dans la formule conventionnelle de Fischer, et la suggestion a été faite que cette configuration particulière serait une condition nécessaire de l'activité antiscorbutique [loc. cit., p. 242, note (¹), p. 246, note (²)].

Les structures de l'anneau attribuées aux analogues synthétiques sont basées principalement sur l'analogie avec l'acide ascorbique et, sauf dans le cas de l'acide d-glucoascorbique,

n'ont pas été déterminés de façon indépendante. Il paraît néanmoins vraisemblable, étant donnée la très grande analogie des propriétés chimiques et des spectres d'absorption, que le même système cyclique à 5 chaînons existe dans tous ces cas. Mais la possibilité d'existence, dans ces séries, ide systèmes annulaires à 6 chaînons, ne peut être entièrement écartée et la question a pris de l'importance à propos de l'acide l-érythroascorbique synthétique (XLIV). Dans un cas, toutefois, une preuve chimique directe de la présence d'un système cyclique à 5 éléments peut être obtenue. L'acide d-glucoascorbique réagit normalement avec le diazométhane en donnant de l'acide diméthyl-d-glucoascorbique et cette dernière substance peut alors être perméthylée, donnant l'acide pentaméthyl-d-glucoascorbique (LI). L'ozonisation de ce

<sup>(1)</sup> O. Dalmer et T. Moll, Z. physiol. Chem., 222, 1933, p. 116.

<sup>(2)</sup> T. Reichstein, Nature, 134, 1934, p. 724.

dernier fournit un ester neutre (LII) (confronter avec les preuves de la structure de l'acide ascorbique) et cet ester fournit par hydrolyse de l'acide oxalique et de l'acide 3:4:5-triméthyl-d-arabonique (LIII). La présence du groupement hydroxyle en position 2 dans l'acide arabonique prouve que la structure de l'acide pentaméthylglucoascorbique est bien celle représentée par (LI) et démontre la présence d'un système annulaire à 5 chaînons (1).

<sup>(1)</sup> W. N. HAWORTH, E. L. HIRST et J. K. N. JONES, J. Chem. Soc., 1937.

#### DISCUSSION DU RAPPORT DE M. HAWORTH.

M. Reichstein. — J'ajouterai volontiers quelques considérations au très bel exposé de M. Haworth, en me limitant au point de vue purement chimique.

La méthode de synthèse de l'acide ascorbique et de ses analogues à partir d'acide cyanhydrique a été découverte, comme le rappellent les référats, de façon indépendante à Birmingham et à Zurich.

M. R. Oppenauer, mon collaborateur à cette époque, la proposa et l'exécuta avec M. A. Grüssner dans notre laboratoire. Ainsi que le montrent les référats, cette méthode paraissait très simple sur le papier, mais son exécution rencontra de grandes difficultés pratiques. Outre que la matière première est souvent difficilement accessible, il y a une phase très difficile à réaliser, à savoir l'hydrolyse des produits intermédiaires, les composés imidés (I) en acides ascorbiques (II). Celle-ci nécessite des conditions si énergiques qu'elles suffisent presque à détruire les acides formés. Les différents isomères ne se comportent pas ici de la même façon et ces différences sont difficiles à expliquer.

Ainsi l'azote de l'acide imido-d-glucoascorbique (I) peut, dans des conditions convenables, être éliminé avec tant de netteté par hydrolyse acide, que l'on obtient un très bon rendement en acide gluco-d-ascorbique (II). Dans les mêmes conditions, l'acide imido-d-glucoheptoascorbique (III) est presque entièrement stable et, même dans des conditions beaucoup plus énergiques, il n'a pas été possible jusqu'ici d'en éliminer complètement l'azote pour obtenir de l'acide d-glucoheptoascorbique pur.

Un autre point qui me paraît présenter un intérêt théorique, est la relation particulière qui existe entre l'acide 2-cétonique de la classe des sucres et les acides ascorbiques. Celle-ci a jeté au début quelque trouble dans les idées de plusieurs chercheurs.

Si l'on considère les formules (IV) d'un acide osonique (acide 2-cétonique) et d'un acide 3-cétonique (VI), on pourrait s'imaginer que ces deux formes sont tautomères et qu'en solution, elles pourraient se transformer l'une dans l'autre ou donner lieu au même mélange en équilibre parce que leur énolisation pourrait conduire au même « endiol ».

En réalité, il en est autrement. Seule, la transformation  $(VI) \rightarrow (V)$  a lieu effectivement, (IV) est, par contre, très stable et ne se transforme pas spontanément en (V).

соон	соон	соон			
C=O	сон	нсон			
нсон	сон	C=0			
нсон	нсон	нсон			
нсон	нсон	нсон			
CH: OH	СН:ОН	CH <sub>2</sub> OH			
(IV).	(V).	( VI).			

On pourrait aussi croire à la possibilité de forcer la transformation (IV) en (V) par l'action des alcalis; ces derniers favorisant en général l'énolisation des cétones. C'est le contraire qui se produit. En effet, les alcalis ne transposent que des traces d'acides osoniques libres (IV) en acides ascorbiques. Par contre, la transformation se fait très facilement au moyen des acides, ce qui fut pour moi, à l'origine, un résultat très inattendu.

L'explication en doit être cherchée dans le fait que les acides osoniques ne possèdent, en réalité, pas de groupement cétonique libre, mais bien un anneau lactolique. Celui-ci est à peine modifié par les alcalis, mais il est ouvert par les acides

En harmonie avec cette interprétation, on constate que les acides pentosoniques (VIII) peuvent être transformés en acides ascorbiques correspondants avec une facilité extraordinairement plus grande que les acides hexoniques.

On sait que les acides pentosoniques ne sont plus susceptibles de former un anneau pyranose, tandis qu'ils peuvent former un anneau furanose correspondant à la formule (IX).

Il est bien connu que ces anneaux furanose sont plus facilement ouverts que les anneaux pyranose. Dès que l'anneau est ouvert, apparaît la forme cétonique vraie susceptible d'énolisation.

Le fait que les esters des acides osoniques se laissent transformer en acides ascorbiques déjà en présence de quantités extrêmement faibles d'alcali est très remarquable et non expliqué jusqu'ici.

J'aimerais aussi, en terminant, rendre hommage aux travaux classiques de M. G. Bertrand sur l'oxydation fermentaire et constater, comme l'a fait M. Haworth, les grands services qu'ils ont rendus dans l'étude du groupe de l'acide ascorbique.

Les divers sucres cétoniques, qui constituent de très bonnes matières premières pour la préparation des acides ascorbiques, peuvent, en principe, être aussi préparés par des méthodes purement chimiques. Dans bien des cas, il fut toutefois impossible de s'en procurer la quantité nécessaire par ce moyen. Par contre, les bactéries la fournissent avec des rendements remarquables. La règle de Bertrand nous a permis d'obtenir le *l*-sorbose à partir de sorbite, le *l*-ribulose à partir d'adonite, le *d*-xylulose à partir d'arabite d, ainsi que d'autres sucres difficilement acces-

sibles, toutes réactions nettes donnant des produits de grande pureté.

- M. G. Berthand. M. Haworth signale à la page 242 de son beau rapport une méthode d'oxydation chimique du sorbose qui donnerait presque directement de l'acide ascorbique. Comme le sorbose peut déjà être obtenu, par oxydation bactérienne du sorbitol, avec un très bon rendement, il y aurait là une méthode particulièrement simple, et sans doute très proche du processus naturel de production de l'acide ascorbique à partir du glucose. S'il n'y a pas d'indiscrétion, M. Haworth pourrait-il fournir quelques détails sur la méthode qu'il a signalée et sur son rendement?
- M. Намовти. La méthode est celle de l'oxydation directe du *l*-sorbose en solution aqueuse par l'acide nitrique. Le produit contient une quantité notable (20 à 25 pour 100) d'acide 2-céto-gulonique isolé sous forme de son éther méthylique. Celui-ci se transforme par les méthodes connues, isomérisation et fermeture d'anneau en acide ascorbique.
- M. Karrer. Sait-on pourquoi la teneur en acide ascorbique décroît à l'obscurité dans l'humeur aqueuse de l'œil et augmente lors de l'éclairement (¹).
- M. von Euler. Nous avons irradié des yeux de poissons vivants et pu mesurer, d'après Tillmans, une augmentation de la teneur en acide ascorbique dans le cristallin.
- M. Szent-Gyorgyi. M. Haworth a laissé dans l'ombre un point de l'historique de la découverte de l'acide ascorbique. C'est, en effet, à lui que je m'en référai lors du premier isolement de cette substance; il en reconnût toute l'importance au point de vue chimique et m'engagea à en poursuivre l'étude avec enthousiasme.
- M. Reichstein. Les biologistes pourraient-ils me dire s'il existe des données permettant de préciser sous quelle forme

<sup>(1)</sup> UTSUMI, Chem. Centralblatt., II, 1937, p. 1842.

l'acide ascorbique est fixé dans les tissus. Il est frappant qu'une substance aussi soluble dans l'eau se concentre en des points bien déterminés de l'organisme, et souvent là où les lipoïdes sont prépondérants, comme dans la partie corticale des glandes surrénales. Elle doit y être fixée par exemple sous forme d'ester ou de complexe, de façon à ne point être facilement enlevée par les liquides aqueux de l'organisme. Cette question se pose évidemment aussi pour toute autre substance soluble dans l'eau et il y a de nombreux exemples de ce genre. L'acide ascorbique paraît être particulièrement bien désigné pour fixer ce point de façon plus nette, d'abord parce que nous avons dans le cobaye un animal qui n'en produit pas et qu'en outre sa recherche histologique est facile à réaliser, bien que pas très précise.

M. VON EULER. — Il résulte de nos recherches que l'acide ascorbique agit comme coenzyme d'une protéine spécifique. Il est possible que cette protéine soit identique avec l'enzyme désignée sous le nom de « Ascorbinsäure-oxydase ».

Nous admettons que l'acide ascorbique se fixe dans les tissus par l'intermédiaire de cette protéine.

M. Karrer. — La détermination de l'acide ascorbique dans les tissus au moyen de sels d'argent peut conduîre à une teneur trop élevée en acide ascorbique, par suite de la présence éventuelle d'autres substances (coferment dihydré, etc.).

M. Zunz. — Je pense qu'il n'est pas encore possible de répondre de façon précise à la question posée par M. Reichstein. Mais, ainsi que M. Karrer vient de le dire, d'autres substances que l'acide ascorbique peuvent réduire les sels d'argent. On sait que les histophysiologistes ont appelé l'attention sur les difficultés que présente la caractérisation d'une substance dans les cellules, en se basant sur des réactions chimiques. Je crois qu'on trouverait d'intéressantes données au point de vue qui intéresse M. Reichstein dans les beaux travaux de M. Giroud.

M. Polonowski. — Les résultats de dosage de l'acide ascorbique dans les différents tissus dépendent de la méthode utilisée, et il n'y a, en particulier, qu'un rapport souvent très éloigné entre les méthodes qui dosent un ensemble de corps réducteurs, comme le procédé au nitrate d'argent et celles plus spécifiques qui font appel aux propriétés physiques, telles que la spectrométrie. Ceci souligne encore la remarque que vient de faire M. Karrer.

M. Bigwood. — En ce qui concerne la question posée par M. Reichstein, il y a lieu de remarquer que l'inégale concentration d'un corps, cependant très soluble et diffusible dans des régions différentes de l'organisme, n'est pas exclusivement caractéristique de l'acide ascorbique. C'est encore le cas de l'urée et d'autres substances. C'est un fait d'observation relativement fréquente dont on n'a généralement pas d'explication. En tous cas, cela s'observe pour des substances pour lesquelles on ne peut pas invoquer l'explication suggérée pour l'acide ascorbique, à savoir, le caractère peu spécifique du réactif, au moyen duquel on cherche à le déceler.

M. Наwовтн. — Il est utile d'insister sur le fait que le produit primaire d'oxydation de l'acide ascorbique, l'acide déshydroascorbique, est important du point de vue de son activité physiologique. Il possède la même activité que l'acide ascorbique.

Pour ces raisons, l'essai des jus de plantes par la mesure de leur pouvoir réducteur peut conduire à des résultats erronés quant à leur potentiel physiologique, d'autant plus que l'acide déshydroascorbique est fréquemment présent dans ces jus. Dans ce cas, l'activité sera supérieure à celle déduite du pouvoir réducteur.

J'aimerais ajouter que la synthèse d'acide ascorbique à partir de d-sorbose par oxydation directe (voir p. 242 du rapport) fournit une suggestion du mécanisme donnant naissance à l'acide ascorbique dans les tissus végétaux et animaux par un processus simple du métabolisme des sucres.



## RAPPORT GÉNÉRAL SUR LES HORMONES

PAR M. L. RUZICKA.

A. — Le rôle et la signification des hormones dans la vie.

Jusqu'à la fin du siècle dernier, l'opinion généralement admise était que les fonctions organiques du corps humain et leurs échanges mutuels étaient uniquement réglés par le système nerveux.

Un coup d'œil rétrospectif sur l'histoire des hormones permet cependant de relever, déjà à une époque très éloignée de nous, des observations que l'on peut considérer comme premières indications de ce que mainte fonction dans l'organisme peut être réglée par l'action de combinaisons chimiques. Si l'on fait abstraction de l'observation si ancienne de Théophile de Bordeu, de Montpellier, relative à l'action de l'extrait de testicules, laquelle date de 1775, l'année 1849 a été signalée par des découvertes particulièrement importantes. C'est à ce moment que furent faites les expériences du physiologiste H. A. Berthold, de Göttingen, sur l'influence de la greffe de testicules de coqs adultes sur les caractères sexuels secondaires des chapons. La seconde observation fondamentale faite la même année fut celle du médecin Addison d'après laquelle les symptômes désignés plus tard sous le nom de maladie d'Addison sont provoqués par la destruction de la fonction normale des capsules surrénales.

Ces observations, ainsi d'ailleurs que les recherches bien connues que Brown Sequard fit sur sa personne à Paris en 1887 au moyen d'extraits de testicules, ne furent pas prises au sérieux ou bien furent regardées comme des faits isolés difficiles à interpréter. Une vision plus claire du chimisme des processus vitaux commençait cependant déjà à se développer lentement à cette époque. Ainsi, Claude Bernard a-t-il pressenti le principe de la sécrétion interne avant que l'existence n'en fut démontrée avec certitude.

C'est au moment du passage d'un siècle à l'autre, qu'ont été établis sur des bases solides, aussi bien pour les hormones que pour les vitamines, les fondements qui ont permis l'épanouissement systématique de ces domaines si développés aujourd'hui.

On définit les hormones comme étant des substances chimiques produites par la sécrétion interne de glandes déterminées.

La sécrétion externe des glandes était connue depuis longtemps, tandis que l'existence de la sécrétion interne ne fut généralement admise que lorsqu'elle fut rendue apparente comme la sécrétion externe. Au cours de l'année 1902, Bayliss et Starling à Londres injectèrent à un chien, chez lequel les terminaisons nerveuses du pancréas étaient ligaturées, un extrait de muqueuse intestinale et amenèrent ainsi les glandes à émettre une sécrétion que l'on a appelée sécrétine.

Starling a donné aux composés chimiques physiologiquement actifs de la sécrétion interne le nom d'hormones (excitateurs).

Cette expression est tout à fait justifiée, car il a été bientôt démontré que les glandes à sécrétion interne, de par les corps actifs qu'elles répandent partout dans les liquides de l'organisme, sont aussi nécessaires comme régulateurs des fonctions organiques que les centres nerveux et les nerfs qui s'y rattachent.

Une collaboration équilibrée des deux systèmes est de la plus grande importance au point de vue de la santé physique et morale. Une vue d'ensemble remarquable de ces questions a été donnée dans une conférence de J. B. Collip : « Hormones in relation to human behavior » (1).

De cette conférence, nous empruntons l'anecdote suivante relative au cas d'un diabétique, laquelle offre des exemples caractéristiques quant à la signification de l'action combinée des

<sup>(</sup>¹) A la page 22 de la Collection des Conférences jubilaires de l'Université de Harvard : « Factors determining human behavior » (Harvard University Press, 1937).

hormones et de leur interaction avec le système nerveux. Un matin un diabétique avait pris trop d'insuline, il oublia toutefois d'emporter avec lui la provision de sucre qui l'accompagnait toujours. Il voulut se la procurer rapidement chez un pharmacien. Arrivé là, il présentait déjà les symptômes connus d'une déficience en sucre sanguin, extérieurement analogues à ceux de l'ébriété, et fut mis à la porte par le pharmacien. Cette mésaventure mit l'homme en colère, si bien que le système nerveux excité provoqua une forte sécrétion des capsules surrénales. L'adrénaline arrivant en quantité accrue dans le courant sanguin augmenta sa teneur en sucre et l'équilibre fut bientôt rétabli chez le patient qui s'était ainsi procuré du sucre d'une autre provenance.

L'interaction des hormones et du système nerveux qui existe dans l'espèce humaine, existe en principe aussi mais avec maintes différences dans les détails chez les animaux supérieurs, c'est-à-dire en s'élevant dans l'échelle animale à peu près à partir des poissons.

On sait encore peu de chose des hormones en ce qui concerne les invertébrés et l'on admet provisoirement que chez eux le système nerveux joue un rôle plus complet que chez les animaux supérieurs. Il est toutefois possible que cette opinion résulte de ce que nous ignorons encore les méthodes de détection des hormones chez les invertébrés, car on ne voit pas pourquoi les animaux inférieurs seraient dépourvus d'hormones alors qu'en ces dernières années on en a trouvées dans les plantes et que, dès lors, on a appris à distinguer les zoo- et phyto-hormones.

Il n'y a provisoirement pas d'arguments qui différencient les hormones provenant d'animaux de genres différents en ce qui concerne leurs propriétés physiologiques générales. Ainsi, par exemple, l'extrait du pancréas de poisson est également actif chez les mammifères et chez l'homme. Il en est de même pour d'autres hormones. Mais la signification de chaque hormone en particulier et son mode d'action ne sont pas toujours les mêmes dans toute l'échelle animale. Il n'y a que peu de cas connus où l'on puisse affirmer que des hormones agissant de façon analogue sur les différentes espèces animales, sont aussi chimiquement identiques. Il n'est aucunement nécessaire d'une différenciation chimique des hormones pour provoquer d'importants changements

dans la vie d'un individu, il suffit pour cela, comme on le sait, d'un changement de la quantité d'hormone produite.

O. Riddle (¹) dans de récentes et fructueuses recherches a pu produire quelques nouvelles races de pigeons en appliquant la sélection à 15 générations successives. Ces races se différencient non seulement par les dimensions des glandes thyroïdes qui sont caractéristiques pour chacune d'elles, mais aussi par leur métabolisme, la grosseur de leur corps et leur susceptibilité vis-à-vis d'autres hormones injectées.

Les relations entre le système nerveux, les glandes endocrines et les organes excités sont de nature très variée. Aussi bien le système nerveux que les hormones peuvent agir directement, sans que l'un des systèmes ait besoin de l'autre, pour donner aux organes certaines directives. Dans d'autres cas, leur mode d'action est de nature indirecte, le système nerveux agissant alors d'abord sur une glande à sécrétion interne, l'hormone produite provoquant seulement ensuite la fonction de l'organe excité. De façon analogue, la glande endocrine peut, par l'hormone sécrétée, exciter le système nerveux, lequel exerce alors son action sur l'organe d'exécution.

Ces derniers temps, on en est arrivé au point de vue que même les actions du système nerveux qualifiées antérieurement de directes, se produiraient elles aussi à l'intervention de composés chimiques particuliers mis en jeu par l'action des nerfs.

D'après Sir H. H. Dale, on devrait distinguer deux groupes de nerfs : les cholinergiques (système para-sympathique), qui libèrent de la choline et exercent leur action par son intermédiaire, et les nerfs adrénergiques (système sympathique) qui utilisent l'adrénaline ou une substance analogue en guise d'intermédiaire.

Il existe entre ces deux substances importantes une analogie de constitution chimique, dont la signification pourrait être plus que schématique.

Dans les formules développées ci-dessous, on a mis particulièrement en évidence la partie commune, laquelle par liaison avec les autres éléments de la molécule conduit à des effets physiologiques différents. Ainsi, alors que précédemment on

<sup>(1)</sup> Voir la Conférence citée de J.-B. Collip, p. 256,

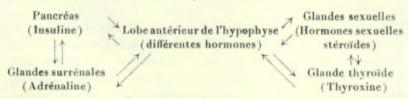
considérait le travail des nerfs comme un processus purement physique, il apparaît de plus en plus clairement aujourd'hui que des actions chimiques y jouent un rôle prépondérant.

L'interprétation exacte du mécanisme de l'action des hormones dans l'organisme est rendue notablement plus difficile par suite des nombreuses actions réciproques qui ont lieu entre les glandes endocrines particulières et aussi entre hormones et vitamines.

De telles relations entre les glandes hormonales se manifestent par une influence stimulante ou inhibitrice réciproque sur la production des hormones.

L'hypophyse, et plus spécialement son lobe antérieur, joue à cet égard un rôle particulier; on pourrait la qualifier de glande maîtresse commandante.

Le petit schéma suivant exprime quelques-unes des nombreuses actions réciproques faisant entrevoir quelles suites graves peut amener la perturbation de l'équilibre hormonal.



Le rôle d'une hormone déterminée dans la vie peut, d'après cela, être très divers. Il existe des hormones que l'on peut qualifier d'importantes pour la vie, telles par exemple, les hormones de la région corticale des glandes surrénales (groupe cortine), l'insuline et la parathormone.

Le manque de semblables hormones entraîne inévitablement la mort après quelque temps. Mais ceci est une considération quelque peu égoïste sur l'importance de la vie, dans laquelle on se place au point de vue de l'individu. Si l'on considère par contre la conservation de l'espèce comme but de la vie, l'aspect de la question se modifie complètement.

Un individu dépourvu d'hormones sexuelles, peut en vérité, après avoir atteint un stade de développement déterminé, parvenir au même âge que s'il était en pleine possession de ces hormones; mais sans ces hormones, l'espèce irait à la mort. Le manque total ou partiel de certaines hormones qui ne sont pas importantes pour la vie au sens individuel, peut conduire à une lente dégénérescence de l'individu et, dès lors, de l'espèce. Il en résulte que toutes les hormones sont, de façons différentes, importantes pour la vie.

# B. — LES PRÉLIMINAIRES A L'ISOLEMENT ET A LA CONNAISSANCE DES HORMONES.

1. La nécessité de tests biologiques. — Fréquemment, un long chemin a dû être parcouru, à partir de la découverte d'une hormone par voie physiologique jusqu'à l'isolement de l'individu chimique, la détermination de sa constitution et la réalisation de sa synthèse. Pour pouvoir parcourir ce chemin avec succès, la condition nécessaire était une étroite collaboration des méthodes médicales, biologiques et chimiques. L'attention du monde médical et celle de la vie de tous les jours ont été attirées sur l'action des hormones. Avant que l'on pût étudier par des méthodes chimiques les porteurs de cette activité, il était nécessaire d'en mesurer les effets physiologiques par un moyen quelconque. Les choses ne se sont pas passées autrement en Biochimie qu'en Chimie générale : l'époque qui a précédé l'introduction des méthodes de mesure peut être qualifiée avec raison comme étant celle de la Bioalchimie.

La Médecine a été impuissante à passer des méthodes qualitatives aux quantitatives, car l'homme n'est pas un sujet d'expérience particulièrement propre à des mesures de ce genre. La Chimie, elle aussi, n'a pu intervenir si ce n'est dans deux cas exceptionnels, l'adrénaline et la thyroxine; en effet, il est en général difficile de découvrir pour une hormone, avant son isolement, des propriétés chimiques utilisables pour sa détermination analytique quantitative. Dans l'isolement de l'adrénaline, on a été guidé colorimétriquement par la coloration verte produite par le chlorure ferrique, dans le cas de la thyroxine par le dosage de l'iode. L'intensité de la coloration verte et la teneur en iode variaient parallèlement avec l'action physiologique des extraits d'organes. Dans tous les autres cas, la Biologie a dû intervenir et découvrir un symptôme de déficience d'une hormone, qui, dans une espèce animale déterminée, accusât une action à peu près proportionnelle à la quantité d'hormone artificiellement administrée.

Il apparut bientôt que les exigences que l'on pouvait avoir quant à la précision de ces tests biologiques, ne devaient pas être trop grandes. Une relation à peu près linéaire exacte n'existe que dans certaines limites du dosage d'une hormone, etla valeur mesurée de l'action physiologique se montre en général dépendante de toute une série d'influences extérieures telles que la température, le mode d'alimentation, l'ascendance et l'état de santé des animaux d'expérimentation, et cela souvent de façon à peine prévisible.

C'est pourquoi il a fallu tout d'abord, dans l'application pratique des mesures physiologiques, élaborer des méthodes reproductibles. On peut considérer comme résultats excellents une concordance à 10 pour 100 près des symptômes mesurés dans différentes séries de recherches. Dans maints cas, la précision est notablement inférieure et l'on a dû se contenter d'écarts de 100 pour 100 et davantage. Les conditions à observer dans certains tests physiologiques sont souvent si difficiles à définir, que l'on ne peut comparer directement qu'avec beaucoup de circonspection des mesures faites dans des laboratoires différents.

2. Isolement des hormones sexuelles comme exemple typique. — Nous ne traiterons ici, de façon un peu développée, que d'un seul domaine hormonal; car on en peut remonter l'histoire très loin, et au cours de son exposé, la plupart des questions importantes intéressant l'isolement des hormones sont évoquées. Les symptômes de la castration étaient déjà bien connus dans l'antiquité; les premières observations scientifiques dans ce domaine sont rappelées dans l'introduction. Berthold a établi les bases du premier test, lequel 80 années plus tard, a été transformé en une méthode de mesure quantitative, le test bien connu de la crête de coq. Tandis que Berthold fournissait encore à ses chapons la quantité d'hormone nécessaire par la greffe de testicules, cette dernière fut fournie plus tard par Pézard, Koch et d'autres par injection d'une solution d'hormone.

On utilisa aussi dans la recherche de maintes autres hormones. d'abord la méthode de l'implantation de glandes, car il était difficile de préparer un extrait de glandes à l'activité duquel on put se fier. Mais, par suite de la difficulté de la technique expérimentale de l'implatation et de son peu de tendance à s'adapter à des recherches quantitatives répétées, on réalisa en vue de l'injection une purification de l'extrait brut, qui constituait en même temps un préliminaire à l'isolement de l'hormone par voie chimique. Le but était d'arriver à éliminer de l'extrait les substances étrangères gênantes au point de vue chimique ou physiologique sans provoquer la perte de quantités notables de l'hormone elle-même. Ce résultat n'a pas été atteint de façon satisfaisante dans les premiers travaux d'extraction des testicules; on pouvait se servir de l'extrait pour réaliser avec une précision suffisante le test de la crête de cog, mais on ne réussit pas tout d'abord à isoler l'hormone.

On rencontra aussi des difficultés analogues au cours des recherches sur l'hormone de l'ovaire. Hermann et Fränkel, en 1915, purent éviter les suites de l'enlèvement des ovaires au moyen d'injection d'un extrait ovarial. Le test quantitatif fut élaboré sur des rongeurs, en 1921, par Allen et Doisy; on put ainsi établir un rapport quantitatif entre l'état des frottis vaginaux et la quantité d'hormone contenue dans l'extrait injecté. Mais on ne réussit pas davantage par voie chimique, à enrichir l'hormone d'extrait d'ovaire que celle de l'extrait de testicule.

Aschheim et Zondek firent entre temps l'importante découverte que l'hormone femelle existe dans l'urine des femmes gravides, en quantité notablement plus grande que dans les ovaires. D'autre part, la purification de l'extrait urinaire se révéla moins difficile, et ainsi Doisy aussi bien que Butenandt purent, en 1929, isoler à l'état de pureté la première hormone sexuelle, l'œstrone, de l'urine de femmes gravides.

De façon analogue, l'androstérone fut préparé par Butenandt en 1931 à partir de l'urine d'homme dans laquelle Funk avait montré deux ans auparavant, au moyen du test de la crête de coq, la présence de l'hormone mâle.

L'isolement des premières hormones sexuelles à partir d'urine souleva la question de l'identité réelle des hormones de l'urine et de celles des glandes génitales; une coïncidence occasionnelle entre leurs propriétés physiologiques pouvant aussi être envisagée. Dans le cas de l'hormone femelle, on n'a rencontré aucune différence appréciable de nature qualitative ou quantitative entre les propriétés physiologiques des extraits d'urine ou d'ovaire. Pour l'hormone mâle, par contre, on se heurta bientôt à des différences en utilisant une seconde méthode de test.

La nécessité de recourir à un second test apparut ici pour une autre raison encore. Comme la croissance de la crête du chapon n'intéresse qu'un caractère secondaire, on ne pouvait, à coup sûr, être certain que la mesure de la crête se rapporte réellement à l'hormone sexuelle et non pas à quelqu'autre substance de signification accessoire.

C'est pour cette raison que, depuis longtemps, on a utilisé pour ces essais les glandes sexuelles accessoires et Steinach a proposé comme particulièrement appropriée la vésicule séminale, laquelle est plus facile à préparer à cette fin que les autres glandes sexuelles accessoires. Il se passa beaucoup de temps avant que l'on parvînt, par une meilleure préparation de la solution hormonale et par un perfectionnement de la méthode physiologique, à donner à ce test une signification quantitative, ou plus exactement semiquantitative (test de Loewe-Voss ou autres modifications). On put obtenir ainsi des résultats toutefois difficilement concordants dans les différents laboratoires. Il fut cependant possible de montrer que les hormones mâles de l'urine et des testicules doivent être différentes. Au cours de cette comparaison, on put faire usage déjà d'androstérone pure, mais, d'autre part, on ne disposait, au début, que d'extrait de testicules purifié. A la suite des recherches effectuées par Laqueur, Koch et aussi par des chercheurs japonais, on fit de tels progrès que l'on parvînt à préparer à partir d'extrait d'urine, d'extrait de testicules et d'androstérone pure, des solutions, accusant une action de même intensité dans le test de la crête de coq. Parmi les solutions ainsi physiologiquement étalonnées, l'androstérone et l'extrait d'urine avaient la même action sur la vésicule séminale; mais l'extrait de testicule accusait dans ce test une action plusieurs fois plus forte (environ cinq fois d'après les recherches de Laqueur).

L'isolement de l'hormone existant dans les testicules présentait dès lors un intérêt accru, et put bientôt être réalisé par David (1935) dans le laboratoire de Laqueur. Cette hormone désignée sous le nom de « testostérone » accusa, en effet, les propriétés typiques signalées pour l'extrait de testicules purifié.

Au cours de la même année, Doisy isola aussi l'hormone de l'extrait d'ovaire, l'œstradiol, laquelle avait déjà précédemment été préparée par réduction de l'æstrone.

3. Histoire de l'isolement des hormones pures. - Nous devons renoncer à décrire ici en détail l'isolement des autres hormones et donnerons seulement un tableau d'ensemble dans un but de documentation à ce sujet. Dans le premier tableau se trouvent de brèves indications sur les huit groupes d'hormones pour lesquels la préparation d'au moins un individu chimique cristallisé a été possible. Dans la première colonne sont données les matières premières pour l'isolement des hormones ainsi que la concentration de celles-ci dans ces matières. Ces valeurs ne sont pas d'une grande précision, car la plupart d'entre elles ne représentent pas la quantité d'hormone réellement isolée, mais sont basées sur une évaluation à l'aide d'un test biologique. Dans la troisième colonne sont mentionnées les méthodes de test les plus importantes ayant servi à l'isolement des hormones ou y ayant fortement contribué. Les trois dernières colonnes donnent les renseignements relatifs à l'isolement des hormones cristallisées, ainsi que les données relatives à leur constitution et leur synthèse.

Les données de ces quatre dernières colonnes, elles aussi, n'ont pas la prétention d'être complètes, ni d'avoir tenu compte de façon égale de tous les renseignements, car les conditions sont fréquemment trop complexes pour permettre de dresser un tableau simple.

Cette vue d'ensemble atteint cependant le but d'attirer l'attention sur l'évolution caractéristique de la biochimie des hormones, ainsi que sur quelques causes typiques de cette évolution. Les sept zoohormones figurant au début du tableau sont ordonnées à peu de chose près, chronologiquement d'après le millésime de l'année de la découverte d'un test utilisable pour leur isolement. Un coup d'œil sur la colonne suivante montre que l'isolement de l'hormone pure ne tarde généralement pas longtemps, une fois que le test est découvert. Là où il en a été autrement, cela a tenu ou bien à ce que l'hormone était présente en trop faible concentration dans la matière première, ou bien que les méthodes d'isolement, au moment considéré, étaient insuffisamment développées. L'isolement a été généralement rapidement suivi de la détermination de la constitution et de la synthèse. Si on laisse de côté les phytohormones dont la chimie est encore en pleine évolution. il n'y a qu'une lacune, et elle intéresse l'insuline, substance albuminoïde; elle subsistera sans doute quelque temps encore, étant donnée la situation de la chimie des albumines.

Un coup d'œil sur la colonne I nous apprend encore que les hormones isolées en premier lieu ont été celles dont la concentration dans la matière première est la plus grande. Pour l'adrénaline et la thyroxine, l'isolement a été encore facilité du fait qu'il ne dépendait pas d'un test physiologique.

A ces deux hormones fait suite l'insuline, au cours de l'isolement de laquelle il a fallu surmonter une difficulté particulière, sur laquelle nous attirerons brièvement l'attention. Déjà, en 1889, Mering et Minkowski avaient observé que l'enlèvement du pancréas d'un animal conduisait à une maladie très semblable au diabète sucré. Il ne fut toutefois pas possible, malgré de nombreuses recherches, d'influencer notablement cette affection par injection ou par administration buccale de préparations ou d'extraits de pancréas, jusqu'au moment où, en 1922, Banting et Best songèrent à la possibilité de la nature albuminoïde du principe actif.

Il fut constaté que l'insuline est détruite par la trypsine qui l'accompagne dans le pancréas et en est extraite en même temps; on réussit, en se débarrassant de cet enzyme, à préparer un véritable extrait, lequel conduisit bientôt à l'isolement de l'insuline cristallisée. Les autres hormones albuminoïdes, par exemple celles contenues dans l'hypophyse, n'ont pu encore être isolées

TABLEAU I	Histoire	de	l'isole	
-----------	----------	----	---------	--

### ment et de la chimie des hormones.

Matière première et sa teneur en hormone.	Hormones.	Méthodes de test importantes.	12	Isolement.		Détermination la constitution.		Synthèse.	
1. Région médullaire des capsules surrénales (1/1000°).	Adrénaline	1836. Vulpian (test chimique) 1894. Oliver et Schäfer (test biologique)	1	ALDRICH TAKAMINE	1902.	ABEL	1905.	DAKIN STOLZ	1.
2. Thyroïdes (1/10 000°)	Thyroxine	1895. Baumann	1915.	KENDALL	1926.	Harington	4927.	HARINGTON et BARGER	2.
3. Pancréas (1/10 000°)	Insuline	1889. Von Mering et Minkowski 1922. Banting et Best		COLLIP (amorphe) ABEL (cryst.)				in Em <del>e</del> logy of Out the Employ	3.
4a. Urine de femme (1/200 000e)	OEstrone	1921. Allen et Doisy	1929.	BUTENANDT Doisy	1930-	1935. BUTENANDT COOK DOISY MARRIAN	1935.	Marker (?)	4 <sup>a</sup> .
				Dorsy		Déjà connue		Déjà connue	46.
46. Ovaire (1/4 000 000°)	OEstradiol	1921. ALLEN et Doisy				**			
5a. Urine d'homme (1/200 000e)	Androstérone	1929. Коси, еtc.	1931.	BUTENANDT	1934.	Ruzicka	1934.	Ruzicka	$5^a$ .
56. Testicule (1/2 000 000°)	Testostérone	1929. Косн, еtс.	1935	. David et Laqueur	1935.	David et par synthèse	1935.	BUTENANDT Ruzicka	$5^{b}$ .
6. Corps jaune (1/50 000°)	Progestérone	1929. Corner et Allen	1934	BUTENANDT HARTMANN SLOTTA WINTERSTEINER	1934.	BUTENANDT FERNHOLZ SLOTTA	1934.	BUTENANDT FERNHOLZ	6.
7. Région corticale des capsules surrénales (1/50 000°)	Corticostérone	1929. Swingle et Pfiffner	1937	. KENDALL Reichstein	1937.	KENDALL REICHSTEIN	1937.	Reichstein (désoxy-corticostérone)	7.
8a. Phytohormone (urine) (1/200 000°)	Auxine	1928. Went	1933	. Kögl	1934.	KögL			$8^a$ .
8%. Phytohormone (urine)	Hétéro-auxine (acide β-indolyl- acétique)	1928. Went	1934	. Kögl		Déjà connue		Déjà connue	86.
8c. Phytohormone (levure) (1/500 000c) (dans les pois)	Bios II (biotine)	1901. WILDIERS 1929. Copping	1937	. Kögi					8c.

à l'état de pureté, sans doute par suite de leur faible quantité et de leur présence dans des mélanges difficiles à séparer.

Les services rendus à la Chimie par la Médecine et la Biologie dans l'isolement des hormones, furent largement compensés par le fait que les hormones pures permirent d'effectuer des recherches biologiques et médicales plus précises.

Dans certains cas, en particulier pour les hormones mâles, la synthèse consécutive à l'isolement a remplacé dans le domaine des recherches biologiques et médicales, par des produits facilement accessibles, le matériel si difficile à préparer auparavant.

Le point de vue chimique de la connaissance des hormones, de même que le développement des notions sur la relation entre leur constitution chimique et leur action hormonale, seront traités dans le chapitre suivant.

### C. - HORMONES AYANT LA CONSTITUTION D'ACIDES AMINÉS.

1. Adrénaline (¹) — Si l'adrénaline joue effectivement le rôle d'intermédiaire dans la fonction du système nerveux sympathique, comme on peut l'admettre actuellement, on aurait l'explication la plus simple du fait depuis longtemps reconnu, que l'adrénaline exerce les mêmes actions physiologiques que ce système, notamment comme stimulant du cœur et des vaisseaux sanguins et comme inhibant des péristaltiques de l'estomac et de l'intestin. Cette identité des actions se poursuit jusque dans les derniers détails appréciables.

Il existe une série de combinaisons chimiques possédant des actions analogues à celle de l'adrénaline et dont la comparaison avec celle-ci renseigne sur la signification des groupes fonctionnels particuliers de l'adrénaline, au point de vue de son action sympathomimétique.

<sup>(1)</sup> Pour plus de détails sur la relation entre l'action physiologique et la constitution, voir la remarquable Conférence de Tiffeneau (Scalpel, nº 51, 1936), laquelle m'a rendu de grands services pour le présent exposé.

On donnera ici pour exemple la formule de deux de ces combinaisons

Le noyau benzénique doit être considéré comme étant, dans toute la série, l'armature centrale, autour de laquelle se groupent quatre autres constituants de la molécule; le groupe aminé, la chaîne latérale aliphatique, l'hydroxyle alcoolique et l'hydroxyle phénolique, dont l'influence sur l'action physiologique sera brièvement résumée îci.

- a. Des composés avec un groupement aminé primaire augmentent presque toujours davantage la pression sanguine que les composés analogues à groupement aminé secondaire, mais ces derniers seulement accusent les propriétés sympathomimétiques de l'adrénaline. Les aminés secondaires méthylés sont, l'un dans l'autre, plus actifs que les dérivés éthylés correspondants, aussi bien comme stimulants que comme inhibiteurs.
- b. La position β du groupement aminé dans la chaîne latérale aliphatique conduit à des composés plus actifs que les positions α ou γ. Les composés à groupement aminé en α ou γ sont fréquemment inactifs ou exercent même une action inhibitrice sur des organes sur lesquels l'adrénaline agit comme stimulant.
- c. La présence du radical alcoolique est de grande importance, car il conduit dans certains cas à des composés de 10-100 fois plus actifs, si on les compare avec ceux possédant à la même place, soit un groupement cétonique, soit un groupe méthylène. La signification du groupe hydroxyle gît encore dans le fait qu'il rend l'atome de carbone situé en α asymétrique; on a

constaté non seulement pour l'adrénaline, mais aussi pour d'autres cas, une activité 10-20 fois plus forte chez l'isomère gauche que chez le droit.

- d. L'hydroxyle phénolique renforce l'action. S'il y a un seul groupement phénolique en présence, son action augmente dans l'ordre ortho, para et méta. L'action est la plus forte en présence de deux hydroxyles en para et méta. Au surplus, la pyrocatéchine agit déjà en augmentant la pression sanguine, mais elle accuse toutefois une action inhibitrice plus accusée que l'adrénaline.
- 2. Thyroxine. Sir William Gull montra, en 1874, que le myxœdème est provoqué par la dégénérescence de la glande thyroïde, et en 1891, G. Murray put guérir cette maladie par injection d'un extrait de la glande thyroïde du mouton. Ce fut là le premier exemple de la guérison d'une maladie au moyen d'un extrait d'organe. Baumann parvint, en 1895, à déceler l'iode dans la glande thyroïde et à montrer la relation entre la teneur en iode et l'action physiologique. Kendall, en 1915, fit l'importante remarque que, par dédoublement par les alcalis de la partie active de l'extrait de glande thyroïde, il est possible de préparer une combinaison cristallisée, la thyroxine qui possède l'action physiologique et se trouve dans la glande thyroïde en tant que partie de caractère amino-acide de l'hormone proprement dite, de caractère albuminoïde, la thyréoglobuline, dont la préparation à l'état de pureté n'a pas réussi jusqu'ici. La méthode de préparation de la thyroxine put être améliorée par Harington, lequel, en collaboration avec Barger (1926-1927), aboutit à éclaircir sa constitution et à effectuer sa synthèse.

Mais Harington aussi ne parvint à obtenir qu'un rendement en thyroxine correspondant à 16 pour 100 de la teneur en iode de la thyréoglobuline; par la suite, il réussit encore à isoler un autre produit de dédoublement, la 3,5-diodotyrosine qui contient 35 pour 100 d'iode supplémentaires. On ne sait rien, jusqu'à présent, du reste de l'iode lequel est d'environ 50 pour 100.

La thyroxine isolée de la glande thyroïde est optiquement inactive. Les antipodes optiques qui en sont préparés par dédoublement se comportent de même dans leur application au myxœdème; au cours de recherches sur le métabolisme des rats, l'isomère gauche se révéla trois fois plus actif que son antipode. Harington put montrer que la *l*-thyroxine est un dérivé de la *l*-tyrosine.

Le fait que la thyroxine ne représente que 16 pour 100 du contenu en iode des glandes, soulève la question de savoir si, au point de vue physiologique, elle peut remplacer complètement ces dernières. Cette question ne paraît pas encore avoir reçu de réponse définitive. Par voie buccale, l'action de la thyroxine, par suite de sa mauvaise solubilité, est moins accusée que celle de la poudre de glande thyroïde; par contre, son action souscutanée est bonne.

Au point de vue pratique, un certain progrès a été réalisé par la préparation de la 3,5-diodothyronine, qui n'a été obtenue jusqu'ici que par synthèse et qui, par suite de sa plus grande solubilité dans l'eau, accuse aussi une bonne activité par administration buccale. L'activité moindre de ce produit constitue aussi un avantage par rapport à la thyroxine, car une dose exagérée conduit moins facilement à une trop forte élévation du métabolisme. Cette constatation fut le point de départ de la préparation d'une série de dérivés halogénés substitués en 3, 5, 3', 5' de la thyronine. On ne possède pas de description précise des propriétés physiologiques de tous les produits synthétisés, mais bien des données sommaires d'après lesquelles le remplacement successif de l'iode par d'autres halogènes fait tomber rapidement l'activité, laquelle a, par exemple, complètement disparu pour le dérivé tétrabromé.

Le groupement aminé ne paraît pas avoir de signification

particulière, car l'analogue de la thyroxine à chaîne latérale à groupement α cétonique R—CH<sub>2</sub>—CO—COOH agit dans le métabolisme comme la thyroxine, mais plus faiblement, soit dans le rapport 3:11.

Une autre modification de la molécule, qui contient le groupement amino-acide, réalisée par Harington dans le composé suivant isomère de la thyroxine, aboutit à l'inactivité physiologique complète.

On n'a généralement pas indiqué pour les produits synthétiques s'ils sont capables de guérir la myxœdème. Il n'y a d'exception que pour la 3,5-diiodothyronine. Il n'est donc pas possible d'affirmer si les produits synthétiques qui activent le métabolisme sont également actifs contre le myxœdème, car il n'existe pas de parallélisme entre ces deux actions physiologiques; cela résulte des exemples bien connus des 3,4- ou 4,6-dinitrophénols, qui élèvent le métabolisme plus fortement encore que la thyroxine, mais n'influencent pas le myxœdème.

## D. - HORMONES DE NATURE PROTÉIQUE.

1. Insuline. — V. du Vigneaud, très compétent dans ce domaine a déclaré, en 1935 : « En toute franchise, nous devons admettre que nous ne connaissons pratiquement rien de la structure de l'insuline. » Depuis lors, la situation n'a pas changé et nous pourrions ne pas insister sur l'insuline dans la discussion des relations entre la constitution et l'activité. Il convient cependant d'examiner cette question aussi pour l'insuline et de voir par quelles actions chimiques ses propriétés physiologiques peuvent être influencées.

L'insuline est thermostable à l'ébullition de sa solution aqueuse. Par hydrolyse complète se forment des amino-acides connus, qui ont été identifiés à 2-3 pour 100 près. Plus de la moitié consiste en leucine et en acide glutamique, à côté de cela la cystine, la

tyrosine et l'histidine sont présentes en quantités notables, tandis que le tryptophane fait défaut.

Caractéristique pour l'insuline est « l'inactivation reversible ». On peut, par différents procédés, transformer l'insuline en un produit physiologiquement inactif, duquel on peut obtenir, par inversion appropriée du procédé employé, un produit présentant à nouveau l'activité initiale. Dans bien des cas, l'activité a toute-fois quelque peu diminué. Un groupe de telles actions d'inactivation repose sur la préparation de dérivés chimiques simples de l'insuline : un dérivé acétylé, un ester méthylique, un produit de transformation avec l'aldéhyde formique ou l'iode. Les deux premiers, parmi ces dérivés, peuvent être activés par chauffage avec de la soude diluée; le troisième peut l'être par chauffage avec l'acide chlorhydrique dilué, le quatrième par réduction très modérée. L'insuline peut aussi subir par l'action de transporteurs d'hydrogène comme la cystéine, une modification par réduction et être inactivée; elle est alors à nouveau activée par oxydation modérée.

Particulièrement caractéristique est la transformation de l'insuline, par chauffage prudent avec les acides étendus, en un précipité inactif, suivie de la réactivation par chauffage modéré avec de l'alcali dilué. Le processus, à la suite duquel les propriétés physiques de l'insuline sont, il est vrai, quelque peu modifiées, peut être plusieurs fois répété.

Quelques-unes de ces transformations donnent bien certaines indications sur la structure de l'insuline, mais ces dernières sont superficielles. L'enlèvement particulièrement facile du groupement acétyle exclut sa fixation sur une fonction NH<sub>2</sub>; il pourrait s'agir de l'acétylation d'un hydroxyle ou encore d'un groupe NH doublement lié. La saponification alcaline du composé méthylé permet de conclure à la présence d'un carboxyle.

L'inactivation par les donateurs d'hydrogène est interprétée par du Vigneaud, comme correspondant à la rupture d'un groupement de disulfure dans l'insuline.

Il existe aussi des processus d'inactivation irréversibles de l'insuline, en dehors de l'hydrolyse complète. Deux de ces processus montrent l'importance de la tyrosine pour l'activité de l'insuline. Dans l'inactivation au moyen de lumière ultraviolette, disparaît dans le spectre une bande d'absorption qui correspond à la tyrosine ou à la cystine.

Au cours de la digestion pepsique de l'insuline, l'activité diminue parallèlement à la teneur en tyrosine, tandis que la teneur en cystine reste d'abord inchangée dans cette phase. Dans l'inactivation de l'insuline au moyen des rayons de Röntgen, on a constaté une diminution plus rapide de l'action abaissant le sucre sanguin que de celle qui abaisse le phosphore sanguin. Il semble donc que ce ne soient pas les mêmes groupes fonctionnels qui soient responsables des deux espèces d'action.

Quelques-unes des réactions donnent aussi certaines indications sur le poids équivalent minimum de l'insuline. L'inactivation irréversible au moyen d'acide perbenzoïque conduit, si l'on admet l'utilisation d'un atome d'oxygène par molécule, à un poids équivalent d'environ 20 000. On est conduit à une valeur analogue par la comparaison de la quantité d'ammoniaque obtenue par réduction au moyen d'amalgame de sodium ou par chauffage à 34º avec de la soude 1/30º normale. Si l'on admet qu'une molécule d'ammoniaque est enlevée par l'amalgame à un poids équivalent d'insuline de 20 000, le chauffage à 100º avec de l'acide chlorhydrique cinq fois normal conduit à l'enlèvement d'environ 15<sup>mol</sup> d'ammoniaque. The Svedberg a déterminé le poids moléculaire de l'insuline au moyen de la méthode de l'ultracentrifugation, à un pH de 6,7 à 6,8. Il a trouvé 35 000.

Comme, d'après l'analyse et en admettant dans l'insuline une liaison de disulfure, le groupement C<sub>90</sub>H<sub>140</sub>O<sub>28</sub>N<sub>22</sub>S<sub>2</sub> (poids moléculaire 2020) serait présent dans l'insuline, ce groupement devrait se répéter 17 à 18 fois dans la molécule. D'après la titration électrométrique, on admet la présence d'environ 43 groupes acides, 24 groupes phénoliques de tyrosine et 65 groupes basiques.

D. Wrinch étend son hypothèse des cyclols (cyclol theory) relative à la constitution des albuminoïdes, à l'insuline cristallisée, et s'appuie surtout en cela sur la constatation de The Svedberg d'une constitution globulaire de l'insuline. D'après le schéma

de l'hypothèse des cyclols, pourraient se trouver dans l'insuline  $72 \times 2^2 = 288$  radicaux d'acides aminés. Les dimensions d'un semblable cyclol correspondent bien avec la cellule élémentaire que l'on obtient au moyen des interférences de Röntgen. Scott a trouvé que l'insuline n'est obtenue cristallisée qu'en présence de certains métaux, comme le zinc, et qu'au poids moléculaire de 35 000 correspondent 3 cations de zinc. Dans la cellule rhomboédrique du cyclol, un demi-cation peut être situé à chacun des six angles, ce qui serait en harmonie avec le résultat analytique de Scott.

On a souvent discuté la question de savoir s'il existe dans l'insuline comme dans la thyréoglobuline un constituant physiologiquement plus actif isolable en tant que produit de dédoublement. Comme un produit physiologiquement actif n'a pu être préparé jusqu'ici à partir de l'insuline, on peut tout au plus admettre qu'une partie de sa molécule est particulièrement responsable de son action, mais n'est pas susceptible d'être préparativement extraite comme telle, parce qu'elle accuse la même constitution de polypeptide que le reste de la molécule. Freudenberg soutint ce point de vue et admit que la partie active de la molécule est peu étendue en comparaison de l'ensemble.

Il est difficile d'affirmer jusqu'à quel point les hypothèses sur la constitution de l'insuline sont valables, car l'homogénéité des cristaux d'insuline n'est pas absolument démontrée. Ainsi, d'après Freudenberg, l'action des ferments protéolytiques, dans des conditions déterminées, ne détruit que les deux tiers de l'activité de l'insuline, ce qui paraît bien indiquer un manque d'homogénéité.

Il n'y a pas d'indice d'une différence de nature de l'insuline provenant d'animaux différents; en effet, les préparations faites à partir de bœufs, de moutons, de porcs et de poissons se comportent quantitativement de même au point de vue physiologique.

2. Hormones du lobe antérieur de l'hypophyse. — Le lobe antérieur de l'hypophyse, dont l'action n'est pas limitée à un seul domaine, occupe une place spéciale parmi les glandes hormonales et produit une série d'hormones d'espèce subordonnée qui, de leur

côté, ont pour fonction d'exciter et de contrôler la production d'hormones dans chacune des glandes spéciales où il ne se forme que des hormones d'un mode d'action déterminé. De telles glandes contrôlées par le lobe antérieur de l'hypophyse sont les thyroïdes (contrôlées par l'hormone thyréotrope), les gonades (par les hormones gonadotropes), les surrénales (par les hormones adrénotrope et corticotrope), le pancréas (par l'hormone insulinotrope), et la parathyroïde (par l'hormone parathyréotrope). D'autre part, le lobe antérieur de l'hypophyse agit sur la croissance de l'organisme (par l'hormone de croissance), sur la sécrétion du lait (par la prolactine) et sur le métabolisme des graisses (augmentation des composés cétoniques dans le sang par l'hormone cétogène) : les trois actions citées en dernier lieu sont peut-être provoquées directement par le lobe, en tout cas on ne sait rien d'une « hormone intermédiaire » qui interviendrait dans ces actions.

Jusqu'à présent, aucune des hormones du lobe antérieur de l'hypophyse n'a été isolée à l'état de pureté; on n'a conclu à leur présence dans les extraits que d'après leurs propriétés physiologiques. Se basant sur leur sensibilité à l'action de la chaleur et à leur destruction par les enzymes protéolytiques, on admet que ces substances actives ont le caractère albuminoïde.

Après que les bases physiologiques accusant la signification de l'hypophyse eurent été posées, surtout par Paulesco, Cushing, Simmonds, Smith et Engle, Zondek et Aschheim, etc., la préparation des premiers extraits physiologiquement actifs fut réalisée par Evans et Simpson en 1928.

Nous désirons nous limiter ici à une courte discussion sur les hormones gonadotropes, les mieux étudiées de celles de l'hypophyse et fournissant un exemple typique quant au mode des échanges entre l'hypophyse et les «glandes spéciales». L'enlèvement du lobe antérieur de l'hypophyse a les mêmes effets sur les animaux qu'ils soient encore dans l'enfance, ou possèdent la maturité du sexe masculin ou féminin, que l'enlèvement des gonades, c'est-à-dire l'arrêt de la production des hormones des gonades. Par implantation de tissu d'hypophyse ou bien injection d'un extrait, les gonades sont à nouveau ramenées à leur fonction normale. Chez les animaux dont les gonades ont été supprimées, l'action de

l'hypophyse est paralysée et l'injection d'extrait actif reste sans résultat.

Fevold et Hisaw, de même que Wallen-Lawrence (1934), sont parvenus à rendre probable la nature matérielle double du principe gonadotrope de l'hypophyse, ce que l'on présumait déjà auparavant. Ils purent en effet, répartir la substance active en deux fractions : l'une mûrissant les follicules (mûrissant la semence pour le sexe mâle) et l'autre lutéinisante (agissant sur le sexe mâle, sur la croissance du tissu interstitiel du testicule).

Aschheim et Zondek ont fait en 1928 l'observation que l'urine de femmes enceintes exerce la même action que les hormones gonadotropes de l'hypophyse (particulièrement la lutéinisante), si bien qu'au début on admit l'identité des prolans A (mûrissant les follicules) et B (lutéinisant) dont la présence était admise dans l'urine, avec les hormones du lobe antérieur de l'hypophyse.

Mais on constata bientôt chez différents animaux, des actions très différentes à maints points de vue, entre les principes gonadotropes de l'hypophyse et ceux de l'urine. D'ailleurs, le lieu de formation du prolan B est le placenta, tandis que le prolan A, qui apparaît dans l'urine féminine en quantité plus considérable pendant la ménopause ou après la castration, est bien d'origine hypophysaire.

Les hormones des glandes génitales mâles et femelles lorsqu'elles sont injectées en quantité massive à un animal d'expérience, agissent en inhibant la production d'hormones gonadotropes par l'hypophyse; dans un cas semblable, la présence de ces dernières n'est même plus nécessaire.

3. Autres hormones de caractère albuminoïde. — Kamm parvint, en 1928, à répartir en deux fractions différentes les deux actions typiques déjà connues antérieurement de l'extrait du lobe postérieur de l'hypophyse : l'une excitatrice de l'utérus (pitocine, ocytocine), l'autre augmentant la pression sanguine (pitressine, vasopressine). La production d'un autre principe hormonal de l'hypophyse est localisée dans la « pars intermedia », où se trouve la soi-disant intermédine, laquelle est aussi désignée comme hormone mélanophore parce qu'elle agit sur la production des

cellules pigmentaires chez beaucoup d'animaux, et aussi sur la constance de la teneur en eau.

Certaines fonctions hormonales, non encore complètement connues dans leurs détails, incombent aussi à la glande du thymus et à l'épiphyse. Il faut encore signaler la sécrétine produite dans la muqueuse intestinale, laquelle excite la sécrétion du pancréas et dont le rôle historique important pour la notion d'hormone a été élucidé par Bayliss et Starling, comme on l'a rappelé dans l'introduction. Un rôle important est dévolu aussi à la callicréine dont Kraut a montré la présence dans l'urine et qui agit pour favoriser le passage du sang dans les poumons, le cerveau et autres organes. Citons, enfin, en tant « qu'hormone importante pour la vie » (dans le sens étroit) la parathormone qui est élaborée dans les parathyroïdes et qui possède une influence régulatrice sur le niveau du calcium sanguin et, dès lors, sur la formation et l'entretien des os. La suppression des parathyroïdes entraîne la mort par tétanie.

On est à peine orienté sur la nature chimique de ces substances. L'intermédine paraît se différencier des autres hormones de l'hypophyse : elle est stable à l'ébullition et mieux soluble dans les solvants organiques. Quelques particularités remarquables sont connues en ce qui concerne les deux hormones du lobe postérieur de l'hypophyse. V. du Vigneaud (1935) a soumis la pitocine et aussi la pitressine à l'action de la cystéine, et cela dans les conditions qui, pour l'insuline, mènent à l'inactivité. Les deux hormones sont également réduites dans ce cas, mais ne changent pas au point de vue de l'activité. Qu'elles aient néanmoins subi une modification chimique par ce traitement, est accusé par l'inactivation de ces produits de réduction par méthylation ou benzylation. Ces opérations d'alkylation, par contre, ne modifient pas les propriétés physiologiques de la pitressine et de la pitocine originales. V. du Vigneaud explique ces faits en admettant la présence d'un groupement de disulfure, qui se transformerait en sulfhydryles par réduction, lesquels sont alcoylables. Par oxydation à l'air, le produit de réduction donnerait de nouveau la forme originale. Une certaine analogie avec l'insuline se retrouve aussi dans la teneur élevée en tyrosine et cystine des deux hormones.

·Il est cependant douteux que toutes ces actions physiologiques

particulières du lobe antérieur de l'hypophyse et des autres hormones albuminoïdes non encore préparées à l'état pur, correspondent réellement à l'existence de produits chimiques différents; il se pourrait aussi qu'à un produit déterminé correspondent plusieurs actions hormonales, et cela selon les corps qui l'accompagnent, le pH des solutions et autres circonstances. Saunders et Cole (1936) ont trouvé par exemple, qu'une addition de sulfate de zinc ou de caséinogène à un extrait gonadotrope de sérum de jument provoque le même effet lutéinisant que si l'on avait utilisé la fraction lutéinisante de l'extrait du lobe antérieur de l'hypophyse. On pourrait, dès lors, mettre en doute l'existence de l'hormone lutéinisante, et considérer l'action qui lui est attribuée comme une modification de l'action d'une hormone gonadotrope unique sous l'influence de substances qui y sont mélangées.

Philip Smith (1) admet de façon générale qu'il est illogique d'attribuer chaque action physiologique de l'hypophyse à une hormone distincte, avant que cette dernière n'ait été préparée à l'état pur.

4. Antihormones. — Par l'action prolongée de quantités massives de certaines hormones albuminoïdes, il se manifeste souvent une insensibilité de l'organisme traité vis-à-vis de l'hormone considérée. En injectant le sérum de ces animaux immunisés, on peut aussi immuniser contre les effets de la même hormone d'autres animaux n'ayant pas été traités. Collip a proposé en 1934 le nom d'antihormones pour les substances qui provoquent l'immunisation. De semblables effets se manifestent surtout avec les hormones thyréotropes et gonadotropes, ainsi qu'avec les prolans, apparentés à ces dernières et tirés d'urine de femmes gravides et de sérum de jument; ils ont été observés aussi, mais les cas sont plus clairsemés, pour les hormones cétogène et de croissance.

Les antihormones ne sont cependant pas produites par toutes les hormones albuminoïdes; ainsi ce phénomène n'a pu être constaté par administration prolongée d'insuline ni de thyréo-

Les régulations hormonales, p. 833 (Paris, 1937; J.-B. Baillère et fils, éditeurs).

globuline. Des recherches visant à produire une antihormone pour l'œstrone ont également échoué.

Il y a deux possibilités pour le mécanisme de la production des antihormones :

- a. L'hormone utilisée agit comme un antigène et l'antihormone produite est un anticorps, ou bien
- b. Les anticorps sont des constituants habituels du sang, mais sont neutralisés dans les conditions normales.

Collip préfère la dernière de ces interprétations. Si celle-ci était exacte, on devrait pouvoir aussi déceler de petites quantités d'antihormones chez les animaux n'ayant pas subi de traitement et l'on devrait pouvoir immuniser un animal au moyen de l'extrait hormonal de glandes de la même espèce animale. Ces conditions sont réalisées dans maints cas. Ainsi, les rats développent l'immunité contre l'effet gonadotrope dû à l'implantation d'hypophyses de rats, et chez les moutons un sérum immunisant peut être produit par injection d'extrait gonadotrope d'hypophyse de mouton. En faveur de la nature de véritables anticorps des hormones, milite par exemple, l'observation que l'on peut produire de l'antisérum chez le cobaye, au moyen d'extrait hormona thyréotrope de bœuf et, d'autre part, que des préparations inactivées des prolans peuvent tout aussi bien produire des antihormones que les prolans actifs.

Jusqu'ici, il n'est toutefois pas prouvé que les antihormones s'opposent aussi aux hormones qui sont produites dans le corps même de l'animal d'expérience. Il n'y a que peu d'observations chez l'homme qui feraient conclure à la formation d'antihormones; il y a exception pour l'hormone thyréotrope, pour laquelle après des injections longtemps répétées survient régulièrement une paralysie de l'effet.

- E. Hormones stéroïdes et hormones de la région corticale des capsules surrénales.
- Détermination de la constitution et synthèse des hormones stéroïdes. — La constitution des hormones stéroïdes dont de faibles quantités étaient seules accessibles, n'aurait pas pu être

éclaircie aussi rapidement si l'examen de leurs formules brutes et de leurs propriétés physicochimiques faciles à établir n'avait fait deviner leurs rapports avec le noyau cyclique des stérols. Cette hypothèse s'est vérifiée en effet pour toutes les hormones sexuelles et les hormones extraites de la région corticale des capsules surrénales étudiées jusqu'ici. Nos connaissances dans le domaine de la constitution des hormones sexuelles remontent à cinq années à peine, et ont déjà fait l'objet à plusieurs reprises d'exposés d'ensemble; aussi, pouvons-nous renvoyer aux publications les plus récentes (1) de G. F. Marrian sur les hormones féminines et de M. W. Goldberg sur les hormones masculines.

Dans ce chapitre, nous ne ferons que passer rapidement en revue l'état actuel de nos connaissances sur la constitution et la synthèse des hormones sexuelles; dans les trois chapitres suivants, nous étudierons leur localisation dans les êtres vivants ainsi que les rapports existant entre la constitution chimique et l'action physiologique des trois groupes d'hormones; enfin, nous donnerons des détails plus circonstanciés sur les composants de la région corticale surrénale, car il s'agit de résultats obtenus tout récemment.

Les recherches de Butenandt, Doisy et Marrian avaient rendu très vraisemblable la formule (I) pour l'œstrone; c'est Cook qui, en 1935, en démontra le bien-fondé en apportant des preuves expérimentales concernant le mode d'attache précis du cycle pentatomique et concernant la position en 13 du groupe méthyle et en 17 du groupe cétonique. Les réactions employées par Cook sont les suivantes :

- a. Séparation d'une molécule d'eau à partir de l'œstradiol méthylé en 3 et ensuite déshydrogénation conduisant au 7-méthoxy-3'-méthyl-1.2-cyclopentèno phénanthrène (II);
- b. Condensation de l'œstrone méthylée en 3 avec l'iodure de méthyl magnésium [formation de (III)] et puis déshydratation

L. Ruzicka et W. Stepp, Ergebnisse der Hormon-und Vitaminforschung (Akademische Verlagsgesellschaft, Leipzig). Le premier volume a paru en janvier 1938.

et déshydrogénation avec formation du 7-méthoxy-3.3'-diméthyl-1.2-cyclopenténo phénanthrène (IV).

Les composés (II) et (IV) ont été synthétisés par Cook.

Pour compléter nos connaissances sur la constitution de l'æstrone il suffisait alors de rechercher si la configuration des quatre atomes de carbone asymétriques, qui se trouvent à la jonction des radicaux cyclohexaniques, coïncide avec celle du cholestérol (V) et des acides biliaires. Dans ce but, il fallait transformer un dérivé approprié du cholestérol en æstrone. En 1934, on réussit tout d'abord l'oxydation de l'acétate de l'épi-cholestanol en acétate d'androstérone, ce qui établissait une relation entre l'androstérone (VI) et le groupe des stérols. Ensuite, on réussit bientôt à préparer la progestérone (VII) par dégradation ménagée du stigmastérol, et en 1935 la testostérone (VIII) fut préparée artificiellement à partir du cholestérol (V). On oxyda le bibromure de l'acétate de cholestérol en transdéhydro-androstérone (IX) et ensuite par un petit détour on réussit à intervertir les deux fonctions oxygénées.

Dans l'androstérone, la configuration des sept atomes de carbone asymétriques est la même que dans l'épicholestanol;

<sup>(1)</sup> Dans toutes les formules d'hormones de ce chapitre, les centres d'asymétrie correspondant à ceux de stérols bien définis, sont marqués d'une croix.

dans la testostérone et la progestérone, la comparaison des configurations avec le cholestérol manque seulement pour l'atome en position 17; dans la testostérone, le groupe hydroxyle en 17 est probablement en position trans par rapport au méthyle en 13, tandis que pour la progestérone et le cholestérol on ne possède pas encore de données précises à ce sujet.

En 1936, Marker, dans une publication préliminaire, indique le moyen de passer de l'ergostérol à l'æstrone: partant du déhydronéoergostérol (X), déjà décrit par Windaus, Marker le réduisit par le sodium et l'alcool amylique et obtint le dérivé (XI), dont l'acétate fournit l'æstrone par oxydation; on aurait ainsi une nouvelle preuve de l'exactitude de la structure de l'æstrone et de la configuration des centres d'asymétrie 13 et 14 analogues à ceux du cholestérol.

Le rendement en composé (XI) doit avoir été très faible, car en répétant cette opération, Windaus ne réussit à isoler que le dérivé hydrogéné (XII), avec un hydroxyle alcoolique; il l'a dénommé l'épinéoergostérol, puisqu'on l'obtient en chauffant le néoergostérol (XIII) avec l'amylate de sodium. Conformément au résultat de Windaus nous n'avons pu obtenir jusqu'ici à Zurich, par hydrogénation de l'équilénine (XIV), qu'un composé hydrogéné non phénolique, probablement (XV).

Inhoffen a annoncé récemment dans une note préliminaire qu'en partant de l'androstanedione dibromée (mode de préparation et position des atomes de brome non indiqués), par perte d'acide bromhydrique et de méthane, on obtient l'isoéquiline (XVI), mais ce dernier n'est pas un produit naturel et l'on

ne possède pas de renseignements sur sa transformation en œstrone ou en équilénine. La publication in extenso des travaux de Marker et de Inhoffen permettra seule de juger clairement de la valeur des résultats obtenus jusqu'ici dans la préparation des dérivés œstrogéniques à partir des dérivés des stérols.

2. Hormones æstrogènes. — Les formules des sept hormones æstrogènes extraites des matériaux naturels sont réunies dans le tableau suivant (I à VIII); on y trouve également des renseignements concernant les sources naturelles qui servent de point de départ à leur isolement; enfin, on a indiqué l'activité physiologique relative selon le test de Allen et Doisy en prenant comme unité l'activité de l'æstrone (1 unité souris = 0,1 γ).

Origine. — Une seule des hormones æstrogènes a pu être extraite des ovaires, tandis que toutes les autres ont été isolées dans l'urine. Un fait remarquable, c'est l'existence de (I) et (II) dans le règne végétal. L'æstriol (II) n'a pu être extrait jusqu'ici que de l'urine de femmes enceintes et non pas comme l'æstrone de l'urine de jument ou d'étalon. D'après l'étude soignée (Gallagher) des propriétés physiologiques du principe æstrogène dont la présence dans l'urine de l'homme a été démontrée, il semble que celui-ci soit identique à l'æstrone. Récemment, Marrian réussit à isoler de l'urine de femmes enceintes la combinaison de l'æstriol avec l'acide glycuronique, combinaison dans laquelle l'hydroxyle phénolique est resté libre, tandis que le groupe aldéhydique se trouve sous forme combinée.

Rapport entre la constitution chimique et l'action physiologique. — En comparant les trois cétones (I), (V) et (VI), on constate une diminution régulière de l'activité par l'introduction de nouvelles doubles soudures venant s'ajouter aux trois qui préexistent dans le cycle benzénique de l'œstrone. On peut encore comparer (I) avec ses deux dérivés d'hydrogénation, les diols (III) et (IV); l'activité des deux diols est environ dans le rapport de 1 à 36; l'α-diol est donc notablement plus actif et le β- moins actif que le (I). Dans la série de la testostérone, on connaît deux stéréoisomères qui se différencient par leur activité et par la position stéréochimique de l'hydroxyle en position 17, le produit naturel,

Action physiologique = 1.

Extraite de l'urine de femmes enceintes;

de juments gravides;

d'étalons:

Extraite de l'huile de palme.

Action physiologique = 12. Extrait des ovaires de porcs; » de l'urine de juments gravides.

Action physiologique = 1/15. Extraite de l'urine de juments gravides.

(VII). 17-Dihydro-équilénine.
 Action physiologique = 1/30.
 Extraite de l'urine de juments gravides.

Action physiologique = 1/100. Extrait de l'urine de femmes enceintes; du placenta;

» de châtons de saule.

Action physiologique = 1/3. Extrait de l'urine de juments gravides (?).

VI. Équiline. Action physiologique = 1/7.

Extraite de l'urine de juments gravides.

appelé trans-testostérone, et la cis-testostérone très peu active et qui a seulement été préparée artificiellement : dans la première. l'hydroxyle est en position trans par rapport au groupe méthyle en 13 et c'est l'inverse pour la seconde. La comparaison de cet ensemble de données avec le cas des diols (III) et (IV) permet d'attribuer l'exaltation de l'activité de l'isomère a à la position trans du groupe hydroxyle en 17. De même, la dihydroéquilénine (VII) doit avoir son groupe hydroxyle en 17 en position cis, puisque ce composé est deux fois moins actif que la cétone (V). Par réduction de l'équilénine, à l'aide de sodium et d'alcool, David a obtenu une combinaison huileuse trois fois plus active que le composé original; il est donc possible que cette substance contienne l'autre isomère de la 17-dihydroéquilénine avec l'hydroxyle en trans. L'œstriol n'agit que très faiblement sur les animaux châtrés; l'action est notablement plus forte sur les animaux possédant leurs ovaires. La combinaison de l'acide glycuronique avec l'œstriol se montre peu active quand on l'injecte au sujet en expérience tandis que son action est équivalente à celle de l'œstriol lui-même quand ce composé est ingéré : dans ce dernier cas le complexe avec l'acide glycuronique est probablement hydrolysé.

Par hydrogénation de l'œstrone, on obtient principalement de l'α-diol, tandis que l'isomère β n'apparaît qu'en faible quantité; la préparation de ce dernier réussit mieux par l'action de l'aluminium-nickel en solution alcaline ou surtout par catalyse avec le nickel préparé suivant Raney.

Remesow (1936), dans un communiqué préliminaire annonce avoir obtenu, par destruction de la chaîne latérale du néoergostérol, l'oxycétone (VIII) qui aurait une forte activité œstrogène. Rappelons également que le diol cité au chapitre précédent (XVI), et qui n'a pas encore été étudié d'une façon approfondie, possède aussi une faible activité œstrogène. Il résulte de ces observations que l'action œstrogène n'est pas nécessairement liée au caractère aromatique du cycle A; mais dans l'état actuel de nos connaissances, il semble que dans le groupe des dérivés de l'æstrone, le maximum de l'activité æstrogène serait lié à la présence de l'hydroxyle phénolique.

Le manque de données précises ne permet pas encore de porter

un jugement sur les observations publiées par Andrew et Fenger en 1936 et suivant lesquelles une combinaison extraite du tissu ovarien, correspondant à la formule C<sub>20</sub>H<sub>41</sub>O<sub>2</sub>N, présenterait une activité physiologique plus élevée que l'æstrone.

Quant aux substances œstrogènes découvertes par Dodds et qui n'appartiennent pas au groupe de l'æstrane, on voudra bien se rapporter au Rapport présenté au Conseil par l'auteur lui-même.

3. Groupe de la progestérone : État naturel. — On n'a trouvé jusqu'ici dans le corps jaune qu'une seule hormone, la progestérone (I) accompagnée d'un autre corps, son proche parent au point de vue chimique mais physiologiquement inactif : l'allo-prégnan-3-ol-20-one (Va). L'urine de femmes enceintes a fourni quatre combinaisons saturées dont le squelette est celui de la progestérone : le prégnandiol (II), l'allo-prégnan-diol (III), l'épi-prégnan-3-ol-20-one (Vb) Les cinq combinaisons saturées peuvent être considérées comme des produits d'hydrogénation de la progestérone.

Nos connaissances sur la configuration de l'hydroxyle en position 3 dans ces combinaisons ne sont pas également sûres. Cette configuration a été démontrée sans ambiguïté pour les deux oxycétones Va et Vb, puisque Va a pu être préparé à partir du stigmastérol. Pour (II), (III) et (IV) la forme épi est probable, puisque ces composés ne sont pas précipités par la digitonine.

Le prégnan-diol est contenu dans l'urine de femmes enceintes sous forme de combinaisons facilement hydrolysables.

Rapport entre la constitution et l'activité physiologique. — Les cinq composés saturés signalés ci-dessus sont inactifs, dans le test de Corner et Allen; il en est de même pour les deux oxycétones non saturées (VI) et (VII) et les deux isomères de la progestérone (VIII) et (IX); ces quatre combinaisons non saturées [(VI à (IX)] n'ont pu être obtenues jusqu'ici que par voie synthétique. La spécificité des dérivés prégnaniques au point de vue de l'action physiologique paraît être excessivement marquée, puisque le simple changement de position de la double soudure aboutit à la

19

(1). Progestérone.

(III). Allo-prégnan-diol (configuration de OH en 3 inconnue).

(Va). Allo-prégnan-3-ol-20-one.

(II). Prégnan-diol.

(IV). Épi-prégnan-3-ol-20-one.

(V b). Épi-allo-prégnan-3-ol-20-one.

destruction complète de l'activité physiologique. La seule transformation que l'hormone du corps jaune soit capable de subir sans perdre son activité est une transformation de la progestérone en acétate de sa forme énolique; l'activité n'y subit pas de diminution, sans doute parce que ce composé est de nouveau saponifié dans l'organisme. Aussi est-il d'autant plus étonnant de constater que certaines combinaisons androgènes fournissent un test de Corner et Allen positif (voir à ce sujet le chapitre suivant).

4 a. Sources d'hormones androgènes. — La seule hormone masculine proprement dite est la testostérone isolée en 1935 dans les testicules de taureau. L'androstérone (II) et la trans-déhydro-androstérone (III) extraites de l'urine d'homme sont notablement moins actives et ne représentent peut-être que des produits secondaires (1).

Dans l'extraction de la testostérone, David emploie comme solvant l'acide sulfurique à 70 pour 100; on pourrait donc se

<sup>(1)</sup> Les dénominations cis et trans s'appliquent à la position 3 par rapport à l'atome d'hydrogène porté par le carbone 5, et à la position 17 par rapport au groupe méthyle voisin en 13, par conséquent toujours par rapport au centre asymétrique le plus voisin. Quand il existe une double liaison au carbone 5, la configuration au carbone 3 par rapport à l'ensemble du squelette cyclique n'en est naturellement pas changée et l'on peut conserver, par conséquent, pour les composés non saturés les désignations cis et trans choisies pour les dérivés saturés correspondants.

demander si la testostérone libre existe réellement dans les testicules ou bien s'il s'agit d'un de ses dérivés, un ester par exemple; la première hypothèse est la plus probable puisqu'en 1937

Goldberg a réussi à extraire la testostérone des testicules de taureau sans faire usage d'aucun réactif hydrolysant. Ogata et Hirano ont extrait des testicules de porc des combinaisons qui ne sont pas suffisamment bien connues pour que l'on puisse décider si elles appartiennent au groupe de l'androstane. Butenandt retira de l'urine de l'homme, a côté de (II) et (III) aussi un produit, physiologiquement inactif, l'étio-cholane-3-épi-17-trans-diol (IV). On peut le considérer, ainsi que l'androstérone comme produit de transformation directe de la testostérone.

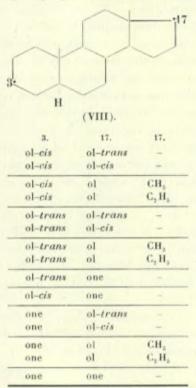
J'ai déjà cité plus haut l'épi-allo-prégnan-3-ol-20-one (V), composé androgène contenu dans l'urine des femmes enceintes. Ce composé a la même configuration stérique du cycle A que l'androstérone. Cook a extrait de l'urine d'un homme atteint de cancer à la capsule surrénale de la Δ³,5-androstadiénone (VI), et Reichstein a rendu probable pour l'un des composants de la région corticale de la capsule surrénale, l'adrénostérone, la formule d'un Δ⁴-3, 11, 17-tricéto-androstane (VII). On n'a pas encore isolé d'hormone androgène sous forme de combinaison, mais on sait que l'action androgène de l'urine peut plus que doubler par hydrolyse ménagée.

4 b. Rapport entre la constitution et l'activité des hormones androgènes. — La méthode de dégradation des acétates de stérols à l'aide d'acide chromique a permis de préparer artificiellement un grand nombre de substances androgènes dont l'activité physiologique a été contrôlée. Pour résumer les résultats obtenus, nous diviserons ces combinaisons en plusieurs groupes : le tableau suivant contient les 32 dérivés, bisubstitués en 3 et 17, de l'androstane et de l'androstène que l'on a préparés jusqu'ici (¹). Le premier groupe comprend 15 dérivés de l'androstane (VIII), le second 7 dérivés du Δ⁴-androstène (IX) et le troisième 9 dérivés du Δ⁵-androstène (X); comme dérivés de la série Δ¹ on ne connaît que la dicétone (XI).

Quelques-unes de ces combinaisons ont servi à des essais dans différents laboratoires biologiques; le résumé suivant, des résultats obtenus au point de vue physiologique, est basé essentiellement

<sup>(1)</sup> Dans les formules (VIII) à (XII), le squelette de l'androstane ou de l'androstène, et dans la formule (XIII) celui de l'étio-cholane est seul indiqué; les positions 3 et 17 où sont fixés les groupes substituants sont signalées par des points; en dessous de chaque formule sont indiqués leurs différents dérivés classés suivant la nature des substituants; les configurations sont également indiquées, pour autant que l'on possède quelques données à ce sujet.

sur les données de M. le Dr Tschopp (Ciba, Bâle) qui a étudié la plupart de ces combinaisons en collaboration avec nous. L'activité physiologique, mesurée, soit par la réaction de la crête de coq, soit par la réaction des glandes séminales, conduit à certaines règles qui peuvent se résumer comme suit :



		17
3		
"	(IX).	
3	17.	17.

3.	17.	17.
ol-trans	ol-trans	-
ol-trans	one	-
one	ol-trans	-
one	ol-cis	-
one	ol	CH,
one .	-01	C, H,
one	one	-

3 H	) 17
(2	XI).
. 3.	17.
one	one

И.	17.	17.
ol-cis	ol-trans	-
ol-trans	ol-trans	-
ol-trans	ol-cis	-
ol-trans	ol	CH,
ol-trans	ol	$C_1H_5$
ol-eis	one	-
ol-trans	one	
one	ol-trans	
one	one	-

Le test de la crête de coq. — Les composés oxy-3-cis (composés épi-oxy) sont partout plus actifs (2 à 25 fois) que les composés trans correspondants. Ainsi la cis-androstérone naturelle est 8 fois plus active que la trans-androstérone: l'épi-déhydroandrostérone est 2 fois plus active que la trans-déhydro-androstérone. Par réduction du groupe cétonique en position 17, il est possible de préparer deux séries de dérivés 17-oxy dans lesquels le radical OH se trouve en position cis ou trans par rapport au groupe méthyle voisin : ils présentent également des différences d'activité marquées; les oxy-dérivés-17-cis sont difficiles à préparer et sont partout moins actifs (2 à 4 fois) que les dérivés cétoniques en 17 correspondants, tandis que les oxy-dérivés-17-trans, qui constituent le produit principal de la réduction et sont, par conséquent, aisément accessibles, sont en général plus actifs (2 à 9 fois). Ainsi, la trans-testotérone naturelle est 9 fois plus active que la A4-androstènedione-3.17, et l'androstane-3-cis, 17trans-diol environ 5 fois plus actif que l'androstérone. La transdéhydroandrostérone constitue une exception puisqu'elle est 2,5 fois plus active que son produit de réduction, le A5-androstène-3-trans-17-trans-diol. La grande différence d'activité entre la trans et la cis-testostérone est remarquable; l'isomère naturel 17-trans se montre environ 25 fois plus actif au test de la crête de chapon que le composé cis.

Les dérivés non saturés Δ<sup>5</sup>-3-oxy possèdent environ la même activité que les composés 3-oxy saturés correspondants; tels l'épidéhydroandrostérone et l'androstérone. La trans-déhydroandrostérone, qui est environ 4 fois plus active que la transandrostérone, constitue de nouveau une exception.

Les dérivés non saturés  $\Delta^4$ -3-céto sont à peu près aussi actifs que les dérivés saturés 3-céto correspondants; il en est ainsi pour la  $\Delta^4$ -androstène-dione et l'androstane-dione, la  $\Delta^4$ -testostérone et la dihydro-testostérone.

Par réaction des dérivés 17-céto avec l'iodure de méthylmagnésium, on obtient des combinaisons 17-méthyl-17-oxy qui sont à peu près aussi actives que les dérivés 17-oxy secondaires correspondants : la dihydrotestostérone et la 17-méthyldihydrotestostérone. Les dérivés éthylés en 17 sont moins actifs.

En faisant usage de la réaction de la crête de coq, c'est la

testostérone qui se révèle comme la plus active; tous les autres dérivés 3-céto-17-oxy montrent une activité analogue, si bien qu'à ce point de vue on peut les appeler le groupe le plus actif des hormones androgènes.

Réaction des glandes séminales. — Par ce test également ce sont les dérivés 3-cèto-17-trans-oxy qui constituent le groupe de loin le plus actif; la présence d'un groupe méthyle en position 17 ou d'une double liaison en position 4.5 favorisant l'activité; un radical éthyle en 17 la réduit fortement.

Il est remarquable que l'on soit parvenu à préparer une combinaison synthétique, la 17-méthyl-testostérone, qui, suivant ce test du moins, est plus active que l'hormone masculine naturelle, la testostérone.

Toujours d'après ce test, les oxy-dérivés 17-cis sont totalement inactifs; les oxy-dérivés 3-cis sont plus actifs que les 3-trans dont l'activité est pratiquement nulle.

Action de quelques autres dérivés androgènes. — On a préparé toute une série de dérivés trisubstitués de l'androstane et de l'androstène avec les radicaux hydroxyle, céto et oxydo dans trois des positions 3, 4, 5, 6 ou 17. Nous n'entrerons pas dans le détail parce qu'aucune de ces combinaisons ne présente d'activité notable; le composé le plus actif est l'andrénostérone (VII), avec l'oxygène en 3, 11 et 17, extraite de la région corticale de la capsule surrénale et que nous avons déjà citée plus haut.

L'introduction d'un halogène en position 3 ou d'un radical aminé en position 17 a pour résultat, dans tous les cas, une disparition complète ou tout au moins un très fort abaissement de l'activité.

Particulièrement remarquable est le comportement de deux autres groupes de composés androgènes schématisés par les formules (XII) et (XIII). Au groupe (XII) (dérivés du \$\Delta^{4-6}\$-androstadiène), deux représentants seulement ont été préparés, la dicétone et une oxycétone : la déhydrotestostérone; il est surprenant que ces deux corps se montrent très peu actifs à l'égard des tests de la vésicule séminale et de la crête de coq. Ainsi l'introduction d'une première double soudure dans les dérivés de l'androstane conduit toujours à une exaltation de l'activité qui

s'abaisse de nouveau par l'introduction d'une seconde double

soudure en position conjuguée.

Les dérivés connus de l'étio-cholane sont rangés sous la formule (XIII); aucun d'eux ne présente d'activité androgène. Ceci est un résultat tout à fait remarquable si l'on songe à l'activité toujours notable des corps du groupe (VIII). Les groupes (VIII) et (XIII) se différencient seulement par la configuration de l'atome de carbone 5 entre les cycles A et B: une configuration cis des deux cycles (1) (XIII), telle qu'elle existe chez les acides biliaires, fait disparaître toute action androgène, tandis que la configuration trans (VIII) est caractéristique d'une série des hormones androgènes les plus actives (XII) et (XIII).

Conclusion. — L'étude, par les deux tests précédents, de plus de quarante dérivés de l'androstane, étio-cholane et de l'androstène avec substituants en 3 et en 17 qui ont fait l'objet d'un contrôle physiologique, conduit à quelques règles générales. L'action physiologique dépend de la configuration de trois centres d'asymétrie en 3, 5 et 17 dont on a fait varier les substituants. Une configuration déterminée est la plus favorable dans les trois cas. La différence d'action physiologique des composés aux deux configurations réalisables est la plus grande en position 5, un peu plus faible en position 17 et la moins mar-

<sup>(1)</sup> La configuration cis des deux cycles A et B entraîne, pour l'atome d'hydrogène attaché au carbone 5, la configuration cis par rapport au radical méthyle voisin.

quée en position 3. En position 5, la configuration physiologiquement privilégiée est celle qui correspond pour les cycles A et B à une structure analogue à celle de la trans-décaline; en 17, c'est la position trans de l'hydroxyle par rapport au méthyle voisin qui est privilégiée, et en 3 c'est la position cis de l'hydroxyle par rapport à l'hydrogène en 5. Il faut signaler l'influence relativement faible de la double liaison de l'atome de carbone 5, en particulier pour la combinaison la plus active de toutes, celle des 3-céto-17-trans-oxydérivés (testostérone et dihydrotesto-stérone).

4 c. Rapport entre l'activité des hormones æstrogènes et androgènes. — Un des résultats les plus étonnants de l'étude physiologique si étendue des combinaisons androgènes par Butenandt, Korenchevski, Laqueur et collaborateurs, Parkes et Tschopp, est la découverte que toute une série d'entre elles possède également des propriétés æstrogéniques et progestéroniques.

C'est Korenchevski, qui a exposé ces phénomènes, en partie assez compliqués, de la façon la plus claire, et je résumerai ici ses conclusions, pour servir de base à la discussion. Il n'existerait donc qu'une seule hormone sexuelle, dont l'activité est limitée à un seul sexe, c'est la progestérone. Toutes les autres hormones sont bisexuelles, c'est-à-dire qu'elles agissent sur les deux sexes, mais généralement plus fort sur l'un que sur l'autre; Korenchevski propose la nouvelle classification des hormones sexuelles que voici :

Groupe I. — a. Hormone uniquement féminine. — La progestérone.

b. Hormone uniquement masculine. - Inconnue.

Groupe II. — a. Hormones ayant surtout une activité masculine. — L'androstérone, l'androstanediol et le propionate de testostérone.

Déjà, à faible dose, ces substances ont une action régénératrice sur les organes et les glandes sexuels atrophiés des rats mâles châtrés; à forte dose, ils agissent aussi sur les rates châtrées, en provoquant le développement de l'utérus et du vagin, jusqu'à atteindre le poids normal.  b. Hormones ayant surtout une activité féminine. — L'œstrone et l'œstradiol.

Ces hormones agissent à faible dose sur les organes féminins typiques; même à de fortes doses, chez les mâles châtrés, elles sont à peu près sans influence sur les organes mâles typiques (prostate, pénis, glande prépuciale), mais agissent sur les glandes séminales. Mais les transformations subies dans ce cas par les organes mâles sont généralement, et en particulier pour les glandes séminales, d'une autre nature que celles produites par les hormones à activité surtout masculine.

Groupe III. — Les hormones réellement bisexuelles. — Testostérone, androsténediol, trans-déhydro-androstérone.

Dans le groupe II on peut déjà remarquer une certaine opposition entre les hormones plutôt masculines, dont l'activité bisexuelle est plus forte que celle des hormones plutôt féminines. Les hormones vraiment bisexuelles produisent chez les deux sexes, une régénération jusqu'à l'état normal des organes atrophiès; l'hormone mâle, la plus active, le propionate de testostérone, occupe la position intermédiaire entre les groupes II et III (voir plus bas).

Étant données l'action purement féminine et la spécificité chimique très marquée de la progestérone, on doit considérer comme remarquable la découverte d'une activité analogue chez toute une série d'hormones masculines, telles que la testostérone et particulièrement la 17-méthyltestostérone : l'activité de cette dernière atteint le dixième de celle de la progestérone elle-même.

5. Hormones de la région corticale de la capsule surrénale (¹). — La fonction de la région corticale de la glande surrénale est indispensable à la conservation de la vie; la mort est la conséquence de l'ablation de cette glande, aussi bien que des troubles de son fonc-

<sup>(</sup>¹) Pour la préparation de cet article, j'ai pu faire usage du manuscrit d'un article très détaillé de Reichstein imprimé en automne 1937 dans le volume I des Ergebnisse der Hormon-und-Vitaminforschung (Akadem. Verlagsgesellschaft m. b. H., Leipzig).

tionnement qui constituent une des causes de la maladie d'Addison. Les phénomènes anormaux que l'on observe dans l'arrêt du fonctionnement de cette glande sont de nature excessivement variée; en voici les plus importants : troubles de la teneur en eau et de l'équilibre sodium-potassium, fatigue rapide des muscles (adynamie), trouble dans la résorption des matières grasses et des hydrates de carbone dans l'intestin, ainsi que dans la phosphatation de la lactoflavine; d'après Verzàr (1), on peut considérer la plupart de ces symptômes comme résultant de troubles dans les processus de phosphatation, qui, comme on le sait, jouent un rôle dans la résorption des graisses et des hydrates de carbone.

Isolement. — On peut retirer de la capsule surrénale, même sans en enlever au préalable la partie médullaire qui contient de l'adrénaline, un extrait actif, à l'aide duquel on fait disparaître les phénomènes anormaux que nous venons de citer. Le principe actif a été nommé cortine et est soluble aussi bien dans l'eau que dans les solvants des lipoïdes. L'enrichissement de la cortine à partir de l'extrait brut se fait suivant le procédé de démixtion.

Une méthode efficace est décrite par Swingle et Pfiffner (2). L'adrénaline, qui trouble les expériences physiologiques, ne peut être éliminée à l'aide d'hydroxydes alcalins, car la cortine elle-même est détruite par ces réactifs, mais l'adrénaline peut être retenue par absorption ou par traitement par des acides minéraux et du bicarbonate. L'enrichissement en cortine au cours du fractionnement peut être suivi à l'aide de différents tests physiologiques, basés sur l'un ou sur l'autre phénomène de déficience; le plus sûr est probablement le « test de conservation de vie » appliqué aux rats privés de glande surrénale (surrénalectomisés) en suivant les indications de P. Schultzer (3) et de G. F. Cartland et M. H. Kuizenga (4). Dans les recherches chimiques, on a généralement employé d'autres tests.

<sup>(1)</sup> F. Verzar and E. J. Mc Dougall, Adsorption from the intestine. (Longmans, Green and Co, London, 1936). — F. Verzar and L. Laszt, Biochem. Z., 280, 1936, p. 351.

<sup>(2)</sup> W. W. SWINGLE et J. J. PRIFFNER, Amer. J. Physiol., 96, 1931, p. 153-164 et 180.

<sup>(</sup>a) Journ. of Physiol., 87, 1936, p. 222.

<sup>(4)</sup> Amer. J. Physiol., 117, 1936, p. 678.

HO OH CH OH-CH<sub>2</sub>OH

(I). 
$$C_{21}H_{26}O_{5}$$
.

Partant d'extraits concentrés de glande surrénale, on a réussi dans plusieurs laboratoires et à peu près en même temps (chez Kendall, Wintersteiner et Pfiffner, et Reichstein) à extraire un certain nombre de substances (11, jusqu'ici), très voisines au point de vue chimique.

En particulier, les travaux de Reichstein et de Kendall ont permis d'éclaircir d'une manière très complète la constitution de ces combinaisons, dont l'une est un dérivé de l'androstane et les dix autres des dérivés du prégnane. Parmi ces dernières, quatre seulement ont montré une activité analogue à celle de la cortine, tandis que les autres ne prennent probablement aucune part à l'activité caractéristique de la région corticale de la glande surrénale.

On n'a cependant pas encore réussi à amener à l'état cristallisé l'ensemble des substances auxquelles on doit l'action de la cortine; en effet, la majeure partie de la substance active n'a encore été obtenue qu'à l'état amorphe soluble dans l'eau; après avoir été fortement enrichie, elle accuse par unité de poids, une activité plus grande encore que la corticostérone, la plus active jusqu'ici parmi les constituants cristallisés de la cortine.

Une partie des constituents de la glande surrénale, notamment tous les éléments physiologiquement actifs, sont des cétones dont la préparation et la séparation ont été notablement facilitées par l'emploi du réactif des cétones de Girard.

Constitution. — Exposons maintenant, à larges traits, la chimie de ces onze combinaisons. Les dérivés du prégnane (I) à (X) doivent être rangés en trois catégories suivant leur teneur en oxygène : six combinaisons contiennent 5 atomes d'oxygène, deux en contiennent 4 et enfin deux en contiennent 3. Il s'agit donc partout de combinaisons plus riches en oxygène que celles du groupe du prégnane des hormones sexuelles. Des cinq composés saturés, les composés (I) à (III) sont du type alloprégnane (type du cholestane), tandis que la configuration des composés (IX) et (X) n'est pas encore définie; tous les autres corps sont des cétones non saturées en α et β.

Dans les formules données, on a admis que la double liaison se trouve en 4-5, comme dans la cholestanone, la progestérone et la testostérone, mais cela n'est pas encore prouvé d'une façon irréfutable. Mais on peut accepter comme très probable que les composants de la cortine possèdent leur double liaison à la même place que les autres stéroïdes naturels. La position des atomes d'oxygène dans les onze formules indiquées n'est démontrée complètement que dans quelques cas particuliers. La substitution en 3 est admise par analogie avec les autres stéroïdes naturels, ainsi que par suite de la précipitation de ces corps à l'aide de la digitonine; la position 17 est démontrée; pour le troisième substituant, les positions 11 et 12 viennent en ligne de compte, mais celle en 11 est la plus probable. Il faut remarquer que le radical hydroxyle et surtout le radical cétonique en position 11 sont très peu réactifs; ainsi le groupe cétonique fournit à peine les réactions habituelles des cétones.

La constitution des composés (I) à (VI) qui possèdent un hydroxyle tertiaire à côté de la chaîne latérale en position 17 est la mieux démontrée; on trouvera ci-dessous quelques-unes des réactions les plus importantes expliquant la constitution des combinaisons (I) à (VI) et (XI). L'oxydation de (I) par l'acide periodique donne une dioxycétone de formule (XII) qui, par oxydation à l'acide chromique fournit la tricétone (XIII), cette dernière est un dérivé de l'androstanetrione, comme le montre le résultat de la réduction par le zinc amalgamé et l'acide chlorhydrique, qui a permis d'isoler de l'androstane (XV). Les produits secondaires oxygénés de cette réduction ont fourni par oxydation de l'androstanone-17 (XVI) et renfermaient par conséquent le dérivé oxy correspondant (XIV); ceci démontre la position du groupe cétonique en (XII) ou (XIII) et de la chaîne latérale en I; suivant le test de la crête de cog, la tricétone (XIII) est environ trois fois moins active que l'androstérone; cette tricétone peut également être obtenue par hydrogénation catalytique modérée de l'andrénostérone, substance qui agit également sur la crête de coq. Signalons encore que les combinaisons (II) et (III) fournissent également la tricétone saturée (XIII) par oxydation chromique, tandis que dans les mêmes conditions les substances (IV), (V) et (VI) se transforment en andrénostérone.

Dans les formules (VII) à (X), par contre, l'existence du squelette de l'androstane n'a pas été démontrée, mais est admise par analogie. Parmi ces substances, la corticostérone (VII) et la déhydrocorticostérone (VIII) sont le mieux étudiées. La corticostérone retient particulièrement l'intérêt parce qu'elle est jusqu'ici

le constituant cristallisé de la cortine qui s'est montré le plus actif au point de vue physiologique; par réaction avec l'acide periodique, elle fournit un mono-acide de formule (XVII) dont le groupe oxy peut être transformé en groupe cétonique par oxydation chromique avec formation de (XVIII); le même acide dicétonique non saturé (XVIII) est également formé par oxydation chromique de la déhydrocorticostérone (VIII). Enfin, on a également réussi la transformation de la corticostérone en déhydrocorticostérone, en soumettant le monoacétate de la première à l'oxydation chromique, et en éliminant ensuite le radical acétique par saponification.

Synthèse. — L'incertitude qui subsistait encore primitivement concernant la constitution des composants de la cortine a été levée par Reichstein d'une manière très élégante, par préparation artificielle de la désoxycorticostérone (XIX); celle-ci est une combinaison qui contient un groupe hydroxyle de moins que la corticostérone (VII) et qui s'en rapproche au point de vue physiologique, quantitativement et qualitativement.

Par dégradation du stigmastérol, on peut préparer l'acide Δ⁵-3-oxyétiocholénique; on acétyle celui-ci, puis on le transforme en chlorure d'acide; l'action du diazométhane fournit la diazocétone acétylée (XXI) dont le groupe acétyle peut être éliminé par saponification alcaline ménagée; l'oxydiazocétone obtenue, chauffée avec de l'acide acétique glacial, donne le monoacétate, acétylé en 21 (XXII); enfin, par bromuration, oxydation de l'hydroxyle-3, puis débromuration et saponification acide, on obtient finalement la désoxycorticostérone.

Jusqu'ici, on est peu renseigné sur les rapports entre la constitution chimique et l'activité physiologique de ce groupe. La désoxycorticostérone est le composé le plus simple du groupe qui présente l'activité caractéristique de la cortine; peut-être des simplifications supplémentaires de la molécule ne sont-elles plus compatibles avec cette forme d'activité physiologique. L'activité des combinaisons (VI), (VII) et (VIII) disparaît après hydrogénation de la double soudure; on doit donc admettre que le caractère non saturé est aussi indispensable pour l'obtention de cette action physiologique typique, que dans le cas de la progestérone. La désoxycorticostérone pourrait également s'appeler 21-oxy-progestérone; puisque la progestérone ne possède pas l'action de la cortine, il en résulte clairement la nécessité de la

présence du groupe hydroxyle en 21. Par contre, l'hydroxyle en position 11 ne semble jouer qu'un rôle secondaire; enfin, il y a encore lieu de remarquer que le radical hydroxyle tertiaire en position 17 des combinaisons (V) et (VI) a probablement pour effet un abaissement de cette activité physiologique.

### F. - ORIGINE, ACTION ET SPÉCIFICITÉ DES HORMONES.

Il est naturel, en se basant sur la parenté des formules de l'adrénaline et la thyroxine avec celle de la tyrosine, de faire des hypothèses sur la genèse de ces deux hormones à partir de la tyrosine. L'adrénaline et la thyroxine, ainsi que la plupart des hormones du type albuminoïde sont probablement en relation par leur origine, d'une manière ou d'une autre, avec les albumines et les aminoacides. Mais on ne peut guère jusqu'ici, que faire de vagues hypothèses sur la nature de ces relations. Toutes les autres hormones appartiennent au groupe des stéroïdes : recherchons dans le chapitre suivant s'il est possible de faire des suppositions bien déterminées sur leur genèse.

 Hypothèses sur la biogenèse des hormones stéroïdes. — La découverte de la formule exacte du cholestérol a conduit, comme on le sait, à l'établissement de la formule de l'æstrone, car cette substance ne représente schématiquement rien d'autre que le produit de transformation le plus simple du cholestérol de formule brute C18 H22 O2 avec un cycle phénolique et un groupe cétonique. Plus tard, on a pu également établir la formule de constitution de toutes les autres hormones sexuelles à partir de leur formule brute et de quelques données expérimentales sur leurs groupes fonctionnels; tous, schématiquement parlant, sont des produits de transformation du cholestérol. En groupant les hormones sexuelles extraites des organismes vivants et les corps inactifs au point de vue physiologique qui les accompagnent, ainsi que quelques dérivés préparés au laboratoire, on peut édifier un systême permettant une transformation graduelle du cholestérol en composés dérivés du prégnane, de l'androstane et de l'æstrane,

Les différents stades de cette transformation ont déjà été réalisés

en partie au laboratoire par voie directe ou indirecte et présentent une analogie profonde dans les séries du prégnane et de l'androstane (rangées horizontales 2 à 5 dans le tableau).

La première étape est caractérisée par une dégradation partielle ou complète de la chaîne latérale et formation d'oxycétone non saturée (prégnénolone, déhydroandrostérone). Les étapes suivantes comprennent l'oxydation ou la réduction des différents groupes fonctionnels.

La manière la plus simple de dériver les hormones de la série de l'æstrane consiste à enlever une molécule de méthane aux cétones α et β non saturées du groupe de l'androstane. L'équiline et l'équilénine représentent les produits de la déshydrogénation la plus poussée parmi les hormones sexuelles observées à l'état naturel. Mais nous ne pouvons pas encore décider aujourd'hui si, dans la genèse de ces combinaisons, la nature suit cette voie ou quelqu'autre analogue.

Les stéroïdes de la capsule surrénale, riches en oxygène, ne rentrent pas dans le schéma de la genèse des hormones sexuelles à partir du cholestérol; en effet, outre la destruction de la chaîne latérale, la réduction ou l'oxydation des groupements fonctionnels, ainsi que la déshydrogénation de certains cycles, il faudrait encore introduire de l'oxygène dans des endroits de la molécule qui n'en contiennent pas dans les hormones sexuelles. L'hypothèse d'une telle transformation n'aurait rien d'extraordinaire en soi, étant donné qu'elle pourrait être imputée aux organismes tout aussi bien que la déshydrogénation de l'anneau A du cholestérol avec perte de méthane, admise dans le passage aux hormones œstrogènes.

A l'époque où est née l'hypothèse de la transformation du cholestérol ou des acides biliaires en hormones sexuelles, on acceptait ces substances comme points de départ donnés, sans que l'on puisse se faire une idée raisonnable de leur origine. On avait, il est vrai, envisagé à plusieurs reprises le cholestérol comme un produit de transformation possible d'un triterpène tel que le squalène, avec perte de trois atomes de carbone. Mais après avoir découvert, dans le phytostérol et l'ergostérol, des stéroïdes qui, précisément, ne peuvent être dérivés schématiquement d'un polyterpène, l'hypothèse d'une semblable formation du cholestérol perdit sa raison d'être; car il devenait plus facile d'admettre pour

Schéma des relations et transformations dans la série du cholestérol et des hormones sexuelles.

les plantes que pour les animaux l'utilisation de molécules d'isoprène comme matériaux.

Au cours des derniers mois, on a appris à connaître des faits permettant d'imaginer un mécanisme admissible pour la formation du cholestérol dans l'organisme.

L. Rittenberg (1) a contrôlé le contenu en deutérium du cholestérol dans des souris dont les liquides organiques étaient maintenus à environ 1,5 d'atome pour 100 de deutérium. Après deux mois, le rapport du deutérium à l'hydrogène dans le cholestérol était égal à la moitié de ce rapport dans les liquides de l'organisme.

On peut tirer de cette expérience la conclusion que la moitié des atomes d'hydrogène du cholestérol est capable d'être échangée avec le deutérium, et un tel processus n'est réalisable, d'après tout ce que nous savons jusqu'ici, que si le cholestérol se forme dans l'organisme à partir de matériaux plus petits dont les atomes d'hydrogène sont remplaçables par des atomes de deutérium.

De tels matériaux seraient, par exemple, l'acétone, l'acétaldéhyde, la formaldéhyde et leurs dérivés et analogues physiologiques, tels que la dioxyacétone, l'aldéhyde glycérique, etc. Récemment, Rob. Robinson, se basant sur une méthode de cyclisation nouvellement découverte, a d'ailleurs signalé la possibilité d'une biogenèse des stérols à partir d'acétone et de formaldéhyde ou de leurs équivalents physiologiques.

Dans cet ordre d'idées, on pourrait admettre que la genèse des hormones sexuelles et des composants de la cortine se fait à partir de matériaux de petite dimension sans passer par le cholestérol. Reichstein explique de cette façon la richesse en oxygène des composants de la cortine qu'il considère au même titre que les hormones sexuelles, le cholestérol et les autres stéroïdes comme des produits de dégradation des sucres. A ce sujet, il est bon de rappeler que le cholestérol, aussi bien que les dérivés du prégnane et des acides biliaires, possède dans la molécule un nombre d'atomes de carbone divisible par 3. Reichstein fait remarquer encore que le squelette carboné du cholestérol peut

<sup>(1)</sup> J. Biol. Chem., 119, 1937, LXXXIII.

être obtenu par juxtaposition de chaînes triatomiques suivant le schéma ci-joint.

Quant aux stéroïdes de la série de l'androstane et de l'œstrane, on pourrait les considérer comme des produits de dégradation des stéroïdes plus riches en carbone et possédant une chaîne latérale en position 17; ou bien on pourrait admettre que prennent part à la synthèse, outre les chaînes triatomiques, également d'autres matériaux possédant 1 ou 2 atomes de carbone. Le dernier schéma permettrait également de se figurer comment se forment des stéroïdes végétaux où le nombre d'atomes de carbone n'est pas divisible par 3; tels l'ergostérol, les phytostérols, les sapogénines actives sur le cœur.

L'expérience de Rittenberg ouvre la possibilité expérimentale d'obtenir des renseignements sur la genèse d'autres stéroïdes que les hormones sexuelles et les composants de la cortine.

On pourrait, par exemple, nourrir les animaux en expérience avec du cholestérol contenant du deutérium et rechercher si les hormones formées contiennent également cet élément. On pourrait aussi enrichir à l'aide de cholestérol les animaux riches en deutérium et contrôler si le pourcentage des hormones en deutérium dépend de la composition des liquides de l'organisme ou bien de la composition moyenne du cholestérol.

2. Chimisme de l'action kormonale. — Le biochimiste n'aura pas de repos avant d'avoir établi les équations chimiques des processus physiologiques spécifiques. L'on possède pour mainte hormone, de même que pour d'autres substances actives et en particulier pour certains enzymes, une indication sur la nature de la réaction chimique contrôlée par la substance active, soit que celle-ci intervienne comme catalyseur ou comme composant normal de la réaction. L'explication de telle action hormonale

peut, en principe, être plus aisée que celle qui intéresse le plus grand nombre des hormones, dont on ne connaît rien du chimisme. Dans un tel cas, on devra vérifier si ce ne sont pas des changements de constitution de la molécule de l'hormone pendant le développement de son activité physiologique qui conduisent au but. Il y a, dans la chimie des hormones, des exemples compatibles avec les deux cas.

On peut se représenter, par exemple, de deux façons l'abaissement de la teneur en sucre du sang par l'insuline : l'augmentation de la formation de glycogène dans le foie ou l'accélération de la combustion du glucose dans le sang. Pour s'orienter sur cette question, les essais in vitro paraissaient indiqués. Mais l'insuline n'a pas d'action sur une solution de glucose. La thyroxine a tout aussi peu d'action sur le métabolisme de tissus survivants dans l'appareil de Warburg, bien qu'elle stimule puissamment les échanges dans l'organisme.

L'adrénaline et l'ocytocine exercent, il est vrai, leurs actions typiques aussi in vitro, sur des parties d'organes vivants; la première provoque la contraction d'un fragment d'artère et la seconde excite l'utérus. Mais on ne sait absolument rien quant à l'espèce d'action chimique qui provoque ces phénomènes et les parties d'organes sont trop compliquées, pour qu'il soit possible de tirer des conclusions simples, de semblables recherches in vitro.

On peut, par contre, d'après Reichstein, se faire une première opinion du chimisme de l'action de la cortine. Les hormones du groupe cortine trouvées jusqu'ici sont des \( \alpha \)-cétols. D'après Langenbeck, on peut, à l'aide de cétols simples, reproduire in vitro l'action de l'estérase. Verzàr explique l'action de la cortine en admettant qu'elle intervient dans d'importantes actions de phosphatation de l'organisme. On ne sait pas encore, il est vrai, si les cétols sont capables de catalyser des actions de phosphatation. On peut toutefois imaginer que la cortico-stérone et ses analogues agissent in vivo, comme transporteurs d'acide phosphorique et catalysent ainsi les échanges d'hydrates de carbone et de corps gras. Si cette manière de voir est réellement exacte, on aurait là le premier exemple d'une vision profonde dans le chimisme des hormones.

Les hormones sexuelles chimiquement proches de la corticostérone, offrent bien le meilleur exemple pour le second cas envisagé plus haut, car on ne possède pas la moindre indication sur le chimisme de leur action. Par contre, on est arrivé à découvrir dans l'organisme de nombreuses combinaisons de constitution analogue douées ou dépourvues d'action hormonale et qui peuvent être considérées comme produits de transformation réciproque. On a souvent cherché ces dernières années, à obtenir des indications sur la nature des transformations que subissent les hormones sexuelles dans l'organisme, en considérant les hormones stéroïdes éliminées par l'urine, comme produits de transformation des hormones sexuelles possédant le même squelette carboné.

L'éclaircissement de la constitution des composants de la cortine apporte quelque trouble dans ces idées, car on est actuellement moins sûr de l'origine des dérivés de l'androstane ou de prégnane que précédemment. On est parvenu ces derniers temps à déceler la présence de nouveaux stéroïdes dans l'urine de patients ayant les capsules surrénales malades; c'est le cas de la Δ<sup>3,5</sup>-α-androstadiénone-17 trouvée par Cook en 1936 et de l'épi-3,17,20-prégnantriol, isolé par Marrian. Cette dernière combinaison est aussi voisine de certains constituants de la cortine que de la progestérone. Si l'on admet de plus, comme fondée, la synthèse de stéroïdes dans l'organisme à partir de petits matériaux, on ne doit plus exiger une relation directe entre les composés produits dans différentes parties de l'organisme, car leur formation peut s'être opérée de façon indépendante.

On pourrait aussi chercher à tirer certaines conclusions des différences qui se manifestent chez les hormones sexuelles dans différentes conditions de vie.

La présence d'œstrone, par exemple, a été constatée aussi bien dans l'urine de femme que dans celle de jument. De plus, la jument engendre les produits de déshydrogénation de l'œstrone, l'équilénine et l'équiline; on ne sait provisoirement rien de la signification de ce processus de déshydrogénation; mais il doit y avoir, dans tous les cas, une différence notable dans le chimisme de la séparation d'hormone, chez la femme et chez la jument.

Une autre possibilité de pénétration dans la chimie de l'action

hormonale consiste dans l'introduction artificielle d'hormones étrangères à l'organisme ou de quantités anormales d'hormones de l'organisme. On a pu constater l'action œstrogène d'hormones androgènes, déjà discutées plus haut de facon détaillée; on l'a constatée aussi pour des animaux de sexe féminin, dépourvus d'ovaires. Si l'on cherchait à expliquer cette action par une déshydrogénation dans l'organisme des androgènes en œstrogènes, une semblable déshydrogénation devrait aussi être possible en dehors des glandes génitales. On pourrait se représenter de façon analogue l'action androgène d'hormones œstrogènes chez les rats mâles castrés; le fait que cette sorte de renversement de l'action s'accomplit plus difficilement que celui précédemment évoqué, pourrait être attribué à la formation de substances androgènes moins actives dans la réduction d'une hormone œstrogène, pour laquelle le défaut de groupe méthyle en 10 ou la formation de stéréoisomères physiologiquement moins favorisés, seraient déterminants.

3 a. Amélioration et modification de l'action hormonale. — On peut comprendre une amélioration de l'action hormonale comme résultant d'une élévation quantitative de l'activité, ou comme modification qualitative du mode d'action; les deux alternatives pouvant être désirables dans bien des cas et pouvant aussi être réalisées.

L'adrénaline gauche est encore toujours la substance ayant la plus grande activité sur la pression sanguine; l'éphédrine permet d'obtenir une action plus faible, il est vrai, mais de plus longue durée. Le prolongement de la durée d'action dans l'organisme d'une substance artificielle joue évidemment un grand rôle dans la pratique, car on peut, dans ce cas, mieux reproduire le mode continu de distribution de l'hormone par la glande, sans qu'il soit nécessaire de subdiviser la quantité d'hormone ajoutée en de trop nombreuses doses.

La protamine-insuline de Hagedorn (1935) répond à ces exigences. L'action de l'insuline injectée est passagère, parce qu'elle se dissout trop facilement dans le liquide de l'organisme presque neutre (pH voisin de 7,4). Par combinaison avec la protamine, albumine fortement basique, on obtient ce que l'on appelle «l'insuline-protamine», dont la solubilité est faible pour un pH=7,4, ce qui a pour effet de doubler généralement la durée d'action par rapport à l'insuline.

Le remplacement de la thyroxine par la 3,5-diiodo-thyronine vise à atteindre un but opposé; l'augmentation de la solubilité permettant l'administration buccale.

Que l'action des hormones puisse être augmentée par la présence de substances par elles-mêmes physiologiquement inactives, résulte d'une part de l'élévation de l'effet lutéinisant du sérum de jument gonadotrope par le sulfate de zinc, et d'autre part de l'augmentation de l'effet physiologique de la testostérone dans le test de la vésicule séminale. Cet effet peut devenir plusieurs fois plus fort sous l'action de la « substance x » de Laqueur. Cette dernière action peut aussi être obtenue, d'après Miescher. au moyen de certaines substances de constitution connue, telles que l'acide palmitique.

On pourrait imaginer que l'action de l'acide palmitique repose sur l'estérification de l'hydroxyle de la testostérone, ce qui amènerait une modification de la résorption. Ce qui a donné de la vraisemblance à cette hypothèse, c'est la prolongation et l'intensification de l'action de l'œstradiol par benzovlation, particulièrement en position 3 (Schwenk et Hildebrandt, 1933). Les benzoate et palmitate de testostérone sont, d'après nos expériences, très peu actifs. On parvient, par contre, en estérifiant la testostérone par des acides inférieurs à obtenir une forte augmentation de l'activité et de la durée d'action sur les glandes annexes de rats castrés. L'effet optimal est atteint pour le propionate de testostérone, lequel a pour cette raison été introduit comme hormone dans la pratique. Alors que le propionate est un peu moins actif que la testostérone dans le test de la crête de coq, on peut, par son aide, dans des conditions déterminées, obtenir pour les glandes accessoires que l'effet d'augmentation de poids soit cinq fois et celui de prolongation de durée environ trois fois plus grand que pour la testostérone. Mais, également dans la série de l'œstrone l'estérification au moyen d'acides inférieurs est plus avantageuse que celle avec l'acide benzoïque.

3. b. Imitation de l'action hormonale. — On a pu imiter, partiellement ou presque totalement l'action de certaines

hormones, non seulement par l'emploi de combinaisons qui possèdent le même squelette carboné que celui de l'hormone produite par la glande, et dont la présence a pu être constatée dans d'autres parties de l'organisme, mais aussi par l'action de substances tout à fait étrangères à l'organisme. Dans bien des cas il ne s'agit là que d'une reproduction de l'une des nombreuses actions d'une hormone, sans que les effets physiologiques ainsi obtenus puissent être considérés comme remplaçant réellement ceux de l'hormone considérée. Ainsi, par exemple, les 3,4- ou 4, 6-dinitrophénols élèvent le métabolisme encore plus que la thyroxine ou la 3,5-diiodo-thyronine, mais la guérison du myxædème au moyen de ces dérivés nitrés n'est pas possible. La synthaline (décaméthylène-diguanidine)

abaisse la teneur en sucre sanguin et agit ainsi apparemment comme l'insuline; en réalité l'action de la synthaline aboutit à un empoisonnement du foie, étant ainsi nuisible pour l'organisme.

De même, dans le remplacement de l'ocytocine, l'hormone du lobe postérieur de l'hypophyse, par l'histamine, l'effet de contraction de l'utérus ne doit être considéré que comme superficiellement correspondant.

Une des imitations les plus remarquables de l'action d'une hormone au moyen de composés chimiques, tout à fait différents, est bien réalisée pour les deux phytohormones, l'auxine A et l'hétéroauxine (Kögl). Il s'agit ici de deux composés élaborés par les plantes et apparaissant simultanément, et qui ainsi sont à considérer tous deux comme phytohormones, au sens le plus strict de la définition. L'hétéroauxine (acide β-indolylacétique) peut aussi de son côté être remplacée par d'autres substances analogues, contenant à la place de l'anneau indolique, les anneaux benzénique, naphtalénique ou un autre système annulaire. Kögl a pu montrer récemment une importante différence de propriétés entre l'auxine A et l'hétéroauxine. En solution aqueuse l'auxine A est en équilibre avec sa lactone et tandis que l'auxine est insensible

à l'action de la lumière ultraviolette, la lactone est transformée dans ces conditions en une combinaison physiologiquement inactive. Cette propriété de la lactone pourrait avoir une influence sur le mécanisme du phototropisme positif des plantes. Une action semblable ne peut, par contre, être reproduite par le même mécanisme pour l'hétéroauxine.

Il semble qu'on ne connaisse qu'un seul cas où une action hormonale soit reproduite jusque dans tous ses détails connus et cela par une substance complètement étrangère à l'organisme. Le plus surprenant, c'est qu'il ne s'agit pas ici, d'une fonction relativement peu spécifique, telle une modification de la teneur du sang en un composé déterminé ou une influence sur la croissance, mais bien de l'action si extraordinairement multiforme et typique de l'hormone æstrogène. E. C. Dodds qui a découvert cette action, en donnera lui-même les détails. Un exemple seulement sera donné ici. L'on peut, au moyen de quelques centièmes de milligramme de dipropyl-dioxydibenz-dihydro-anthracène obtenir déjà un effet positif dans le test Allen-Doisy.

Bien que cette dose soit plusieurs centaines de fois plus forte que celle qui accuse le même effet lorsqu'il s'agit d'æstradiol ou d'æstrone, il n'en est pas moins étonnant que l'on puisse, au moyen de ce dérivé anthracénique, reproduire l'action de l'æstrone sur l'hypophyse et sur l'instinct d'accouplement de rates castrées. L'avenir nous apprendra s'il est possible de déceler quelque différence entre l'action de ces deux classes de corps si différents; ce serait là un réconfort pour les partisans d'une définition plus stricte des hormones.

Rappelons encore ici, per un exemple pris dans le domaine des hormones stéroïdes, combien différente peut être l'influence d'une même modification chimique, sur l'action d'hormones naturelles de constitution analogue. La progestérone, la testo-stérone et la corticostérone possèdent toutes les trois à la même place dans un système cyclique identique, un groupement céto-nique non saturé en αβ, lequel en tant que groupe chimique très réactif doit certainement avoir de l'influence sur l'apparition de l'action physiologique. L'hydrogénation de cette double soudure, amène pour la progestérone et la corticostérone la perte complète de l'action physiologique, tandis que les propriétés d'hormone mâle de la testostérone ne sont, pratiquement, qu'à peine influencées par une telle saturation.

4. Relation existant entre les hormones et d'autres substances actives. — On a souvent discuté ces dernières années la question de savoir s'il existe une démarcation nette entre hormones et vitamines, ou entre ces combinaisons et les enzymes; ou encore si une distinction rigoureuse entre les substances actives produites dans la nature et leurs imitations plus ou moins réussies, a un sens. Nous désirons ici, au moyen de quelques exemples typiques envisager quelques-uns des points de vue soulevés par ces questions.

Si l'on définit les hormones comme produits de la sécrétion interne, et les vitamines comme substances végétales introduites par l'alimentation, on aboutit bientôt à des contradictions. La plupart des vitamines sont bien fournies toutes prêtes par les plantes, d'autres par contre, comme la vitamine A, ne se trouvent pas dans le monde végétal, mais se forment seulement dans l'animal à partir de matières premières fournies par les plantes. La vitamine D se trouve, il est vrai, dans la nourriture végétale, mais peut aussi être formée chez l'animal à partir de prévitamines d'origine végétale. Les rats sont capables de préparer leur vitamine C à partir d'hydrates de carbone, montrant ainsi une faculté que ne possèdent ni le cobaye ni l'homme.

Il a été démontré de plus que certaines vitamines peuvent exercer des actions hormonales, ainsi, par exemple, la vitamine D, administrée à forte dose, constitue l'une des nombreuses substances œstrogéniques. D'après Kögl, l'aneurine (une vitamine), l'æstrone (une hormone sexuelle) et la biotine (une phytohormone), favorisent la croissance des racines chez les pois. Mais on connaît aussi des cas où la nature elle-même utilise la même substance en tant que vitamine et qu'hormone. Ainsi l'aneurine (vitamine B<sub>1</sub>) est l'une des phytohormones du groupe du bios et comme telle est importante pour la germination des grains de riz, d'où elle fut isolée d'abord comme vitamine. On connaît, par contre, des cas où le même processus physiologique peut être contrôlé aussi bien par une hormone que par une vitamine. Le métabolisme du calcium et la croissance des os dépendent de la vitamine D et de la parathormone.

En particulier la croissance, un processus important mais peu spécifique, est influencé par un grand nombre de substances actives. La vitamine A est aussi qualifiée de vitamine de croissance; mais il y a encore d'autres vitamines responsables de la croissance de l'homme et des animaux et une hormone de croissance existe dans le lobe antérieur de l'hypophyse.

Il y a aussi des relations entre hormones et vitamines et les enzymes. Nous nous bornerons à l'exemple de l'aneurine, reconnue d'abord comme vitamine et beaucoup plus tard comme phytohormone, et laquelle estérifiée par l'acide pyrophosphorique représente le groupe actif de la cocarboxylase, comme l'estérification de la lactoflavine par l'acide phosphorique conduit au groupe actif du ferment jaune. Si l'hypothèse de l'action de la corticostérone en tant que transporteur d'acide phosphorique se vérifiait, on aurait affaire dans les trois cas, au point de vue chimique, à un groupement alcoolique primaire, facile à estérifier et abandonnant ensuite facilement l'acide phosphorique. Certaines hormones de nature albuminoïde pourraient être considérées peut-être comme antigènes, étant donnée leur faculté d'engendrer des antihormones.

Nous devons encore attirer l'attention sur l'absence de frontières nettes entre les substances actives et les substances alimentaires. A côté des dix éléments importants, en quantité massive, pour l'alimentation des plantes, le carbone, l'hydrogène, l'oxygène, l'azote, le soufre, le phosphore, le potassium, le calcium, le magnésium et le fer, il s'avéra que la présence d'autres, tels que le manganèse, le cuivre, le zinc, à l'état de faibles traces est tout aussi nécessaire à la vie, tout au moins pour certaines plantes. La β-alanine et la leucine gauche, actives en tant que principes du bios, sont aussi, ainsi que la mésoinosite des aliments typiques. Il n'y a qu'un pas de ces aminoacides à la tyrosine et l'histidine, pour lesquelles on ne connaît pas de fonction de substance active, mais qui sont toutefois importantes pour la vie; la tyrosine peut-être aussi pour la production de l'adrénaline et de la thyroxine.

5. Définition des hormones et vitamines et leur genèse dans l'évolution animale. — Nous avons vu que ni l'apparition d'un effet physiologique ni les propriétés physiologiques d'une substance active ne sont absolument spécifiques. On rencontre dans la nature quantité de mécanismes et de propriétés que le développement toujours plus grand de la recherche biochimique multipliera certainement de plus en plus.

La question se pose de savoir, si l'on peut conserver des dénominations telles qu'hormones ou vitamines ou s'il convient de s'en tenir à un nom unique, par exemple à celui d'« ergones », comme le propose H. von Euler. Une telle unification serait plus ou moins justifiée, bien que des désignations aussi solidement enracinées qu'hormones et vitamines n'aient pas plus de raison d'être rejetées que d'autres termes généralement usités et ne correspondant pas à une définition précise. La science a certainement besoin d'une nomenclature distincte pour des groupes de substances qui répondent à des définitions précises. Si l'on considère les zoohormones comme produits de glandes à sécrétion interne, et les vitamines comme substances végétales nécessaires en petite quantité à la vie de l'animal, ou comme substances actives formées dans l'organisme animal à partir de substances végétales et pour la formation desquelles les glandes à sécrétion interne ne sont pas nécessaires, on a des définitions utilisables pour les deux groupes de corps et qui présentent une délimitation suffisamment nette lorsqu'il s'agit du règne animal. On n'a généralement pas à distinguer entre hormones et vitamines dans le règne végétal; on ne sera pas incommodé dans la biochimie animale, en ce qui concerne ces concepts, par certaines discordances intéressant le domaine végétal.

On fera donc bien de séparer la conception d'hormone (ayant la même signification que zoohormone) de celle de phytohormone, malgré leurs nombreux caractères communs. Que les vitamines animales soient importantes aussi comme phytohormones pourra être considéré comme une coïncidence.

Lorsque l'on voit le botaniste L. Jost s'élever contre la distinction des substances actives en étrangères à l'organisme et issues de l'organisme (1937) et le chimiste Kögl objecter qu'il paraît plus que jamais indiqué de considérer les substances actives utilisées par l'organisme même, comme constituant une classe spéciale, on peut à certains points de vue les comprendre tous deux. On peut toutefois s'étonner que le point de vue chimique ait été défendu par le botaniste et que le chimiste se soit montré plus biologiste. Du point de vue purement chimique, dans la relation entre l'action physiologique et la constitution chimique, toute distinction arbitraire entre combinaisons d'égale action physiologique est injustifiée. Le pur chimiste entrevoit peut-être par l'esprit un genre humain, chez lequel les glandes à sécrétion interne seraient atrophiées et qui cependant jouirait du meilleur bien-être, du fait que dans son alimentation, en même temps que de vitamines artificielles, il ferait usage des substances æstrogènes de Dodds et autres créations tout à fait nouvelles du domaine des hormones artificielles. On n'aurait plus alors de difficultés de définition, car l'homme n'aurait plus recours à la plante ni aux glandes, mais seulement à la fabrique chimique. Au point de vue du biologiste dont la tâche est d'étudier la vie normale. on aura, par contre, avec Kögl à distinguer rigoureusement entre les substances actives harmonieusement adaptées à l'organisme et les substances de remplacement. Mais on ne doit pas tomber d'un extrême dans l'autre et considérer ces substances actives comme absolument parfaites et tout à fait irremplaçables. Pour éviter une telle erreur, il suffit de se demande, comment les vitamines et les hormones en sont arrivées, au cours de l'évolution du monde animal, à leur signification prépondérante pour la vie. Les vitamines sont des substances végétales auxquelles les organismes animaux se sont si bien habitués, qu'elles leur sont devenues nécessaires pour l'existence même. Il n'existe toutefois pas de relation causale entre les vitamines et les prévitamines formées dans les plantes, d'une part, et, d'autre part, un besoin de ces substances qui existerait a priori chez les animaux. De façon analogue on peut considérer les hormones comme produits accidentels du métabolisme animal, auxquels l'animal s'est si bien adapté, qu'ils sont devenus indispensables pour le processus vital. Les conditions accidentelles, par suite desquelles les vitamines et les hormones en sont arrivées à leur rôle significatif rendent superflu tout étonnement quant à leur peu de spécificité et font croire que logiquement il doit exister des substances capables de les remplacer.

### DISCUSSION DU RAPPORT DE M. RUZICKA.

M. Polonovski. — Je ne voudrais pas revenir sur les questions de définition qui ont occupé déjà une partie trop importante de nos discussions; qu'il me soit néanmoins permis de faire quelques réserves sur le caractère général des hormones, dont il serait peut-être prématuré d'affirmer qu'elles puissent toujours agir à l'exclusion du système nerveux. Même dans les organes énervés il subsiste un système nerveux végétatif intrinsèque, dont le rôle dans l'action physiologique hormonale reste possible.

M. Ruzicka a fait ressortir très ingénieusement une analogie de structure entre la chaîne latérale de l'adrénaline et l'acétylcholine; mais ce rapprochement n'est-il pas bien artificiel, puisque l'action hormonale de cette dernière est essentiellement liée au groupe acétyle, qui fait défaut dans l'adrénaline, et que, par ailleurs, la transformation de celle-ci en sel d'ammonium quaternaire, à l'image de l'acétylcholine, fait tomber son activité. Je ne crois pas non plus que l'on puisse tirer du fait que le dérivé désaminé de la thyroxine, R.CH2.CO.CO OH, agisse sur le métabolisme comme la thyroxine, la conclusion que la fonction aminée n'est pas d'une signification primordiale, car l'introduction dans l'organisme d'un acide α-cétonique peut toujours Atre suivie d'une réamination. Le rapport 3/11 dans lequel l'activité physiologique diminue ne serait, en quelque sorte, que le rendement de cette synthèse in vivo de la thyroxine aux dépens de l'acide cétonique correspondant.

Je signalerai, à titre de simple renseignement documentaire en ce qui concerne l'hypothèse d'un groupement actif dans la constitution de l'insuline, qu'il a été publié récemment que la digestion intestinale in situ de l'insuline pouvait conduire à des produits de dégradation plus actifs que le produit initial.

Je demanderai aussi à M. Ruzicka, pour mon instruction personnelle, si l'on connaît les deux dihydroéquilénines cis et trans analoguesaux α- et β-œstradiols et si l'une de ces substances est plus active que l'équilénine?

Enfin, puisque j'ai été amené à prendre la parole à la suite du remarquable Rapport de M. Ruzicka, je veux en profiter pour rappeler que parmi les pionniers de la chimie des hormones, cités dans le tableau schématique de la page 266, il semblerait équitable d'ajouter le nom de M. Gabriel Bertrand qui a isolé le premier l'adrénaline dans un état chimiquement pur, ce qui a permis l'étude et l'élaboration de la constitution définitive.

M. Dodos. — La notion de sécrétion interne a été usitée par Claude Bernard dans une acception bien différente de celle qu'on lui donne aujourd'hui. Il se servait de cette expression pour désigner le passage du glycogène du sang vers l'intérieur du foie.

La première allusion nette à la sécrétion interne telle qu'on la conçoit actuellement, a été faite dans un travail d'Oliver et Schæfer datant de 1895. Ces chercheurs montrèrent qu'un extrait de glandes surrénales est capable d'élever la pression sanguine; ils ont suggéré que certaines glandes produisent une sécrétion qui passe dans le sang et possède un effet utile. M. Murray fut le premier à faire usage d'une sécrétion interne comme agent thérapeutique, lorsqu'il montra qu'il est possible de guérir le myxœdème par injection d'un extrait de glande thyroïde du mouton.

En ce qui concerne l'action du zinc, il semble que ce dernier agisse sur les tissus et non sur les hormones. Ceci résulte d'un travail exécuté dans mon laboratoire et qui montre que le zinc est capable de retarder l'action de l'histamine et de la pitressine (principe hypertenseur du lobe postérieur de l'hypophyse), à en juger par l'effet produit sur la sécrétion gastrique.

Les récents travaux d'Evans et de ses collaborateurs sont de la plus grande importance, parce qu'ils démontrent qu'il existe au moins trois facteurs dans la substance gonadotrope du lobe antérieur, à savoir :

- 10 Un stimulant des follicules;
- 2º Un lutéinisant des follicules;
- 3º Un stimulant interstitiel des cellules.

A propos de la remarque de M. Polonovski, je signalerai qu'il a été maintes fois prouvé que l'action des hormones ne peut être mise en évidence sur des coupes de tissus selon la technique de Warburg.

La référence relative aux enzymes et à l'insuline se rapportait probablement à l'action de la trypsine. Il a été établi que l'inactivation est réversible, mais des travaux ultérieurs, exécutés par de nombreux chercheurs, n'ont pas réussi à confirmer ce point de vue:

M. LAQUEUR. — 1º J'exprime mon admiration au chimiste qui a su, en si peu de temps, acquérir et exposer avec autant d'autorité, une vue d'ensemble sur la biologie de glandes aussi importantes. Je voudrais pouvoir en faire autant dans le domaine de la Chimie.

2º En réponse à la question de priorité dans la découverte des hormones et à la remarque de M. Dodds, je signalerai qu'il y a environ 90 ans, L. Berthold de Göttingen a mis en évidence l'existence de telles substances au cours de recherches sur la greffe de testicules chez les coqs châtrés. Il a exprimé clairement qu'il s'agissait de substances existant dans la circulation du sujet châtré et qui sont importantes pour le « consensus ». Nous dirions aujourd'hui qu'elles agissent sur le caractère morphologique et fonctionnel mâle. Minkowski, lui aussi, il y a 50 ans, a formellement attribué à l'émission d'une substance (qualifiée plus tard d'insuline) l'amélioration observée dans le diabète après implantation de greffes pancréatiques consécutives à l'ablation de cet organe.

3º Au sujet de l'insuline, je rappellerai les recherches de Dingemanse, qui a pu obtenir des préparations approximativement six fois aussi actives que les cristaux d'Abel.

Mais ces préparations présentent l'inconvénient de ne pas se conserver. Des collègues comme feu Dudley de Londres et D. Discherl (à cette époque collaborateur de M. Freudenberg à Heidelberg) qui avaient mis en doute l'existence de produits aussi purs, ont pu faire, au cours d'un séjour chez nous, à Amsterdam, des expériences décisives.

Dans ces tous derniers temps, ont été préparées des solutions tant soit peu plus stables (se conservant quelques jours) et qui se rapprochent de l'unité internationale à moins de 30 ou 25 gamma au lieu de 43 gamma.

Peut-être serait-il souhaitable d'introduire dans ce domaine, comme on l'a fait pour le radium, la notion du temps nécessaire pour que l'activité tombe de moitié (« Halbwertzeit », temps de demi-transformation). Cela serait réalisable, disposant de données expérimentales sur l'instabilité de substances biologiquement très actives et de constitution bien connue, conservées dans des conditions favorables. Rappelons que l'extrait du lobe postérieur de l'hypophyse s'altère déjà en quelques minutes.

4º Les essais de synthèse de l'æstrone, d'après Marker, n'ont pas réussi davantage au laboratoire d'Amsterdam.

5º Je me demande sur quoi l'on se base pour affirmer que la substance extraite de l'urine d'homme et provoquant le rut est identique à l'œstrone.

6º Je renvoie à mon Rapport pour ce qui concerne la notion de spécificité.

— 7º Je voudrais enfin savoir quelle est l'opinion actuelle au sujet des expériences de Jaffé?

M. DRUMMOND. — Je voudrais rétablir la confiance de M. Laqueur dans les expériences de Jaffé qui ont trait à la formation d'acide muconique à partir de benzène dans l'organisme animal.

Nous les avons entièrement confirmées en isolant, sous la forme d'acide muconique, environ 0,4 pour 100 du benzène administré à des lapins.

M. F. Kögl. — D'après M. Bœseken, l'acide muconique résultant de l'administration de benzène à un chien est la forme trans-trans, tandis qu'on s'attendrait à obtenir la forme cis-cis.
 M. Bæseken en a conclu que l'acide muconique formé ne provenait pas du benzène.

M. DRUMMOND. — Je ne partage pas l'opinion exprimée par M. Bœseken, en effet, bien que la forme naturellement attendue

par ouverture du noyau benzénique soit la forme cis-cis, nous avons trouvé que celle-ci est convertie en forme trans-trans dans le corps du lapin.

Il n'y a donc pas de raison de croire que l'acide trans-trans muconique ait une autre origine que le benzène administré.

M. Barger. — Je félicite M. Ruzicka pour son intéressant et spirituel Rapport, si riche en documents. Je rappellerai que c'est Jean de Meyer, de Bruxelles, qui, vers 1907, a le premier suggéré le nom d'insuline pour le principe actif des îlots de Langerhaus.

Dans la relation entre l'action physiologique et la constitution chimique des amines sympathomimétiques, cette dernière déterminerait les propriétés physiques et géométriques que je considère comme cause principale de l'absorption de l'agent pharmacologique par la cellule.

J'aimerais savoir s'il est bien établi que l'hydroxyle en méta joue un rôle prépondérant dans l'adrénaline. Je me figure que la structure chimique détermine d'abord des propriétés de solubilité et d'autres propriétés physiques ou géométriques. Pour montrer l'influence de ces dernières, je citerai le fait établi par plusieurs exemples que la longueur optimale de la chaîne latérale correspondant au maximum d'activité dans les amines sympathomimétiques, est de 2 atomes de carbone, longueur qui pourrait correspondre par exemple à l'intervalle qui sépare l'azote benzénique et le phosphore acide dans la lécithine.

Les amines aliphatiques, en général, se fixeraient par leur azote au groupe phosphorique; dans les amines à noyau benzénique, ce noyau aurait en outre de l'affinité pour l'azote de la choline, affinité renforcée dans l'adrénaline par ses groupes phénoliques acides situés à la distance optima

Je me demande si les deux noyaux phénoliques (benzéniques)

dans la thyroxine ne déterminent pas, par leur position relative l'influence des 4 atomes d'iode; par exemple

Au point de vue pharmacologique, j'attire l'attention sur le fait que l'effet global des amines sympathomimétiques sur la pression sanguine, est en réalité la résultante d'effets particuliers sur le cœur, les artérioles, etc., et ne constitue pas une vraie mesure de leur activité. M. Tainter a, en effet, distingué les sympathomimétiques vrais comme l'adrénaline et d'autres catéchols, des amines du type tyramine qui ne ressemblent à l'adrénaline que d'une façon superficielle.

M. Reichstein. — L'étude de la structure des éthers par voie physique, en particulier la mesure de leur moment dipolaire, permet de leur assigner une configuration brisée

Il est probable que dans la thyroxine les deux groupements phényle occupent une position analogue, telle

M. Zunz. — A propos de la question posée tantôt par M. Barger, on peut, à l'heure actuelle, affirmer que c'est le groupement OH en position méta qui est le plus important dans l'adrénaline pour ses propriétés sympathomimétiques. Ceci résulte des recherches dans divers domaines effectuées par Tainter, par Bacq et par d'autres physiologistes. L'adrénaline entrave ou empêche même la diurèse aqueuse, sauf à très petite dose, où elle possède un effet diurétique. En étudiant les différents sympathols ou synéphrines, substances ayant la même formule que l'adrénaline, mais avec un seul groupement OH, j'ai constaté que le métasympathol se rapprochait extrêmement de l'adrénaline dans ses effets sur la diurèse aqueuse, alors que ce n'est pas le cas du parasympathol. En outre, le composé lévogyre du métasympathol est beaucoup plus actif que le composé dextrogyre.

M. Barger a aussi parlé des recherches sur l'influence de l'adrénaline et des autres sympathomimétiques sur la pression sanguine et a signalé les critiques qui ont été faites aux résultats ainsi obtenus. Ces critiques s'appliquent surtout aux expériences anciennes dans lesquelles on n'a pas tenu compte de l'interaction des pneumogastriques par exemple. Actuellement, en utilisant l'atropine au préalable, on peut éviter cette cause d'erreur.

A faible dose, l'effet hypertensif de l'adrénaline est beaucoup plus marqué pour le composé lévogyre que pour le composé dextrogyre. Mais si l'on augmente la dose, ainsi que M. Lausay l'a montré, l'adrénaline dextrogyre finit par être aussi hypertensive que le composé lévogyre.

Cet exemple vient à l'appui des remarques faites à juste titre par M. Laqueur à propos de l'importance de la dose.

Qu'il me soit maintenant permis de rappeler les belles recherches d'Adolf Oswald de Zurich, à propos de la thyroglobuline.

Si l'on compare les effets de la thyroglobuline et ceux de la thyroxine sur la régulation de la glycémie, on constate la même chose dans les deux cas. Mais on doit avoir recours à de plus fortes doses de thyroglobuline et son action est plus lente. Ceci amène à supposer que la thyroglobuline n'agit que par une mise en liberté graduelle de thyroxine. Et il semble bien en être ainsi, car on observe par la méthode de la réduction au bleu de méthylène en tubes de Thunberg, un accroissement de la pression du sang en thyroxine chez un animal ayant reçu de la thyroglobuline.

Jusqu'à un certain point, on peut considérer la thyroxine comme un produit de scission de l'hormone thyroïdienne proprement dite dont se rapprocherait la thyroglobuline. 211 D'une manière générale, d'ailleurs, les hormones cristallisées isolées en Chimie biologique ne représentent pas les substances telles qu'elles se trouvent dans l'organisme, qui seraient des molécules plus compliquées, mais facilement attaquées par les ferments du tube digestif.

Je crois qu'il convient d'être très prudent avant d'affirmer l'existence réelle de toutes les hormones qu'on a isolées du lobe antérieur de l'hydrophyse. Elles ont été obtenues par ultra-filtration à des pH différents et on les définit par leurs effets. Riddle pour le lobe antérieur, Abel pour le lobe postérieur de l'hypophyse, se demandent s'il ne s'agit pas souvent de dislocations artificielles. Et peut-être est-ce bien le cas, ce qui n'enlève d'ailleurs rien à l'intérêt physiologique et pharmacologique des produits hormonaux ainsi isolés.

M. Barger s'est demandé si, dans bien des cas, au lieu d'envisager la relation entre la constitution chimique des hormones et leur action sur l'organisme, il ne conviendrait pas mieux d'envisager la relation qui existe entre leurs propriétés physiques et leur action physiologique.

M. Ruzicka pense que ceci n'a pas une très grande importance. Quoi qu'il en soit, il est certain que des substances ne peuvent jouer un rôle dans les cellules que si elles parviennent à y pénétrer. Or, dans certaines séries de composés, une action pharmacologique ou physiologique augmente en intensité avec le nombre d'atomes de carbone, jusqu'au moment où l'effet sur l'organisme diminue, puis disparaît par une nouvelle augmentation du nombre de ces atomes; ceci peut être dû à des medifications physiques qui s'opposent à la pénétration de la substance dans l'organisme.

Les anticorps existent probablement dans l'organisme à l'état normal, mais n'exercent pas leurs effets antagonistes parce qu'ils forment des complexes ou des combinaisons avec d'autres substances (peut-être de nature protéidique) qui neutralisent leur action. Cet état est modifié sous l'influence des antigènes et l'anticorps mis en liberté peut désormais entrer en combinaison avec l'antigène. Il s'agit donc, en réalité, de conflits d'affinités.

M. Bertrand. — La lecture dans le remarquable Rapport de M. Ruzicka des pages consacrées aux hormones de caractère protéidique et aux antihormones, suggère un rapprochement entre une observation publiée à une époque où il n'était pas question d'hormones, mais seulement de sécrétions internes et du problème récemment posé, ce rapprochement étant susceptible d'élargir le cadre de nos connaissances.

En étudiant les substances actives de certaines sécrétions internes des batraciens et des reptiles, nous avons trouvé Phisalix et moi, des hormones comme on dirait aujourd'hui de caractère chimique tout à fait différent suivant les animaux étudiés. Tandis que le venin cutané de salamandre aquatique contient de la salamandrine, un alcaloïde cristallisable étudié par Zaleski, celui du crapaud commun, renferme un mélange de bufotaline, de bafoténine, etc., enfin les venins des serpents possèdent les caractères des toxines et des substances protéidiques.

Nous avons reconnu que les hormones ophidiennes étaient sécrétées aussi bien par les serpents sans crochets, dit non venimeux, comme les couleuvres, que par les serpents munis de crochets dits venimeux, comme la vipère et le cobra. Nous avons ensuite mis à profit les expériences de Behring et de Roux sur la production des antitoxines à l'aide des toxines d'origine microbienne et nous avons obtenu ce que l'on est en droit d'appeler à présent des antihormones ophidiennes. Cette découverte a été à la base de la sérothérapie des morsures de serpent (1893-1894).

La suite de nos expériences a répondu d'autre part, et en quelque sorte, par avance à la question posée par M. Ruzicka au sujet de la production des antihormones. M. Zunz vient déjà de se demander si les anticorps ne sont pas des parties constitutives normales du sang. Nous avons étudié comparativement une série d'animaux : leur sang renferme à l'état normal des proportions d'antihormones ophidiennes très variables suivant les espèces.

Parfois, comme chez le hérisson et surtout chez l'ichneumon ces proportions suffisent à protéger fortement les animaux contre les morsures de serpent. On peut donc admettre, au moins à titre d'hypothèse de travail, que la production des antihormones est une fonction commune aux espèces animales, peu marquée chez les unes, davantage chez les autres et qu'elle peut être excitée par l'administration d'une dose physiologiquement élevée d'hormone (1895-1896).

M. Ruzicka. — 1º Par actions hormonales dans lesquelles n'intervient pas le système nerveux, on n'entend que celles qui sont indépendantes du système nerveux central.

2º La dihydroéquilénine possédant 5º pour 100 de l'activité de l'équilénine est évidemment l'isomère ayant l'hydroxyle en 17 en position cis avec le méthyle voisin.

3º Koch et Gallagher ont conclu à la présence d'æstrone dans l'urine d'homme à la suite d'expériences comparatives. Il est difficile d'affirmer jusqu'à quel point ces conclusions sont fondées.

4º Pour parler de la spécificité d'une hormone ou d'un hormonoïde, on doit maintenir bien séparés le point de vue purement chimique et le point de vue purement physiologique. Il n'existe pas de spécificité chimique. Il y a un an j'ai soutenu que seule l'action physiologique pouvait être qualifiée de spécifique.

5º On peut à peine distinguer la signification des facteurs chimiques et physiques dans l'action physiologique.

Si l'on considère le volume occupé par la molécule comme particulièrement important pour son action, on doit se souvenir que dans les hormones androgènes, par exemple, on peut, par modification de la configuration stérique, supprimer complètement l'activité sans que le volume de la molécule s'accroisse de façon appréciable. La saturation de la double soudure chez les hormones androgènes ne modifie que très peu leur activité, tandis que pour la progestérone et la corticostérone, l'hydrogénation conduit à la perte complète de l'activité. Dans les deux cas, le changement minime que subit le volume de la molécule est de même grandeur, ce volume ne peut donc être, a priori, déterminant en ce qui concerne l'activité.

6º On ne peut pas considérer comme hormone chacun des produits de la sécrétion interne physiologiquement actif, mais seulement ceux qui exercent une action que l'on peut considérer comme hormonale, c'est-à-dire agissant sur des organes éloignés du lieu où ils sont formés.

# BIOLOGIE DES HORMONES SEXUELLES

PAR ERNEST LAQUEUR.

Donner un aperçu sur la physiologie, ou pour mieux dire la biologie, le comportement des hormones sexuelles dans l'organisme bien portant et malade tout en considérant la plupart des travaux parus à ce sujet, est impossible pour des raisons matérielles et personnelles. Au point de vue « raisons matérielles », je ne dispose pas de la place nécessaire, au point de vue personnel je ne dispose pas du temps et des connaissances suffisantes. C'est pour cela que je ferai abstraction de toute indication de noms. Au cours des dix dernières années plus de 4000 travaux out paru dans ce domaine en y comprenant les communications purement chimiques (il est vrai en petit nombre) où l'on parle des actions biologiques. Je me bornerai donc à examiner divers points de vue, qui permettront de se rendre compte du sujet envisagé, sans toutefois être à même d'en examiner toutes les particularités, et je devrai à plusieurs reprises attirer l'attention sur le caractère problématique de mon exposé. En élargissant et en éclaircissant ainsi le problème, j'espère aussi mettre en lumière des progrès importants au point de vue thérapeutique qui m'intéressent énormément comme médecin.

Je considère comme une idée particulièrement heureuse de réunir des médecins, des biologistes et des chimistes pour s'occuper de cette question, car ce n'est que de cette manière qu'on évitera de considérer le problème d'un seul point de vue, ainsi que c'est toujours le cas pour les représentants d'une discipline donnée. Motifs des progrès au cours de la dernière période décennale. — Commençons par des considérations historiques et demandonsnous tout d'abord pourquoi le domaine qui nous occupe n'a fait de progrès qu'avec tant de retard et en réalité seulement au cours des dix dernières années. La réponse à cette question permet déjà de reconnaître les différents points de vue dont l'examen approfondi me paraît promettre de nouveaux progrès.

- 1º Dans les périodes antérieures aux dix dernières années les relations entre les différentes activités d'organes isolés ont été envisagées trop au point de vue nerveux (c'est-à-dire surtout physique) et trop peu au point de vue hormonal.
- 2º Il nous manquait des notions claires sur ce que l'on doit entendre par :
  - a. Hormones et spécialement par hormones sexuelles;
- b. Des termes comme « sexe », « spécifiquement masculin », « féminin » exprimaient des contrastes trop absolus et paraissant même infranchissables;
- c. On ne comprenait pas du tout ce qu'on voulait dire par la notion de spécificité.
- 3º Dans la plupart des travaux, ou bien on n'a pas du tout envisagé le point de vue quantitatif, ou bien on ne l'a fait que d'une façon insuffisante.
- 4º En outre, dans ces recherches on n'a pas fait jouer un rôle suffisant aux autres facteurs qui interviennent lors de l'action envisagée, en plus de l'hormone examinée.
- 5º Des considérations morales conféraient aisément une sorte de mauvaise réputation aux travaux relatifs à ce domaine et prêtaient, de plus, facilement à la satire.

Les motifs des progrès des dix dernières années dépendent essentiellement de ce qu'on a pris de plus en plus en considération les données dont il vient d'être question, plutôt que du fait que, comme dans d'autres domaines, on a employé des méthodes nouvelles pas encore utilisées auparavant, telles que des recherches avec de nouvelles espèces de rayons, avec des grossissements pas encore utilisés, de nouveaux moyens d'extraction et de nouveaux appareils. Ajoutons que, malgré l'excellence des chimistes qui se sont préoccupés de déterminer la constitution et plus tard la synthèse des hormones sexuelles, de leur propre aveu, ils n'ont pas suivi de nouveaux chemins. D'ailleurs, plusieurs d'entre eux ont probablement ouvert de nouvelles voies à des recherches plus importantes par leurs travaux dans d'autres domaines qui sont moins à l'avant-plan de l'intérêt, par suite de leur peu d'importance pratique.

Classification des substances. — La biologie des hormones sexuelles se préoccupe d'une part de l'action de ces substances dans l'organisme vivant, d'autre part de leur destinée dans cet organisme. Cette destinée des hormones comprend à son tour leur production, leur désintégration, leur élimination, etc. Pour leur destinée il peut être important de savoir si ces substances ont été formées dans l'organisme ou lui ont été apportées artificiellement. En outre, la destinée de ces substances doit envisager leurs rapports avec l'organe où s'effectue leur action.

Problèmes qui se posent. — Les deux parties, l'action des hormones sexuelles et leur destinée dans l'organisme, sont descriptives et sont fort éloignées de la compréhension des facteurs auxquels leurs effets sont dus. Peut-être, en envisageant lors de la description de chaque action, le sort particulier de la substance envisagée, y parviendrait-on, tout au moins pour une part importante. Ceci exclut une séparation définitive entre ces deux points de vue, mais actuellement cette séparation est encore possible.

Les deux parties de ce Rapport ont un développement très différent : la deuxième partie, qui s'occupe du sort dans l'organisme des hormones sexuelles ne doit être considérée que comme un appendice et est surtout destinée à indiquer les problèmes qu'il y a lieu d'envisager.

Dans la première partie, consacrée à l'action des hormones sexuelles, nous nous occuperons non seulement de la description des différents effets, comme par exemple l'apparition de l'æstrus à la suite des injections d'æstrone, mais nous envisagerons aussi jusqu'à un certain point les conditions dans lesquelles cela se réalise. A vrai dire, nous connaissons bien peu de chose à ce sujet, ainsi que nous l'exposerons dans la partie générale, dans

laquelle nous parlerons aussi des termes habituellement employés. Cette partie générale sera suivie d'une partie spéciale consacrée à un aperçu sur les différentes actions. Nous passerons à peu près complètement sous silence les effets les plus importants pour les médecins, à savoir ceux produits chez l'homme, à propos desquels nous ne connaissons en réalité que ceux observés chez les malades.

#### I. - ACTION DES HORMONES SEXUELLES.

## A. — Partie générale.

Position du problème, définition des hormones. — Exprimons les actions en tant que fonctions des hormones sexuelles par l'équation W = f (hormones sexuelles).

Dans cette équation (1) on considère comme hormones sexuelles seulement les corps qui, à côté d'autres effets, ont une action sexuelle bien déterminée.

En envisageant les choses de façon plus précise, nous sommes obligés d'avoir recours à une formule plus compliquée. Soit e l'ensemble des différentes actions (effets) des diverses substances sexuelles ( $st_1 \cdot st_2, ..., st_n$ , nous désirons provisoirement éviter le mot hormone), alors la somme des effets de chacune des différentes substance devient  $S_1(e), S_2(e)$ , etc. Nous devons penser à ce qui est trop souvent oublié, et ceci pas seulement par des chimistes, que ces effets se produisent in vivo. Cet oubli acquiert d'autant plus d'importance, dans les derniers temps, qu'on a fait davantage de progrès en Chimie. Ainsi l'on tombe dans le danger d'une orientation unilatérale. Or, ceci a été le cas pendant quelques dizaines d'années parce que l'intérêt s'était limité à la biologie, et qu'on négligeait plus ou moins les réactions chimiques des substances introduites dans l'organisme. Le fait que la réaction de la substance examinée

<sup>(1)</sup> Les formules mathématiques employées ici ne représentent qu'une manière plus courte d'exprimer les faits, sans qu'il s'agisse d'équations véritables, puisque des facteurs tout à fait différents sont reliés entre eux (réactions, processus, substances, conditions physiques, etc.). La dénomination f signifie seulement « dépendant de », le + ne représente pas une addition, et S ne veut pas dire une somme mathématique mais « une quantité indéterminée de ».

se passe dans l'organisme et avec sa collaboration signifie que la substance st ne représente que l'une des nombreuses conditions qui, en pratique, sont presque infinies et qui doivent être présentes pour la réalisation de l'action. En effet, de nombreuses substances peuvent coopérer avec st et parmi elles interviennent souvent des substances sexuelles qui ne sont pas encore prises en considération. En outre, il ne faut pas perdre de vue les relations ou facteurs physiques (température, lumière, teneur en eau, concentration en ions H, etc.). Mais même en tenant compte de tout ce qui précède, on a encore laissé de côté les cellules et leurs éléments constitutifs, jusqu'aux amicrons, qui jouent à coup sûr un grand rôle.

Appelons tous ces facteurs fa; alors on exprimera pour chaque effet considéré la somme des facteurs par  $S_a$  (fa),  $S_b$  (fa), etc. Cette somme est certes toujours analogue, mais néanmoins elle diffère pour chaque effet et pour chaque substance, même lorsque celle-ci provoque le même effet qu'une autre substance. Si l'on veut décrire l'action d'une seule substance sexuelle par exemple de  $st_3$  la formule  $S_3$  (e) = f  $(st_3) + f$   $[S_c$  (fa)] montre qu'il existe encore un grand nombre d'inconnues.

Comment est-on parvenu cependant à connaître quelques-unes de ces valeurs?

On est parti d'un seul effet sexuel (ou processus) bien caractérisé par exemple l'action de l'æstrone chez le rat. On a autant que possible maintenu constante la somme des facteurs inconnus, S(fa) = k et l'on a, peut-être un peu prématurément recherché la substance et on l'a trouvée en o (= cestrone), pour laquelle  $e_{\text{sex}} = f(o + k)$ . A la vérité on doit malheureusement avouer qu'on ne s'est pas toujours efforcé d'obtenir la constance des facteurs d'une facon aussi consciente que cela aurait été nécessaire et que souvent on ne l'a pas atteinte. Or, on a reconnu plus tard dans quelle mesure la substance o joue un rôle (décisif) pour d'autres effets sexuels (e-2sex, e-3sex), etc., mais on n'a pas en général établi avec suffisamment de clarté que dans ce cas la fonction f n'est plus la même parce que les intensités des effets d'une seule substance, et à plus forte raison de plusieurs, ne peuvent guère être comparées avec une grande exactitude entre elles. On a déjà signalé que, même si l'on parvenait à atteindre la constante k des facteurs, elle ne représenterait pas la même chose pour les divers effets. Plus tard, les connaissances relatives à o se sont accrues et l'on a, en outre, recherché quelles autres actions non sexuelles ou même non spécifiques ou aspécifiques pouvaient être obtenues (e<sub>n</sub>-sp); ensuite on a recherché d'autres substances naturelles plus ou moins apparentées au point de vue chimique à la substance envisagée o; on a même essayé de les préparer artificiellement et d'étudier leurs effets sexuels. Il y a plus, on a réussi à préparer des substances à structures chimiques entièrement différentes qui présentent des actions biologiques analogues, d'ordinaire, il est vrai seulement, en quantités beaucoup plus importantes.

On est parvenu de cette manière à obtenir des substances qui déterminent l'æstrus, favorisent la croissance de la crête du coq, provoquent la prolifération de la muqueuse utérine, stimulent la croissance des vésicules séminales, etc., mais on a négligé de les classer d'après leur activité réelle. Au lieu de cela on a admis l'existence d'hormones dites « féminines » et d'hormones dites « masculines ».

Précisément en ma qualité de médecin, comme étant plus près de la pratique que la plupart d'entre vous, je désirerais être le dernier à méconnaître le grand avantage résultant du fait qu'on a déjà employé et qu'on emploie encore ces termes; mais, d'autre part je désirerais souligner que, comme je l'ai montré dès le début de ce Rapport, toute notion insuffisamment précise entrave le progrès. En effet, on admet alors sans plus ample examen comme connu ce qui reste à prouver et l'on évite même d'effectuer des recherches plus précises ce qui entraîne des conclusions erronées.

En ma qualité de rapporteur de la Biologie des hormones sexuelles, auquel on ne peut à coup sûr pas reprocher un manque d'intérêt ou une participation insuffisante à l'étude de ce domaine, je dois déclarer ceci : Actuellement je ne connais pas d'hormone sexuelle qui réponde à la définition que j'ai proposée il y a plus de dix ans. D'autre part, plus encore qu'à cette époque, je suis persuadé qu'il existe des hormones sexuelles. Entre autres choses, une hormone est une substance : 1º qui se forme « telle quelle » dans l'organisme ou tout au moins peut s'y rencontrer « telle quelle » à un endroit donné ; 2º qui circule dans l'organisme. Cette

dernière particularité est indispensable si l'on ne veut pas être forcé de rejeter les bases mêmes de la théorie des hormones, d'après lesquelles une substance formée dans l'organisme détermine un phénomène qui s'accomplit loin de l'endroit où elle a pris naissance. Or, jusqu'à présent on n'a démontré pour aucune des hormones sexuelles qu'elle existait « telle quelle » à l'endroit où l'on suppose qu'elle se forme et qu'elle circulait « telle quelle » dans l'organisme.

On a trouvé l'œstradiol dans le liquide folliculaire du porc, mais on n'en a pas démontré, chez cette espèce animale, la présence dans les liquides de l'organisme et les milieux (sang, urine) qui pourraient servir à son élimination. Il en est de même pour la testostérone, découverte dans les testicules du taureau, et dont on n'a pas constaté la présence dans les liquides de l'organisme.

Je ne m'étendrai pas davantage sur la notion de la présence d'une substance « telle quelle » dans l'organisme, et je me bornerai à appeler l'attention sur le fait qu'elle n'est nullement certaine jusqu'à plus ample information. En vérité, jamais dans l'organisme on ne rencontre une substance à l'état libre comme c'est le cas dans les tubes d'un chimiste; peut-être ne serait-il pas superflu de contrôler, de façon plus précise qu'on ne l'a fait jusqu'à présent, si les méthodes de préparation (ou d'extraction) n'influencent pas davantage la constitution chimique de la substance extraite qu'on ne l'admet (par exemple lors de la saponification d'un ester préparé comme produit intermédiaire). Peut-être suis-je particulièrement autorisé à émettre ces réserves; puisque dans mon laboratoire nous avons employé de l'acide sulfurique concentré pour obtenir la testostérone. Bien entendu, je ne désire pas poursuivre plus longtemps le point de vue chimique de la démonstration de l'existence de substances « telles quelles » dans l'organisme, déjà parce qu'il est difficile d'en donner une preuve péremptoire. Ce que je voudrais surtout mettre en évidence, c'est la nécessité de nouvelles recherches destinées, à partir des produits qui paraissent le plus devoir être considérés comme des hormones réelles, à apporter des preuves de l'existence des propriétés permettant de rentrer dans la définition donnée plus haut de ce groupe de substances. C'est l'æstradiol qui paraît se rapprocher le plus de ce titre honorable, car ce composé se rencontre dans

les follicules du porc et probablement aussi dans les follicules et l'urine du cheval.

Peut-être pour beaucoup d'entre vous le maintien de la définition des hormones énoncée, plus haut, paraît-il superflu et semblet-il même exagéré. Pourquoi ne pas se déclarer satisfait pour l'œstradiol, puisque cette substance a été trouvée tant dans l'ovaire que dans l'urine. Et pourtant il n'est nullement exagéré d'exiger davantage, à savoir la démonstration de la présence dans l'ovaire et dans l'urine chez une même espèce animale.

Rien qu'en conservant de façon inébranlable la définition des hormones, on se trouve en présence de questions importantes pour la théorie et la pratique. Les voici : que devient une substance formée à un endroit déterminé dans l'organisme ou introduite dans celui-ci? Sous quelle forme cette substance agit-elle? Quelles transformations subit-elle dans l'organisme? Où est-elle retenue? Comment est-elle éliminée? En résumé quelle est la destinée de l'hormone présumée? Ces problèmes doivent encore presque entièrement être élucidés; nous nous en occuperons dans la deuxième partie de ce Rapport donnée en appendice. Ils sont très importants, car on doit souvent se baser en pratique sur leur réponse pour choisir les substances qu'il faut employer en thérapeutique.

Postulats a priori sur les hormones sexuelles. — Comme nous l'avons déjà exposé, se basant sur la découverte des substances œstrogènes et de celles favorisant la croissance de la crête de coq, etc., on avait envisagé non seulement l'existence d'hormones sexuelles mais aussi d'hormones dites « féminines » ou « masculines ». A ces notions étaient liées a priori des conséquences théoriques, qui se sont révélées inexactes, lorsqu'on s'est trouvé en présence de substances pouvant mériter ces appellations. Ces conceptions paraissent s'être développées sous l'empire d'un contraste sentimental absolu entre les substances dites « féminines » et celles dites « masculines ». On s'attendait aux faits suivants :

1º Il existe pour chaque sexe une hormone sexuelle particulière, nécessoire pour le développement des particularités caractéristiques.

2º Une hormone sexuelle donnée n'existe à l'état normal que

dans un seul sexe; si néanmoins elle survient dans l'autre sexe, ceci provoque des écarts morphologiques et fonctionnels et des anomalies sexuelles.

3º Si l'on introduit artificiellement l'hormone sexuelle caractéristique d'un sexe chez un individu d'un autre sexe; d'une part des caractères hétéro-sexuels surviennent, d'autre part les propriétés du sexe propre de l'individu subissent des altérations et peuvent même rétrograder.

4º Ceci provient, tout au moins en partie, du fait que les propriétés sexuelles propres à l'individu sont entravées par l'hormone étrangère, et ceci plus particulièrement par suite de l'antagonisme immédiat exercé sur les tissus que l'on considère morphologiquement comme spécifiques de la sexualité. Par conséquent, si les deux hormones sont présentes en même temps, elles contrecarrent réciproquement leurs effets.

Ainsi que déjà dit, aucun de ces postulats n'est complètement exact et ils sont même peut-être tous erronnés.

ad. 1º L'historien constatera que l'on a parlé de l'hormone féminine tout particulièrement il y a 12 ans lorqu'on eut la joie d'avoir découvert des extraits actifs en partant du liquide folliculaire ovarien, extraits encore très éloignés d'une caractérisation chimique, mais beaucoup plus aisément utilisables que les extraits obtenus auparavant. Pourtant certains auteurs ont déjà fait preuve de prudence à cette époque et je me permets de rappeler que dans un Rapport paru il v a 10 ans, j'ai dit ceci : théoriquement il pourrait exister autant de substances différentes ayant des propriétés « féminines » qu'il existe de telles propriétés. Toutefois le nombre de ces substances pourrait être encore plus considérable car les mêmes phénomènes (par exemple le soi-disant œstrus, les modifications des mamelles) pourraient fort bien être provoqués par différentes substances. Actuellement il est universellement reconnu que tel est, en effet, le cas. On connaît à l'heure présente un grand nombre de composés chimiques qui peuvent provoquer les mêmes effets, notamment la cornification du vagin, donc l' « cestrus ». Mais, d'autre part, certains effets, tels que par exemple la formation de la membrane déciduale et la transformation de la muqueuse utérine en une forme capable de fixer l'œuf fécondé et

de le nourrir, ne sont jamais obtenus par les substances æstrogènes, mais uniquement, d'après nos connaissances actuelles, par une seule substance bien déterminée, la progestérone, contenue dans le corps jaune.

Il est tout aussi inexact d'admettre une seule « hormone masculine » qu'une seule hormone féminine. Dès le début des recherches dans ce domaine nous avons reconnu qu'il devait exister plusieurs hormones masculines. En particulier, nous avons toujours insisté sur les différences existant entre les extraits de l'urine et ceux des testicules, présentant tous deux des propriétés « masculines », Seuls les testicules paraissent contenir la testostérone.

ad. 20 Le deuxième postulat, selon lequel la soi-disant hormone « féminine » ne se rencontrerait que chez les femelles et la soi-disant hormone « masculine » que chez les mâles, est tout aussi inexact que la conception monistique des hormones sexuelles. En partant de cette idée erronée nous fûmes surpris de trouver la soi-disant hormone féminine dans l'urine de l'homme et dans l'organe que l'on peut considérer en quelque sorte comme le plus masculin de tous, à savoir le testicule. Il y a trois ans, B. Zondek a trouvé des quantités particulièrement importantes de cette substance dans l'urine des étalons, et ceci précisément à l'époque de leur maturité sexuelle. D'autre part, l'hormone « masculine » a été trouvée dans l'organisme féminin et n'a, en réalité jusqu'à présent, fait défaut dans aucune urine de femme. En employant les meilleures méthodes d'extraction utilisées à l'heure actuelle, on constate que les différences dans les quantités d'hormones mâles dans l'urine de l'homme et l'urine de la femme sont très faibles.

ad. 3º D'après ce qui précède, la troisième assertion, suivant laquelle la soi-disant hormone hétéro-sexuelle influencerait de façon négative les caractères propres à l'autre sexe, est devenue quelque peu douteuse. Il y a lieu d'appeler ici pour la première fois l'attention sur l'importance décisive dans notre domaine d'une notion trop souvent négligée, celle de la quantité d'une substance. En effet, à un endroit donné de l'organisme il n'existe pas une substance particulière, mais une quantité déterminée de la substance envisagée et celle-ci ne produit une action bien déterminée qu'en quantité bien précise et dans certaines circons-

tances particulières. Par conséquent, ce n'est pas la présence d'une hormone mais seulement sa quantité qui offre de l'intérêt. Chez les individus de l'autre sexe, l'hormone hétérosexuelle n'aura d'effets appréciables que dans des conditions bien déterminées et qui doivent encore faire l'objet d'investigations précises. Certaines de ces conditions peuvent déjà être réalisées maintenant : le développement des mamelles chez le mâle, celui du plumage chez le coq; d'autre part, le développement du clitoris chez la femelle le rendant analogue au pénis, etc. (voir plus loin).

ad. 4º L'action en sens opposé, la soi-disant influence antagoniste exercée par des hormones « hétéro-sexuelles » vis-à-vis des propriétés homosexuelles n'existe pas toujours. Quand elle se manifeste, c'est rarement par une opposition immédiate entre les actions des deux espèces d'hormones.

Ces considérations nous ont amené, en partant des notions d'hormones masculines et féminines, à établir deux groupes bien différenciés d'hormones sexuelles auxquelles viennent s'ajouter les soi-disant substances indifférentes qu'il vaut mieux appeler « ambi-sexuelles » ou « bisexuelles ».

Notion de la sexualité. — Il paraît indiqué d'essayer encore une fois d'éclaicir la notion sexuelle et de revenir sur la différenciation qu'il convient d'établir entre substances masculines, féminines et bisexuelles. En général on entend par sexuel uniquement ce qui différencie les deux sexes, et ceci qu'il s'agisse de substances, de structures, de fonctions, etc. Chaque différence particulière peut être envisagée comme un caractère sexuel, du moment qu'elle se produit d'une façon quelque peu constante (caractères primaires et secondaires (voir plus loin).

La différence entre les deux sexes peut être infiniment grande en ce qui concerne un caractère donné du moment qu'il ne peut pas du tout être mis en évidence dans un des deux sexes. Somme toute il n'existe aucune cellule, et de ce fait en toute rigueur aucune structure et aucun effet dans le corps, qui ne soit pas sexuellement différencié, étant donné que dans le noyau de toutes les cellules l'un des sexes possède un chromosome de plus que l'autre. Il est possible, bien que nullement certain, que cela soit sans aucune importance pour la plupart des cellules. On sait que chez les mammifères, et par conséquent chez l'homme, tout comme chez les amphibiens et chez les poissons, les cellules de la femelle ont un x-chromosome de plus que les cellules du mâle. Au contraire, chez les oiseaux et les reptiles ce sont les cellules du mâle qui possèdent ce x-chromosome supplémentaire. (Suivant quelques auteurs ce fait pourrait expliquer certaines différences caractéristiques que montrent les phases intermédiaires sexuelles dans ces deux groupes d'animaux (mammifères, etc. d'une part; oiseaux, etc., d'autre part.)

En principe le terme « sexuel » et par conséquent aussi celui d' « hormone sexuelle » n'ont rien à voir avec la reproduction et les organes auxquels cette fonction est dévolue. La reproduction pourrait fort bien se dérouler, même chez les êtres présentant des sexes différents, tant chez les mâles que chez les femelles, d'une façon absolument identique, par exemple par division ou bourgeonnement, sans que l'autre sexe joue de rôle particulier (sans union préalable des deux partenaires, ni mèlange de leurs produits sexuels, etc.). Toutefois dans ce cas une femelle ne donnerait naissance qu'à des individus femelles et un mâle qu'à des individus mâles; la différence sexuelle subsisterait donc, mais la reproduction même ne serait pas un processus sexuel.

Ce qui précède montre qu'il est impossible d'établir une liste des caractères sexuels, et si l'on essayait de le faire il faudrait la compléter sans cesse. Les différences sexuelles dépendent essentiel ement des ébauches. Seule l'expérience peut indiquer jusqu'à quel point les substances qui se forment dans l'organisme au cours de sa différenciation jouent un rôle. C'est encore des ébauches que dépend de quelle façon et à quel degré une pareille différenciation se produit. Toutefois quand ces substances déterminent des différences dans des structures ne paraissant pas différenciées sexuellement, cela ne tient pas nécessairement à des différences entre ces substances, mais (et en pareil cas l'apparence a pu être trompeuse), cela peut être dû à ce que les structures présentaient en réalité des dissemblances. C'est ainsi par exemple qu'une même substance peut provoquer un développement parfait de la glande mammaire chez la femelle et n'en déterminer qu'un très faible chez le mâle (rôle éventuel de l'inégalité du nombre des chromosomes, soit des conditions particulières présentées par le même organe dans les organismes femelle et mâle).

Notions sur les substances sexuelles masculines, féminines, ambi-sexuelles. — Les substances qui provoquent des différences sexuelles déterminées peuvent être désignées sous le nom de « substances sexuelles ». (Il a déjà été question plus haut du fait que ces substances ne peuvent pas être rangées d'office parmi « les hormones »), et l'on insistera encore là-dessus dans un chapitre spécial.

L'expression « sexuelle » comme épithète d'une substance revêt en général une double signification. La constatation qu'une substance donnée n'existe que dans un sexe lui confère l'attribution de sexuelle; par exemple la substance rouge-brunâtre qui ne se rencontre que sur la poitrine du rouge-gorge mâle peut être envisagée comme une substance sexuelle mâle. Mais, d'autre part, une substance doit aussi être considérée comme sexuelle si elle modifie des caractères sexuels, sans exister pourtant dans les deux sexes en quantités différentes (sexuellement caractéristiques). Si une substance modifie les caractères principalement dans le sens de l'un des sexes, elle est appelée soit substance femelle, soit substance mâle. Mais si elle modifie, suivant les circonstances, les caractères, soit dans un sens, soit dans l'autre, on doit la considérer comme une substance indifférente ou mieux bisexuelle.

Ce qui nous intéresse ici uniquement ce sont les substances sexuelles de la deuxième espèce, c'est-à-dire celles qui possèdent des effets sexuels.

Elles existent souvent dans l'un des sexes en quantité particulière, ou bien de façon constante, ou bien seulement à certaines périodes de l'existence. Par conséquent, on est en droit de les considérer comme des substances sexuelles de la première catégorie, mais je le répète, cela n'est pas absolument indispensable pour leur conférer la dénomination de substances sexuelles. L'expression « hormone sexuelle » désignant une forme spéciale de « substance sexuelle » exprime donc que pour cette substance l'effet est essentiel. Mais pour qu'une substance sexuelle puisse être considérée comme une hormone, nous avons déjà mentionné qu'elle doit répondre aux deux conditions suivantes : existence « telle quelle » et circulation dans l'organisme. Mentionnons encore un troisième caractère, sans vouloir entrer dans les détails, à savoir que l'on doit observer à l'état normal les effets sexuels provoqués par cette substance. Précisément ce caractère peut être utilisé pour établir une différence entre les substances dites « mâles » et celles dites « femelles ». En effet, la chose essentielle c'est la nature du processus qui se déroule dans l'organe mâle ou dans l'organe femelle.

Il existe une certaine subordination entre la substance et l'organe pour lequel on constate l'effet. Dans le même organe divers tissus peuvent réagir d'une façon différente sur différentes substances, On ignore encore complètement si ces substances mêmes arrivent jusqu'aux tissus. Mais ce qui est essentiel c'est que la substance st, modifie de préférence le tissu P, et que la substance st, modifie de préférence le tissu P1. Si, par exemple dans la vésicule séminale non développée, l'épithélium est modifié par la testostérone de telle façon qu'il corresponde exactement à celui d'une vésicule séminale adulte, il est modifié d'autre part par l'æstrone dans un sens pathologique, ce qui entraîne l'incapacité fonctionelle, et si, en outre, la musculature se renforce unilatéralement, etc., on est en droit, au point de vue téléologique, d'appeler la testostérone une substance active « mâle » et l'æstrone, qui provoque des modifications utiles analogues dans les organes femelles, une substance active « femelle ».

Notions sur les caractères sexuels. — Parmi les caractères sexuels aussi bien que parmi les effets sexuels, seuls jouent un rôle spécial, et ont donc été les points de départ de toutes les considérations sur les substances et les hormones sexuelles, ceux pour lesquels on a admis à l'état normal un rapport avec les gonades.

Un caractère sexuel consiste souvent seulement en une image morphologique. Malheureusement ceci n'est pas pris d'ordinaire en sérieuse considération, ce qui donne lieu à de nombreuses obscurités. Toutefois, en dehors de la modification morphologique d'un organe, un caractère sexuel peut être représenté par une substance, un processus, une action, une façon de se comporter, etc. C'est pour cela qu'il convient d'établir une distinction très nette entre les caractères (primaires et secondaires, etc.) et les organes (primaires et secondaires, etc.). Seule l'observation nous apprend si un caractère est primaire ou secondaire.

Le pénis, le vagin, ont été très souvent désignés comme organes sexuels secondaires, mais (et ceci constitue pour la sage-femme le premier signe caractéristique pour savoir s'il s'agit d'un garçon ou d'une fille), ils représentent des caractères primaires. Par contre, leur croissance ultérieure, qui se distingue d'une manière caractéristique de la croissance d'autres organes, à savoir qu'elle a lieu seulement à l'époque de la puberté et qu'elle dépend d'un autre caractère primaire, le testicule ou l'ovaire, constitue un caractère secondaire.

En un certain sens, les caractères sexuels secondaires n'apparaissent qu'après la naissance. Ce sont :

- a. Le développement de tous les organes sexuels (des primaires comme des secondaires). D'après la différence qui vient d'être établie entre les caractères et les organes d'une part, leur état primaire ou secondaire d'autre part, il n'est nullement illogique de considérer l'ovaire comme un organe primaire et d'envisager au contraire son développement lors de la puberté, par suite de l'intervention de l'hypophyse, comme un caractère secondaire, etc.
- b. Le développement de systèmes analogues en apparence, tels que les organes accessoires du revêtement cutané (cheveux, répartition des cheveux, panicules adipeux, cornes), la structure des os, la musculature, en outre des différences de comportement intellectuel qui peuvent se manifester déjà chez l'enfant (les petites filles préférant jouer à la poupée et les garçons avec des soldats et des chemins de fer).

Il est toujours aisé de démontrer que les caractères sexuels secondaires dépendent des caractères primaires (ce qui en somme justifie l'adjectif secondaire), sauf quand on les considère seulement en fonction du temps et après la naissance. On connaît certains faits depuis les époques les plus reculées; c'est ainsi que abstraction faite de la différence dans les caractères primaires, la castration entraîne, chez l'homme, des différences bien distinctes d'avec l'individu normal. Il faut, par conséquent, établir une distinction nette, parmi les caractères sexuels secondaires, entre

ceux qui se sont développés après la naissance, indépendamment des caractères sexuels primaires, et ne dépendant donc pas à proprement parler de ces derniers, et ceux qui représentent de « véritables caractères sexuels secondaires » dont l'apparition découle uniquement de l'évolution des caractères primaires. Cette dépendance ne doit toutefois pas se limiter aux « gonades », mais doit s'étendre à l'utérus, aux vésicules séminales, à la prostate, etc., tous organes qui pourraient également exercer des influences (éventuellement par des hormones).

Notions sur les effets sexuels. — En ce qui concerne les effets sexuels, ceux-ci appartiennent, lorqu'ils sont observés à l'état normal, aux caractères sexuels secondaires, parmi lesquels on comprend par exemple le développement. Beaucoup de ces effets sexuels, considérés comme processus, ne se produisent pas du tout ou ont un comportement particulier si les gonades « ne sont pas encore » ou « ne sont plus » développées, c'est-à-dire manquent totalement ou ont été supprimées. Les phénomènes de « déficit sexuel » doivent donc être attribués à la pénurie des substances sexuelles provenant des gonades. Faisons toutefois remarquer à ce propos que cette corrélation est souvent admise sans base expérimentale réellement suffisante, c'est-à-dire que le nombre des phénomènes sexuels attribués à ces substances est probablement moins considérable qu'on ne le pense actuellement.

D'autre part, on réduirait arbitrairement leur nombre de façon exagérée, si l'on n'admettait que les processus qui permettent de reconnaître d'emblée un rapport avec les gonades. Il faut considérer plutôt sans idée préconçue tous les autres processus, en ne tenant pas compte de ce que des substances déterminées y jouent un rôle ou non. Il ne sera en général pas facile d'exclure avec certitude une participation quelconque des gonades à des différences sexuelles, à moins d'opérer sur des individus châtrés à un stade embryonnaire très précoce.

Pour les actions et les effets (e), on a choisi intentionnellement l'expression processus afin d'indiquer qu'il peut s'agir aussi bien de modifications morphologiques que de comportements fonctionnels particuliers pour lesquels on n'a pas encore mis en évidence de modification spatiale. Le mot « processus » tient également compte du temps, sans toutefois y reconnaître un facteur essentiel (voir fixation hormonale des caractères sexuels). Car, bien que l'on n'envisage le plus souvent que des modifications de longue durée (plusieurs heures ou jours) ou qui se produisent seulement plusieurs heures ou jours après l'introduction des substances considérées dans l'organisme, cela ne permet pas à coup sûr de décider si oui ou non l'effet doit être attribué à cette substance active. Une simple exacerbation du désir sexuel par exemple, avec ou sans modifications perceptibles (excrétion, sécrétion, tension musculaire, etc.) peut tout aussi bien être attribuée à la formation qu'à la disparition d'une pareille substance. Tel est le cas lors de l'apparition très graduelle des modifications de l'œstrus, auxquelles s'associe à certaines phases, un comportement psychique particulier (idées de désir sexuel).

Notion de la spécificité. — A côté des substances sexuelles mâles et femelles pour lesquelles nous pourrions, en vérité, supprimer le mot sexuel comme superflu, nous devons encore considérer les substances indifférentes ou ambi-sexuelles. Il est probable que toutes les substances, même celles dont il a été question en premier lieu, sont, dans un certain sens, ambi-sexuelles. Pour les substances indifférentes, il s'agit toutefois sans doute d'une classification provisoire, car l'on obtient en général, avec des doses d'un certain ordre de grandeur des réactions biologiquement homologues chez les individus mâles et femelles. Ce sont des substances sur la chimie desquelles on ne sait pour ainsi dire rien. On les a extraites soit du lobe antérieur de l'hypophyse, soit de l'urine de femme enceinte, soit du sérum de jument gravide. Connaissant si peu de leur chimie, l'affirmation que ces substances sont apparentées aux protéines ne paraît pas démontrée, étant donné qu'il pourrait s'agir de l'adsorption de substances actives par les protéines. Il est, du reste, fort possible que ce groupe de substances, lors de son examen ultérieur, perdra beaucoup de son caractère sexuel indifférent, et qu'il y aura alors moyen d'isoler des substances possédant un effet plus prononcé sur un sexe que sur l'autre. D'ailleurs, déjà aujourd'hui, toute une série d'expériences plaide en faveur de l'opinion que cette indifférence n'est nullement idéale, et que les hypophyses mâles se comportent autrement que les femelles. Toutefois, par

suite de notre ignorance de leur composition chimique, et aussi par manque de temps et de place, il ne sera question, dans ce Rapport, des actions des substances bisexuelles, que comme complément de l'effet des hormones sexuelles mâles et femelles. Après avoir examiné les expressions sexuel » et « substances sexuelles », disons encore un mot d'une autre expression, employée fréquemment, et même beaucoup trop souvent, celle de « spécificité ». Cette expression est utilisée plus souvent en Biologie que dans les sciences exactes, et fréquemment, pour autant qu'on s'en fasse une idée quelconque, sans délimitation nette de ce que l'on veut dire réellement. C'est peut-être là la raison pour laquelle certains chercheurs contestent actuellement toute spécificité des substances. A mon avis, c'est aller trop loin.

En pharmacologie, on parle par exemple de la spécificité du groupe « éthyle » pour l'effet somnifère, parce que, pour amener un lapin dans un état narcotique, il faut :

- La quantité quadruple de diméthyl-éthyl-carbinol;
- La quantité double de méthyl-diéthylcarbinol;
- La quantité simple de triéthylcarbinol.

Donc un accroissement d'effet de 300 à 200 pour 100 suffit pour conclure à une certaine spécificité pour un effet déterminé.

Importance de la quantité. — On a trouvé ces dernières années par exemple de nouvelles substances qui provoquent l'æstrus, mais seulement lorsqu'on les emploie en quantité dépassant 1000 fois, 10 000 fois et davantage celle des substances æstrogènes découvertes tout d'abord (æstrone, æstradiol). Dans ces conditions est-il encore indiqué de réunir toutes ces substances en un même groupe? Je le crois volontiers, mais cela n'a de signification que si l'on a soin d'indiquer le plus exactement possible avec quelle quantité l'effet æstrogène est obtenu. La spécificité des membres d'un groupe persiste quand les quantités à employer correspondent à des puissances de 10 dont l'exposant varie d'une ou au maximum de deux unités, mais tel n'est plus le cas dès qu'elles présentent de plus grandes différences. Cette indication de la quantité a une importance essentielle, car, d'une manière générale, ce sont précisément les données quantitatives qui per-

mettent souvent de nouvelles recherches intéressantes. En effet, nous n'avons pas affaire à une réaction de la substance introduite dans l'organisme avec une autre substance, ainsi que c'est le cas in vitro, mais in vivo il s'agit de processus, c'est-à-dire de réactions avec un très grand nombre de substances. Si donc, par exemple, la testostérone provoque l'épaississement de l'épithélium du vagin quand on l'administre en quantité 1000 fois plus grande que l'estradiol et si l'androstérone ne possède pas cette action lorsqu'on la donne en quantité 10 000 fois plus considérable que l'œstradiol, cela semble plaider en faveur de l'hypothèse que l'androstérone ne paraît pas se transformer en la substance active, tandis qu'il y a davantage de présomption que la testostérone subisse cette transformation. Bien entendu, la question reste toujours ouverte, à savoir s'il s'agit d'æstradiol ou d'une substance y apparentée encore plus active. Il est donc à coup sûr fort intéressant, que par déplacement de la double liaison A 4-5 on obtienne à partir de l'androstènedione ordinaire, une androstènedione avec liaison double A1-2 qui provoque l'æstrus à la dose de 2 mg, tandis que l'androstènedione ordinaire ne le fait pas. On ne doit pas non plus oublier que ces 2 mg représentent une quantité 2 millions pour 100 de fois plus forte que celle d'æstrone nécessaire dans ce but. Je pense qu'il n'est pas heureux de désigner ce changement de position de la double liaison comme « la transformation d'une substance mâle en une substance femelle ». Car. si l'on veut maintenir les différences entre substances mâles et femelles, ces dernières sont à proprement parler seulement celles qui agissent sur des caractères femelles dans un ordre de grandeur quelque peu comparable (voir plus loin). En résumé, l'expression « spécificité » peut se justifier dans le domaine des hormones, quand on entend par là qu'un effet déterminé est provoqué par une (petite) quantité déterminée de substance (laquelle peut varier par exemple de 1 à 100) et cela dans des conditions bien précises.

Ce que signifient ces conditions, il en sera encore question plus loin. On comprend toutefois dès à présent qu'elles ne peuvent pas être négligées. En outre, pour éviter tout nouveau malentendu et manque de clarté, on doit décrire le plus exactement possible l'effet lui-même, car en pareil cas seulement, les indications quan-

titatives souhaitables permettront de progresser. Voici un exemple, choisi parmi beaucoup d'autres, qui montre comment une analyse biologique exacte nous met à l'abri d'erreurs grossières.

Différentes actions sur les divers tissus d'un organe. - Si, par exemple, on admet comme effet tout simplement l'agrandissement et l'augmentation de poids de la vésicule séminale sous l'influence d'une substance et si l'on prend l'augmentation de poids comme mesure, comme cela a été effectivement proposé pour l'hormone mâle, on trouvera peut-être toutes les substances possibles plutôt que celles qui donnent d'autres effets sexuels « mâles ». C'est ainsi que des fractions de milligramme de certaines substances æstrogènes provoquent une augmentation de poids plus grande que celle produite par des doses plus considérables de testostérone pure et surtout d'androstérone. Pratiquement un pareil étalonnage erroné a une très grande importance, car on a employé et l'on emploie encore aujourd'hui - en partie avec raison - les préparations d'origine naturelle provenant, par exemple, de l'urine d'homme. Si l'on mesurait seulement l'augmentation de la vésicule séminale, sans se préoccuper des détails histologiques, on pourrait considérer comme substances sexuelles mâles des préparations qui contiennent essentiellement des substances æstrogènes.

L'examen histologique a toutefois montré que les substances œstrogènes exercent surtout une influence sur la musculature et sur le tissu conjonctif, tandis qu'outre cet effet la testostérone accroît aussi l'épithélium. La même augmentation de poids correspond par conséquent à des conditions tout à fait différentes et, de ce fait, à des actions entièrement distinctes pour les diverses substances.

Il est donc nécessaire, et cela constitue le point de départ de ces considérations, que l'effet soit biologiquement nettement décrit. On ne peut pas se contenter d'examiner les influences favorables ou défavorables sur un organe, même sur un de ses tissus, mais il faut décrire jusque dans les moindres détails la modification survenue. L'épithélium peut augmenter par exemple de plusieurs façons, soit par agrandissement des différentes cellules, soit par augmentation du nombre des cellules. Cela peut se passer ou bien d'une manière normale et par conséquent il peut se produire des

cellules analogues aux cellules normales, ou bien d'une façon anormale (métaplasies, par exemple).

Le profane et même l'histologiste ne se représentent fréquemment pas jusqu'à quel point le résultat observé dépend de la technique employée, entre autres des modes de fixation et de coloration de la préparation. Ils perdent aussi souvent de vue que des divergences considérables peuvent exister dans l'interprétation d'un aspect histologique bien déterminé. On communique au chimiste ce résultat que la substance provoque de l'œstrus. Mais sait-il - et beaucoup de biologistes ne l'oublient-ils pas - que le résultat dépend en grande partie de la manière dont ont été préparés les frottis vaginaux et à quels intervalles ils ont été effectués. Je mentionne ceci spécialement devant un auditoire plutôt composé de chimistes, afin de souligner la nécessité de la collaboration de biologistes avertis et pour bien montrer dans quelle dépendance dangereuse se trouve le chimiste, qui doit estimer ses préparations non pas d'après des méthodes chimiques. mais d'après des méthodes biologiques. Une collaboration très intime entre chimistes et biologistes est, par conséquent, indispensable pour parvenir à de bons résultats.

Les doses et l'action. — Si pour caractériser un effet, il est nécessaire de le décrire en détail, pour caractériser la substance qui provoque cet effet, on doit disposer d'indications quantitatives précises. On doit connaître d'une part les quantités nécessaires pour produire l'effet, d'autre part les modifications de l'effet obtenues sous l'influence de différentes quantités. Ceci ressort déjà nettement de la formule que nous avons proposée au début de ce Rapport; effet comme fonction d'une substance sous des conditions constantes, la fonction étant dans ces cas réellement envisagée comme fonction mathématique : e = f(st). Cette fonction diffère certes pour chaque effet d'une part et d'autre part pour chaque substance qui produit le même effet; elle peut être linéaire, quadratique, etc. En pharmacologie nous partons généralement des courbes de l'effet de la concentration (CWK) pour décrire les relations entre l'effet et la dose.

Voici quelques remarques concernant le grand nombre de conditions nécessaires à ce sujet dans le domaine des hormones, la

complexité de la situation et la prudence avec laquelle on doit tirer des conclusions. Il n'existe guère d'effets pour lesquels il soit possible de donner une formule numérique caractéristique - et l'on s'en sert encore rarement. Un tel cas est représenté par l'augmentation du poids et de la surface, par exemple pour la crête du coq quand on en mesure réellement la surface. En général la variation quantitative de l'effet ne peut être indiquée que par des degrés choisis arbitrairement, comme par exemple lors des modifications de l'œstrus. Très souvent cela paraît impossible et l'on ne parvient qu'à déterminer à peu près nettement une seule valeur limite; il en est notamment ainsi pour la progestérone. L'importance de la dose pour l'effet, variable d'un cas à l'autre, ne peut être alors démontrée que par un détour en avant recours à une autre variable, à savoir le pourcentage des animaux qui donnent cet effet pour différentes doses. Cette valeur est voisine de 100 quand la dose s'accroît progressivement. Comme la sensibilité individuelle des sujets vivants est d'ordinaire très variable, il faut, lors de la définition d'un effet donné, tenir compte du pourcentage d'animaux examinés chez lesquels l'effet s'est produit. Pour cela on choisit en général un chiffre compris entre 50 et 75. De pareilles courbes ne conviennent guère comme bases d'étalonnage. On ne peut les utiliser qu'avec de grandes réserves, pour en tirer quelques conclusions biologiques. Tel est peut-être le cas quand la courbe qui a la dose comme abscisse et le pourcentage des animaux comme ordonnée, revêt pour une substance donnée une allure presque horizontale. Une des explications possibles est la suivante : de très nombreux processus intermédiaires, dont chacun a un champ considérable, surviennent avant le processus final. L'inverse se produirait quand pour une autre substance la courbe a une allure fortement ascendante.

En outre, toujours avec de très grandes réserves, on pourrait être amené à des conclusions analogues par des observations suivant lesquelles les courbes concentration-action de ce genre (en réalité ce sont des courbes de pourcentage de la fréquence) ne sont pas parallèles pour les différents degrés d'un effet. Considérons le processus de l'æstrus; en même temps que la dose s'accroît, la diminution des leucocytes d'une part et la cornification des cellules d'autre part augmentent; par la combinaison de ces deux symptômes, on obtient différents degrés. Si nous comparons l'efficacité de diverses substances pour un même degré, on s'apercoit aisément que l'on n'observe pas nécessairement un parallélisme des différentes courbes. Un exemple purement hypothétique permet de se rendre plus aisément compte de ce que nous voulons dire. Si le stade « g », c'est-à-dire la disparition des leucocytes et la cornification s'étendant pratiquement à toutes les cellules, est atteint chez 50 pour 100 des animaux avec 17 de la substance sta, et si la phase e. c'est-à-dire la disparition des leucocytes sans cornification bien considérable, est obtenue avec 0,77, ceci ne veut en aucune façon dire que si sto atteint la phase g avec 4 y, la phase e sera réalisée par 2,8 y de sta et qu'il suffit pour st, d'un quart de la dose de st, pour obtenir les mêmes effets, ou en d'autres termes que st, a toujours une efficacité 4 fois plus forte que sto. Prenons un autre exemple purement hypothétique : le stade g est réalisé, comme il vient d'être dit par 1 y de st, chez 50 pour 100 des animaux, mais il faut recourir à 27 pour l'atteindre dans 90 pour 100 des cas. Par contre, la subtance sta atteint avec 2 y la phase g chez 50 pour 100 des animaux, mais on doit en employer 8 y et non pas 4 y pour obtenir cette phase dans 90 pour 100 des cas. Ce dernier résultat pourrait nous amener à conclure que si sta exige une beaucoup plus forte quantité que sta pour atteindre la phase g dans 90 pour 100 des cas, c'est parce que le nombre de processus qui s'intercalent avant le processus final est plus considérable pour sta que pour sta et que, de ce fait, la dissémination devient plus grande.

Des mesures exactes n'ont été essayées et surtout exécutées que pour très peu de substances et pour très peu d'effets. Même les déterminations des quantités minima font encore souvent défaut. Il y a lieu de mentionner que, même quand cela a été fait, à savoir pour des quantités inférieures au soi-disant seuil, on ne doit pas perdre de vue que celles-ci provoquent une certaine modification et qu'il serait intéressant, par exemple pour la connaissance de la dégradation des substances sexuelles, d'examiner à quel moment on doit administrer des quantités sous-liminaires afin, soit de réaliser un effet, soit de n'en pas obtenir. Si l'on n'en obtient aucun, on est en droit de conclure à une désintégration complète ou à un dépôt de la substance survenu entre temps.

Si l'on obtient par contre un effet, la conclusion est de nouveau difficile, car deux possibilités surviennent; en premier lieu la substance existe encore en certaine quantité et s'accumule peu à peu; en deuxième lieu la substance a disparu, mais elle a modifié le tissu dans une faible mesure sous-liminaire (que nous ne parvenons pas à reconnaître avec précision).

Facteurs. — Ces déterminations quantitatives de la dose et du degré de l'effet n'ont de signification, comme nous l'avons déjà dit à plusieurs reprises, que si l'on admet une certaine constance des facteurs. Bien que ces facteurs touchent à un grand nombre de problèmes chimiques et physiques, et en vérité à toute la physiologie des animaux, nous devons les envisager brièvement.

On peut répartir ces facteurs en deux groupes : font partie du premier ceux qui sont pour ainsi dire liés à la substance et ceux qui dépendent de la forme sous laquelle la substance est administrée (solution, répartition).

Dans le deuxième groupe, qui est plutôt physiologique, il faut classer tout ce qui doit, pour ainsi dire, intervenir chez l'animal pour obtenir un effet déterminé.

Premier groupe de facteurs. — Parmi ceux-ci on pourrait envisager la quantité de la substance, dont nous avons déjà souligné l'importance. A coup sûr il faut y ranger les impuretés éventuelles, les substances dites de remplissage que nous négligeons par suite d'une ignorance plus ou moins grande. On oublie peut-être trop fréquemment que dans notre domaine, on a souvent affaire à des quantités de substances actives de o,1 y et moins et que, par conséquent, quand on obtient des effets avec 1 mg ou davantage, les impuretés correspondant à o,or et à un moindre pourcentage peuvent exercer une influence décisive sur l'action. Le chimiste estime d'ordinaire que des impuretés de cet ordre de grandeur sont négligeables et il travaille en pratique parfois avec des substances d'une pureté bien moindre, qu'il considère néanmoins comme absolument pures. Il paraît peut-être téméraire pour un biologiste de signaler à cette occasion qu'il n'est pas exclu que nous considérions comme identiques des substances qui ne le sont pas en réalité. L'identité n'existe qu'aussi longtemps que l'on ne peut constater aucune différence. Or, de nouvelles différences n'ont été souvent découvertes qu'en se basant sur un comportement biologique paraissant tout d'abord inexplicable. Qu'on se souvienne par exemple du pouvoir rotatoire différent de certains isomères. Et il n'est nullement exclu que nous ne puissions point découvrir des différences de structure dont la nature nous est à l'heure actuelle encore complètement inconnue. D'autre part le biologiste doit avouer qu'il néglige fréquemment des différences bien connues du chimiste et qu'il oublie, par exemple, de mentionner d'une part qu'il existe des stéréoisomères dont l'action diffère souvent beaucoup, d'autre part que le déplacement d'une double liaison dans une molécule a fréquemment un effet décisif, etc.

Comme nous l'avons déjà mentionné, on doit inclure dans ce groupe des facteurs, la jorme sous laquelle la substance est administrée. En général ce n'est pas à l'état solide, mais bien en solution. Or, on a constaté que le dissolvant peut jouer un rôle considérable sur l'effet. Les causes peuvent en être de nature physico-chimique, mais également de nature physiologique. Nous mentionnerons sommairement les dernières en parlant du deuxième groupe de facteurs. Comme exemples, choisis entre bien d'autres, signalons qu'en solution aqueuse l'æstrone n'agit parfois pas du tout, tandis qu'en solution huileuse elle possède un effet très notable et que d'autre part une substance comme la testostérone introduite sous forme de cristaux sous la peau peut exercer des influences considérables et de longue durée.

Ceci nous amène à envisager un autre facteur important de ce groupe, à savoir la répartition de la dose totale en fonction du temps. L'idéal serait certes dans la plupart des cas, que nous puissions déterminer un afflux chronique, c'est-à-dire continu tel que nous nous le représentons lors de la sécrétion normale d'une glande fonctionnant sans arrêt. Or, pour autant qu'on l'ait examiné, on a constaté que la répartition d'une quantité donnée en 3, 6 ou 12 injections présente de sérieux avantages pour un effet donné sur l'administration de la même dose en une seule fois. Les constatations ainsi faites ne se rapportent qu'à une répartition comprise entre 24 et 48 heures. A la vérité des essais de répartition sur une période de temps plus longue font défaut en pharmacologie, sans doute par suite des grandes difficultés pratiques.

L'effet très considérable de l'introduction en une seule fois de

substances solides par la peau ou dans un organe n'est pas en opposition avec ce qui vient d'être dit, mais se rapproche tout au contraire le plus de l'administration chronique, étant donné que d'une façon continue un peu de la substance solide est dissoute et pénètre dans la circulation.

Deuxième groupe de jacteurs (plutôt physiologiques). — a. Parmi ceux-ci, citons en premier lieu l'espèce animale. Même chez des espèces animales en apparence très voisines, les effets obtenus par une même substance ne sont pas toujours identiques au point de vue qualitatif. Chez la souris, on réussit par exemple à produire des métaplasies qu'on n'obtient guère chez le rat dans des tissus absolument analogues. On peut affirmer que « ce qui convient à l'un, ne convient pas à l'autre ». Il est dangereux de faire trop de prophéties théoriques, seule l'expérience conduit au but. Si ceci s'applique déjà à la prévision qualitative, c'est encore beaucoup plus exact pour la prévision quantitative, presque uniquement basée sur des différences de poids corporel. Par exemple, le rat, qui pèse dix fois plus que la souris, peut déjà entrer en cestrus avec une dose de benzoate d'æstradiol quadruple de celle nécessaire chez la souris.

L'inexactitude de cette affirmation énoncée à dessein de cette manière (et en général on la donne sous cette forme) est prouvée par ce qui suit : la relation qui vient d'être indiquée est valable seulement pour l'injection sous-cutanée; mais si l'on administre de l'œstrone par la voie buccale, il se peut que chez le rat on doive avoir recours à une dose 100 fois plus grande que par voie sous-cutanée et seulement à une dose 10 fois plus forte chez la souris pour provoquer les mêmes phénomènes.

b. Il existe, par conséquent, un autre facteur important, la voie par laquelle la substance est introduite dans l'organisme. L'importance et la nature de ce facteur dans des cas bien déterminés sont indiqués par le sort de la substance introduite (voir deuxième partie). Dans la plupart des cas, nous ne comprenons encore guère pourquoi ce facteur joue souvent un si grand rôle. La question est souvent résolue par le mot « résorption ». Nous croyons que la résorption idéale est réalisée par l'injection intraveineuse et que la résorption est beaucoup moindre quand on

administre la substance par voie buccale, etc. Mais, outre la résorption purement physique de la substance, pour autant que celle-ci se produise dans l'organisme vivant, il est très important de connaître quelles substances sont mobilisées et introduites en même temps que la substance étrangère.

Les différences quantitatives les plus extraordinaires se constatent si l'on compare les diverses voies d'absorption, mais il existe aussi des différences qualitatives non expliquées. En voici un exemple emprunté au domaine, d'ailleurs seulement effleuré dans le présent Rapport, des substances indifférentes ou ambisexuelles ou bisexuelles.

Injectons un extrait d'urine de sujets gravides par voie souscutanée chez des rats impubères. On obtient, ainsi qu'on le sait, entre autres phénomènes, un effet gonadotrope et l'apparition des corps jaunes. Lors de l'introduction de ce même extrait par voie intrapéritonéale, le résultat est le même. Si l'on injecte un extrait du lobe antérieur de l'hypophyse par voie sous-cutanée le résultat est encore dans l'ensemble le même, mais si on l'introduit par voie intrapéritonéale, il ne se forme pas de corps jaunes. Si l'on injecte un extrait très actif d'urine de sujets gravides à la fois par voie sous-cutanée et par voie intrapéritonéale, aucune lutéinisation ne se produit; on constate dans ces circonstances une inhibition par suite de l'utilisation d'une autre voie d'introduction dans l'organisme.

La distance entre l'endroit d'introduction et l'organe sur lequel la substance doit réagir joue également un rôle. L'introduction d'œstrone par voie de frictions percutanées exige d'autres quantités que l'injection pour obtenir la croissance de la mamelle; l'application de substances sexuelles mâles sur la crête du coq a un effet très fort en quantité étonnamment petite (voir aussi deuxième partie).

c. L'individualité des animaux intervient également de façon importante. Les fortes différences individuelles, déjà mentionnées, sont intraindividuelles et interindividuelles. Les premières signifient que le même individu peut se comporter différemment d'année en année, de semaine en semaine, même d'heure en heure. Les deuxièmes, c'est-à-dire les différences interindividuelles, existent entre les animaux d'une même espèce, même d'une lignée pure et vivant dans les mêmes conditions. Nous ne connaissons qu'une partie des motifs de ce comportement différent, et ceci plutôt pour les facteurs extérieurs. L'art de l'expérimentateur réside dans le maintien de la constance des facteurs.

Des différences dans la nutrition peuvent être la cause de modes différents de réaction. Même le profane sait, par exemple, que pendant la guerre beaucoup de troubles de la menstruation se sont produits dans les pays de l'Europe centrale par suite des mauvaises conditions d'alimentation. Le manque de vitamines, et en particulier de vitamine A, tend à accroître la cornification des épithéliums, ce qui est important pour les processus de l'æstrus.

d. Il n'y a aucun doute que les conditions métérologiques, saisonnières, climatiques exercent une influence, bien qu'on ignore encore quels sont les facteurs qui interviennent en pareille occurrence. Mais toute laborantine, quelque peu au courant de la routine des essais chez les rats, sait que des périodes de grande sensibilité alternent avec des périodes d'insensibilité. Ces périodes sont parfois très courtes. Les différences des doses qui provoquent les mêmes réactions au cours de ces diverses périodes peuvent atteindre plusieurs centaines de pour-cents.

Il est très important, pour une série d'effets, de connaître si les animaux ont été placés, soit à la-lumière, soit à l'obscurité. Ceci a été établi pour l'œstrus des oiseaux. Ce dernier état commence avec l'allongement des jours et l'on peut le provoquer chez les canaris et les corneilles, tenus en cage, en éclairant celle-ci par exemple à partir de 5 heures du matin, même en hiver. Les testicules et l'hypophyse ont alors beaucoup augmenté en poids et en volume. Des essais appropriés ont permis de mettre en évidence, chez les canards, les processus compliqués qui sont la cause de ces différences. Si l'on recouvre les yeux ou, d'après d'autres chercheurs, toute la tête de ces animaux, l'éclairage du restant du corps n'a aucun effet. Il s'ensuit que l'éclairement de l'œil ou de la tête doit transmettre un influx tout d'abord à l'hypophyse (nous ignorons si cette transmission se fait par l'intermédiaire des nerfs ou de substances spéciales). Les substances gonadotropes du lobe antérieur de l'hypophyse parviennent au testicule; la testostérone s'y

produit probablement et peut-être aussi d'autres substances qui agissent à leur tour sur le système nerveux et c'est ainsi que survient l'état général de l'œstrus.

On a pu confirmer l'effet de la lumière chez les mammifères. La souris des champs, maintenue en cage, ne se reproduit pas lorsque les cages sont éclairées pendant 9 heures au lieu de 15. On a également établi chez l'homme des données du même ordre. Chez les Esquimaux, le désir sexuel fait en grande partie défaut pendant la longue nuit d'hiver; la menstruation devient plus rare et peut même cesser. La plupart des enfants naissent 3/4 d'année après que le soleil a fait sa première réapparition.

D'autre part nous connaissons également des actions qui paraissent être entravées par la lumière. La modification de la crête du chapon, après injection de substances favorisant la croissance de cette crête, est la plus prononcée lorsque les animaux sont maintenus à l'obscurité.

La chaleur joue également un rôle. On connaît par exemple l'effet inhibiteur de la chaleur sur les testicules des mammifères. Ceux-ci ne peuvent pas supporter à la longue, sans troubles fonctionnels, la température normale pour les autres organes du corps, c'est-à-dire 37 à 39° C.; leur fonctionnement en souffre beaucoup (danger de cryptorchidie). Tel est, d'ailleurs, aussi le cas chez l'homme.

e. L'influence des saisons a fait l'objet de nombreuses recherches. Celles-ci ont déjà permis de constater un rapport net entre les fonctions des différentes glandes endocrines et les saisons, dont on n'a pas encore tenu suffisamment compte.

Nous arrivons ainsi au point le plus important : la dépendance de l'effet de chaque substance de la *totalité* des autres substances existant dans l'organisme, et en particulier de celles qui présentent le caractère hormonal.

Le réveil du sommeil hivernal, donc la sortie d'une période d'insensibilité, tellement forte que la plupart des animaux ne la présentent pas à ce degré, est dû à la réapparition de l'activité de la glande thyroïde et peut-être plutôt de l'hypophyse à laquelle le corps thyroïde est subordonné dans un certain sens. Les substances gonadotropes provenant de l'hypophyse excitent l'activité des gonades, ce qui a pour conséquence la production des hormones sexuelles, etc. On ne peut que répéter ici ce qui a été déjà dit plus haut, à savoir qu'aucun des effets mentionnés jusqu'à présent et aussi ceux dont nous parlerons plus loin en détail ne se produisent sans l'intervention de beaucoup d'autres processus, dont le nombre ne peut actuellement être déterminé. On sait encore bien peu de chose au sujet des substances qui prennent part à ces processus.

Parmi les systèmes importants qui v participent, il v a lieu de signaler surtout l'hypophyse, les capsules surrénales et le corps thyroïde. Leur rôle n'est peut-être, en réalité, pas plus considérable que celui d'autres systèmes, mais on le reconnaît plus aisément. Sans aucun doute d'autres organes ont une réelle importance. Nous ne pouvons pas examiner ici quelles sont les substances, les complexes, les mélanges, etc. qui interviennent dans ce sens. On a établi des relations particulièrement intimes entre certaines de ces substances : on parle alors de « cosubstances », d' « activateurs », etc. On connaît plusieurs effets synergétiques des substances sexuelles, dont il sera encore question dans la partie spéciale de ce Rapport. En pareille occurrence ce n'est pas seulement le fait que les deux substances sont présentes en même temps qui importe le plus, mais leur quantité joue un rôle essentiel et il en est de même des relations de temps, du lieu de leur action et de l'état sous lequel elles apparaissent. Si nous venons d'envisager la coopération synergétique, des considérations analogues peuvent être émises à propos de la coopération antagoniste. Souvent l'antagonisme n'est qu'apparent et il disparaît si l'on envisage les choses dans un sens plus élevé. Ce ne sont, d'ailleurs, toujours là que des considérations relatives.

Ce qui importe ici, comme d'ailleurs dans tout ce Rapport, c'est moins la communication de nombreuses observations isolées que la constatation que les substances auxquelles nous venons de faire allusion peuvent, non seulement renforcer et affaiblir les effets des substances sexuelles, mais aussi les modifier qualitativement. Afin de ne pas trop nous écarter du sujet il serait intéressant d'examiner de façon plus approfondie si l'on parvient à isoler de la masse des substances qui réagissent lors d'un effet sexuel (par exemple les réactions de l'œstrus) certaines d'entre elles qui jouent un rôle à côté des substances sexuelles déjà

observées (par exemple les substances vaginales qui sont analogues dans les vagins des différents rongeurs). En outre, les grandes différences de sensibilité déjà signalées selon les diverses voies d'introduction, selon les différentes espèces animales, selon les divers individus d'une même espèce et quelquefois selon les organes et les tissus d'un animal donné, doivent être parfois attribuées, en partie tout au moins, à des différences quant à la nature et à la quantité de ces substances. Peut-être l'examen détaillé du comportement des divers organes (par exemple, le vagin, l'utérus) de différentes espèces animales, qui fait, en pratique, encore presque entièrement défaut, nous mènerait-il plus loin.

On conçoit, que tout ce qui a été dit jusqu'à présent, ne constitue que des indications générales. Nos connaissances avanceraient certes beaucoup, si nous recommencions toute l'étude de la question en partant d'un point de départ opposé à celui qui a été envisagé jusqu'ici. Actuellement on part de l'organisme entier et l'on y introduit certaines substances afin d'étudier la réaction d'un organe déterminé dans ses rapports avec tous les autres organes de l'économie, et aussi afin d'observer les modifications éventuelles de la réaction apparaissant quand on extirpe un organe après l'autre. Au lieu de cette méthode déductive on devrait procéder pour ainsi dire inductivement et effectuer des recherches avec des organes isolés et des tissus isolés. Si ceux-ci réagissent avec les substances sexuelles, et ceci est encore très problématique, on devrait dans ce cas étudier la modification de réaction, non pas par soustraction comme lors de l'extirpation des organes, mais par addition en ajoutant d'autres extraits d'organes. Mais dans cette voie tout est encore à venir, étant donné que bien peu d'expériences d'explantation ont réussi jusqu'à présent.

Les essais sur l'œuj, qui, suivant, certains auteurs semblent plus faciles à exécuter que ceux sur l'animal entier, ne me paraissent pas pouvoir fournir quelque chose de neuf dans le domaine que nous désirons explorer. Au contraire, on doit s'attendre bien moins dans l'œuf à une action isolée que dans l'organisme qui en provient, car les rapports de chaque partie avec l'ensemble sont des plus intimes dans l'œuf, qui n'est qu'en apparence plus simple que l'animal qui se développe à ses dépens. Un rappel de la formule initiale a = f(st) + b [S (fa)] permet mieux à présent de se rendre compte du grand nombre d'inconnues qu'elle contient et de la dépendance extraordinairement compliquée de l'effet observé, trop souvent considéré comme un phénomène isolé, relevant uniquement de la substance recherchée et expérimentée.

## B. - Partie spéciale.

Aperçu sur les différents effets des substances sexuelles (1). — Étant donné, comme nous venons de l'exposer, qu'on ne peut désigner comme substances sexuelles que celles qui ont un effet sexuel, il s'ensuit la nécessité d'une division de tous leurs effets en effets sexuels et autres.

Nous parlerons donc dans cet exposé non pas des substances mais plutôt des effets plus ou moins nettement définis et souvent seulement des organes qui subissent des modifications sous l'influence des différentes substances.

## A. II. - EFFETS SEXUELS.

## 1. Modifications des gonades.

Ce sont elles qui nous intéressent le plus. Pour des raisons théoriques on se serait attendu ici à une inhibition et ceci en particulier : 1° sous l'influence des soi-disant «hormones sexuelles » sur les gonades correspondantes, pour des motifs pour ainsi dire téléologiques (inutilité de la production, quand le produit est dirigé ailleurs); 2° sous l'influence des gonades « hétérosexuelles » sur les gonades propres à l'autre sexe, conformément à l'idée de l'opposition des sexes (voir partie générale).

Chacune de ces deux hypothèses présente à coup sûr une part de vérité. Néanmoins, les faits ne concordent pas avec ces conceptions. Il importe de distinguer si l'influence s'exerce dans la phase

<sup>(1)</sup> J'ai utilisé l'excellente revue générale rédigée par mon ancien collaborateur le Dr F. Dessau, parue depuis dans les Tabulæ hiologicæ (édîteur, Dr Junk, à La Haye). Les faits les plus importants y sont réunis sous la forme la plus succinete avec l'indication des sources bibliographiques.

embryonnaire ou plus tard et, lors des transformations postembryonnaires, si elle se produit avant ou après la puberté (prépubertaire ou postpubertaire).

a. Influence sur les gonades embryonnaires. — Pour ne pas séparer des choses connexes, nous parlerons dès à présent des influences sur les soi-disant organes sexuels « secondaires ». Les résultats obtenus dans les deux sexes peuvent être réunis, d'autant plus que les essais ont été faits en majeure partie avant la différenciation sexuelle (dans les premiers jours après la fécondation de l'œuf de poule).

Voici les constatations les plus importantes effectuées jusqu'à présent : les substances dites « femelles » - et pour le moment nous n'avons de données précises que pour les substances œstrogènes - provoquent la transformation des ébauches des gonades en gonades femelles. Pour que cet effet survienne, ces substances doivent être administrées avant que la différenciation spontanée des gonades se soit produite. Les substances « mâles » n'ont montré jusqu'à présent aucune influence sur la différenciation, à moins qu'il ne s'agisse de substances de ce groupe possédant également un effet æstrogène. D'une manière plus précise, au moyen de l'æstrone, de l'æstradiol et du monobenzoate d'æstradiol, on peut obtenir que les œufs ne donnent qu'un petit pourcentage de cogs et un pourcentage plus élevé qu'à l'état normal de poules et un pourcentage extrêmement considérable d' « êtres intersexués ». Du moins chez les mammifères (essais effectués chez des embryons de cobaye), l'androstérone, la méthyltestostérone, l'acétate et le propionate de testostérone modifieraient (faits, il est vrai, non confirmés par certains auteurs) les gonades à orientation femelle de telle sorte qu'elles tendraient à acquérir l'orientation mâle. Ces mêmes substances sexuelles « mâles » auraient pour effet chez les embryons femelles des poules de restreindre les régressions, autrement normales, des gonades droites et de provoquer, en outre, une espèce de transformation de la région médullaire des gonades gauches.

Les observations faites chez les « Free Martins » fournissent déjà des indications de ce genre : en effet, dans l'espèce bovine, un jumeau mâle exerce une influence sur sa partenaire femelle dans le sens de la formation d'un être « intersexué », mais ceci ne survient que lorsqu'il existe une anastomose entre les systèmes circulatoires des deux fœtus. Cela plaide donc en faveur de l'importance du passage de substances (peut-être hormonales) entre les deux fœtus.

On a tiré de ce qui précède deux conclusions extrêmement importantes : en premier lieu, ces substances seraient déjà produites à l'état normal dans le stade embryonnaire; en deuxième lieu, elles seraient analogues, si même pas identiques, aux hormones sexuelles élaborées par la suite. On peut admettre dans ses grandes lignes la première conclusion; au contraîre la seconde n'est pas suffisamment établie (car lors de l'essai il faut d'énormes quantités pour obtenir un résultat).

D'après Goldschmidt, on a admis que, chez les embryons devenant par la suite des individus mâles ou femelles (abstraction faite de la diversité de toutes les cellules au point de vue d'un seul chromosome), toutes les cellules sont sexuellement indifférentes à l'exception de quelques cellules déterminées (on ignore lesquelles) qui se distinguent par la formation de certaines substances. La nature de l'ébauche de l'appareil génital ultérieur est également indifférente. C'est sous l'influence des substances ci-dessus mentionnées, formées quelque part dans l'embryon, que les cellules de cet appareil génital se différencient sexuellement. Ces substances peuvent être considérées comme des substances de premier ordre qui différencient les gonades. Les substances de second ordre influencent de façon différente le développement des canaux de Wolff et celui des canaux de Müller, formations qui se présentent à l'origine exactement de la même manière dans les deux sexes. Sous l'influence de ces substances de second ordre, ou bien le canal de Wolff se transforme en organes sexuels mâles secondaires, à savoir le canal déférent et les vésicules séminales, ou bien le canal de Müller donne naissance à la trompe et à l'utérus qui représentent des organes sexuels femelles secondaires. Dans chacune de ces deux éventualités l'organe non influencé (canal de Wolff chez la femelle, canal de Müller chez le mâle) régresse. Les substances sexuelles de troisième ordre sont les « hormones sexuelles » proprement dites qui apparaissent plus tard et déterminent le développement ultérieur lors de la puberté. Aux observations rappelées plus haut à propos de l'influence artificielle sur les œufs et les fœtus avec des modifications concomittantes des gonades, il y a lieu d'ajouter que les organes sexuels se développent, eux aussi, selon la nature des gonades, sans que cela puisse être attribué à l'influence directe des substances sexuelles ajoutées, car manifestement la gonade reste prépondérante pour ces organes.

Quelle que soit la nature des substances normales embryonnaires, les résultats obtenus jusqu'à présent, qui étaient seulement possibles par l'emploi de substances sexuelles pures, sont du plus haut intérêt pour la formation des sexes et par conséquent des phases sexuelles intermédiaires. Je dois me contenter ici de cette indication (voir également en b pour le rôle de l'hypophyse).

b. Influence sur les gonades post-embryonnaires. — En dehors des modifications morphologiques, il convient d'observer la fonction, c'est-à-dire plus spécialement la production (libération d'hormones sexuelles). Il est pour le moment impossible de mesurer celle-ci autrement que par son effet sur les organes sexuels secondaires; ceux-ci sont, il est vrai, influencés d'une manière très nette directement par les substances sexuelles. On doit donc comparer l'effet chez l'animal normal avec celui obtenu chez l'animal châtré. Est-il possible d'en tirer des conclusions précises? Non, et nous le savons déjà d'après ce qui a été dit dans la partie générale à propos de l'importance des facteurs et de la complexité si considérable des rapports qui existent entre eux. Il n'est guère possible d'examiner un seul facteur.

Prenons le simple schéma, indiqué ci-après :



L Animal normal.

où St = la substance sexuelle examinée, Ov = l'ovaire représentant les gonades, Ut = l'utérus, représentant les caractères sexuels secondaires.

Soit e<sub>u</sub> l'effet de St sur l'utérus, observé chez l'animal normal,

ou mieux sur l'épaisseur de sa musculature. Dès lors  $e_u$  se compose des influences théoriquement à séparer, c'est-à-dire de  $e_y$ , influence directe de St sur l'utérus et  $e_x$ , influence de l'ovaire modifié sur St.

e. est donc égal à eu-ey.



II. Animal châtré.

Si l'influence de St observée chez l'animal châtré est  $e_c$ , l'influence inconnue et cherchée de l'ovaire  $e_x$  serait à déterminer par  $e_u$ - $e_c$ , si  $e_c$  était égal à  $e_y$ . Mais  $e_c$  ne peut pas être égal à  $e_y$ , parce que non seulement la castration supprime l'influence de la gonade sur l'utérus, mais modifie aussi d'autres systèmes, qui exercent une influence, même directe, sur l'utérus; il en est ainsi de l'hypophyse.

Par conséquent, s'il y a lieu de tirer des conclusions sur les modifications fonctionnelles des gonades par des substances sexuelles, introduites dans l'organisme, il faut le faire seulement avec la plus grande prudence. L'influence directe susmentionnée de l'hypophyse est toutefois beaucoup moins importante que son influence indirecte sur tous les caractères sexuels secondaires qui s'exerce par l'intermédiaire de la gonade. Entre celle-ci et l'hypophyse, il existe, comme on le sait, une intense action réciproque. D'ordinaire — mais probablement à tort — on considère ce rapport plutôt comme une position prépondérante de l'hypophyse.

Si nous constatons donc des modifications de la gonade par les substances sexuelles, il est très important de distinguer jusqu'à quel point elles sont dues, soit à une influence directe sur la gonade, soit à une influence sur l'hypophyse consistant en quelque sorte en une modification de sa gonadotropie: pour l'observation de cette dernière modification, la comparaison des effets chez les animaux normaux et chez les animaux sans hypophyse est indispensable.

L'observation de l'influence d'une substance quelconque sur des organes sexuels tant primaires que secondaires « réellement normaux » est donc exclue en pratique, car il est probable que toute substance, qui est dans un rapport quelconque avec l'hypophyse, est également dans un rapport quelconque avec la gonade, etc. Des essais plus spécifiques sur les organes sexuels soustraits à l'influence de l'hypophyse doivent donc être effectués longtemps après l'hypophysectomie quand il existe une atrophie très marquée de la gonade. Ces essais sont très importants comme compléments des expériences avec des substances sexuelles sur la gonade embryonnaire dont nous avons déjà mentionné la grande portée pour ce qui concerne le problème sexuel.

Nous croyons devoir signaler dans cet ordre d'idées un point de vue dont nous n'avons pas encore parlé. Il se pourrait que l'hypophyse ou son ébauche, par suite de sa prépondérance vis-à-vis de la gonade, joue un rôle pour la différenciation de celle-ci. Il a été déjà dit dans la partie générale que les substances élaborées par l'hypophyse mâle et par l'hypophyse femelle ne sont pas identiques. On ne possède pas encore d'éléments permettant de se rendre compte vers quelle époque de la vie embryonnaire la plus précoce cette différence apparaît.

b<sub>1</sub>. Testicules. — Chez les rats adultes hypophysectomisés, l'atrophie des testicules a été entravée dans une large mesure par des extraits très purifiés de l'urine d'homme où il n'existait guère de substances gonadotropes. Cet effet était d'autant plus prononcé que la quantité d'extrait administrée était plus considérable. Sous cette influence on a, en outre, obtenu des spermatozoïdes aussi mobiles qu'à l'état normal. On a constaté la même chose après l'administration du propionate de testostérone. Cette influence favorable ne se manifeste toutefois pas à l'état normal, quand les animaux ont conservé l'hypophyse; au contraire, on observe alors un ralentissement du développement ou même une atrophie, due presque à coup sûr à une entrave de la gonadotropie de l'hypophyse. On explique de la même manière, les effets « antimasculins», qui ont été observés déjà depuis longtemps sous l'action d'extraits très purifiés des follicules et qui ont été confirmés au moyen de l'æstrone pure : le développement des testicules est entravé sous tous les rapports morphologiquement comme fonctionnellement; le testicule adulte subit une régression générale, cet organe reste petit ou diminue même en dimensions; ou bien il ne se produit pas de spermatogénèse, ou bien elle cesse si elle existait déjà. L'importance des doses peut être démontrée par les différents degrés de l'inhibition. L'æstradiol, l'équiline et l'æstrone ont un effet « antimasculin » dont l'intensité correspond à peu près à celle de leur effet æstrogène. Toutefois le nombre d'essais effectués ne paraît pas suffire pour permettre de reconnaître des différences certaines. Il est intéressant, pour la théorie mentionnée à maintes reprises de l'effet antimasculin, d'observer qu'il peut être supprimé par des quantités appropriées de substances gonadotropes, et que, d'ailleurs, ces effets se compensent toujours avec le temps, comme le montre par exemple la réapparition de la capacité de fécondation chez des mâles ayant subi quelque temps auparavant le traitement « antimasculin ». A ma connaissance, on n'a pas jusqu'à présent entrepris d'essais relatifs aux effets antimasculins éventuels d'autres « substances femelles », ainsi que de la progestérone.

bo. Ovaires. - Chez les rats femelles sans hypophyse on n'observe pas d'influence aussi nettement activante des substances œstrogènes (la progestérone n'a pas été examinée) que celle des extraits de l'urine de mâle (contenant les substances mâles) chez les animaux mâles hypophysectomisés. Par contre - chose remarquable - il existe, contrastant à nouveau avec les expériences chez les animaux mâles - un effet nettement favorisant chez les animaux normaux femelles chez lesquels on se serait plutôt attendu à une influence inhibitrice de l'æstrone (substance employée dans la plupart des essais) et aussi en partie des extraits testiculaires. On a décrit la maturation des follicules de de Graaf, la formation de véritables corps jaunes de la grossesse et enfin le renforcement de la maturation des follicules par les substances gonadotropes et en particulier par les substances lutéinisantes. Néanmoins à ces expériences il y a lieu d'en opposer d'autres qui n'ont pas permis de reconnaître la moindre influence et d'autres encore au cours desquelles on a observé une inhibition indubitable. Il est impossible d'expliquer dans chaque cas particulier ces différences : car il s'agit en partie des mêmes substances, employées il est vrai en quantités différentes et pendant un laps de temps variable, utilisées, en outre, chez diverses espèces animales et « last not least » par différents observateurs.

Lors de l'examen de la valeur des différents facteurs nous avons déjà signalé l'importance de la technique de l'injection. Nous avons appelé l'attention sur des expériences au cours desquelles la même substance (extrait alcalin du lobe antérieur de l'hypophyse présentait, par voie sous-cutanée, l'action gonadotrope habituelle avec formation des corps jaunes », tandis que, par voie intrapéritonéale, elle ne provoquait point la formation des corps jaunes et empêchait même dans certaines circonstances l'effet lutéinisant d'un autre agent donné en même temps.

## 2. Effets sur les caractères sexuels secondaires.

De nombreux travaux ont été consacrés à cette importante question. Néanmoins nous ne les envisagerons que succinctement, car ils n'ont pas eu pour conséquence des considérations essentielles. Il est évident que pour obtenir n'importe quel effet pur, il faut effectuer les essais chez des animaux châtrés. Ces derniers sont même à préférer aux jeunes animaux présentant des caractères sexuels non encore développés, car ceux-ci subissent toujours l'influence des gonades, qui se manifeste longtemps avant leur maturité.

L'arrêt ou la régression des conséquences de la castration, de même que la maturité très poussée longtemps avant la puberté ont été obtenues pour différents organes d'animaux mâles ou femelles. L'influence de la dose a pu être démontrée d'une manière particulièrement nette, et dans quelques cas même d'une façon tellement précise (modifications æstrales du vagin et de la muqueuse utérine, croissance de la crête du cog) qu'on a pu l'utiliser comme procédé de mesure, comparable aux meilleures méthodes biologiques existantes. On sait que c'est grâce à celles-ci qu'on a réalisé dans les dix dernières années presque tous les progrès chimiques dans le domaine qui nous occupe. Le désavantage de ces méthodes réside dans le fait que, comme nous l'avons déjà dit, ces procédés donnent seulement des valeurs de seuil (ou plutôt de limites), sans qu'il existe de rapport direct précis entre l'accroissement de l'effet et l'augmentation de la dose. A maintes reprises on a obtenu par des doses particulièrement importantes, notamment par un traitement de longue durée, des effets qui dépassent la

croissance physiologique, et qui sont même de nature nettement pathologique, mais qui régressent en partie d'eux-mêmes. Lors des observations de transformation en des tissus de nature maligne, des circonstances spéciales, telles que la race des animaux et une prédisposition particulière, paraissent jouer un rôle, de telle sorte qu'il serait erroné d'admettre ces cas spéciaux parmi les conséquences, pour ainsi dire normales, de l'administration pendant longtemps de doses importantes. Une étude approfondie de cette question, tenant compte de toutes les circonstances, présente à coup sûr un intérêt considérable, tant au point de vue pratique qu'au point de vue théorique.

Sans aucun doute il y a-t-il aussi une coordination entre les substances considérées par la littérature comme masculines et féminines et les caractères sexuels mâles et femelles, et cette coordination ouvre la perspective de pouvoir déterminer le caractère hormonal de ces substances (voir plus haut).

Ceci est surtout vrai, si par coordination on n'entend pas seulement que les organes sont modifiés d'une façon ou de l'autre par ces substances, mais bien dans un sens physiologique, avec toute les réserves qui s'imposent, conformément au but biologique.

C'est ainsi que nous avons déjà mentionné dans la partie générale que la testostérone, tout comme les autres substances qui agissent sur la crête du chapon, favorise la transformation de l'épithélium des vésicules séminales en sa forme sécrétante. C'est dans l'appareil sexuel normal fonctionnant parfaitement que l'on a le point culminant d'un tel développement. Les substances æstrogènes, par exemple l'æstrone, tendent à modifier l'épithélium, surtout dans les conduits excréteurs des vésicules séminales et d'autres organes masculins, comme la prostate. Ces substances agissent en même temps sur la musculature lisse et sur le tissu conjonctif de ces organes dans le sens d'une hypertrophie. Dans leur ensemble, les substances œstrogènes rendent les organes masculins « incapables de fonctionner ». Le groupe de la testostérone doit donc être considéré avec beaucoup plus de raison comme celui de l' « hormone masculine » que le groupe de l'œstrone. Toutefois les substances de ce dernier groupe ont probablement aussi de l'importance pour les organes « masculins », d'autant plus qu'elles peuvent favoriser, en quelque sorte comme

« pace-maker », des substances telles que la testostérone dans leur action propre. Par une action combinée des deux substances dont il vient d'être question, on obtient des vésicules séminales de plus grandes dimensions que sous l'influence d'une seule d'entre elles. De plus, le succès d'une telle action dépend de l'emploi d'une quantité appropriée de testostérone, quand on désire seulement faire jouer le rôle « d'entraîneur » à l'æstrone, tout en entravant les modifications tissulaires atypiques. Il convient donc de n'employer les expressions de « substances sexuelles mâles et jemelles qu'avec la plus grande prudence » et de les compléter, dans la mesure du possible en même temps par l'indication de leur effet spécial.

Il paraît naturellement tout à fait contre-indiqué que des organes rudimentaires à l'état normal dans un sexe ne subiraient leur développement que sous l'influence des substances « homosexuelles » de l'autre sexe, comme c'est par exemple le cas pour certaines portions des mamelles et pour l'utérus masculin chez le mâle sous l'influence de l'æstrone. D'autre part, cela prouve une fois de plus, une coordination entre les tissus de ces organes et les substances sexuelles envisagées, existant à l'état normal à certains moments en quantités particulières dans le sexe chez lequel les organes influencés ont à remplir temporairement des fonctions spéciales (pour la façon de concevoir cette coordination, voir plus loin).

a. Caractères sexuels « féminins ». — Commençons par ceux-ci pour des raisons historiques et parce que les substances sexuelles femelles ont été étudiées de façon plus approfondie que les substances sexuelles mâles.

Nous nous bornerons à citer quelques-unes des nombreuses recherches effectuées en ce domaine.

- a<sub>1</sub>. Sous l'influence de l'œstrone on a observé dans la trompe de l'animal châtré la croissance de tous les tissus, ainsi que l'augmentation de son travail.
- a<sub>2</sub>. L'utérus est probablement, à côté de la glande mammaire, l'organe qui pendant la vie montre les plus grandes modifications morphologiques et fonctionnelles reconnaissables actuellement

(maturité, menstruation, grossesse, ménopause). Or, on peut déterminer sur l'utérus, pour ainsi dire artificiellement, la plupart de ces modifications partiellement cycliques en faisant agir des substances sexuelles ou en les supprimant.

On a provoqué, déjà avec 1/100<sup>e</sup> de gamma et moins de substance œstrogène, des augmentations nettement visibles macroscopiquement dans l'utérus de souris. D'autre part, des quantités cent mille fois plus grandes d'androstérone n'ont eu presque aucune efficacité, tandis que la testostérone en quantité beaucoup plus petite a eu des effets nets.

Voici un exemple des résultats obtenus sur l'utérus de rat :

Non	OEstrone	Testostérone		Testostérone 500 gamma	Androstérone
	6 gamma.	167 gamma.	500 gamma,	+ OEstrone 6 gamma.	2000 gamma,
39	165	58	75	229	57

Au-dessus de la ligne pointillée, nous avons indiqué le nom des substances et leurs doses en gamma; en dessous, nous avons mentionné, en milligrammes, le poids de l'utérus de rats femelles châtrés. Nous relatons intentionnellement, outre les expériences effectuées avec une seule substance, un essai où l'on a employé à la fois la testostérone et l'æstrone, afin de mettre en évidence l'effet de « pace-maker » : l'augmentation de poids de l'utérus réalisée par cette action combinée est plus considérable que celle qui résulterait de l'addition des effets des deux substances employées isolément.

Les multiples observations histologiques effectuées avec les différentes substances sexuelles et le passage aux phénomènes pathologiques ne seront pas examinés ici; nous parlerons seulement avec un peu plus de détails des modifications dites prégravidiques qui ont fait l'objet d'études très approfondies. Parmi celles-ci on perçoit en particulier la soi-disant « spécificité » et, en outre, la nécessité de la coopération de différentes substances.

Il est bien connu que ces modifications consistent en un ramollissement du tissu, une circulation sanguine plus considérable, une augmentation extraordinaire de l'épithélium dans les glandes à sécrétion, et, de plus, quand un corps étranger à savoir l'œuf, intervient, en la production de la membrane déciduale. Tout ceci représente, en réalité, les changements de l'utérus, et en particulier de sa muqueuse, nécessaires à la fixation ou nidation de l'œuf fécondé. Jusqu'à présent on n'a pas réussi avec une autre substance que la « progestérone » à produire cette modification chez la lapine, animal qui a été surtout étudié, même en augmentant 150 fois la dose, par exemple de « prégnandiol ». Toutefois les modifications dues à la progestérone ne se produisent que si l'animal infantile ou châtré a été traité au préalable par des substances œstrogènes (on a presque toujours employé l'æstrone). Or, chez l'animal normal on est en droit d'admettre une intervention préalable des substances œstrogènes mises en liberté dans la circulation.

Étant donné cet effet synergétique de l'æstrone, il est intéressant de constater qu'à la suite d'une nouvelle administration d'une dose plus considérable d'æstrone, il ne se produit plus de transformation de la muqueuse à l'état prégravide; cette constatation nous amène à admettre un effet antagoniste des fortes doses d'æstrone. La stérilité obtenue par l'administration d'æstrone est due à cet antagonisme. Il est toutefois douteux que l'interruption de la grossesse observée avec des préparations impures chez différentes espèces animales (occasionnellement également chez l'homme) doive être attribuée à l'œstrone. Pendant la grossesse, et en tout cas au début de cette période de l'existence, la progestérone ou des substances analogues (produites au cours de la grossesse probablement par le placenta) sont indispensables pour le maintien de l'état gravide, c'est-à-dire non seulement pour la simple transformation de la mugueuse de l'utérus, mais aussi pour le maintien des modifications caractéristiques de la paroi utérine nécessaires pour constituer avec le placenta l'ensemble indispensable à la nutrition du fœtus. On ignore encore si, comme il a déjà été dit, une trop grande quantité d'æstrone ou d'autres substances existant dans les extraits impurs, peut s'opposer aux effets de la progestérone. Il ne peut naturellement pas être question d'un antagonisme chimique quelconque. Ce qui paraît probable, c'est qu'en grande quantité l'æstrone - ou bien les substances hypothétiques analogues - agissent sur la musculature, les vaisseaux et le tissu conjonctif, de telle manière que l'effet de la progestérone ou bien soit empêché, ou bien se produise d'une façon anormale, et que l'avortement en soit la conséquence, étant donné qu'on a observé des dégénérescences ou nécroses dans l'endometrium, des ruptures de vaisseaux dans le placenta, etc.

L'affirmation émise ci-dessus que la progestérone ou des substances analogues sont nécessaires au maintien de la grossesse est basée sur le fait que la castration, ou seulement la suppression du corps jaune pendant la première partie de la grossesse (chez certaines espèces animales aussi pendant toute la durée de l'état gravide) conduisent à l'avortement, mais que d'autre part celui-ci est empêché si l'on donne alors de la progestérone. Cette constatation revêt, d'ailleurs, une très grande importance pratique pour les femmes menacées d'avortement.

Tandis que les effets décrits jusqu'à présent ont pu être aussi observés chez les mammifères inférieurs, l'influence sur la menstruation n'a pu être étudiée que chez la femme et les guenons. Il n'y a aucun doute que l'on puisse provoquer les symptômes les plus caractéristiques de la menstruation chez des guenons châtrées et chez des femmes ayant des ovaires ne paraissant plus fonctionner ou ne fonctionnant plus du tout, en administrant de l'œstrone puis de la progestérone.

Le symptôme principal de la menstruation et en même temps le seul connu par le profane, l'hémorragie, peut être provoqué par l'emploi soit de l'œstrone, soit de l'œstradiol, sans qu'il soit nécessaire de recourir en plus à la progestérone. Il en est de même chez les chiennes qui montrent à l'état normal, également au cours de l'æstrus, une hémorragie. Il est important de signaler que cette hémorragie peut être provoquée en l'absence d'hypophyse chez des jeunes filles, des guenons et des chiennes. En général cette hémorragie expérimentale survient seulement quelques jours après la cessation de l'administration des substances œstrogènes en question. La progestérone peut faire cesser ces hémorragies et par conséquent retarder la menstruation régulière. On doit sans doute expliquer de cette façon les observations d'après lesquelles l'emploi de substances gonadotropes chez la femme a eu pour conséquence de déplacer en quelque sorte à volonté le moment où survient la menstruation. D'après les expériences effectuées chez l'animal on semble être en droit de conclure que ce phénomène est dû à un renforcement de la phase lutéinisante, tel qu'il se produit davantage de progestérone (ou peut-être de substances du corps jaune) dans l'organisme que dans les conditions habituelles.

La mobilité de l'utérus est aussi influencée par les substances sexuelles, et sans trop d'extrapolation on peut se faire une image, peut-être assez voisine de la réalité, de la manière dont la mobilité est normalement réglée par ces substances.

Dans ce but il faut effectuer des essais in vivo sur l'utérus observé dans des conditions aussi physiologiques que possible. On y arrive le mieux par la méthode dite de la fenêtre ventrale, où une partie de la paroi du ventre est remplacée par une fenêtre en celluloïde. Un animal ainsi traité peut continuer à vivre sans inconvénients pendant très longtemps; il peut être fécondé et procréer.

Signalons, en outre, que cette méthode permet encore d'étudier l'action dite « suraiguë » de l'æstrone sur les vaisseaux de l'utérus et de son appareil de suspension (mésometrium). Les vaisseaux se dilatent déjà une demi-heure après l'injection intraveineuse et présentent le maximum de leur dilatation au bout de 2 heures. Cette influence est très élective en ce sens que les vaisseaux situés dans les environs immédiats, par exemple de la vessie, de l'intestin et du mésentère, ne subissent pas de modifications de leur diamètre. Cette observation revêt une très grande importance, car toutes les modifications morphologiques dues à l'æstrone sont probablement précédées de réactions vasculaires de ce genre.

Quant à la régulation de la mobilité dont nous venons de parler, on peut l'expliquer en admettant que l'æstrone et les substances analogues la favorisent, tandis que la progestérone l'entrave. Cette action favorable ne consiste probablement pas en une stimulation directe de l'appareil de mobilité (nerfs ou muscles) par l'æstrone, mais plutôt en une augmentation indirecte de la sensibilité de l'utérus vis-à-vis de la substance excitante pour ainsi dire normale (?) de la musculature de l'utérus, c'està-dire vis-à-vis de l'ocytocine, contenue dans les extraits du lobe postérieur de l'hypophyse. De même, bien qu'en sens opposé, l'influence de la progestérone semble être indirecte et paraît essentiellement consister à entraver la sensibilité de l'utérus vis-à-vis de l'ocytocine. Avec des quantités déterminées des trois

hormones : æstrone, progestérone, ocytocine, on parvient à comprendre le comportement de l'utérus lors de l'état gravide, à savoir le repos de cet organe pendant la première partie de la grossesse, puis l'augmentation de sa mobilité durant la deuxième période de la gravidité et peut-être même lors de l'accouchement.

as. Vagin. - Comme pour l'utérus, on peut déjà provoquer des modifications de croissance du vagin avec des quantités extrêmement petites de substances féminines. Un symptôme net de croissance chez les jeunes animaux est l'ouverture du vagin. Chez les souris et les rats, les jeunes naissent à un stade qui est encore fœtal chez d'autres mammifères. Le vagin est, par conséquent, à cette époque seulement un cordon solide qui se transforme normalement, quelques semaines après la séparation de la mère, en un conduit. Cette transformation s'accompagne d'un épaississement de l'épithélium, semblable à celui qu'on observe plus tard lors de l'æstrus. Or, on peut obtenir cette transformation chez les jeunes rats, par exemple, avec 1 γ environ d'æstrone (une quantité bien moindre d'æstradiol) et déjà avec 1/10e de gamma d'æstriol. Ceci est fort surprenant, car pour provoquer la réaction œstrale chez les rats châtrés adultes il faut, par exemple, 10 à 100 fois plus d'æstriol que d'æstrone. Tandis que le rapport entre les doses minimales d'œstrone et celles d'œstriol est 10 à 1 et peut être même 100 à 1 pour l'ouverture du vagin, il est 1 : 10 pour l'æstrus; le quotient de ces deux rapports représente donc 100 si pas 1000. Or, on avait naturellement, tout d'abord, pensé que ce rapport devait être égal à 1 : 1. On voit donc à nouveau que toute prophétie est ici impossible.

Pour ce qui concerne les substances dites mâles, on peut déjà provoquer l'ouverture du vagin avec 20 γ d'androstandiol, avec environ 1,2 à 6<sup>mg</sup> d'androstènedione, avec des quantités analogues de transdéhydroandrostérone et de testostérone, donc avec des quantités 30 000 fois plus grandes de ces substances masculines que celles d'œstradiol et d'œstriol nécessaires à cet effet.

La croissance du vagin des rats adultes châtrés, déterminée par pesée après que les animaux ont reçu pendant trois semaines deux fois par jour 6 γ d'œstrone, fait apparaître des conditions analogues à celles mentionnées ci-dessus pour la croissance de l'utérus. 167 γ de testostérone agissent à peu près comme 6 γ d'œstrone. Si l'on a recours à ces deux substances sexuelles en même temps, leur action est un peu plus forte que l'addition des effets des deux constituants ne permettrait de le prévoir. La déhydroandrostérone par contre n'agit jusqu'à des doses de 4<sup>mg</sup> pour ainsi dire pas du tout, même en combinaison avec l'æstrone.

Le plus grand nombre d'essais a été fait à propos de l'æstrus. Nous pouvons toutefois être bref, car si nous entrions dans de nombreux détails, nous devrions écrire une monographie, évidemment trop volumineuse.

Il est certain que la plupart des progrès dans notre domaine n'auraient pas été réalisés sans la découverte fondamentale des chercheurs américains que le vagin des rongeurs accuse des modifications régulières apparaissant avec l'æstrus, et ensuite par l'introduction du « test vaginal ». Une démarcation entre les substances æstrogènes et le grand groupe des substances chimiques très voisines, c'est-à-dire qui, à la dose de quelques gamma introduits par voie sous-cutanée, donnent dans la plupart des cas (70 pour 100) une réaction œstrale positive, est tout à fait justifiée (voir spécificité). On a constaté des modifications du vagin chez la femme châtrée sous l'influence de fortes doses, bien que certains auteurs n'aient pu le confirmer. La prolongation de l'effet par l'emploi du monoester d'æstradiol ne paraît par contre pas tout à fait démontrée, malgré différentes affirmations. Il est toutefois certain que, par une administration prolongée d'æstrone et probablement aussi des autres substances œstrogènes, les modifications de l'æstrus peuvent être maintenues pendant quelques semaines.

L'inefficacité de doses considérables des substances sexuelles « mâles » se constate chez la souris et chez le rat. Chez la souris 10 mg d'androstérone sont sans effet; ceci correspond à une quantité 100 000 fois plus grande que la dose active d'æstrone. Chez le rat, traité pendant trois ou même quatre semaines avec des doses journalières de 0,5 à 1 mg,8 d'androstènedione, on n'a obtenu aucun résultat et tel a aussi été le cas avec l'androstandiol.

Les expériences suivant lesquelles l'œstrus est déjà provoqué par voie intravaginale par 1/200 de la quantité d'æstrone nécessaire par voie sous-cutanée, revêtent une importance particulière pour se rendre compte de la quantité de cette hormone intervenant réellement dans l'organe. La continuation d'expériences, négatives, jusqu'à présent, ayant pour but de vérifier si de l'épithélium vaginal isolé peut déterminer des modifications de l'æstrus, présenterait certes un grand intérêt.

Eu égard à la coopération d'autres substances et à leur spécificité, mentionnons que des extraits de l'hypophyse n'augmentent pas la réaction de l'æstrus et l'effet sur l'épaisseur de l'utérus de l'animal châtré, tandis que des extraits d'urine possèdent ces propriétés tout en ayant des effets gonadotropes analogues à ceux des extraits hypophysaires.

Il est très important de constater que pendant la grossesse le vagin de la souris et du rat ne montrent pas les modifications observées pendant l'œstrus, bien qu'il se produise une forte augmentation et un épaississement de l'épithélium; dans ces conditions, cet épithélium ne présente pas de cornification, mais il se charge de mucosités. Expérimentalement on ne parvient d'ailleurs pas à obtenir la cornification pendant la grossesse, par de très fortes doses d'æstrone. On a démontré d'autre part que l'absence de cornification paraît être due à un effet inhibiteur, soit de la progestérone présente en même temps que l'æstrone, soit d'autres substances du corps jaune ou de substances analogues du placenta.

On a reconnu expérimentalement à maintes reprises que les extraits du corps jaune retardent l'apparition de l'æstrus naturel chez des rats et des cobayes pendant plus de six semaines (c'està-dire durant environ 7 cycles naturels). Dans des expériences moins nombreuses on a observé les mêmes faits avec de la progestérone pure. Il se pourrait que cette inhibition soit, en partie tout au moins, d'origine hypophysaire, la quantité de substances gonadotropes et surtout des substances provoquant la maturation des follicules, pourrait subir une diminution, qui à son tour aurait pour conséquence de restreindre la production des substances æstrogènes dans l'ovaire. On a aussi prétendu que les extraits testiculaires et des substances purement masculines parvenaient à inhiber l'æstrus, mais cela n'a pas encore été établi avec certitude. Ni la thyroxine ni l'adrénaline n'entravent l'æstrus.

L'æstrus artificiel, c'est-à-dire l'effet æstrogène de l'æstrone

chez les souris et rats châtrés, a pu lui aussi, être supprimé par la progestérone et par le prégnandiol; en cette occurrence on est amené une fois de plus à admettre une influence plutôt indirecte par l'intermédiaire de l'hypophyse et des ovaires.

La progestérone a, d'autre part, pour effet — mais de nouveau seulement après l'action préalable de l'æstrone — de produire une surabondance de mucosités, une véritable mucification de l'épithélium. Toutefois cet effet a été également obtenu chez la souris, au moyen de minimes doses, 1/4 à 1/2 unité, de substances æstrogènes. Ces dernières expériences doivent néanmoins être répétées avec du matériel pur, pour nous mettre en présence de faits indubitables.

On sait que la concentration en ions H dans le milieu vaginal a une importance pour la constitution normale et les fonctions du vagin, par exemple pour le maintien de la mobilité des spermatozoïdes qui y ont pénétrés. Nous ignorons jusqu'à quel point la nature de l'épithélium et celle de sa sécrétion interviennent dans ces processus. Mais nous savons que l'æstrone, en coordination de son effet sur l'épithélium, déplace vers le côté acide la réaction de la sécrétion vaginale.

a4. Les modifications du squelette, indispensables pour permettre la naissance sont, elles aussi, sous l'influence des substances sexuelles. C'est ainsi que se produit l'effet de relâchement; cela signifie, chez le cobaye, un écartement de la symphyse et de la liaison ventrale des os du bassin. De ce fait, à titre transitoire, la liaison fixe est remplacée par une liaison mobile (par du tissu conjonctif). On peut obtenir ce phénomène à coup sûr au moyen de l'æstrone. Dès lors on est en droit de supposer que les constatations analogues, effectuées en ayant recours, soit au sérum d'animaux gravides, soit à des extraits du corps jaune et du placenta, sont à attribuer à l'æstrone qui y est contenue. En effet, la progestérone à la dose de 3mg,5 et le prégnandiol à celle de 100mg restent inefficaces, tandis que déjà environ 10 y d'æstrone provoquent le relâchement. Ajoutons qu'on peut obtenir les effets de « relâchement » chez la souris mâle. Probablement cette action est basée sur une décalcification.

Le fait que ce processus a lieu, dans des conditions normales,

de façon sélective dans les os du bassin, constitue un nouvel exemple de la coordination énigmatique des composés sexuels (ou de leurs produits de transformation) avec les tissus sur lesquels ils réagissent.

a<sub>5</sub>. Glandes mammaires. — A ces organes s'applique d'une façon bien particulière ce que nous avons souligné dans la partie générale : seule une analyse aussi exacte que possible, tant histologique que fonctionnelle, permet de se rendre compte des effets des substances sexuelles. Au début on se contentait de constater une modification, et on la considérait même comme une influence « féminisante », en allant au delà de ce qu'on était autorisé à conclure de l'influence sur les glandes mammaires. On perdait de vue d'une part que les conditions sont différentes pour chaque espèce animale, et d'autre part que les divers tissus de la glande mammaire se comportent de façon différente et qu'il en résulte des états fonctionnels très variables.

Il y a lieu d'envisager séparément les parties externes des glandes mammaires, le mamelon, l'aréole plus ou moins pigmentée et les portions internes de ces glandes et, pour celles-ci, il convient encore d'établir une distinction entre la glande proprement dite et la graisse et le tissu conjonctif qui l'entourent. En ce qui concerne la glande proprement dite, il faut au surplus distinguer entre les canalicules et les lobules (acini) qui normalement sont les seuls organes sécréteurs.

Si l'on constate une sécrétion, il est important de reconnaître si elle revêt la nature du « colostrum » ou celle du véritable lait.

L'effet activant de l'æstrone sur les parties extérieures des mamelles est absolument certain pour toutes les espèces d'animaux examinées, tant pendant la période de croissance qu'à l'état adulte, et aussi bien pour les mâles que pour les femelles et pour les animaux châtrés. Suivant la plupart des auteurs l'effet ne se produit pas chez les animaux sans hypophyse. L'équiline, l'æstradiol, le benzoate d'æstradiol agissent de la même façon. Tandis que l'æstrone détermine chez les cobayes une sécrétion lactée, d'ailleurs très faible, ce qui représente encore un signe du développement des parties sécrétantes, cela ne se produit pas chez la plupart des autres espèces animales. Il est apparu tout d'abord

comme une grande complication que la sécrétion lactée ne survient chez le cobaye qu'après la cessation de l'arrivée d'æstrone, elle est à nouveau interrompue par de nouvelles doses de cette subtance et recommence quand on cesse l'administration d'æstrone ou même après la diminution de la dose de folliculine. On devait déjà conclure, en se basant sur ce va et vient, que l'æstrone n'est certainement pas le seul agent qui intervienne pour le développement et le fonctionnement des glandes mammaires. Ceci est, d'ailleurs, prouvé, abstraction faite de la faible quantité de lait obtenue chez le cobaye, également par l'image microscopique des mamelles sécrétant du lait sous l'influence de l'æstrone; d'après cette image la faible sécrétion lactée est fournie, non par les acini, mais par les canalicules ou plutôt par leurs extrémités.

Il est difficile de donner un schéma quelque peu adéquat de l'état actuel de la question pour toutes les espèces animales. Néanmoins on peut dire à peu près ce qui suit :

Chez la plupart des animaux, on n'obtient guère avec l'œstrone que la préparation de la glande mammaire. Chez certaines espèces animales un développement des parties régulièrement sécrétantes ne peut être réalisé que sous l'influence combinée de l'æstrone et de la progestérone; mais avec cela l'essentiel n'est pas encore connu. Car l'hypophyse joue à nouveau un rôle particulièrement important. Or, on n'a pas encore établi d'une manière suffisamment exacte dans quelles limites les substances sexuelles exercent une influence en l'absence d'hypophyse. La conservation d'animaux hypophysectomisés n'est malheureusement possible que pour très peu d'espèces animales. Il est certain que l'hypophyse est nécessaire pour permettre le fonctionnement quelque peu normal des glandes mammaires. L'hypophyse intervient probablement surtout par des substances qui ne sont pas encore bien connues au point de vue chimique. En employant des extraits du lobe antérieur de l'hypophyse appelés prolactine et galactine on a provoqué, chez toute une série d'espèces animales (même de grande taille, tels que la chèvre et la vache), la première sécrétion de lait et l'on est parvenu à remettre en activité une sécrétion ralentie. On n'obtient de lactation chez les animaux femelles infantiles qu'après leur avoir donné au préalable de l'æstrone. Par un traitement combiné au moyen d'æstrone, de progestérone et de

prolactine, on a réussi à obtenir une très grande ressemblance, qui n'a toutefois pas été absolue, entre les glandes mammaires d'un cobaye vierge et celles d'un cobaye adulte sécrétant normalement du lait.

D'après les recherches les plus récentes, on peut imiter le développement de la mamelle par l'œstrone en ayant recours à une combinaison de prolactine et de produits de la portion corticale des capsules surrénales (cortine). L'effet de l'æstrone pourrait donc consister à favoriser la production de prolactine et de substance corticotrope dans l'hypophyse; la substance corticotrope provoquerait à son tour la formation de « cortine » dans les capsules surrénales. Si la prolactine seule n'amène pas une croissance nette des glandes mammaires, ce serait dès lors dû à un manque relatif en « cortine ».

Il est certain que le système nerveux (réflexes d'aspiration ou de têtées) joue aussi un rôle important et c'est seulement grâce à la collaboration des substances et systèmes dont nous venons de parler que la transformation normale de la mamelle en un organe sécrétant, d'importance primordiale pour l'existence du nouveau-né, est possible. Dans cet ordre d'idées, il importe de rappeler que malgré la formation complète de la mamelle, la sécrétion ne commence qu'après la naissance et fournit seulement après quelque temps d'abord du colostrum et ensuite du lait. Quelle que soit la manière dont le développement de la mamelle est favorisé par l'œstrone, il est certain que lorsque cette dernière est donnée en grande quantité, la sécrétion lactée n'a pas lieu ou s'arrête. Ceci survient, comme il a déjà été indiqué plus haut, d'une part dans des circonstances physiologiques (production de l'æstrone par le placenta pendant la grossesse) et d'autre part dans des conditions pharmacologiques (æstrone administrée pendant la lactation spontanée ou artificielle). L'inhibition de la lactation par l'æstrone est un des effets certains et les moins contestés de cette substance.

Il est d'un intérêt biologique extraordinaire qu'un organe présentant une structure tout à fait particulière chez une espèce animale tout à fait différente, à savoir le jabot des pigeons, est amené à la croissance et au fonctionnement par l'extrait susmentionné de l'hypophyse, à savoir la prolactine. La seule analogie entre cet effet et celui sur la glande mammaire des mammifères réside dans le moment tèléologique; dans les deux processus il s'agit de rendre possible l'alimentation des jeunes animaux. Je dois me contenter de mentionner seulement ce fait, qui s'écarte certes quelque peu du sujet du présent Rapport.

Je ne désire pas non plus entrer dans des détails sur la croissance pathologique de la mamelle avec dilatation, formation de kystes, hyperplasie, durcissement, formation de fibromes, d'adénomes et de carcinomes. Il paraît certain que, pour ces formations malignes, la race des animaux joue un rôle.

b. Effet sur les caractères sexuels masculins. — Il a déjà été mentionné plus haut que tous les caractères sexuels, pour autant qu'ils n'aient pas encore apparu avant la maturité ou qu'ils aient régressé après la castration, peuvent être développés par des substances sexuelles. Et précisément à cause des différents effets des diverses substances, surtout dans le sens quantitatif, sur les différents organes, la séparation de ces substances a déjà été possible avant qu'on les ait préparées par voie chimique et qu'on ait pu commencer leur différenciation chimique. Une des premières constatations faites dans ce domaine fut la différence existant entre les substances « mâles » de l'urine et des testicules.

Il est inutile de citer les différents organes, mais il suffit d'établir la différence principale. A peu d'exceptions près, à savoir les « vésines » observées jusqu'à présent seulement par le chercheur qui les a découvertes, toutes les substances qui agissent sur les caractères sexuels des mammifères, agissent également sur la crête du chapon, mais l'inverse n'est pas exact, c'est-à-dire que parmi les substances qui agissent sur la croissance de la crête, quelques-unes n'ont qu'un effet très faible chez les mammifères et notamment sur leur vésicule séminale. D'une manière semblable à ce que nous avons déjà mentionné plus haut à différentes reprises, on constate une coordination en apparence différente des diverses substances ou de leurs produits de dégradation vis-à-vis des différents organes mâles et des différents tissus qui les composent.

L'androstérone, la testostérone et un grand nombre d'homologues et de dérivés de ces substances sexuelles masculines stimulent la croissance, non seulement de l'objet de recherches le plus employé chez les oiseaux, la crête du chapon, mais aussi des autres organes accessoires de la tête du coq, comme les barbillons et les oreillons. En outre, les substances dont nous venons de parler empêchent, chez le chapon, l'atrophie complète des organes sexuels internes et notamment de l'épithélium du canal déférent, bien que l'on n'ait pas encore trouvé jusqu'à présent le moyen d'obtenir une formation complète de tous les tissus du « canal déférent » chez les coqs châtrés. Le problème de la « bourse de Fabricius » et de sa régression chez le coq adulte n'est pas non plus encore résolu.

Le dimorphisme sexuel des poules est probablement basé presque exclusivement sur les substances sexuelles. La poule peut se transformer, soit après une maladie, soit après l'extirpation de son seul ovaire normalement développé, qui se trouve du côté gauche du corps, en un coq parfait dès que les ébauches testiculaires situées du côté droit du corps sont parvenues à leur complet développement. Au surplus, la tête de la poule normale se rapproche du phénotype du cog, à la suite de l'administration de substances activant la croissance de la crête. Grâce à l'emploi de ces substances on peut, d'ailleurs, réaliser toutes sortes de formes intermédiaires, parfois même fort difficiles à définir. Les porteurs de caractères des deux sexes doivent être en réalité appelés des gynandromorphes, ce qui ne veut toutefois pas encore dire que la gynandromorphie externe coïncide toujours avec une gynandromorphie interne, c'est-à-dire avec l'existence des deux sortes de gonades, et par conséquent avec un véritable hermaphroditisme. Tandis qu'en quatre semaines environ, la crête et les autres appendices de la tête atteignent, chez le chapon comme la poule, par des doses journalières de 0,5 à 4mg des substances les mieux connues activant la croissance de la crête, la même grandeur que chez le coq, on ne constate aucun changement du plumage, c'est-à-dire que la poule conserve la forme et la couleur de ses plumes. Ce qui a été dit au sujet des plumes s'applique aux races sexuellement dimorphes sous ce rapport, telles que les Leghorns brunes. S'il n'existe pas de différence entre les plumages des deux sexes, comme dans le cas de la race Sebright où le coq et la poule ont tous deux un plumage analogue à celui de la poule, ce plumage se modifie néanmoins après la castration, et cela chez les deux sexes dans le sens d'un type correspondant au coqou au chapon en provenant dans les races sexuellement dimorphes (plumes pointues du cou et du dos). Chez les races sexuellement dimorphes par contre, les plumes restent chez le chapon telles qu'elles étaient chez le cog, tandis que chez la poule châtrée elles prennent le même aspect que chez le coq et chez le chapon. Pour ce « phénotype » on a déjà proposé la dénomination de neutre. Les substances qui activent la croissance de la crête sont donc sans influence sur le plumage de races sexuellement dimorphes. Chez les races monomorphes (Sebright) on a tout d'abord admis que le cog produit des « substances femelles » responsables du plumage « féminin ». Mais, chose plutôt inattendue, on a ensuite montré qu'il faut attribuer, chez les chapons Sebright, l'effet « féminisant » (plumage des poules) aux substances actives « mâles », l'androstérone par exemple. Ces animaux sont, en outre, sensibles vis-à-vis de l'œstrone, car on a réussi de cette manière à faire réapparaître le plumage féminin chez des poules Sebright. Le dimorphisme sexuel concernant le plumage existe donc chez les poules lorsque les plumes (ou les substances régulatrices de leur développement) ne constituent pas un point d'attaque pour les substances activant la croissance de la crête.

Les plumes semblent ne pouvoir présenter que deux types dans les différentes races de poules.

- 1º Un type neutre, qui se rencontre quand aucune substance sexuelle n'exerce d'influence; il existe donc chez les diverses espèces de castrés et chez les coqs des races chez lesquelles les substances activant la croissance de la crête (du moins pour les quantités normalement existantes dans l'organisme) n'exercent aucune influence.
- 2º Un type appelé féminin, qui se rencontre chez toutes les poules, chez tous les animaux, auxquels les substances œstrogènes sont administrées en quantités suffisantes, et chez les coqs des races dont les plumes sont suffisamment sensibles vis-à-vis des effets des substances amenant la croissance de la crête.

Cet exemple était important à signaler, car il permet de comprendre que les caractères des deux sexes peuvent exister et se développer en bonne harmonie les uns à côté des autres. Le traitement simultané par des substances œstrogènes et par des substances amenant la croissance de la crête des châtrés des deux sexes, par exemple chez des Leghorn bruns, donne un individu bizarre, qui possède visiblement les caractères phénotypes des deux sexes, reconnaissables aux plumes chez la poule, à l'aspect de la tête (et au caractère) chez le coq. Les plumes réagissent à des doses journalières de 15 à 30 γ d'æstrone; elles acquièrent des bandes ou rayures à coloration féminine, si l'on administre ces doses seulement pendant une partie de la période de la croissance des plumes; mais si l'on continue le traitement sans interruption (pendant trois semaines), ce qui suffit pour amener la plupart des plumes à leur développement total, toutes les parties des plumes, qui se sont formées pendant cette période, correspondent au type féminin.

Un résultat très surprenant des derniers temps, parce qu'il indique un antagonisme direct (voir partie générale) est le suivant : des doses environ 100 fois plus considérables d'æstrone que celles dont il vient d'être question peuvent entraver la croissance de la crête et celle des autres appendices de la tête, pourvu que l'on ait soin d'administrer en même temps des substances déterminant la croissance de la crête. Cet antagonisme direct pourrait peut-être contribuer à expliquer pourquoi une dose donnée de substances provoquant la croissance de la crête fait apparaître des crêtes plus petites chez les poules normales que chez les chapons.

Une espèce d'inhibition par des substances œstrogènes doit peut-être encore être admise à en juger d'après le comportement des ergots dans les diverses races de poules. Comme la crête des animaux adultes — et ceci est peut-être d'une importance pratique pour l'étalonnage — les appendices mâles de la crête, existant dans les deux sexes, réagissent dès l'âge infantile le plus précoce sous l'influence des traitements par les substances favorisant la croissance de la crête.

Il y a lieu de mentionner, en outre, que la crête convient spécialement à l'application locale de substances sexuelles; déjà une fraction de la dose sous-cutanée détermine une croissance considérable. Il est très important de signaler (voir deuxième partie) qu'en appliquant directement sur la crête la même quantité des différentes substances qui en favorisant la croissance, on obtient environ le même degré de croissance (0.7 à 1 γ provoquent environ 15 pour 100 de croissance après un traitement de quatre jours), bien qu'il s'agisse de substances qui, dans l'administration par voie sous-cutanée, exigent des quantités très différentes pour produire un effet de même intensité; par exemple 15 γ de testostérone correspondent à 100 γ d'androstérone. Chez les poules, la « masculinité » des caractères allant jusqu'à l'apparition du « canal déférent », est complètement obtenue avec toutes les substances favorisant la croissance de la crête, examinées jusqu'à présent, sans substances auxiliaires, et ceci déjà pour des quantités modérées (25 fois 4<sup>mg</sup> d'androstérone). Cette masculinité complète se rapporte aussi à la structure histologique de la crête dont la vascularisation spéciale réagit particulièrement avec ces substances et peut imiter les conditions réalisées chez le coq à un point tel qu'on pourrait être amené à confondre les deux sexes.

Chez les mammifères les conditions sont plus compliquées, parce que le dimorphisme sexuel se manifeste chez eux souvent de façon bien moins marquée extérieurement que chez les oiseaux. Les organes sexuels masculins internes peuvent réagir sous l'action des substances favorisant la croissance de la crête, mais également sous celle des substances œstrogènes. L'analyse histologique montre toutefois que des tissus complètement différents sont atteints dans ces deux cas.

Au point de vue théorique comme au point de vue technique expérimental, les laps de temps au bout desquels les différents tissus masculins s'atrophient après la castration, revêtent une grande importance. Les structures épithéliales se reforment rapidement, tandis qu'au contraire les muscles et le tissu conjonctif résistent pendant des semaines et même des mois à la dégradation complète, de telle sorte que, du moins pour ce qui concerne le poids des différents organes (vésicules séminales), seuls les animaux châtrés à un âge très jeune, présentent un « stade zéro » après la castration. Comme il a été déjà mentionné au début des considérations relatives aux caractères masculins, le quotient de la dose de restitution complète et de la dose minimun active est moindre pour la plupart des substances favorisant la croissance de la crête chez les chapons que chez les rats châtrés à l'âge infantile.

Par addition de « substance X » à certaines substances favorisant la croissance de la crête et également par estérification de ces dernières, ce quotient diminue chez les rats, tandis qu'il ne varie pour ainsi dire pas chez les chapons.

Un exemple permettra peut-être de se rendre mieux compte des faits. L'administration pendant quatre semaines de 100 y de testostérone par jour fait passer les vésicules séminales du rat de 6mg à environ 60mg, tandis que la même quantité donnée sous forme de propionate amène le poids des vésicules séminales jusqu'à 500 à 600 mg; on peut obtenir le même effet quand on ajoute la substance X aux quantités de testostérone indiquées plus haut. En ce qui concerne la substance X, malgré des essais extrêmement nombreux, on ne connaît pour le moment rien d'autre sur sa nature que ceci : elle est une fraction acide de différents extraits d'organes, qui ne paraît exercer d'influence qu'en combinaison avec des stérols déterminés à effet masculin, à savoir avec des stérols qui possèdent un groupement OH en 17, tels que la testostérone, l'androstandiol, etc.; mais en aucune facon avec l'androstérone, etc. Il est impossible d'attribuer exclusivement à des conditions de résorption cette influence chez les rats, sur l'efficacité des substances favorisant la croissance de la crête, bien que l'inactivité de la substance X, lorsqu'elle est injectée en l'absence de toute substance favorisant la croissance de la crête, semble plaider en faveur de cette conception.

Certains caractères fonctionnels, tels que la mobilité des spermatozoïdes (prélevés aux testicules accessoires), etc. peuvent être produits artificiellement par des substances « masculines » ou tout au moins être développés considérablement.

Les expériences qui démontrent l'influence des substances sexuelles à effet « masculin » sur la mobilité des vésicules séminales promettent, elles aussi, d'intéressants résultats. L'analyse des effets obtenus par l'association de l'æstrone, de la progestérone et de l'ocytocine (voir plus haut mobilité de l'utérus) par rapport à ceux de l'association de l'æstrone, de la testostérone et de l'ocytocine pourrait mettre en évidence des données de quelque intérêt.

Une autre branche de recherches relatives aux organes masculins, celle qui a trait à la *prostate*, présente à l'heure actuelle un développement bien plus notable que les investigations dont nous

venons de parler. On doit attribuer à ces recherches une importance de tout premier ordre pour la compréhension de la pathogénèse et pour les directives de la thérapeutique. Comme il a déià été dit plus haut, les substances œstrogènes exercent une influence sur les portions musculaires des organes masculins formées, soit de tissu musculaire, soit de tissu conjonctif. Des doses de 6 y d'œstrone ou une dose à effet œstrogène analogue d'un autre représentant de ce groupe peuvent agrandir, chez les rats, la vésicule séminale et favoriser de cette manière l'effet des substances sexuelles « masculines » sur le système épithélial glandulaire (effet de pace-maker). Il reste à reconnaître jusqu'à quel point cet effet revêt une importance « physiologique ». Un traitement exclusif avec davantage de substances œstrogènes (donc sans combinaison avec des substances correspondantes à effet « masculin ») provoque, chez toutes les espèces animales examinées jusqu'à présent, des modifications pathologiques. Celles-ci se manifestent par une augmentation de la grandeur de tous les organes sexuels, accompagnée d'une métaplasie épithéliale (l'épithélium présentant une couche cubique ou cylindrique se transforme en épithélium à plusieurs couches et même parfois en épithélium cornifié qu'on peut appeler épithélium à aspect d'emplâtre « Pflasterepithelium ») et d'une forte prolifération de la musculature lisse et des différentes espèces de tissu conjonctif. L'analogie avec l'effet chez les femelles est très grande. La tendance à ces modifications n'est pas la même chez les différentes espèces animales; chez le rat, la musculature du tissu conjonctif réagit plus facilement que l'épithélium; chez la souris, cette différence est moins nette que chez le rat; chez le cobaye, la métaplasie épithéliale ne se produit pratiquement pas. Ainsi chaque espèce animale présente un organe de prédilection; il en résulte qu'en ayant recours à une dose appropriée on n'obtient d'accroissement que d'un seul organe : chez la souris c'est le « duetus ampullæ »; chez le rat c'est la vésicule séminale; chez le cobaye c'est probablement le canal déférent; chez le chien (la seule espèce animale qui présente une hypertrophie spontanée de la prostate) c'est la prostate. Chez les animaux qui possèdent un « utérus masculin », il se comporte de la même facon que le système vagin-utérus chez la femelle.

L'observation ci-après est très intéressante, parce qu'elle donne pour le moment une certaine explication de l'effet thérapeutique des substances masculines sur l'hypertrophie de la prostate, si fréquente chez l'homme. Cette thérapeutique a été appliquée immédiatement après la découverte de ces substances et ses résultats persisteront de façon indubitable, même si leur explication théorique actuelle était reconnue erronée. Quand on administre en même temps des substances æstrogènes et des substances masculines, la métaplasie de l'épithélium ne se produirait pas. On a pu établir des rapports quantitatifs précis, relativement à la quantité de substance masculine nécessaire pour compenser l'effet de la substance œstrogène. Ceci permet de comprendre qu'à l'état normal chez le mâle, par suite de la présence de substances masculines, il faut des quantités beaucoup plus considérables de substances œstrogènes que chez les châtrés pour obtenir des modifications métaplasiques.

En se basant sur ces observations on a établi une théorie d'après laquelle l'hypertrophie de la prostate de l'homme âgé provient peut-être d'un déplacement de l'équilibre entre les substances œstrogènes dont la quantité ne varie pas et les substances masculines qui diminuent en quantité avec l'âge; l'effet favorable de l'administration thérapeutique de ces dernières serait donc dû au rétablissement de cet équilibre.

L'empêchement au moyen de la testostérone de la métaplasie épithéliale accompagnée de cornification dans la prostate après administration d'æstrone rappelle beaucoup l'absence de la cornification dans le vagin au moyen de progestérone après cette même administration d'æstrone. Les analogies entre le comportement de la testostérone et celui de la progestérone vis-à-vis des substances æstrogènes sont à l'heure actuelle fort nombreuses et pourront certainement être constatées encore souvent à l'avenir.

Il y a encore lieu de mentionner que, d'après les expériences faites jusqu'à présent, les substances masculines ne parviennent pas à faire régresser toutes les modifications obtenues au moyen de quantités anormales des substances œstrogènes; les modifications du tissu conjonctif et de la musculature persistent fort longtemps et on ne les empêche pas totalement, même si l'on-

administre des substances masculines en même temps que les substances œstrogènes.

Il est important de constater que des modifications fonctionnelles correspondent de façon certaine aux modifications morphologiques obtenues sous l'influence des substances masculines;
les épithéliums montrent dans différents organes des changements
de leurs fonctions et plus particulièrement de leur sécrétion;
on a, en outre, constaté des variations dans les concentrations
en ions H des sécrétions, examinées, il est vrai, jusqu'à présent
seulement en se servant d'extraits non purifiés. Dans ce groupe
d'expériences, il faut encore signaler qu'on obtient, par excitation électrique du cerveau, chez les cobayes châtrés, une éjaculation qui, lorsque les animaux ont été traités au préalable au
moyen des extraits contenant des substances masculines, se
rapproche davantage de l'éjaculation normale des animaux
mâles qu'en l'absence de ce traitement préalable.

Animaux à sang froid. — Mentionnons seulement pour être complet l'effet masculinisant des substances masculines chez les reptiles et les poissons. Nous aurions, d'ailleurs, dû déjà mentionner la formation d'un organe « femelle » chez les poissons (oviductes) sous l'action des substances œstrogènes.

# 3. Influence sur le comportement sexuel.

Nous avons déjà signalé différentes modifications des fonctions qui se passent essentiellement dans les organes sexuels (sécrétion, motilité). Mentionnons encore sommairement quelques changements du comportement plus ou moins spécial de l'animal tout entier sous l'influence des substances sexuelles.

En général, la motilité des animaux diminue après la castration (voir aussi plus loin, la diminution du métabolisme, l'obésité) pour augmenter à nouveau après l'administration des substances sexuelles.

Les réflexes spinaux nécessaires aux deux sexes pour la copulation dépendent aussi des substances sexuelles : c'est ainsi que l'on parvient à provoquer chez la grenouille d'hiver, au moyen des substances masculines, le réflexe d'étreinte se manifestant sinon seulement au printemps. Les femelles châtrées peuvent être amenées au moyen des substances œstrogènes, en un état où elles réagissent à des irritations tactiles déterminées par la position de la conception et par des tons qui sont caractéristiques pour l'acte sexuel. Cela a été aussi observé chez le chat, chez la souris, chez le rat et même chez de grands mammifères tels que les singes. Ce stade d'excitabilité réflexe se déroule souvent parallèlement à certaines réactions vasculaires et au développement de certaines formations cutanées telles que par exemple les callosités du siège chez les singes.

Les fonctions psychiques supérieures, qui sont en rapport avec l'activité sexuelle normale, dépendent également, dans une certaine mesure, des substances dont il est question ici. C'est ainsi que l'on provoque chez le chapon, au moyen de substances favorisant la croissance de la crête, la reprise du maintien fier du corps, présenté par le coq, du chant, de la combativité, de la façon de marcher du coq et ceci à un tel degré que ces manifestations, par leur intensité, se rapprochent de celles du coq, et dans certains cas les atteignent ou les dépassent même. Chez les jeunes lapins châtrés on a réussi récemment à rétablir complètement la capacité de cohabitation au moyen de propionate de testostérone.

Il n'y a pas de doute qu'il serait très intéressant d'étendre cesessais à de nombreuses espèces animales, ce qui permettrait assurément d'apprendre encore bien des choses au sujet de cesfonctions si importantes pour la conservation de l'espèce.

Quelques indications de la littérature clinique, qu'il convient d'utiliser seulement avec la plus grande prudence, permettent de supposer que des troubles de l'innervation vasculaire et du psychisme, dont le rapport avec le déclin de la capacité de reproduction dû à l'âge est net, peuvent être améliorés par des substances sexuelles, parfois même à un degré surprenant.

4º Influence de l'hypophyse, des capsules surrénales, etc., sur l'activité sexuelle d'autres organes (voir plus loin).

# B. II. — Effets non sexuels des substances sexuelles.

Ce paragraphe peut être considérablement plus court que ce qui précède. D'une part, on sait fort peu de chose des effets des substances sexuelles, qui n'ont rien à voir avec les modifications des caractères sexuels et ensuite ces effets ne nous intéressent guère.

En général, on peut dire que toutes les substances examinées dans le présent Rapport et possédant des effets sexuels prononcés — souvent déjà obtenus à des doses tellement petites qu'elles doivent être, de ce fait, considérées comme des substances biologiques très actives — se caractérisent par une inefficacité notable sous ce rapport; ceci est seulement une autre manière d'exprimer l'activité sélective, signalée à différentes reprises sur des organes et tissus déterminés. Une exception est constituée par leur effet sur certaines glandes à sécrétion interne, telles que l'hypophyse et les capsules surrénales, qui, il est vrai, ont de nouveau des rapports tellement intimes avec les caractères sexuels que déjà, pour cette raison, on doit se demander si l'on ne doit pas envisager les modifications de ces organes en quelque sorte comme des caractères sexuels.

Cette relation ressort, en outre, des modifications morphologiques, en partie déjà connues depuis longtemps, que subissent l'hypophyse, les capsules surrénales et le corps thyroïde, à la suite de la suppression des gonades. Naturellement ces modifications ne peuvent pas être attribuées sans plus, uniquement à la suppression de certaines substances et notamment de substances sexuelles. Rappelons d'ailleurs que, dans ce qui précède, il a été exposé à maintes reprises que l'indifférence sexuelle des substances provenant de l'hypophyse et peut-être celle de cet organe lui-même, n'est que superficielle. En ce qui concerne les capsules surrénales, nous savons déjà actuellement que, chez certaines espèces animales, elles ne sont certainement pas indifférentes, mais que pour les experts en la matière elles se distinguent morphologiquement dans les deux sexes. Lors de l'examen des relations entre les substances sexuelles et les organes endocrines se manifeste nettement l'importance des facteurs que nous avons déjà reconnue dans la partie générale. Car, précisément, les glandes à sécrétion interne, que nous avons à envisager maintenant, représentent une source de facteurs qui participent certainement à l'état normal à chaque action des substances sexuelles.

### 1. Influence sur les glandes endocrines.

a. Hypophyse. - Il a été question très souvent, mais sans doute pas encore assez fréquemment, de cet organe au cours de notre Rapport quand nous en avons envisagé les effets sur les caractères sexuels. Pour une petite partie de ces effets seulement on a démontré, de façon certaine, qu'ils se produisent sans influence de l'hypophyse, ce qui a été reconnu chez les individus privés de cet organe. D'autre part, on ne constate jamais dans l'organisme une influence se manifestant seulement dans un sens. ce qui, dans les organisations humaines, paraît théoriquement possible. Ce serait une conception erronée d'admettre que l'hypophyse est quasiment supérieure aux organes sexuels et que ceux-ci n'agissent pas sur l'hypophyse. Précisément, l'importance de l'action réciproque, méconnue tout d'abord, a été mise en évidence lors des recherches effectuées avec les substances sexuelles. Car pour autant que celles-ci puissent être considérées comme un produit des gonades, ou qu'on puisse tout au moins admettre qu'elles présentent un rapport causal avec celles-ci, toutes les observations relatives à l'action des substances sexuelles sur l'hypophyse confirment l'influence des organes sexuels sur cet organe.

Nous avons souligné presque pour chacun des organes sexuels, qu'une telle relation constitue un ensemble complexe et qu'il importe d'établir une distinction entre les différents tissus intéressés. Ceci s'applique aussi en particulier aux organes glandulaires formés de différentes espèces de cellules et dont nous croyons connaître, dès maintenant, un grand nombre de différentes actions.

En parlant d'un changement de volume, d'une augmentation ou d'une diminution, on dit donc en réalité très peu de chose. En effet, une augmentation ou une diminution de la fonction pourrait fort bien accompagner l'une ou l'autre des deux sortes de modifications du volume.

La plupart des indications ont trait, chez le rat, animal employé le plus souvent lors de ces recherches, à un accroissement de l'hypophyse par des substances estrogènes; toutefois, lors de certaines observations effectuées chez le chien, on aurait observé

une diminution de volume de cet organe. Par l'administration prolongée pendant un grand laps de temps, pendant un an et davantage, de fortes doses d'æstrone, on a produit de volumineuses tumeurs de l'hypophyse chez le rat. On avait employé lors de ces recherches de soi-disant petites doses, à savoir 100 unités par jour. Mais si l'on ne perd pas de vue que l'introduction dans le vagin de 1/20 000e de cette quantité suffit pour v provoquer les modifications morphologiques notables de l'œstrus, il me semble qu'il ne s'agit pas ici de faibles doses. Qu'on se représente par exemple que, comparativement aux 15g de sel marin nécessaires par jour à l'homme, on appellerait 300kg par jour une petite quantité! En même temps que les modifications de volume de l'hypophyse, on a observé des modifications de l'aspect histologique des cellules. Il est probable qu'elles ne feront jamais défaut, car il se produira toujours une modification de la répartition des différentes sortes de cellules (basophiles, éosinophiles ou acidophiles, neutrophiles et chromophobes). D'autre part, abstraction faite donc de leur quantité relative ou absolue, chacune de ces espèces de cellules montrera des différences. Mais presque tout reste encore à rechercher en ce qui concerne l'influence des différentes substances sexuelles en ce domaine.

On a fait notamment de nombreuses recherches sur l'effet des substances sexuelles sur l'hypophyse des castrats qui, comme il a été dit plus haut, se distingue nettement de celle de l'animal normal. Mais un aspect analogue à celui de l'état normal peut aisément être obtenu par l'æstrone, par l'androstandiol et par l'androstènedione, lorsqu'on administre ces substances immédiatement après la castration. D'autre part, l'œstrone et des extraits impurs de l'urine humaine ont permis de faire rétrocéder les modifications de l'hypophyse dues à la castration. Toutefois, les indications contraires ne manquent pas. Lorsqu'on compare les résultats, il faut toujours tenir compte le plus exactement possible de l'âge, de l'espèce animale, de la dose, de l'intervalle entre la castration et le commencement du traitement, de la durée du traitement, etc. Les observations effectuées à propos du poids des hypophyses des animaux châtrés, soit traités au moyen des substances sexuelles, soit ne les ayant pas reçues, permettent encore de se rendre compte de la régression des

symptômes. D'une manière générale, le poids de l'hypophyse d'animaux châtrés devient plus grand qu'à l'état normal et il peut diminuer grâce au traitement par des substances sexuelles. On a constaté ceci notamment avec la testostérone et à un degré d'autant plus considérable que les doses administrées étaient plus fortes (jusqu'à o<sup>mg</sup>,7). La transdéhydroandrostérone ne donne pas cet effet jusqu'à la dose de 4<sup>mg</sup>, et il en est de même de l'œstrone jusqu'à 6 γ.

Ce qui est naturellement le plus intéressant, c'est la façon dont la fonction de l'hypophyse est influencée. Si l'on obtient par exemple après injection d'une très grande quantité d'æstrone (de nouveau relativement à la dose qui, par ailleurs produit des effets nets dans l'espèce animale envisagée) un arrêt de la croissance et, en particulier, du développement des gonades, cela peut être dû à une inhibition de l'hypophyse, et notamment de la production par celle-ci des substances gonadotropes et des substances de croissance, mais il va de soi qu'il ne doit pas nécessairement en être ainsi. Dans le cas d'une production normale de ces substances et de leur déversement en quantité normale dans la circulation, il pourrait fort bien s'agir d'une entrave à leur mise en valeur. Pour arriver à des conclusions précises à ce sujet, il importe donc d'effectuer des essais spéciaux de contrôle, que l'on a omis souvent de faire dans le passé (et il en est de même des expériences instituées pour permettre d'exclure ou de reconnaître l'existence d'antihormones).

Maintes fois on n'a pas déterminé la fonction de l'hypophyse chez l'animal traité par des substances sexuelles; on a plutôt enlevé l'hypophyse des animaux ainsi traités, puis on a examiné l'effet ou bien de l'implantation de petits morceaux de cette hypophyse chez d'autres animaux ou bien des extraits préparés au moyen de cette hypophyse. Comme on s'est fait, d'autre part, au moyen d'essais de contrôle, une opinion sur les effets d'hypophyses d'animaux non traités au préalable, on peut, avec toutes les réserves qui s'imposent, tirer certaines conclusions. C'est ainsi que l'on admet maintenant d'une manière générale, qu'après le traitement préalable des animaux au moyen d'æstrone, la gonadotropie diminue, mais qu'avec certaines doses on augmente l'effet lutéinisant; on a également affirmé une augmentation du pouvoir

lactogène; d'autre part, on a signalé une entrave de l'activité thyréotrope par de petites quantités d'æstrone. On peut supposer également que l'æstrone exerce peut-être son effet entravant par le fait qu'elle favorise la production de substances antagonistes dans l'hypophyse. Tous ces essais concernant l'influence morphologique et fonctionnelle ont naturellement une grande importance pratique pour la thérapeutique dans le cas de troubles hypophysaires, et à maintes reprises on a fait des essais préliminaires pour tirer parti en pareille occurrence des substances sexuelles et ceci non sans succès.

b. Corps thyroïde. — Les dernières données sur la modification de la thyréotropie de l'hypophyse conduisent d'elles-mêmes à admettre l'influence des substances sexuelles sur la glande thyroïde. Ceci montre à nouveau, en même temps, comment un effet direct — encore sous toutes réserves — pourrait être admis chez des animaux sans hypophyse, car, à l'état normal, le corps thyroïde est en relation évidente avec l'hypophyse par la substance dite thyréotrope, déversée par cet organe dans la circulation.

Tout comme pour l'hypophyse on a soutenu que les substances sexuelles et à un plus fort degré les extraits impurs des ovaires et des liquides folliculaires, employés auparavant, provoquaient une augmentation de volume du corps thyroïde, mais parfois aussi une diminution du volume de cet organe. Ce qui, en plus, importe, c'est que ces augmentations de volume, ainsi que c'est souvent le cas dans le goître ordinaire, vont de pair avec une diminution du fonctionnement du corps thyroïde, pour autant que l'on est autorisé à tirer des conclusions nettes des images histologiques. A coup sûr, de nombreuses expériences doivent encore être effectuées au moyen de substances pures en s'attachant autant que possible à contrôler directement la fonction. Ces essais peuvent être exécutés plus facilement avec le corps thyroïde qu'avec d'autres organes, car les modifications du métabolisme peuvent être utilisées - toujours avec la plus grande prudence pour tirer des conclusions sur sa fonction.

c. Capsules surrénales. — Ici également un rapport intime

avec l'hypophyse a été mis en évidence. Dans ce cas, on n'a pas discuté aussi souvent que dans celui des relations entre l'hypophyse et d'autres glandes endocrines « quel est le maître et quel est le valet », car l'action réciproque des deux organes est facile à reconnaître et s'étend sur un domaine considérable. Mais il est naturel que de pareilles relations ne permettent de tirer aucune conclusion précise à propos des effets directs des substances sexuelles. Il faut encore ajouter qu'il existe ici aussi un rapport plus intime entre le corps thyroïde et les gonades, qui se manifeste en partie, tout au moins, par l'intermédiaire de l'hypophyse.

Sans connaissances anatomiques plus exactes concernant les capsules surrénales, il est inutile de parler plus en détail de leur influence. Mais on peut en indiquer à peu près le sens en signalant que l'œstrone et la testostérone paraissent exercer une diminution de l'intensité des symptômes les moins accusés (mineurs) survenant après la castration et même leur régression partielle quand ils ont déjà apparu.

Puisqu'on pense, ainsi qu'il a été dit plus haut, pouvoir établir une distinction chez la souris, entre les capsules surrénales des femelles et celles des mâles, ceci permet de comprendre qu'on ait admis que les substances masculines puissent provoquer une « masculinisation des capsules surrénales », qui peut rétrocéder sous l'influence de l'æstrone. Certains auteurs ont prétendu que les substances masculines et l'æstrone tendaient à diminuer la teneur des capsules surrénales en vitamine C, mais d'autres contestent entièrement cette affirmation.

d. Thymus. — Nos connaissances sur les fonctions de cet organe sont peu étendues et ce que nous en savons est en tout cas plutôt histologique que fonctionnel. D'autre part, on admet souvent qu'à l'état normal il régresse dès la naissance et a à peu près complètement disparu avant la puberté; cette régression s'effectue avec une rapidité fort variable selon les espèces animales. Un arrêt ou une accélération de cette évolution peut à coup sûr être constaté. Or, on a prétendu avoir observé une accélération de la régression sous l'influence d'extraits impurs des ovaires et du placenta, par l'œstrone, et aussi par la transdéhydroandrostérone et la progestérone.

## 2. Influence sur certains phénomènes.

Tandis que nous nous sommes, jusqu'à présent, basés pour la répartition en ordre principal sur un principe anatomique, à savoir l'influence de substances sexuelles sur les différents organes, tant au point de vue des effets sexuels que des effets non sexuels, nous devons maintenant avoir recours à une classification reposant sur des bases plus physiologiques.

a. Croissance. — Celle-ci se rattache peut-être le mieux à l'influence des organes endocrines qui vient d'être décrite. L'hypophyse, le corps thyroïde et le thymus interviennent à coup sûr dans les phénomènes de croissance.

La très ancienne constatation qu'une croissance par poussées commence peu avant la puberté et s'arrête quelque temps après celle-ci, et, en outre, la croissance fréquemment observée chez les châtrés ont permis de conclure, depuis longtemps, à une intervention dans la croissance des gonades ou des substances déversées par ceux-ci dans la circulation. Et, en effet, on est parvenu à obtenir au moyen de fortes doses d'æstrone un arrêt de la croissance des animaux en expérience. On n'est toutefois pas d'accord sur la façon dont ceci survient. Certains auteurs croient que l'æstrone provoque une fermeture prématurée des fentes épiphysaires dans les os creux, c'est-à-dire précisément aux endroits où la croissance en longueur a lieu; d'autres investigateurs croient le contraire et attribuent, par conséquent, aux fortes doses d'æstrone le pouvoir d'entraver l'élaboration des hormones de croissance dans l'hypophyse.

#### b. Métabolisme.

b<sub>1</sub>. Poids du corps. — Pourvu que les circonstances générales restent les mêmes, on conclut d'ordinaire à une augmentation du poids du corps coïncidant avec une diminution du métabolisme, tandis qu'une diminution du poids du corps s'accompagne généralement d'une augmentation du métabolisme. Après enlèvement des gonades ou après la cessation de leur fonction (ménopause) on a constaté, à maintes reprises, une diminution du métabolisme. Ceci est une des raisons de la castration des bœufs et des

volailles pratiquée depuis des milliers d'années. Les essais relatifs à l'influence de substances sexuelles sur le poids du corps n'ont pas donné de résultats nets; il n'est d'ailleurs, en aucune façon, certain que les conditions, notamment en ce qui concerne la nourriture, aient été toujours les mêmes.

b<sub>2</sub>. Métabolisme des gaz. — Dans cette occurrence on peut déterminer la fonction directement. Maintes fois on a décrit une augmentation du métabolisme, mais il reste à envisager si, dans certains cas, une exagération de la motilité, accompagnée de modifications de l'œstrus, ne joue pas un rôle (voir plus haut 1,3).

Toutefois, l'administration à des chiens châtrés mâles d'extraits relativement purs d'urine d'homme ou d'androstènedione pur plaident en faveur d'une augmentation du métabolisme (ou tout au moins de la production de chaleur) sans intervention des facteurs accessoires dont il a été question plus haut. Cet accroissement ne se produit pas chez les animaux maigres et serait donc dû à une augmentation du métabolisme des graisses. En faveur de cette hypothèse plaide encore la tendance à la diminution de l'élimination d'azote par l'urine, ce qui tend à faire admettre une réduction de la désintégration des protéines.

b<sub>3</sub>. Métabolisme des hydrates de carbone. — Différents essais ont été effectués à ce propos. Certains auteurs ont constaté que l'æstrone et les extraits à effet æstrogène augmentent le taux du sang en sucre et en corps cétoniques tandis qu'ils diminuent au contraire la teneur du foie en glycogène. D'autres investigateurs ont constaté sous l'influence des extraits du corps jaune l'effet opposé, c'est-à-dire une hypoglycémie, une diminution des corps cétoniques dans le sang et une augmentation de la teneur du foie en glycogène. J'estime qu'un examen supplémentaire approfondi avec des expériences de contrôle appropriées, en ayant soin de déterminer exactement les conditions expérimentales, est indispensable pour mettre en évidence des résultats quelque peu certains.

b<sub>4</sub>. Comportement de différentes substances. — Cholestérol : On a prétendu que l'administration d'œstrone provoque tantôt un accroissement, tantôt une réduction du cholestérol dans le sang; il semble toutefois que l'augmentation est beaucoup plus fréquente que la diminution; cette augmentation ne se produirait plus après l'extirpation de l'hypophyse.

Ces changements de la teneur en cholestérol ne doivent naturellement pas être attribués directement aux substances sexuelles, car leurs quantités, même lors des expériences où l'on a utilisé de fortes doses, ne dépassent jamais quelques milligrammes par rapport aux quantités relativement importantes de cholestérol présentes dans tous les tissus; les quantités relativement minimes des substances sexuelles n'entrent naturellement pas en ligne de compte.

Créatinine: La castration augmente en général l'élimination de la créatinine. Comme quelques expériences l'ont montré, celle-ci diminue chez les lapins et les rats mâles sous l'influence de l'administration de quantités modérées des substances mâles et augmente, au contraire, à la suite de l'administration d'une très grande quantité (1000 à 2000 unités) d'æstrone (ce qui correspond à une quantité comprise entre 0,1 et 1 mg,2). On a voulu tirer de ces essais des conclusions à portée considérable. Comme les femelles éliminent pendant l'æstrus plus de créatinine qu'en dehors de cette période, on en a conclu que les mâles, féminisés par de fortes doses d' « hormone féminine », pour ce qui concerne leurs caractères sexuels extérieurs se comportent aussi d'une manière féminine au point de vue du métabolisme.

Calcium: Après l'administration d'extraits de testicules, et aussi d'extraits d'ovaires, on a constaté chez le lapin une diminution de la teneur en calcium sanguin atteignant parfois 30 pour 100. Ceci indique une influence sur les pérathyroïdes qui constituent le régulateur principal de la teneur en calcium du sang. Mais même quand ces glandes font défaut, comme c'est le cas chez des chiens parathyréoprives, la tétanie (qu'on doit attribuer à un déficit en calcium dans les tissus) augmente après l'administration de substances pures, telles que l'œstrone et l'œstriol.

On a encore parlé d'une augmentation de la teneur en iode du sang par l'œstrone et par les extraits du corps jaune, d'une diminution de la teneur en potassium du sérum par ces mêmes extraits, d'une influence sur la teneur en acide lactique dans le sang et dans les muscles, etc.

La plupart de ces indications devraient encore être vérifiées avant de pouvoir affirmer que ces valeurs dépassent de façon certaine les variations normales de ces divers constituants du sang et des tissus, et que les modifications observées ne rentrent pas dans les limites des causes d'erreurs des méthodes de dosage. Au surplus, ces diverses constatations doivent, en outre, être confirmées en utilisant des substances pures.

c. Circulation. - Nous avons mentionné plus haut l'effet « suraigu » de l'æstrone sur les vaisseaux de l'utérus ét son appareil de suspension, et nous en avons souligné l'électivité. Pourtant, celle-ci n'est pas tellement rigoureuse qu'il paraît au premier abord, car d'autres régions du corps présentent des réactions vasculaires analogues. A l'état normal, il se produit, dans certaines espèces animales, par exemple chez les singes, au moment de l'œstrus une très forte rougeur de la région cutanée située aux environs des organes génitaux (Sexualskin). Certains endroits de la muqueuse nasale (les cornets supérieurs et inférieurs) montrent à cette époque aussi une hyperémie chez les guenons. On peut obtenir ces phénomènes chez les femelles châtrées et chez les mâles, en leur donnant de fortes doses de substances œstrogènes. Somme toute, cela ne plaide pas contre l'électivité, mais représente plutôt une présomption que, seuls, certains endroits du corps, dont on doit envisager les modifications comme des caractères sexuels, sont influencés par les substances sexuelles. D'ailleurs, on sait déjà depuis longtemps, par des constatations faites chez l'homme, que certaines régions de la surface interne du nez sont en relation avec les processus sexuels (déclenchement de réflexes utérins par excitation de la muqueuse du nez, épistaxis jouant le rôle d'une menstruation vicariante).

A l'exception des territoires vasculaires qui viennent d'être mentionnés, on ne connaît avec certitude aucun effet caractéristique des substances sexuelles sur la circulation. Au contraire, si l'on tient compte de leur forte action biologique dans certains tissus, on est étonné de l'inefficacité sur la circulation, même de quantités importantes. Le cœur n'est guère influencé par les substances sexuelles. L'administration de 1<sup>mg</sup>,8 d'androstérone par jour, pendant trois semaines, amènerait une augmentation de poids de cet organe chez les rats châtrés; mais 1<sup>mg</sup>,4 de testostérone employé de la même manière ne modifie en aucune façon le poids du cœur. On a décrit une hyperémie du cerveau sous l'influence du benzoate d'æstradiol et un certain effet antagoniste de « l'hormone masculine » qui, par elle-même, serait absolument sans influence sur le diamètre des vaisseaux cérébraux.

On n'a constaté aucun effet certain des substances sexuelles sur la pression sanguine.

Il n'est nullement prouvé que les effets favorables signalés dans la rétinite pigmentaire et la diminution de la pression intraoculaire dans le glaucome ont quoi que ce soit à faire avec des modifications de la circulation dans l'œil. De même on ne possède pas d'explication de l'effet favorable fréquemment observé de l'æstrone dans la maladie de Bürger, au cours de laquelle les vaisseaux se contractent en certains endroits à un point tel qu'une obstruction s'observe, suivie de gangrène des membres.

- d. Autres effets. On a décrit de nombreux autres effets des substances sexuelles, notamment sur les mouvements intestinaux, sur la sécrétion gastrique, sur la sécrétion de bile. On leur attribue des changements d'appétit, une augmentation de la résistance vis-à-vis des infections et des poisons, une influence sur la durée de l'existence, etc. Aucun de ces effets n'est jusqu'à présent suffisamment certain, car on dispose en ces domaines de trop peu d'expériences effectuées avec des substances pures pour être en droit d'en tirer des conclusions bien fondées.
- e. Absence de toxicité. Celle-ci est, en réalité, fort surprenante si on l'envisage dans un sens pharmacologique général. Jusque dans ces dernières années, on ignorait l'existence de substances qui ne montrent aucune toxicité en quantités qui sont des millions de fois plus considérables que la dose biologiquement efficace et ne présentant souvent aucune nocivité si l'on répète à plusieurs reprises l'administration de ces doses élevées.

#### II. - SORT DES SUBSTANCES SEXUELLES DANS L'ORGANISME.

Il a déjà été signalé dans l'introduction que l'importance de ce chapitre s'efface tellement devant celle des autres parties du rapport, examinées jusqu'ici, qu'on ne doit guère l'envisager que comme une annexe. Le matériel observé est encore tellement incertain que c'est à dessein que nous traitons cette question dans un chapitre séparé, et cela uniquement pour mettre en évidence l'importance des problèmes qui restent à résoudre.

## A. - Origine.

Les effets décrits dans la première partie du rapport se rattachent presque tous à des observations effectuées en introduisant dans l'organisme une substance sexuelle déterminée, que nous sommes en droit de considérer comme analogue à des substances qui existent dans l'organisme. A l'état normal, une telle substance est élaborée dans le corps et doit être libérée à un endroit bien déterminé, ou doit tout au moins être transportée sous une forme telle que la substance active soit libérée à l'endroit où son action a lieu. Nous avons déjà parlé plus haut de la conception « de la substance libre telle quelle ». Or, en réalité, nous ne savons rien en ce qui concerne l'origine d'une seule substance sexuelle; nous ne savons même pas avec une certitude absolue à quel endroit elle apparaît. Nous savons seulement que cette substance se rencontre à certains endroits en quantités plus grandes qu'ailleurs. Nous savons, en outre, qu'en cas d'absence de certains organes, on ne trouve cette substance qu'en faible quantité dans l'organisme. On doit n'exprimer ce qui précède qu'avec certaines réserves et reconnaître que la formation dans un organe déterminé, trop souvent admise d'emblée, présente encore un caractère problématique dans bien des cas. Citons un exemple qui intéresse la substance le plus fréquemment examinée, l'æstrone : on a signalé qu'elle n'a pu être décelée comme telle (exception faite de l'huile de semence de palmier) que dans l'urine, tandisqu'on a retiré l'æstradiol tel quel du liquide folliculaire du porc. L'expression dans « l'urine » sans indication plus détaillée, peut

induire en erreur, car jusqu'à présent on n'a trouvé l'æstrone telle quelle que dans l'urine de femmes enceintes, de juments gravides et d'étalons (!). Nous ignorons complètement si la substance œstrogène retirée de l'urine dans d'autres circonstances est aussi de l'æstrone. Demandons-nous maintenant où s'est formée l'æstrone. Peut-être dans le placenta des femmes et des juments, peut-être dans les testicules des étalons. On a. en effet. démontré l'effet œstrogène d'extraits relativement bien purifiés, préparés en partant de ces placentas et de ces testicules. Mais même si l'on en avait retiré de l'œstrone, il ne serait pas encore complètement certain que le placenta représente bien l'endroit où cette substance s'est réellement formée, bien que cela serait fort probable, puisque l'élimination des substances æstrogènes diminue beaucoup après l'extirpation du placenta et aussi à l'état normal après la naissance. On ne peut toutefois pas aller au delà de la probabilité, car nous avons affaire non pas au placenta isolé mais à cet organe situé dans un organisme. Il en est de même par exemple pour la preuve, soi-disant certaine, de la formation de l'æstradiol dans les follicules. C'est certes la conception la plus simple qu'on puisse admettre, mais il n'est nullement exclu que l'æstradiol se produise à un autre endroit, par exemple dans le foie, et soit seulement déposé ensuite dans les follicules. Ce qui plaide contre cette dernière hypothèse, c'est qu'après l'extirpation de l'ovaire, on ne trouve plus de substances œstrogènes dans l'urine ou d'une manière plus exacte on en trouve beaucoup moins qu'à l'état normal. Cette dernière constatation montre qu'une certaine quantité d'æstradiol provient certainement d'une autre source que des follicules; peut-être de la nourriture, bien que cette question ne soit encore en aucune façon éclaircie.

Des considérations analogues s'appliquent aux substances actives masculines, bien que l'on ait réalisé beaucoup de progrès dans ce domaine à la suite des recherches effectuées dans les derniers temps. Nous avons trouvé la testostérone dans les testicules des taureaux, mais nous devons faire à ce sujet au moins les mêmes réserves que celles que nous avons présentées pour l'æstradiol et le liquide folliculaire du porc. Toutefois, les recherches les plus récentes ont montré qu'en faisant circuler du sang dans ces testicules, leur teneur en substances favorisant la

croissance de la crête du cog augmente. Ceci plaide certes en faveur d'une formation de ces substances dans les testicules. Le fait que la teneur des testicules en substances favorisant la croissance de la crête ne diminue pas après le passage de sang par ces organes prouve qu'il ne s'agit pas là d'un simple enlèvement de ces substances par une sorte de lavage. Nous ignorons toutefois complètement s'il s'est formé de la testostérone ou quelque chose de différent, car il est très probable que d'autres substances actives masculines circulent dans le corps et ont été élaborées à d'autres endroits. Rappelons notamment que l'on a trouvé ces derniers temps dans les capsules surrénales « des substances actives masculines », et que l'on est parvenu à les isoler: d'autre part, on a observé chez l'animal châtré une croissance des organes masculins sous l'influence de substances « hypophysaires » qui agissent très probablement par l'intermédiaire des capsules surrénales (hormone corticotrope).

Il ne m'appartient pas de parler du chimisme de la formation des substances sexuelles. Toutefois, on peut affirmer avec certitude que ce n'est pas par une des méthodes employées jusqu'à présent avec tant de succès par les chimistes qu'on parviendra à élucider cette question. Malheureusement, la chimie physiologique des stérols fait encore presque entièrement défaut. Peut-être de nouveaux essais effectués avec la levure nous permettront-ils de trouver les produits intermédiaires de ces transformations biologiques; peut-être pourra-t-on aussi dans ce but avoir recours à certains enzymes. Les essais de passage du sang à travers des organes isolés, mentionnés plus haut, doivent naturellement être répétés en les modifiant de multiples façons : par exemple en ajoutant au sang soit des produits représentant les phases préliminaires hypothétiques des substances sexuelles, soit des composés qui pourraient favoriser la formation, la transformation ou la dégradation de ces substances sexuelles.

# B. — Quantité dans l'organisme.

D'après ce qui a été dit plus haut, toute indication quantitative concernant une substance sexuelle déterminée dans l'organisme est naturellement complètement exclue. On sait, au sujet des quelques substances que l'on est arrivé à isoler chimiquement, que cet isolement ne permet de saisir qu'un faible pourcentage de substances favorisant la croissance de la crête : par exemple dans l'urine peut-être 8 pour 100 sous forme d'androstérone et de déshydroandrostérone, dans les testicules jusqu'à présent au maximum 25 pour 100 sous forme de testostérone. Dans l'urine normale, on n'a pas encore réussi à obtenir un seul composé chimique bien défini parmi les substances æstrogènes. Dans l'urine de juments gravides, on a trouvé peut-être jusqu'à 70 pour 100 de substances æstrogènes sous forme d'æstrone, d'équiline et d'équilénine.

Et encore, si examinant la question d'une manière plus générale, l'on ne cherche pas à connaître la quantité de substances chimiquement pures, mais seulement celle des substances « œstrogènes » ou « masculines », cela même n'est pas possible pour des raisons chimiques. Dans la partie générale, nous avons déjà insisté sur la difficulté de reconnaître jusqu'à quel point la structure d'une substance est modifiée lors de sa préparation (par extraction). Il importe de poser la question à nouveau et de la compléter en recherchant si, au cours de l'extraction, les formes et les groupes actifs ne sont pas précisément transformés en formes et groupes inactifs.

Pour déceler les substances sexuelles dans l'organisme, on est presque toujours obligé de procéder à un examen biologique, et il faut avoir recours dans ce but à des procédés de séparation physiques, physicochimiques ou chimiques, et souvent à des hydrolyses; or, au cours de ces opérations, des modifications de l'activité (et des pertes) peuvent se produire et tel est le cas, d'après de récentes recherches, pour la déshydroandrostérone.

Si l'on examine les indications sur le rendement en substances actives « masculines » et « féminines » obtenu en partant de l'urine, qui représente un matériel relativement simple par rapport à tous les autres organes et tissus, celles-ci ont varié, au cours de ces dix dernières années, de plusieurs milliers de pour-cents. Au début, il était question dans l'urine de l'homme de 1 à 2 unités par litre seulement, puis de 10, et maintenant on est arrivé à en retirer 40 à 100 et même parfois 200. Si les résultats des expériences les plus récentes qui viennent d'être cités à

propos de la sensibilité aux acides de la déshydroandrostérone se confirmaient, nous ne saurions plus rien de ce qui est contenu dans l'urine. Mais abstraction faite de toute considération chimique, il est bon de se rendre compte, et ceci s'applique plus particulièrement aux médecins, que l'on se fait souvent une idée tout à fait fausse sur la quantité de ces substances dans l'organisme, en se basant sur les quantités trouvées dans l'urine. Rappelons que la quantité d'une substance, présente dans l'organisme, dépend au moins de 6 facteurs, à savoir :

- 1º Son absorption (c'est-à-dire la pénétration de la substance venant de l'extérieur qui revêt alors une origine exogène);
  - 20 Sa production dans le corps (origine endogène);
  - 3º Sa présence dans des milieux organiques tels que le sang, etc;
  - 4º Son accumulation (par exemple dans le foie);
  - 5º Sa dégradation;
- 6º Et finalement son élimination par l'urine, les fèces, la transpiration, etc.

Sans entrer dans plus de détails à ce propos, il est clair que nous ne disposons d'aucune donnée précise permettant de déterminer la production et la dégradation. Nous savons à nouveau que certaines transpositions faciles à réaliser in vitro, comme par exemple celle des doubles liaisons, ne paraissent pas pouvoir se produire dans l'organisme. Le fait que l'on peut trouver chez des animaux placés dans les mêmes conditions physiologiques, par exemple chez les juments et les vaches gravides aussi bien que chez les taureaux et chez les étalons, des quantités de substances œstrogènes correspondant à des puissances de 10 dont l'exposant varie de 2 à 3 unités, plaide en faveur de l'hypothèse selon laquelle un grand nombre de transformations peuvent se produire dans l'organisme et précisément celles de composés actifs en substances inactives. On ne peut donc fournir que des indications sur la présence dans l'organisme et sur l'élimination par l'urine. Mais, même pour ces indications, on doit faire de sérieuses réserves. Par exemple, il est clair que l'on ne peut vérifier la quantité d'une substance contenue dans l'ensemble de l'organisme que chez les petits animaux seulement, et que les valeurs trouvées pour l'élimination par l'urine ne peuvent être employées qu'en les sou-

mettant à une critique sévère. L'accumulation dans l'organisme est un fait certain qui rend déjà, à lui seul, tout bilan bien difficile, car il dépend apparemment de facteurs encore absolument inconnus, pourquoi, dans un cas par exemple, 1000 unités d'æstrone, administrées journellement, sont-elles entièrement éliminées en 24 heures, tandis que dans un autre cas, elles sont retenues 8 jours et davantage, pour être ensuite éliminées en une fois pour la majeure partie. L'importance de l'accumulation dans l'organisme résulte aussi des recherches déjà mentionnées qui prouvent que la féminisation des plumes persiste pendant un certain temps après la cessation de l'administration de substances œstrogènes. et qu'en interrompant cette administration l'on peut obtenir des raies sur les plumes au cours de leur développement. Ces résultats permettent de se rendre compte, dans une certaine mesure, de l'intensité de l'effet retardé qui se produit après le déversement dans la circulation ou l'administration de l'œstrone, Mentionnons que ces considérations sont de la plus haute importance au point de vue thérapeutique.

Toute une série d'essais montrent que les différentes substances sont retenues de manière fort différente, par exemple au delà de la barrière cutanée, dans le tissu sous-cutané et la musculature. Des recherches systématiques sur la même substance introduite dans différents tissus chez différentes espèces animales en employant différents solvants présenteraient un très grand intérêt.

Le manque absolu de valeur des indications concernant les quantités éliminées, lorsque celles-ci sont déterminées dans des portions d'urine arbitrairement choisies, ou même dans l'urine des 24 heures, résulte nettement de ce qui vient d'être exposé à propos de l'accumulation.

Pour cette raison et malgré la très nombreuse documentation, je reste encore sceptique au sujet des quantités soi-disant plus grandes de substances œstrogènes, qui existeraient tant dans le sang que dans l'urine vers le milieu de la menstruation et plus particulièrement vers la fin de cette période, et vis-à-vis de toute une série d'autres constatations cliniques. Mais il serait insensé, étant données les augmentations extraordinaires de quantités trouvées d'une part dans l'urine pendant la grossesse des femmes et des juments et constatées, d'autre part, dans l'urine et dans

le sang lors de différentes tumeurs, de ne pas admettre que, dans ces cas, la production de substances actives a réellement augmenté, et qu'en ces occurrences l'élimination supplémentaire ne provient en aucune façon d'une réduction accidentelle de l'accumulation ou d'une diminution de la dégradation. Mais, même en pareil cas, une certaine prudence est indiquée, car une réduction de l'élimination peut être due à une diminution de la production, à une rétention accrue ou à une dégradation plus considérable. Nous ne dirons rien de plus au sujet de ces importantes questions.

C. — Rapports de coordination entre les substances sexuelles et les organes influencés.

Nous avons déjà eu l'occasion de nous occuper, à plusieurs reprises, de ce problème qui présente un intérêt tout particulier. Deux réponses, qualitativement tout à fait différentes, s'excluant l'une l'autre, sont possibles, mais on doit aussi envisager des phases intermédiaires qui se distinguent seulement dans le sens quantitatif. Une comparaison quelque peu familière expliquera peut-être mieux notre pensée. La substance administrée pourrait agir comme une pièce de monnaie, placée dans un appareil automatique, qui déclenche une action qui n'a d'ailleurs rien à voir avec le chocolat obtenu. Ou bien encore la substance pourrait être comparée à un morceau de vanille qui, dans une usine de chocolat, est, à un endroit donné, réduit en petits morceaux, humecté puis éventuellement mélangé à d'autres substances et passe dans le produit final comme tel. Des comparaisons pour les phases intermédiaires sont faciles à trouver.

Pour le moment, une série de constatations plaide en faveur de l'hypothèse suivant laquelle la substance sexuelle elle-même, ou tout au moins des produits qui n'en sont pas trop éloignés, arrivent jusqu'à l'organe influencé. Ce sont principalement les faits déjà cités, à savoir qu'on obtient un effet tel que l'œstrus et la croissance de la crête, au moyen de quantités beaucoup plus petites de substances sexuelles (moins de 1/2006), si on les introduit directement dans le vagin ou bien si on les place sur la crête, que si elles pénètrent dans l'organisme par le tube digestif ou la circulation.

Sous ce rapport, il est, en outre, fort remarquable, comme il a d'ailleurs été déjà mentionné que, pour obtenir un effet identique, on doit employer des quantités très différentes des diverses substances masculines quand on les introduit par voie parentérale, tandis que ces quantités ne diffèrent guère quand elles pénètrent localement (par voie sous-cutanée par exemple) à l'endroit précis où elles doivent agir.

Voici ce qu'on observe pour obtenir une croissance en surface de 15 pour 100 de la crête du chapon :

1576 1- 37 mm	En gamma. Voie		Rapport des doses. Voie	
	rentérale.	sous-cutanée,	parentérale.	sous-cutanée.
Déhydroandrostérones.	250	env. 1,2	17	3
Androstérone	100	» 0,7	7	1,8
Testostérone	15	» 0.4	1	1

Puisque, pour l'administration par voie sous-cutanée, on ne constate pas de différence appréciable entre les diverses substances envisagées, on pourrait se figurer que les variations de la structure chimique sont sans importance lorsque les substances sont amenées directement à l'organe influencé. On ne peut certes pas aller jusque-là, mais il est toutefois certain que l'importance des modifications de la structure chimique est beaucoup plus petite que l'on ne s'y attendrait d'après les expériences effectuées par voie parentérale. Il est possible que ces différences n'existeraient plus du tout si les substances étaient réellement amenées directement aux cellules à influencer ou introduites dans celles-ci. Ceci n'est naturellement pas le cas, même lors de l'application locale; un certain transport est toujours encore nécessaire.

En tout cas, on peut en déduire avec certitude que des quantités très grandes, mais inégales, des diverses substances sexuelles n'interviennent pas pour l'effet lorsqu'elles sont introduites à un endroit éloigné des cellules à influencer. Seulement moins de 0,5 pour 100 de la déshydroandrostérone, un peu plus de l'androstérone, et environ 3 pour 100 de la testostérone introduite dans l'organisme exercent leur action. Nous ignorons de quelle façon se produit la perte et où elle a lieu, mais nous savons que le sort des différentes substances dans l'organisme doit être fort variable.

En complète analogie avec ce qui a été dit plus haut sur l'estimation dans l'organisme, il se pourrait qu'une substance donnée soit moins aisément « résorbée » ou moins facilement « transportée » parce que, ou bien elle se déposerait en plus grande masse à un endroit donné de l'organisme, ou bien elle serait détruite ou éliminée en quantité plus considérable. Pour le moment, aucune de ces hypothèses ne peut être démontrée avec certitude, et il est fort probable que jamais l'une d'entre elles intervient seule, mais qu'il s'agit toujours de combinaisons de plusieurs d'entre elles; il importe d'effectuer encore de nombreuses expériences à ce sujet; tant que cela n'aura pas été fait, tout ce qui vient d'être exposé ne représente, en réalité, que de la théorie probablement inutile.

Le fait que lors de l'introduction locale une quantité beaucoup plus petite de substance sexuelle est nécessaire que lors de l'arrivée parentérale, plaide certes pour un rapport direct (de coordination) entre les substances et le substrat sur lequel elles agissent. On pourrait également faire valoir dans ce sens l'électivité que nous avons déjà soulignée à plusieurs reprises.

Fournissons encore deux exemples caractéristiques. Voici le premier. Il a déjà été mentionné que tout comme lors de l'œstrus naturel des guenons, l'administration d'œstrone provoque, chez les châtrés et même chez les mâles, un gonflement cutané localisé seulement à la région génitale qui devient fortement hyperémiée (aspect dit du « sexual skin »). Si l'on transplante chez un singe châtré un petit morceau de la peau de la région génitale à la région ventrale et si l'on transplante à la région génitale un petit morceau de la peau du ventre, puis qu'on attende la guérison de ces deux transplantations, après l'administration d'œstrone, on voit les phénomènes suivants : le morceau de peau du ventre transplanté à la région génitale constitue une région pâle, tandis que le morceau de peau génitale transplanté à la région ventrale devient une zone rouge. Voici le deuxième exemple : si l'on transplante un petit morceau de la muqueuse de l'utérus d'un lapin dans l'iris de l'œil, seul ce morceau devient rouge dans l'iris après l'administration d'œstrone.

Nous ignorons naturellement comment cette électivité se produit. On songe volontiers à des affinités chimiques entre des constituants des tissus qui sont modifiés et les substances sexuelles ou des produits de dégradation qui en sont encore fort voisins. Il se pourrait toutefois aussi que seules des structures déterminées, des phénomènes superficiels, donc plutôt des possibilités physiques, jouent un rôle, ce qui expliquerait qu'il se produit quelque chose à un endroit et rien à un autre. Malgré les expériences où l'application locale de certaines substances sexuelles a eu avec une très grande probabilité un effet direct sur l'organe influencé, il serait très important de pouvoir suivre les substances introduites depuis l'endroit de leur introduction jusqu'à l'organe influencé, et de déterminer si l'on parvient à les déceler à ce dernier endroit. Afin d'y arriver, on a songé à recourir soit à l'hydrogène lourd, soit à des combinaisons avec des éléments radioactifs.

Le présent rapport contient beaucoup d'éléments douteux et sujets à caution. J'espère néanmoins qu'on ne perdra pas de vue que beaucoup de résultats positifs ont été obtenus dans le peu de temps qui s'est écoulé depuis que l'on a commencé à s'occuper scientifiquement de la question. On doit donc s'attendre à ce que bientôt se posent des problèmes bien plus intéressants que ceux que le rapporteur a essayés de mettre actuellement en évidence.

## DISCUSSION DU RAPPORT DE M. LAQUEUR.

M. Ruzicka. — M. Laqueur estime qu'une substance ne peut être considérée comme une hormone que lorsqu'elle a été mise en évidence non seulement dans la glande où elle prend naissance, mais aussi dans le plasma sanguin ainsi qu'à d'autres endroits de l'organisme. Si l'on admettait sans aucune réserve cette manière de voir, ceci conduirait à des irrégularités, car des hormones qui contiennent des groupes chimiques très actifs sont susceptibles de se transformer plus vite en d'autres combinaisons physiologiquement inactives que les hormones douées d'une réactivité chimique moindre. Ainsi, par exemple, l'œstrone et l'æstradiol peuvent progresser plus loin dans l'organisme que la testostérone et la progestérone.

Dans une publication toute récente, Vera Dantchakoff a signalé qu'en injectant du propionate de testostérone à des embryons de poules (à ébauches femelles), on a réussi à les transformer en mâles ne présentant plus que des ébauches femelles très réduites.

M. LAQUEUR. — Je me réjouis d'être dans l'ensemble d'accord avec M. Ruzicka, notamment en ce sens que la définition ne peut avoir qu'une valeur heuristique. Par conséquent, quand on accorde le nom d'hormone à une substance, ceci implique l'accomplissement d'un programme de recherches et oblige à des réserves aussi longtemps que les investigations ne sont pas achevées. La mise en évidence des substances sexuelles dans le sang et dans les organes sur lesquels ils agissent est difficile, mais ces difficultés ne devraient pas décourager la recherche. Je réitère le vœu que les chimistes s'appliquent à trouver des réactions pour les différentes substances sexuelles, comme on l'a déjà essayé pour l'œstrone.

M. Ruzicka. - J'estime qu'on a le droit d'employer le mot

« spécifique » simplement à l'occasion d'un processus déterminé sans désigner en même temps une substance bien déterminée.

M. LAQUEUR. — Je ne puis me rallier à cette opinion, car l'épithète « spécifique » n'ajoute rien au sens en pareil cas; ainsi, par exemple, le mo. : æstras » d'fixit en fait un état particulier et y ajouter l'épithète « spécifique » ne modifierait rien. Il est d'ailleurs, très probable que M. Ruzicka se borne à penser que la spécificité vaut pour plus d'une substance, notamment pour toutes celles qui, d'une façon ou d'une autre, sont capables de provoquer l'æstrus.

Par contre, je crois bien que M. Ruzicka et les autres chimistes tiennent compte du point de vue quantitatif, quand ils donnent au terme spécifique le sens de typique et de caractéristique comme M. Ruzicka l'a souvent fait.

Par exemple, quand on parle de la coloration caractéristique violette que donne l'acide salicylique par le fer, ou le fer par l'acide salicylique, on pense à la coloration qui apparaît à partir de 1 em³ d'une solution d'acide salicylique à 0,1 pour 100 et 0 em³,5 ou encore moins d'une solution inconnue renfermant du fer. Mais si cette coloration se produisait par exemple avec 1 litre de sulfate zincique (incolore), sereit-on autorisé à déclarer que dans cette solution il existe des traces de fer ? Si celles-ci ne peuvent pas être décelées d'aucune autre manière, un nouveau problème surgit, à savoir si une grande quantité de sulfate zincique ne réagit pas d'une façon particulière avec l'acide salicylique.



## LES HORMONES VÉGÉTALES

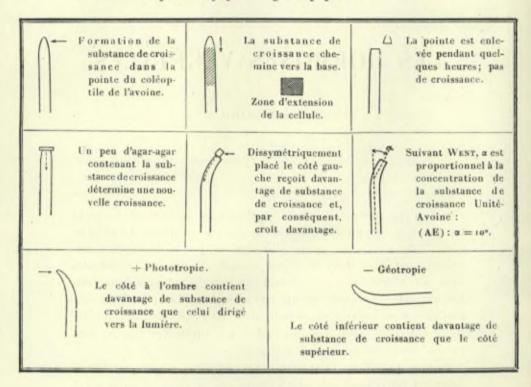
PAR M. F. KÖGL

Si l'on fait abstraction des hypothèses de Sachs, la découverte des hormones végétales doit être rapportée au début du présent siècle. Elle n'est donc guère plus récente que la découverte des agents analogues dans le règne animal. Toutefois, l'étude des hormones végétales n'a pas progressé aussi rapidement que celle des vitamines et des hormones animales, dont l'importance médicale s'est révélée si considérable. Et ce n'est que dans les dix dernières années que des recherches intensives ont eu lieu dans le domaine des hormones végétales.

Tandis que dans l'organisme des animaux supérieurs, on a trouvé relativement tôt des substances actives d'importance physiologique spéciale, pour le règne végétal, ce sont les symptômes généraux de la croissance qui ont conduit à la découverte des substances organiques actives.

On peut se représenter la croissance d'une cellule végétale de façon schématique de la manière suivante : division cellulaire, croissance du plasma, extension de la cellule. C'est dans ce dernier domaine, à savoir l'extension de la cellule, qu'on a apporté en premier lieu la preuve du réglage de la croissance de la cellule végétale par des substances actives oligodynamiques appelées auxines. Les investigations de physiologie végétale sur lesquelles se basent nos recherches sont dues en toute première ligne à P. Boysen-Jensen, A. Paal et F. W. Went. Le schéma suivant permet de se rendre aisément compte de la technique

expérimentale et de l'importance des auxines pour la réalisation des courbures phototropiques et géotropiques.



La fonction des auxines ne se borne pas à l'étirement cellulaire et aux deux autres phénomènes dont il vient d'être question. Les auxines stimulent la formation des racines, provoquent un épaississement secondaire et empêchent l'apparition trop précoce de boutons latéraux. Par conséquent, les auxines interviennent de bien des manières lors de la régulation de la croissance végétale.

Grâce au test trouvé par Went, on a réussi à préparer à l'état de pureté les auxines au laboratoire d'Utrecht. En collaboration avec A. J. Haagen Smit, H. Erxleben et D. Kostermans, j'ai réussi à les isoler à l'état cristallisé en partant de différents matériaux, à savoir l'urine, l'huile de maïs, le malt et la levure. Chose remarquable, il existe deux types d'auxine

tout à fait différents l'un de l'autre au point de vue chimique. Au premier type appartiennent les auxines a et b; ce sont des acides ayant pour formules respectives C<sub>18</sub>H<sub>32</sub>O<sub>5</sub> et C<sub>18</sub>H<sub>30</sub>O<sub>4</sub> (activité 50 000 000 000 AE par gramme). Le second type, l'hétéroauxine, fut trouvé plus tard. L'hétéroauxine contient de l'azote et, en réalité, il s'agit d'une substance connue depuis longtemps et obtenue facilement par synthèse, à savoir l'acide β indolylacétique (activité 25 000 000 000 AE par gramme).

La détermination de la constitution chimique des auxines se hase sur les observations suivantes :

- 1º L'auxine-a est un trioxyacide dont les solutions montrent de la mutarotation; la rapidité avec laquelle l'équilibre acide ⇌ lactone s'établit, a permis de conclure qu'il s'agit d'une ∂-lactone.
- 2º Le déficit en hydrogène vis-à-vis d'un acide trioxystéarique est dû à une double liaison et à un cycle.
- 3º La dihydroauxine-a donne naissance, lors de l'oxydation avec du tétraacétate de plomb (d'après Criegee), à une oxyaldéhyde contenant 16 atomes de carbone et, en outre, à de l'acide glyoxylique. Ceci prouve que la chaîne latérale portant le carboxyle contient 2 hydroxyles en position  $\alpha$  et  $\beta$ . De plus, puisqu'il ne se produit pas de rupture entre  $\beta$  et  $\gamma$ , la position  $\gamma$  doit être exempte d'hydroxyle. A ceci se rattache également l'absence de formation d'une  $\gamma$ -lactone.
- 4º Lors de l'oxydation de la dihydroauxine-a par de l'acide chromique, il se forme une cétone cyclique ayant pour formule C<sub>13</sub>H<sub>24</sub>O. Mais si l'on oxyde l'auxine-a au moyen de permanganate potassique, il se forme un acide dicarboxylé C<sub>13</sub>H<sub>24</sub>O<sub>4</sub>. Au cours de ces deux réactions de dégradation, on élimine la chaîne latérale en C<sub>5</sub>, laquelle porte les groupements hydroxyles et carboxyle. Ceci doit être interprété en admettant que cette chaîne latérale part de la double liaison et que cette dernière se trouve dans le noyau cyclique.
- 5º Dans la réaction de Blanc, l'acide dicarboxylé à 13 atomes de carbone se conduit comme un acide glutarique. Par conséquent, l'auxine-a contient un anneau pentagonal.

Distillation d'auxine-a-lactone avec KH SO4.

6º Pour établir de façon plus précise la constitution des auxines, on a dû déterminer la structure de l'« acide auxine-glutarique », dont il existe environ 1200 isomères de structure. La dégradation, d'après Karrer-Criegee, a fourni une β-dicétone contenant 11 atomes de carbone, qui fut scindée par l'action des alcalis en acide α-méthylbutyrique dextrogyre et en 3-méthyl-pentanone-2. Par conséquent, l'acide à 13 atomes de carbone, que nous venons d'envisager, est un acide α — α'-di (sec-butyl) glutarique.

7º Il existe 10 acides α - α'-di (sec-butyl) glutariques isomères. Nous n'avons pas pu faire de recherches plus approfondies sur la B-dicétone à 11 atomes de carbone. Néanmoins, nous pouvons affirmer que ce n'est pas une mésoforme, puisqu'elle donne naissance, par rupture, à un acide α-méthylbutyrique optiquement actif. Par conséquent, les deux bifurcations doivent avoir la configuration de l'acide (+) a-méthylbutyrique. Pour la synthèse de l'acide auxineglutarique, nous avons fait usage d'un matériel optiquement actif présentant déjà la configuration exacte des bifurcations méthyle-éthyle. Ceci ne nous obligeait plus à séparer les 10 stéréoisomères, mais la présence des deux autres atomes de carbone asymétriques avait cependant encore pour conséquence la formation de 3 stéréoisomères en tout. Nous sommes parvenu à les séparer en préparant successivement les sels de brucine, puis de cinchonidine, mais seulement après la répartition graduelle en près de 300 fractions. Finalement, nous avons réussi à isoler un acide synthétique qui présentait tous les critères d'identité de l'acide auxineglutarique.

8º Lors de l'oxydation de l'auxine-b par le permanganate, il se forme aussi de l'acide auxinoglutarique. Grâce à la synthèse dont nous venons de parler nous avons donné une preuve définitive de la constitution d'une grande partie de la molécule des deux auxines.

9º Dans l'auxine-b, c'est seulement la chaîne latérale portant le groupement carboxyle qui a une constitution différente. Il s'agit, dans ce cas, d'un acide ô-oxy-β-cétonique, ce qui a été prouvé en premier lieu par la formation d'une ô-lactone et par la facile libération d'anhydride carbonique. Cette interprétation fut confirmée par la transformation expérimentale de l'auxine-alactone en auxine-b-lactone (respectivement en auxine-b) obtenue par distillation en présence de bisulfate potassique.

10° Les auxines a et b perdent complètement, au plus tard en quelques mois, leur activité physiologique, et ceci est le cas aussi bien si ces auxines sont contenues dans des extraits bruts ou si elles ont été obtenues à l'état cristallisé. D'après les recherches que nous avons poursuivies en collaboration avec H. Erxleben et C. Koningsberger, l'inactivation spontanée de l'auxine-a conduit à un mélange de deux substances que nous avons appelées pseudo-auxine- $a_1$  et pseudo-auxine- $a_2$ ; ces deux composés possèdent encore la double liaison et le groupement carboxyle, mais ils ne montrent plus la mutarotation qui survient dans les auxines, par suite de la tendance à l'établissement d'un état d'équilibre avec la  $\delta$ -lactone correspondante.

Nous avions admis que cette inactivation résultait d'un déplacement de la double liaison. Aussi fûmes-nous très surpris quand, lors de l'oxydation par le permanganate, de l'acide auxinoglutarique se forma de nouveau, ce qui semblait prouver que la double liaison avait conservé la même place que dans l'auxine-a elle-même. Quoi qu'il en soit, nous savions maintenant avec certitude que lors de l'inactivation de l'acide auxino-glutarique, la partie de la molécule contenant la double liaison ne subissait pas de modifications. L'auxine-b, qui ne se distingue de l'auxine-a que par la substitution différente aux atomes de carbone α et β, devient, tout comme l'auxine-a, inactive par la conservation. Il en ressort que la seule région commune, où peut se passer la transformation en pseudo-auxines, doit être comprise entre les atomes de carbone situés dans les positions y et ¿. Cette limitation de la région où se produit la transformation, et en particulier la disparition de la mutarotation qui tend à faire admettre une modification se passant à l'atome de carbone o, nous a amené à considérer l'inactivation spontanée comme due à une transposition allylique. Cette hypothèse permet d'expliquer aisément toutes nos constatations :

1º La formation de deux isomères inactifs (III et IV);

$$CH_3$$

$$CH_2$$

$$CH - CH - CH - CH_2 - CH_3$$

$$CH - CH - CH_2 - CH_3$$

$$CH - CH_2 - CH_3$$

$$CH - CH_2 - CH_3$$

$$CH - CH_3 - CH_3$$

$$CH_3 - CH_3$$

(III) Pseudo - auxine - a

(IV) Pseudo - auxine - ag

(V) Pseudo-auxine - b

2º La disparition de la mutarotation dans les pseudo-auxines;

3º L'identité des spectres d'absorption dans l'ultraviolet des produits avant et après l'inactivation;

4º En outre, le résultat de la dégradation par l'ozone de la pseudo-auxine-a démontre aussi la position semi-cyclique de la double liaison; il se forme l'acyloine VI attendue qui, comme c'est compréhensible, donne naissance à de l'acide auxinoglutarique lors de l'oxydation par le permanganate.

Bien que l'interprétation d'après laquelle l'inactivation serait due à une transposition allylique permette d'expliquer de façon parfaite nos constatations, il y a lieu d'appeler l'attention sur le fait que nous ne connaissons pas dans la littérature d'exemple d'une transposition allylique spontanée et totale dans un sens. Il sera donc intéressant, à ce point de vue, d'étudier le comportement de substances semblables à structure plus simple.

Les cristaux de l'auxine-a-lactone perdent, eux aussi, leur activité en quelques mois. Pour autant que ce soit connu jusqu'à présent, l'irradiation ne modifie pas l'inactivation spontanée des auxines a et b, au contraire l'auxine-a-lactone s'est révélée, à notre grande surprise, sensible à la lumière. Par irradiation, au moyen de la lumière ultraviolette, il se forme en quelques secondes un corps inactif que nous avons appelé lumiauxine-a-lactone. Cette substance est identique au produit de l'inactivation spontanée se poursuivant lentement dans l'obscurité. Les recherches relatives à cette remarquable réaction ne sont pas encore achevées. Lors de la dégradation par l'ozone de la lumi-auxine-a-lactone, il se forme la même cétone cyclique C<sub>13</sub>H<sub>24</sub>O, que nous avions obtenue antérieurement en oxydant la dihydro-auxine-a au moyen de l'acide chromique. Il faut en conclure que

la double liaison présente également en ce cas, une position semicyclique. Un tel déplacement de la double liaison peut amener la formation d'une énollactone et, en effet, les propriétés de la substance obtenue correspondent à cette hypothèse. De plus, des modifications doivent s'être produites dans l'anneau lactonique; en effet, comme le démontrent les analyses, une molécule d'eau doit encore être éliminée au cours de la formation de l'auxine-a-lactone, ce qui n'est possible que dans l'anneau lactonique. Le spectre d'absorption ultraviolet tend, lui aussi, à faire conclure à l'existence de doubles liaisons conjuguées. Naturellement une série de questions reste à résoudre qui ne pourront être résolues que par des investigations approfondies. Celles-ci présenteront un grand intérêt, non seulement pour la chimie des substances envisagées, mais aussi pour toute la physiologie végétale. La croissance des plantes à la lumière est, jusqu'à présent, expliquée, suivant F. W. Went, en admettant que la lumière tend à favoriser le transport de la substance de croissance vers le côté de la plante qui se trouve à l'ombre. Des recherches futures devront décider si la pauvreté en substance de croissance du côté exposé à la lumière ne provient pas, en partie tout au moins, de la formation de lumi-auxine-a-lactone. Tout à fait indépendamment des considérations qui viennent d'être émises, on a montré, en physiologie végétale, que l'action des auxines est moindre à la lumière qu'à l'obscurité (Overbeek), ce qui pourrait aussi s'expliquer par une formation partielle de lumi-auxine-a-lactone. Disons toutefois que les recherches relatives à ce problème, tant d'ordre physiologique que d'ordre optique, en sont encore à leurs tous premiers débuts.

Comme il existe des isomères inactifs, fort rapprochés des auxines, nous avions conclu antérieurement que l'activité physiologique dépend d'un type de constitution bien déterminé. Ceci rendit d'autant plus surprenante la découverte, faite en 1933, que l'acide β-indolylacétique, connu depuis si longtemps, est également actif dans le test de l'avoine. On sait que cet acide se forme par la désintégration biologique du tryptophane, sous l'influence d'organismes végétaux inférieurs, tels que les levures, les moisissures et les bactéries. Ceci amena à se demander si l'auxine des plantes supérieures n'était pas ce dérivé de l'indol.

Grâce à la détermination du coefficient de diffusion par la méthode biologique et au comportement différent envers les acides et les bases, nous avons montré, avec une vraisemblance fort proche de la certitude, que la substance de croissance des pointes des herbes est identique à l'auxine a.

Nous nous sommes alors attaché à examiner divers dérivés de l'hétéro-auxine, au point de vue de leur activité physiologique, dans le test de l'avoine, et nous l'avons toujours trouvée inférieure à celle de la substance initiale. Or, l'acide β-indolvlacétique excite tout comme l'auxine-a, la formation des racines dans les boutures et, chose curieuse, une variation dans la constitution des substances actives a beaucoup moins d'influence sur cette dernière action physiologique que sur le test de l'avoine. A l'Institut Boyce Tompson, on a trouvé un grand nombre de substances actives dont la constitution présente une analogie parfois déjà relativement éloignée avec l'acide β-indolylacétique; il en est ainsi, par exemple, de l'acide indolylpropionique, de l'acide indolylbutyrique, de l'acide phénylacrylique, de l'acide phénylpropionique, de l'acide α-naphtylacétique, de l'acide β-naphtylacétique, de l'acide acénaphtyl-5-acétique, de l'acide phénylacétique, de l'acide fluorènacétique, de l'acide anthracénacétique, etc.

Ceci rappelle tout à fait le cas des nombreuses substances cestrogènes qui n'ont pas beaucoup de commun au point de vue de la constitution avec les hormones du groupe de l'œstrone. Il n'y a point de raison de considérer comme hormone toute substance possédant une action sur des organismes. Nous considérons donc comme phytohormones des substances oligodynamiques de nature organique que l'organisme végétal emploie luimême pour l'effet physiologique en question. Il ne sera certes pas facile, dans la plupart des cas d'en fournir la preuve, mais nous pensons toutefois que ceci doit constituer le but auquel on doit tendre lors des recherches de chimie physiologique.

On a cru, tout d'abord, que l'action des auxines était limitée à la croissance par extension. Au cours des dernières années, on a reconnu que les auxines déterminent aussi des divisions cellulaires lors de la formation des racines, lors de la croissance secondaire en épaisseur et lors de la formation de cals, mais seulement à des concentrations beaucoup plus fortes. Comme nous l'avons déjà dit, de telles réactions sont provoquées par de nombreuses substances. Quand Jost obtint la division des cellules en employant des substances aussi simples que le chlorure sodique et l'acide citrique, cela signifiait seulement que le test n'était pas spécifique. C'est un problème très important pour les recherches de physiologie végétale de trouver une réaction hautement spécifique pour les phyto-hormones de la division cellulaire.

Dans l'introduction de ce rapport, nous avons dit que la croissance du plasma suit la division cellulaire. Lors de ce stade de la croissance, caractérisé avant tout par l'augmentation du protoplasme, la cellule fille atteint la grosseur de la cellule mère. Dans les tissus embryonnaires, la formation du protoplasme se produit parallèlement avec la division cellulaire de telle sorte qu'on ne peut pas se prononcer pour le moment sur le point de savoir si les substances activant la division cellulaire de la levure exercent leur action, soit sur la division des cellules, soit sur la croissance du plasma, soit sur ces deux phénomènes à la fois. Or, l'organisme végétal chez lequel on a observé pour la première fois l'existence d'une substance particulière activant la croissance est précisément la levure. Contrairement à l'opinion classique due à Pasteur. d'après laquelle la levure exige pour sa croissance seulement un sucre fermentescible, des sels d'ammoniaque et ses cendres, E. Wildiers, sous la direction de son maître, le professeur Ide, a fait, en 1901, l'importante découverte que si l'on ensemence sur un tel substrat de faibles quantités de levure, celle-ci ne se développe point et ne produit aucune fermentation. Ces phénomènes n'apparaissent que lorsqu'on ajoute au substrat du « bios »; on entend sous ce nom une substance thermostable de nature organique qui existe dans le moût et dans beaucoup d'autres produits. Malgré beaucoup de controverses, l'observation du chercheur belge fut finalement acceptée de manière générale. Cette découverte du bios doit être considérée comme le début des recherches sur les substances de croissance.

Il est impossible d'exposer ici toute la littérature relative au bios; en appréciant à leur juste valeur les travaux des différents investigateurs, nous devons nous borner à donner un aperçu rapide des résultats les plus importants. Le travail de A. M. Copping, paru en 1929, constitue un progrès essentiel dans la connaissance de ce problème. Copping étudia la croissance d'à peu près vingt espèces différentes de levure dans des milieux synthétiques de culture. Les espèces sauvages montraient, dans ces conditions, une croissance normale, tandis que les levures de culture, fort spécialisées, se développaient d'une façon très imparfaite et ne présentaient une croissance normale qu'après l'addition d'extrait de levure. Ces constatations et d'autres faits expérimentaux ont amené à conclure que les levures sauvages, contrairement aux levures de culture, sont capables de préparer par synthèse le bios indispensable à leur développement. Beaucoup de contradictions de la littérature ont été éclaircies par la connaissance de ce fait.

Autre constatation importante, c'est la nature multiple du bios, fait sur lequel on a appelé l'attention il y a 14 ans déjà. Ce sont les travaux de Lash Miller (de Toronto) et de ses collaborateurs qui l'ont mis en évidence. En 1928, dans ce laboratoire, Eascott identifia, avec la meso-inosite, le « bios I » qui représente un des facteurs du groupe des bios. Peu de temps plus tard, dans le centre de recherches dirigé par R. J. Williams (dans l'Oregon), on fit l'importante observation que l'aneurine, la vitamine antineuritique, se comporte comme le bios envers une espèce déterminée de levure.

Au laboratoire d'Utrecht, les recherches sur le problème du bios ont été entreprises en 1932. La levure pour le test était l'espèce M de l'Institut de l'Industrie des fermentations de Berlin; il s'agit d'une levure haute de distillerie, comprenant quatre sous-espèces; cette espèce M a été cultivée à l'Institut de Berlin, dans un but technique pendant des années, dans des conditions constantes. L'augmentation du nombre des cellules a été déterminée par la mesure du trouble à l'aide de l'extinctiomètre de Moll, et, en outre, occasionnellement par la numération des cellules. Sans addition de bios, notre levure montre en solution saline-sucrée, après 5 heures, une augmentation de 20 à 40 pour 100; après addition des facteurs bios contenus dans l'eau de cuisson de la levure, elle est comprise entre 500 et 600 pour 100. L'enrichissement se mesure en unités de saccharomyces (SE). Nous entendons, par là, la quantité de bios qui,

agissant sur 240 γ de levure, provoque une augmentation de 100 pour 100 dans nos conditions expérimentales.

En accord avec les recherches des auteurs canadiens, il se confirma qu'un principe peut être séparé par l'acétate plombique en solution ammoniacale et qu'il peut être remplacé par la méso-inosite. En outre, en collaboration avec Van Hasselt, ce principe bios, jusque-là isolé seulement des feuilles de thé, fut obtenu à partir de la levure elle-même. Dans des conditions expérimentales relativement modérées, on ne parvint à isoler que la méso-inosite et non pas un dérivé actif de cet alcool.

D'accord avec les chercheurs canadiens, on a trouvé qu'un deuxième principe peut être séparé par adsorption par le noir animal et élution par l'acétone-ammoniaque. Nous 'avons d'abord désigné ce principe comme bios II, tandis qu'à Toronto on a employé la 'dénomination de bios II B. Après avoir obtenu ce principe à l'état cristallin nous l'avons désigné par le nom de « biotine ». Comme la distinction par les chiffres amène facilement des erreurs dans la littérature, il nous a paru opportun d'appeler par des noms qui leur sont propres les principes isolés après leur purification.

En 1934, nous avons obtenu, en collaboration avec B. Tönnis, la biotine à l'état pur. Comme matériel de départ nous avons employé le jaune d'œuf de poule et de cane; pour isoler le produit cristallisé, il a fallu concentrer à peu près 3 millions de fois après 15 phases de purification; lors de l'une des dernières purifications, on éthérifie le produit très actif par le méthanol et l'acide chlorhydrique, après quoi l'ester est distillé dans un vide très poussé; au cours de cette opération, le principe de la distillation « moléculaire » a donné d'excellents résultats. Les fractions movennes très actives et cristallisées en partie sont libérées de l'huile adhérente par l'oxyde de mésityle. Le produit obtenu par recristallisation fond à 1580, c'est l'ester méthylique de la biotine. Son activité correspond à environ 25 milliards d'unités SE par gramme; on la constate encore aux dilutions extraordinairement élevées de 1 : 40 000 000 000 et même de 1 : 400 000 000 000.

Dans le tableau qui suit, nous indiquons, à titre de compa-

raison, les dilutions auxquelles différentes substances montrent encore une activité physiologique nette.

	Organisme.	Dilution.		Action.
Biotine	Levure (espèce M)	1:	400 000 000 000	Croissance appréciable
Biotine	Levure (espèce M)	1:	40 000 000 000	Croissance très nette
Auxine-a	Avoine (racine)	1:	10 000 000 000	Inhibition
Auxine-b	Avoine (coleoptile)	1:	1 000 000 000	Courbure à gauche
Thyroxine	Têtard	1:	5 000 000 000	Accélération de la mé- tamorphose
Adrénaline	Grenouille (œil)	1:	20 000 000	Mydriase
Meso-inosite	Levure (espèce M)	1:	200 000	Croissance

Nous avions déjà remarqué antérieurement que les cristaux de l'ester méthylique de biotine contiennent de l'azote; pour la recherche de soufre et de phosphore, on a employé une huile brute très active et l'on n'a pas réussi à v démontrer la présence de ces éléments; sans doute avions-nous été trop économes en matériel; en effet, en répétant cette recherche en partant des cristaux de l'ester méthylique de biotine, le résultat fut positif pour le soufre. Il est remarquable qu'à côté de l'aneurine, un autre principe du bios soit constitué par une combinaison aminée et sulfurée. Par suite du prix de revient très élevé de ce nouveau composé, on n'a pu faire que peu d'analyses; elles concordent pour lui attribuer comme composition C11H18O3N2S, mais naturellement cette formule ne peut être donnée actuellement qu'avec une certaine réserve. La micro-détermination, d'après Zeisel, démontre la présence d'un groupement méthoxyle. Nous n'avions pas résolu la question de savoir s'il se forme par le traitement au méthanol et à l'acide chlorhydrique, soit un ester méthylique, soit une lactone, soit une lactame. Le comportement, lors de la saponification, démontre qu'il s'agit en réalité d'un ester méthylique; dans ces conditions, il se forme un acide qui, à la titration, utilise un équivalent de base. L'alcalinité relativement faible de la biotine a été constatée lors de son isolement. De nouvelles recherches sont en cours afin d'essayer de caractériser les groupements fonctionnels et d'étudier la dégradation de cette substance.

Comme il a déjà été dit, nous avons séparé la biotine des autres principes du bios, grâce à l'adsorption par le noir animal. Tandis que la biotine de nos levures étalons est active par elle-même, sans addition d'aucune autre substance, aux dilutions citées plus haut, la méso-inosite et les principes qui se trouvent dans le filtrat du noir animal n'ont aucune activité par eux-mêmes. Ils augmentent toutefois l'activité de la biotine; l'aneurine agit également dans le même sens et l'on peut désigner ces principes comme des co-substances de croissance de notre levure. Nous n'avons pas analysé de plus près les principes du filtrat du noir animal, mais il existe une communication de Lash Miller, d'après laquelle l'activité du filtrat est attribuée à la présence de B-alanine et de l-leucine. L'influence de la B-alanine sur la croissance des levures a été découverte l'année passée par R. J. Williams. Cet auteur s'occupe depuis longtemps d'un principe bios pour lequel il a introduit le nom d'acide pantothénique, à cause de sa présence ubiquitaire. Ce principe peut être concentré en partant de préparations de foie, mais n'a pas encore été obtenu à l'état cristallisé. D'après R. J. Williams, il s'agit d'un acide oxycarboxylique dont le poids moléculaire est voisin de 200; sa relation avec les principes bios étudiés à Toronto et à Utrecht n'est pas encore bien déterminée. Il semble que d'après les exigences en bios des différentes espèces de levure, encore maints principes seront mis en évidence. C'est ainsi que, d'après Lash Miller et ses collaborateurs, l'espèce de levure Saccharomyces hanseniaspora Valbyensis se multiplie seulement en présence du « bios V », nouveau principe labile qui se trouve dans le jus de tomates, le moût de bière, le jus de citron, l'eau de levure et l'extrait de lentilles.

Le tableau qui vient d'être tracé se complique encore, parce que certains autres organismes inférieurs, tels que les moisissures et les bactéries, ont également besoin, pour leur croissance, de substances spéciales. Comme l'action de l'aneurine sur Phycomyces, découverte par Burgeff et Schopfer, semble le mettre en lumière, il s'agirait dans ces cas de substances déjà rattachées au complexe bios; toutefois, tel n'est sans doute pas toujours le cas et l'on peut se demander quelle sera la limite de la notion de bios.

Dans cet ordre d'idées, il est à noter que Wildiers avait mesuré, dans ses expériences, non pas la croissance, mais la fermentation des levures. Au cours des recherches sur le bios, le problème s'est peu à peu complètement déplacé du côté de la croissance, tandis que la relation avec la fermentation restait habituellement inobservée. H. von Euler et ses collaborateurs, dans une série de travaux commencés en 1924, se sont occupés de l'accélération de la fermentation alcoolique qui apparaît à la suite d'addition de moût et d'autres extraits similaires à des milieux synthétiques. Ils attribuèrent cette action à une substance spéciale qu'ils ont pu séparer de la co-zymase et qu'ils ont appelée « principe Z ». En 1934, von Euler émit l'opinion que ce principe Z est identique au bios II, ce qui n'a pas été confirmé par nos recherches : la biotine n'a, en effet, aucune influence sur la fermentation alcoolique. D'autre part, en collaboration avec C. Van Hulssen et H. Erxleben, nous avons réussi à concentrer beaucoup le principe Z. Nos meilleures préparations provoquent encore à des dilutions de 1 : 3 000 000 une accélération de la fermentation de 50 pour 100, tandis que pour obtenir le même effet, il fallut employer la dilution de 1:500 lorsqu'on part de l'extrait initial de levure. Il s'agit donc probablement dans le cas du principe Z d'une substance active spéciale, qui influence spécifiquement la fermentation alcoolique. Il en résulte des problèmes nouveaux en ce qui concerne la relation entre la croissance et la fermentation.

Comme nous l'avons établi, le son de riz est beaucoup plus riche que le grain de riz, non seulement en aneurine, mais aussi en biotine et en principe Z. Tandis qu'on ne possède guère encore de renseignements à propos de la fonction du principe Z chez les plantes supérieures, on a fait d'importantes constatations au sujet de la fonction de l'aneurine et de la biotine. En collaboration avec A. J. Haagen Smit, nous avons cultivé de façon stérile dans des tubes à essais des embryons isolés de pois, c'està-dire libérés de leurs cotylédons. A ces milieux de culture, nous avons ajouté des cristaux d'ester méthylique de biotine. Une accélération de croissance nette se produisit encore à la dilution de 1:125 000 000 par rapport aux essais témoins sans biotine. Chose remarquable, l'action de la biotine est encore augmentée par sa combinaison avec l'aneurine, déjà active par elle-même. Les doses qu'on a trouvées actives sont en excellent accord avec

le contenu en aneurine et en biotine d'un petit pois, comprise entre 0,5 et 0,1 γ. Ces recherches permettent de considérer la biotine et l'aneurine comme phyto-hormones de la germination.

L'influence de l'œstrone sur la croissance végétale, observée pour la première fois en 1931 par W. Schæller et Gæbel, n'est pas restée sans contestation dans la littérature botanique. D'après nos propres recherches sur l'action de l'æstrone sur l'embryon isolé, nous sommes néanmoins enclins à considérer cette hormone sexuelle femelle comme une phythormone. De même l'acide ascorbique et la lactoflavine peuvent être cités sous ce rapport et l'on peut, sans doute, s'attendre à la découverte d'autres hormones végétales très nombreuses.

## DISCUSSION DU RAPPORT DE M. KÖGL.

M. Drummond. — Je désirerais demander à M. Kögl quel rôle il assigne à l'acide pantothénique dans son tableau des facteurs affectant la croissance de la levure. Il y a quelques années, Copping a montré dans mon laboratoire que différentes races de levures ont des exigences très différentes en ce qui concerne le facteur « bios ». Les levures à type respiratoire réduit, comme beaucoup de levures de brasserie par exemple croissent peu ou pas du tout dans le milieu artificiel sucre-sels. Les levures de boulangerie qui ont une activité respiratoire plus accusée, croissent lentement dans ce même milieu, tandis que les levures sauvages à pouvoir respiratoire considérable ne nécessitent l'addition d'aucune substance de croissance. La levure employée par M. Kögl, à savoir la race M, est en réalité un mélange de quatre souches de levures de boulangerie et elle présente une bonne vitesse de développement dans un milieu artificiel de culture. M. Kögl étudie par conséquent la stimulation de la croissance plutôt que les substances essentielles à la division cellulaire.

Je voudrais lui demander si son milieu de base contient de l'acide pantothénique ou toute autre matière qui puisse en contenir, parce que dans nos expériences nous avons constaté que la levure a réellement besoin de ce facteur, même si l'addition de biotine constitue un autre facteur essentiel.

Récemment nous avons fractionné les substances de croissance extraites du jaune d'œuf. La voie suivie pour concentrer ces substances essentiellement nécessaires à la croissance de notre variété de levure est totalement différente de celle qui a abouti à l'isolement de la biotine dans le laboratoire de M. Kögl. Mais elle correspond à celle qui conduirait à l'isolement d'un composé ayant les propriétés de l'acide pantothénique, ainsi que Williams l'a décrit. Nous avons isolé de cette manière des produits cristallisés mais encore impurs.

Si l'on ajoute ces préparations à un milieu de base sucre-selinosite, on obtient environ 80 pour 100 de la vitesse optimale de croissance pour notre levure. La différence représente peutêtre l'influence en biotine déficitaire et nous sommes enclins à accepter cette façon de voir. Nous ne parvenons toutefois pas à nous expliquer la croissance de la levure étudiée par M. Kögl, en l'absence d'acide pantothénique.

M. Kögl. — D'après la description donnée par R. J. Williams de l'acide « pantothénique », celui-ci est certainement un facteur bios différent de la biotine. La race M de levure employée par nous s'accroît de 10 à 40 pour 100 en 5 heures dans la solution sucre-sel employée; par addition de biotine elle s'accroît de 300 pour 100. Il se pourrait que notre liquide nutritif soit très actif malgré l'absence d'acide pantothénique, parce que la race M de levure en contiendrait déjà une grande quantité ou pourrait le synthétiser. Dès que l'acide pantothénique aura été obtenu à l'état cristallisé, il sera possible de mieux définir les relations qui existent entre les différents facteurs bios.

M. Karrer. — La lactonisation des auxines ne fait apparaître aucun groupement chromophore nouveau. Comment peut-on expliquer dans ce cas la grande différence de sensibilité à la lumière qui existe entre l'auxine et sa lactone? Ceci me paraît présenter de grandes difficultés.

Est-on d'avis que l'emploi combiné de diverses substances artificielles permet de croire à divers points d'attaque. Ne serait-il pas utile de proposer en remplacement de l'unité avoine qui conduit à des chiffres extraordinairement grands, une unité nouvelle plus considérable.

M. Kögl. — En réalité, on ne doit pas s'attendre à une action importante de la lactonisation sur le spectre d'absorption. Les sensibilisateurs doivent jouer un rôle ici pour que cette lactonisation conduise à une inactivation par photoréaction dans l'ultraviolet à grande longueur d'onde. Ils pourraient à coup sûr exister dans le solvant (alcool) mais il est beaucoup plus probable toutefois qu'il s'agit d'impuretés des cristaux qui n'ont pas encore été caractérisées analytiquement jusqu'ici.

En théorie, il doit être possible d'obtenir une auxine lactone

stable à la lumière (photostable) par cristallisations répétées; il est toutefois difficile en pratique de faire subir à 300 mg de ce produit une purification aussi poussée. D'ailleurs il est très remarquable qu'une solution d'auxine-a-lactone devienne inactive par l'ultraviolet, tandis que cette inactivation ne se produit pas pour l'auxine-a. Le résultat devrait être le même dans les deux cas, puisqu'il s'établit en solution un équilibre entre l'acide et la lactone (mutarotation!). Mais on mesure le pouvoir rotatoire dans une solution à 10 pour 100 tandis que les mesures spectrales se font sur une solution mille fois plus diluée. Nous avons attendu que l'équilibre s'établisse à partir de l'acide et à partir de la lactone en solution à 10 pour 100 et nous avons alors dilué 1000 fois. D'après le pouvoir rotatoire, l'équilibre existerait pour environ 50 pour 100 de lactone et 50 pour 100 d'acide. Les mesures du spectre d'absorption montrent que la moitié seulement de la substance est transformée en lumiauxine-a-lactone et qu'effectivement l'activité physiologique a rétrogradé de moitié dans les deux cas. Sans doute l'équilibre dans la solution à 10 pour 100 est « autocatalysé » par les ions H de l'auxine-a, tandis que ce n'est pas le cas dans la solution diluée.

Il a été démontré que la biotine exalte l'activité des substances du groupe des auxines lors de la formation des racines. Nous ne possédons aucune donnée relative à l'action combinée de représentants du groupe des auxines.

C'est en Amérique surtout que l'on emploie l'acide β-indolylacétique et ses analogues pour étudier de manière approfondie la formation des racines chez les boutures. On ne peut encore se prononcer sur l'importance pratique de ces études.

L'unité avoine est en effet très petite, mais elle a une signification physiologique très nette, car le sommet d'un coléoptile fournit par heure environ une unité avoine.

M. Barger. — J'aime à croire que mon ancien Maître, Leo Errera, eut été fortement intéressé par ces belles applications de la Chimie à la Botanique.

J'aimerais savoir si dans l'isomérie de la pseudo-auxine intervient aussi l'isomérie cis-trans? Possède-t-on des renseignements sur la nature du soufre dans la biotine? Peut-on trouver dans un argument botanique l'explication de l'héliotropisme et celle-ci peut-elle servir d'argument contre la destruction de l'auxine lactone par la lumière?

M. Kögl a-t-il envisagé la symbiose des lichens en rapport avec celle du Nématospora et du Polyporus?

M. Kögl. — On pourrait envisager des formes cis-trans dans l'isomérie de la pseudo-auxine.

Il est certain que biotine et aneurine ne sont pas apparentées. L'atome de soufre semble être présent sous forme d'un thioéther, mais on ignore encore si c'est dans une chaîne ouverte ou dans un anneau. On pense naturellement à une relation avec la méthionine ou avec tout autre produit naturel sulfuré.

Certaines recherches botaniques tendent à faire croire que le phototropisme ne peut être causé seulement par la photoinactivation mais dépend aussi de l'influence de la lumière sur le transport de l'auxine.

La courbure phototropique n'apparaît pas quand les deux faces du coléoptile sont séparées par une paroi solide. Cette recherche n'est toutefois pas à l'abri de toute critique, car la plante peut être endommagée par la blessure.

Il n'existe jusqu'à ce jour aucune étude établissant que la symbiose chez les lichens présente une analogie avec les relations qui existent dans la symbiose artificielle de Nématospora gossypii et Polyporus adustus.

M. Laqueur. — Malgré les grandes difficultés rencontrées par M. Kögl dans la purification de ses substances, ses travaux présentent cependant un avantage sur ceux des hormones. Dans ce dernier cas, le matériel expérimental est difficile à se procurer et les essais se font sur les souris et les rats au lieu de se faire sur les extrémités des plantules d'avoine qui sont à notre disposition à volonté. Peut-être est-il intéressant de comparer quelques données relatives à la purification et aux propriétés des hormones d'une part et de la biotine d'autre part. La purification de la testostérone correspond au rapport 2:2 millions; celle de la biotine est du même ordre de grandeur (1:3 millions). L'œstrone agit chez les jeunes rats (croissance de l'utérus) à la dilu-

tion 1:1 milliard, tandis que la biotine agit à la dilution de 1:400 milliards.

Existe-t-il des stabilisateurs empêchant la transposition des auxines ainsi que la photosensibilisation de la lactone?

Ne pourrait-on pas essayer d'entraver ou d'empêcher la croissance des staphylocoques en faisant agir des substances toxiques sur l'aneurine ou la biotine? Si des faits de ce genre étaient connus, ils auraient sans doute une grande importance en Médecine.

Des essais d'influencer la croissance ont-ils été faits :

- 1º Par l'œstrone, ce qui présente des difficultés techniques;
  2º Par d'autres substances sexuelles?
- M. Kögl. Dans la comparaison de la concentration nécessaire pour isoler la biotine (1:3 millions) et de celle relative à la testostérone (1:2 millions), il faut rappeler que cette dernière est liposoluble tandis que la biotine n'est soluble dans le chloroforme que dans les dernières étapes de sa purification. Or, les difficultés d'isolement d'une substance hydrosoluble sont infiniment plus grandes que celles d'un produit liposoluble. Les stabilisateurs qui entravent l'inactivation ne sont malheureusement pas encore connus.

Les agents détruisant l'aneurine et la biotine dans l'organisme sont eux aussi hélas encore inconnus. Il est certain que l'influence de ces substances de croissance sur les bactéries pathogènes présente le plus haut intérêt pour le médecin. L'étude de l'influence des substances de croissance sur l'embryon isolé n'est pas facile au point de vue technique. On n'a pas jusqu'à présent fait d'essai dans cette direction avec d'autres hormones sexuelles que l'œstrone.

M. Reichstein. — Je souhaiterais exprimer une idée, déjà d'ailleurs formulée par M. Kögl lorsqu'il dit que la biotine existe aussi dans l'organisme animal. Dès lors on est en droit d'envisager avec une certaine probabilité l'identité de la biotine et d'une vitamine encore actuellement inconnue appartenant peut-être au groupe B. Il serait intéressant de savoir si des recherches ont déjà été faites dans cette direction.

M. Kögl. — Il se pourrait fort bien que la biotine soit identique à un facteur encore inconnu du groupe de la vitamine B. Toutefois il n'existe aucune donnée positive à ce propos jusqu'à présent.

M. Bodenstein. — Encore un mot à propos du géotropisme. Il me paraît impossible que dans le transport horizontal de l'auxine, celle-ci se concentrerait finalement dans les parties inférieures sous l'action de la pesanteur. Notre ancien collègue Perrin a montré que pour des géodes constituées de sphères de gommegutte, visibles au microscope, un enrichissement sous l'action de la pesanteur est possible. La même possibilité existe pour des substances de poids moléculaire moyen quand l'action de la pesanteur est augmentée de manière très considérable au moyen de l'ultracentrifugeur de The Svedberg. Mais par la seule action de la pesanteur sur un espace de 2<sup>mm</sup> il ne peut pas survenir d'enrichissement pour une substance d'une telle grandeur moléculaire.

A propos des modèles proposés pour rendre compte des relations entre des substances actives et des molécules de protéine, je suggère une analogie empruntée à une chimie plus simple, non biologique. Lors de la déshydrogénation de noyaux benzéniques hydrés, d'après les recherches de Balandin, sont aussi particulièrement actifs les catalyseurs dont les dimensions moléculaires sont identiques ou des multiples simples des dimensions des mailles du catalyseur.

M. Kögl. — Le mécanisme de la courbure par géotropisme reste encore extraordinairement obscur. Ni les explications de Haberlandt ni celles de Brauner ne sont satisfaisantes. En outre, on doit encore expliquer la cause du transport polaire de l'auxine.

Le fait que l'auxine inhibe la croissance des racines a été récemment expliqué en admettant que la concentration normale en auxine dans la plante serait déjà trop élevée pour la racine. En effet, des expériences ont démontré que l'auxine n'agit pour favoriser la croissance des racines qu'à une concentration extrêmement faible.

М. Ruzicka. — Je me demande si la formation de la lumi-

auxine-a-lactone n'est pas due au fait que la double liaison est transférée du cycle pentagonal en position semi-cyclique. En effet, on connaît des exemples tendant à démontrer que la double liaison quitte parfois un cycle pentagonal pour passer dans une chaîne latérale, ce qui n'est pas le cas quand la double liaison se trouve dans un anneau hexagonal.

M. Kögl. — Je suis d'accord avec cette interprétation.

La lumiauxine-a-lactone possède probablement la formule suivante:

Son dédoublement par l'ozone conduit, tout comme celui de la dihydroauxine par l'acide chromique, à une cétone cyclique renfermant 13 atomes de carbone. La lumiauxine-a-lactone présente une absorption maximum caractéristique vers 295<sup>mp</sup>, c'est-à-dire pour une longueur d'ondes plus considérable que celle que ferait prévoir la formule ci-dessus. Toutefois il y a lieu de rappeler que le spectre d'absorption de l'ergostérol comporte également une absorption de plus grande longueur d'onde que celle qui correspond à l'existence d'une paire de doubles liaisons conjuguées.

Néanmoins la double liaison semi-cyclique a probablement une influence non négligeable sur la position du maximum d'absorption. On doit s'efforcer de préparer des substances plus simples et de comparer leurs spectres d'absorption.

M. von Euler. — La pression osmotique l'emporte beaucoup sur l'influence de la pesanteur. Des complexes à poids moléculaire élevé ne parviennent pas à diffuser à travers les couches superficielles des cellules. On pourrait peut-être supposer que le milieu se modifie sous l'influence de la pesanteur en fonction d'un changement du dissolvant.

M. Kögl. — Aucune donnée expérimentale n'autorise jusqu'à

présent à admettre l'hypothèse d'une réaction de l'auxine avec un constituant cellulaire à poids moléculaire élevé.

M. Szent-Györgyi. — Il me paraît très surprenant que des substances sans groupe spécifique aient une activité si grande!

M. Kögl. — L'obtention facile de dérivés synthétiques de l'indol permet d'étudier la spécificité de constitution de l'hétéroauxine. Il s'avéra que plusieurs dérivés présentaient une activité pour l'avoine bien qu'elle fut plus faible que celle de la substance initiale. L'acide α-(β'-indolyl)-propionique représente un cas très intéressant, car à l'encontre de l'hétéroauxine, cette substance possède un carbone asymétrique. Dès lors on pouvait se demander si la plante réagirait de façon différente vis-àvis des antipodes de cette substance de croissance artificielle. Et en effet, l'acide dextrogyre est environ 30 fois plus actif que le lévogyre.

Acides (+) et (-), a-(\beta'-indolyl)-propioniques.

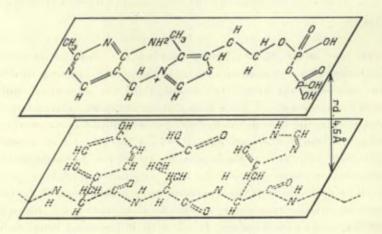
Activité de l'acide racémique env. 23 milliards d'unités avoine/g.

De ceci, on peut tout d'abord tirer la conclusion que ces acides réagissent dans la plante avec des substances asymétriques dont les antipodes paraissent être adsorbés dans des proportions différentes. De même que pour toutes les substances actives le problème essentiel est de s'efforcer de déterminer le constituant cellulaire qui intervient dans la réaction. Peut-être s'agit-il également dans ce cas d'une protéine spécifique du protoplasme, constatation dont nous devons nous satisfaire d'ordinaire. Toutefois on peut tenter de tirer une conclusion subséquente. L'hétéro-auxine méthylée représente, comme la plupart de nos substances actives, une molécule plane. Dès lors, la différence d'activité des deux antipodes se comprend si la molécule s'oriente avec sa

surface la plus grande parallèlement à la surface « asymétrique » de son partenaire. Selon les expériences physiques il faut tenir compte d'un rapprochement d'environ 4,5 Å, ce qui permet de saisir l'influence de détails de la constitution stéréochimique, tels que la position d'un groupe méthyle.

M. Bergmann est arrivé à une conception tout à fait analogue lors de son étude de la spécificité des enzymes, cas dans lequel, contrairement à celui qui nous occupe, la substance connue est le « substrat » et le constituant chimiquement inconnu est la substance active.

L'examen des modèles conduit encore à une autre conclusion. La cause de la spécificité d'une molécule protéique ne doit pas être recherchée en tout premier lieu dans l'ensemble de la molécule, mais dans une zone dont l'extension ne dépasse pas de beaucoup celle de la molécule de la substance active. Pour ce qui concerne les hormones et les vitamines à structure simple et plane, tout au plus les restes de quelques acides aminés peuvent prendre place dans cette zone d'adhésion comme par exemple un reste de tyroxylglutaminylhistidyle dans le cas concret de la cocarboxylase. Cette représentation hypothétique constitue un essai de réponse à la question si souvent posée, à savoir comment doit-on expliquer l'adsorption sélective des substances actives, précisément aux endroits ou elles peuvent agir efficacement.



## LES HORMONES ARTIFICIELLES

PAR M. E. C. DODDS.

La Physiologie et la Biochimie moderne sont été dominées, jusqu'à tout récemment, par l'idée que les organes à sécrétion interne produisent une substance et une seule, et que celle-ci est directement responsable des fonctions particulières de la glande en question. L'établissement, à la fin du siècle dernier, des principes fondamentaux de l'endocrinologie, a été très favorable à la collaboration des biochimistes et des physiologistes, car, à peine devint-il apparent que cèrtains organes du corps exerçaient leur action lointaine par la production de substances chimiques, que le désir d'isoler ces substances suivit naturellement.

Le premier produit de sécrétion interne qui fut préparé sous une forme stable bien qu'impure, fut celui de la glande thyroïde. Ceci fut accompli en 1891 par le Dr Georges Murray qui, se basant sur un travail clinique antérieur, décida de traiter le myxœdème par un extrait de glande thyroïde. Heureusement, la méthode qu'il employa, c'est-à-dire l'extraction par la glycérine, convenait à la séparation de l'hormone sous une forme brute; et comme la substance est très stable, l'expérience fut un succès complet.

Ce fut là l'un des premiers problèmes présentés au biochimiste, et il se mit à l'œuvre avec la ferme intention d'isoler une seule substance qu'il pressentait devoir être le véritable principe de sécrétion interne ou hormone. L'historique de cette recherche est si bien connu, qu'il n'est nul besoin de le rappeler ici. Le composé chimique pur fut isolé par Kendall en 1915, (thyroxine), et sa constitution fut établie plus tard par Harington. (Kendall, 1915; Harington et Barger, 1927). Harington fit la synthèse de la thyroxine et aussi d'une autre substance qu'il appela 3.5-di-iodothyronine qui possède toutes les propriétés physiologiques de la thyroxine, quoiqu'à un moindre degré. La relation chimique entre ces deux substances est indiquée dans les formules suivantes:

Ceci est un exemple de ce que l'on pourrait appeler une hormone artificielle. La 3.5-di-iodo-thyronine n'a pas encore été isolée des tissus animaux et elle diffère par sa structure de la substance produite naturellement; elle possède cependant les mêmes propriétés que celles du principe naturel extrait de la thyroïde. Cette substance fut fabriquée en vue de son emploi clinique, car la thyroxine elle-même est très peu soluble. La plus grande solubilité de la di-iodo-thyronine compense sa moindre activité par rapport à l'hormone vraie. Elle est intéressante pour nous dans le cas présent, seulement à titre d'exemple d'hormone artificielle et il conviendrait peut-être, au point où nous sommes d'essayer de définir ce que l'on entend par ce terme.

Pour l'auteur, la définition suivante paraît satisfaisante : Une hormone artificielle est une substance de constitution chimique définie différant par sa structure de l'hormone naturelle, mais possédant toutes les activités connues de la substance originale. On ne saurait trop insister sur l'importance de la dernière de ces conditions, car, faute de l'observer, on pourrait arriver à bien des conceptions erronées. On peut donner un excellent exemple, dans le cas de l'insuline, de la façon dont un observateur occasionnel peut se fourvoyer, en prenant des substituts pour la substance même.

On ne connaît pas la structure de l'insuline, elle paraît être une protéine à poids moléculaire élevé. Cependant, son activité physiologique a été soigneusement étudiée, et l'on peut affirmer que sa fonction la plus importante est d'abaisser le taux du sucre sanguin chez les animaux normaux, dépancréatisés ou diabétiques, lorsqu'elle est injectée sous la peau. Bien que nous n'ayons pas une notion absolument claire du mécanisme de cette action, nous savons que la chute de la glycémie résulte principalement d'un accroissement de la glycogenèse du foie, et d'une accélération de la vitesse de combustion du glucose. Du fait que l'insuline doit être administrée par voie sous-cutanée, on a constamment recherché des substances capables d'abaisser la glycémie, par ingestion. Nothmann et Wagner (1926) ont proclamé qu'un composé guanidique, qu'ils appelèrent la synthaline, était capable de remplacer, dans une large mesure, l'insuline dans la glycosurie. Ils montrèrent que cette substance, qui a la formule suivante, :

administrée par la bouche, abaisse la glycémie chez l'animal de laboratoire, et produit un abaissement de la glycosurie si elle est donnée au diabétique. Les apparences feraient conclure ici à l'existence d'une hormone artificielle, puisqu'à la fois la substance naturelle et le composé synthétique abaissent le taux du sucre sanguin. Cependant, une recherche très méticuleuse révéla rapidement que le mécanisme par lequel la synthaline réduit le sucre sanguin est entièrement différent de celui de l'insuline. Il agit en produisant un effet toxique, principalement sur le foie, et le résultat naturel est que, du point de vue du

métabolisme des hydrates de carbone, le malade n'est aucunement soulagé.

Voici encore un autre exemple, se rapportant cette fois à la thyroxine. L'une des activités les plus importantes de la thyroxine est d'élever le métabolisme de base, chez le sujet normal comme chez le myxœdémateux. Non seulement le métabolisme de base est accéléré, mais certaines réactions caractéristiques se produisent dans le système cardio-vasculaire, particulièrement lorsqu'on administre la thyroxine en excès, et dans tous les cas le myxœdème est guéri. On peut produire une accélération du métabolisme de base aussi grande que l'on veut au moyen de certains polynitro-phénols: ainsi, le 2.4-di-nitro-phénol (Cutting et Tainter 1933) et le 4.6-di-nitro-o-crésol (Dodds et Pope, 1933) produisent tous les deux une élévation du métabolisme de base de plus de 100 pour 100, administrés soit par la bouche, soit par voie souscutapée. La deuxième substance, le 4.6-di-nitro-o-crésol est beaucoup plus active que la première, et en réglant les doses de cette substance, on peut élever le métabolisme de base à différents degrés. Il pourrait sembler à première vue que l'action de la thyroxine et celle du 4.6-di-nitro-o-crésol sont identiques; mais un examen plus approfondi montre que bien qu'ils élèvent tous deux le métabolisme de base, ils le font suivant des mécanismes tout à fait différents. Ainsi, la thyroxine est sans action sur une tranche de tissu isolé, examinée selon la technique manométrique de Warburg, alors qu'il a été démontré d'autre part que le di-nitro-o-crésol produit à certaines concentrations une augmentation marquée, à la fois de la respiration et de la glycolyse dans une coupe de tissu, dans les mêmes conditions. (Dodds et Greville, 1933). On peut dire que d'une façon générale, les hormones n'agissent pas in vitro. Une autre différence frappante entre la thyroxine et le di-nitro-o-crésol est l'incapacité totale de ce dernier corps de guérir le myxœdème. Un malade atteint de myxœdème fut traité au di-nitro-o-crésol et son métabolisme de base fut élevé jusqu'à + 20 pour 100 (Dodds et Robertson, 1933) mais il n'y eut aucune amélioration de ses symptômes. Lorsqu'on remplaça le di-nitro-o-crésol par de la thyroxine, le métabolisme s'abaissa à + 10 pour 100 tandis que le myxœdème disparut complètement.

Ces exemples démontrent que l'on doit apporter le plus grand soin à s'assurer de façon absolue que toutes les réactions de l'hormone connues des physiologistes se retrouvent bien complètement chez l'hormone artificielle, avant d'admettre cette dernière dans la catégorie de ces substances. Ainsi que j'espère pouvoir le démontrer, l'étude des hormones synthétiques artificielles est de la plus grande utilité pour la compréhension des problèmes physiologiques; mais si l'on admettait par erreur une substance dans cette catégorie à laquelle elle n'appartient légitimement pas, on serait amené à des conclusions tout à fait fausses.

Il n'est pas toujours possible d'établir une distinction aussi nette que dans le cas des deux derniers exemples; par exemple, l'hormone de la région médullaire de la glande surrénale, l'adrénaline, a été isolée sous forme cristalline, sa constitution a été établie et sa synthèse faite. L'une de ses actions les plus importantes en administration parentérale, est d'élever la pression sanguine. On a préparé toute une série de composés synthétiques de constitution similaire, qui tous produisent une élévation de la pression sanguine. On a appelé cette action : sympathicomimétique. La structure de ces composés est donnée dans le tableau suivant, de même que leurs activités respectives par rapport à celle de l'adrénaline.

Substances. Tableau I.	Remarques.
l-Adrénaline	Substance la plus active sur la pression sanguine
d-Adrénaline	1/12 <sup>e</sup> à 1/18 <sup>e</sup> de l'activité de la précédente
Tyramine	Faible activité
Éphédrine	Action plus prolongée
Phényl-iso-propyl-amine (Benzidrine).	Action très forte et prolongée
4-Hydroxy-phényl-iso-propyl-amine	1/50° de l'activité
(Paradrine)	de l'adrénaline

On ne sait pas cependant si ces composés possèdent toutes les propriétés du produit naturel, comme par exemple les réactions sur le métabolisme des hydrates de carbone et autres réactions analogues.

C'est dans le domaine des hormones sexuelles que l'importance

des produits artificiels ou synthétiques peut le plus facilement être démontrée. Les travaux brillants et difficiles qui ont conduit à l'isolement et à l'établissement de la constitution des hormones sexuelles sont si bien connus et l'on y est revenu si abondamment ces dernières années, qu'il n'y sera pas fait allusion ici. Nous pouvons considérer le problème de trois points de vue, celui qui concerne les hormones œstrogènes ou ovariennes, celui qui se rapporte à l'hormone du corps jaune, et enfin celui de l'hormone sexuelle mâle.

# HORMONES ŒSTROGÊNES.

Jusqu'à présent on a isolé et caractérisé les substances suivantes :

On a cru à un moment donné que l'hormone œstrogène naturelle était l'hydroxycétone, l'æstrone. Il est intéressant de noter qu'à partir de ce dernier corps, Schwenk et Hildebrandt réussirent en 1933 à préparer l'æstradiol par un processus d'hydrogénation partielle. Cette substance est environ cinq fois plus active que l'æstrone, et elle possède toutes les activités connues de l'æstrone, ce qui, à première vue, la ferait entrer dans la catégorie des hormones artificielles ou synthétiques. Dans la suite, cependant, l'œstradiol lui-même fut isolé de l'ovaire et du liquide folliculaire par Doisy (1935) et ses collaborateurs, et il est actuellement considéré comme l'hormone œstrogène naturelle de l'ovaire. L'œstriol produit également tous les phénomènes connus en relation avec l'œstrus, mais il ne possède qu'une activité environ deux cents fois moins forte que celle de l'œstrone. Bien que l'on ait définitivement démontré la propriété œstrogène de l'équiline et de l'équilénine, il semble que l'on n'ait fait aucune comparaison quantitative précise entre leur activité et celle des substances mentionnées plus haut; il ne semble cependant pas douteux qu'elles ne soient considérablement moins actives que l'æstradiol ou l'æstrone.

Agents æstrogènes synthétiques. - En 1932, on découvrit que deux substances, l'æstrone et l'æstriol, étaient présentes dans l'urine des femmes enceintes, et que toutes deux étaient capables de provoquer l'æstrus. Ce phénomène remarquable de deux produits naturels capables tous deux d'une action hormonale identique, fit se demander si d'autres substances de structure analogue à ces hormones pourraient avoir la même action. Bien que la synthèse d'une substance analogue à la molécule d'æstrone parût à l'époque extrêmement difficile, Cook, Dodds, Hewitt et Lawson (1934) décidèrent d'étudier les possibilités d'activité de certains composés du phénantrène. Il fut rapidement prouvé qu'une substance relativement simple, le 1-céto-1.2.3.4-tétrahydrophénantrène, était capable de produire tous les phénomènes connus de l'æstrus; ainsi, a-t-on produit des changements complets du vagin et de l'utérus de rates et de souris, et de plus, des injections de ce composé ont eu un effet féminisant rapide sur le plumage de chapons. D'autres dérivés du phénantrène

ont également été étudiés, et une liste des composés inactifs est donnée dans la table qui se trouve à la fin de cette communication (Cook, Dodds, Hewitt et Lawson, 1934).

Ainsi qu'il a été dit plus haut, on a étudié de toutes les manières les actions connues de l'hormone œstrogène et l'on a recherché si ces substances synthétiques les possédaient toutes. Il est intéressant de mentionner que Wolfe (1936) put montrer que certains composés synthétiques fabriqués par nous et expérimentés par lui, étaient capables d'empêcher l'apparition des cellules de la castration dans le lobe antérieur de l'hypophyse, chez des animaux ovariectomisés. Ceci peut aussi s'obtenir avec l'æstrone, et il est particulièrement intéressant de remarquer que cette propriété est partagée par des composés tels que le di-n-propyl-dibenzanthracène-diol, dont l'activité æstrogène est décrite plus loin.

Bien plus, Hemmingsen (1937) a démontré que ce même composé est capable de provoquer l'instinct d'accouplement chez des rates ovariectomisées. Il semblerait donc que ces composés synthétiques posséderaient toutes les activités connues des hormones œstrogènes naturelles.

Au même moment, on fit une autre série d'observations surprenantes, notamment que certains hydrocarbures cancérigènes, le 5.6-cyclo-pentène et le 1.2-benzopyrène, sont capables de provoquer l'œstrus chez des animaux ovariectomisés lorsqu'ils sont donnés en très grande quantité. Ceci conduisit à l'étude de l'action œstrogène possible du 1.2.5.6 dibenzanthracène en injections de doses de 100mg selon la méthode standard; cette substance se révéla complètement inactive. Considérant cependant le fait que cette molécule ne possède pas de groupe polaire, on fit une étude approfondie d'une série de dibenzanthracène-diols de la formule générale suivante:

Tableau II.

Dérivés du 9;10-dihydroxy-9;10-dihydro-1;2;5;6-dibenzanthracène.

Groupe	Numéro	Dose	% de résultats
substituant (R).	des rats.	en mg	positifs.
Méthyle	5	100	Néant
Éthyle		1,0	100
n-Propyle		0,025	40
Iso-Propyle		0,5	100
Iso-Propyle	10	0,25	70
Allyle		100	Néant
n-Butyle		0,1	50
Iso-Butyle		1,0	80
n-Amyle		100	Néant
Cyclo-Pentyle		1,0	100
n n		0,5	60
n-Hexyle	3	100	Néant
Cyclo-hexyle		10	Néant
Phényle		10	Néant
Benzyle (Cook 1931)		10	60
1		1,0	Néant

(Cook, Dodds et Lawson, 1936).

A première vue, cette série paraît être parfaitement normale, l'activité apparaissant avec le groupement éthyle, atteignant son maximum avec le n-propyle, diminuant pour le groupe butyle, et disparaissant complètement pour les groupes plus élevés que l'amyle. Il y a cependant plusieurs points qui sont difficiles, sinon impossibles à expliquer. Ainsi, la substitution d'un groupe iso-propyle à un n-propyle réduit l'activité du premier de 10 pour 100 environ. On obtient le même résultat

quand on remplace le n-butyle par l'iso-butyle. D'autre part, le résultat le plus inattendu est le fait que le remplacement d'un groupe n-propyle par un allyle entraîne l'inactivation complète de la molécule. Une autre constation curieuse est que le composé cyclo-pentyle possède une activité considérable, alors que le composé di-amyle est complètement inactif.

On ne peut émettre aucune règle générale qui s'accorde avec les faits tels qu'ils se présentent dans ce Tableau II.

TABLEAU III. - Dérivés du 1;2-Dihydroxy-1;2-Dihydrochrysène.

Groupe substituant (R).	Numéro des rats.	Dose en mg.	% de résultats positifs.
n-Propyle	. 5	100	Néant
n-Amyle		100	Néant
Phényle (Cook et Galley, 1931	). 4	50	100
Phényle	. 5	10	60
Phényle	. 5	1,0	Néant
Benzyle (Cook et Galley, 1931)	). 5	100	Néant

Il est de nouveau difficile d'interpréter ces données. Cependant, le fait que le dérivé diphénylé de cette série est actif tandis que le composé correspondant dans la série des dibenzanthracènes du Tableau II est inactif, indique que l'absence d'activité de ce dernier ne peut pas être due à un effet inhibiteur particulier au groupe phényle.

Formule.	Groupe substituant R.	Méthode de préparation.	Numéro des rats.	Dose en mg.	% de résultats positifs.	
HO R	n-Propyle Phényle α-Naphtyle	Zincke et Tropp (1908) Werner et Grob (1904)	5 5 5	100 100 100	Néant Néant Néant	
R OH R	Phényle	Clar (1930)	4	100	50	LES HORMONES ARTIFICIELLES.
R OH R OH	Phényle		5	100	Néant	ELLES.
R OH	n-Butyle Phényle		5 5	100	Néant Néant	457

Il n'y a pas grand'chose à tirer de l'étude de la série des composés décrits, sauf à constater qu'ils possèdent tous en commun le noyau cyclique du phénanthrène. Il est évidemment de toute première importance de déterminer si le noyau phénanthrène est indispensable à l'activité æstrogène. Coke (1930), a annoncé que le composé très peu saturé, l'acide clupanodonique, était capable de produire l'æstrus lorsqu'on l'administrait même en petites quantités. Ce point fut réétudié avec des préparations specialement purifiées et l'on constata une légère activité (Cook, Dodds, Hewitt et Lawson, 1934). Les mêmes auteurs rapportèrent une autre observation, à savoir qu'avec le 1-céto-1.2.3.4.5.6.7.8-octahydroanthracène

ils étaient à même de produire le pré-œstrus, en l'injectant à des rates; mais ils ne purent jamais produire l'æstrus complet, quelles que grandes que fussent les quantités injectées.

D'autres auteurs ont décrit nombre d'autres agents synthétiques œstrogènes. Après la publication originale concernant l'activité du 1-céto-1.2.3.4-tétrahydrophénanthrène, Blum et Bergmann (1933) trouvèrent une faible activité pour le 1-hydroxy--1allyl-1.2.3.4-tétrahydrophénantrène (a) et le 1-céto-2-méthyl-1.2.3.4-tétrahydrophénanthrène (b).

Deux autres substances de la formule suivante furent démon-

trées inactives

Dans une Note récente, Inhoffen (1937) a décrit ses essais d'aromatisation du noyau I du cholestérol, en vue d'obtenir l'æstrone par un procédé de désintégration du stérol inactif. Il réussit à produire l'iso-équiline, qui a la formule suivante :

Cette substance est œstrogène et produit une réaction complète chez le rat à la dose de 50 γ. Ce travail est d'une grande importance, en ce sens que c'est la première fois qu'un agent œstrogène a été produit à partir d'un stérol inactif. Ce travail peut être le point de départ d'une production d'agents thérapeutiques tels que l'æstrone à partir de stérols, et peut acquérir une importance du même ordre que la production de progestérone à partir de stigmastérol. Thayer, Mac Corquodale et Doisy (1937) ont étudié l'activité des produits d'oxydation de l'æstrone. Il fut démontré que par fusion potassique de l'æstrone, l'acide phénolique dibasique, C<sub>18</sub>H<sub>22</sub>O<sub>5</sub>, se forme, par ouverture du noyau penténique. Ce composé, d'après ces auteurs, provoque une réaction de 50 pour 100 en injections à la dose de 300 γ chez les souris.

Il peut être considéré, jusqu'à un certain point, comme une hormone synthétique.

Avant d'abandonner le sujet des composés actifs contenant le noyau phénanthrène, il est intéressant de rapporter les observations faites sur toute une série de substances synthétisées par le Professeur Robinson d'Oxford. Ces composés furent obtenus au cours de recherches sur la synthèse de substances dans le groupe des œstrones. Le Professeur Robinson permit aimablement à l'auteur de rechercher leur activité œstrogénique éventuelle. Les substances suivantes furent examinées, et dans l'une d'elles seulement on découvrit une faible trace d'activité œstrogène. Ceci est assez remarquable, étant donné que les molécules de ces substances ont une étroite ressemblance avec celle de l'œstrone.

#### TABLEAU V.

Substances. Dose en mg. Résultat. 
$$\begin{array}{c|c} CO & & & \\ CO & & \\ CO & & & \\ CO &$$

#### TABLEAU V (suite).

Ces observations, en même temps que celles concernant l'activité partielle des dérivés de l'octahydroanthracène, montrèrent que les recherches devaient être étendues à un nombre de composés ne contenant pas nécessairement le noyau phénanthrène.

Agents æstrogènes synthétiques sans noyau phénanthrène. — Après que le travail décrit plus haut fut terminé, des recherches étendues furent entreprises (Dodds et Lawson, 1936) afin de découvrir si le noyau phénanthrène était indispensable à l'activité æstrogène. Il fut décidé tout d'abord d'étudier les composés

contenant deux noyaux benzéniques et un novau à 5 atomes de carbone. Les substances de ce groupe les plus aisément disponibles étaient les dérivés de l'acénaphtène, et particulièrement le 1.2-dihydroxy-1.2.-di-α-naphtyl-acénaphtène fut préparé et étudié au point de vue de son activité œstrogène. On trouva que ce composé possédait une activité æstrogène très grande. 100mg maintenant les rates en œstrus pendant une période de 40 jours. La substance se révéla active à des doses aussi faibles que celles de 10 mg. Un examen ultérieur plus approfondi montra que ce composé possédait toutes les activités connues de l'œstrone. entre autres, celle de féminiser les plumes de chapons, et conférait également l'instinct d'accouplement à des rates ovariectomisées. Ceci établit définitivement que le noyau phénanthrène n'est pas indispensable à l'activité œstrogène. On synthétisa d'autres dérivés de l'acénaphtène et l'on trouvera leur activité dans le tableau ci-dessous. On fit un essai plus poussé de simplification de la molécule, et il apparut à cette occasion nombre de résultats intéressants. Ainsi, on vit que des substances comme le diphénylα-naphtyl carbinol étaient actives.

1.2-dihydroxy-1:2-di-a-naphtyl-acénaphtène.

Ceci conduisit à l'étude d'une série de carbinols et de dérivés du méthane. L'activité d'une série de tels composés est montrée au tableau suivant :

TABLEAU VI.	Dose	Activité
Substances.	en mg.	0/0-
1;2-Dihydroxy-1;2-dinaphtylacénaphtène	100	100(1)
1, 2 Dinjuros j 1, 2 dinapite j meetapite me 1, 1, 1, 1, 1, 1	10	100
1:1-Di-a-naphtylacénaphtène	. 100	100
α-Naphtylbenzoïne	. 100	40

<sup>(1)</sup> Les rates restèrent en œstrus pendant 40 jours.

TABLEAU VI (suite).	Dose	Activité
Substances.	en mg.	%-
Diphényl-a-naphtylglycol	100	60
Diphényl-a-naphtylcarbinol	100	100
4:4-Dihydroxydiphénylméthane	100	100
Di-(p-hydroxyphényl) diméthylméthane	100	100
Di-(p-hydroxyphényl) méthyléthylméthane	100	100
Di-(p-hydroxyphényl) méthylpropylméthane	100	100
Di-(4-hydroxy-3-methylphenyl) dimethylmethane	100	100
Di-(4-hydroxy-3-méthylphényl)-1:1-cyclohexane	100	100
Lactone de l'acide 2:4-dihydroxytriphénylméthane		
carboxylique	100	100
4:4'-Dihydroxybenzophénone		60
4:4'-Dihydroxydiphényle		100

Dans cette série, on peut voir que la substance la plus simple capable de produire l'æstrus est le 4.4'-dihydroxy-diphényle, qui a la formule suivante :

Un très grand nombre de composés furent préparés, et dans une Note ultérieure (Dodds et Lawson, 1937), on montra que la molécule cestrogène pouvait être simplifiée jusqu'à un degré inattendu. Faisant suite au travail sur l'activité du 4.4'-dihydroxydiphényle et de la 4.4'-dihydroxybenzophénone, il fut décidé d'explorer l'activité de composés du type 4.4'-dihydroxydibenzyle. Celui-ci se révéla pleinement actif à des doses de 100 mg. L'étape suivante fut l'introduction d'une double liaison et la formation du 4.4'-dihydroxystilbène; celui-ci aussi se révéla actif, mais à un beaucoup plus haut degré que le 4.4'-dihydroxybenzyle; ainsi 10mg produisaient une réaction complète chez 100 pour 100 des animaux, tandis que 5mg produisaient l'æstrus chez 60 pour 100. Le mono-hydroxystilbène (4-hydroxystilbène) fut étudié. Celui-ci révéla une activité du même ordre que celle du composé précédent. Finalement, on étudia le stilbène lui-même, et l'on vit qu'il était nettement actif.

Alors, l'introduction d'une triple liaison, comme par exemple dans le 4.4'-dihydroxytolane, montra un composé d'une activité peut être légèrement supérieure à celle du stilbène correspondant. Il est intéressant également de remarquer que si les deux noyaux sont joints par un atome d'oxygène comme dans le cas du 4.4'-di-hydroxydiphényléther, le composé conserve encore son activité, mais à un moindre degré.

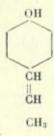
Le composé le plus simple de ce type qui se révéla actif, est le 4-hydroxyphényleyclohexane, bien que son activité ne soit pas aussi grande que celle des autres composés mentionnés. Le tableau suivant résume ces résultats:

TABLEAU VII.		
Substances.	Dose en mg.	Activité %.
4:4'-Dihydroxydibenzyle	100	100
4:4'-Dihydroxystilbène	10	100
4.4 Dinydroxyschbene	1 5	60
4-Hydroxystilbène	10	100
4-try droxy stribette	1 5	40
Stilbene	25	100
4:4'-Dihydroxytolane	1 10	100
4.4 -Dinydroxytolane	1 5	80
4:4'-Dihydroxydiphényléther	100	100
4-Hydroxyphénylcyclohexane	100	80

Ces expériences montrent que l'on peut obtenir l'activité cestrogène avec des composés contenant deux noyaux cycliques avec un OH en position p dans le noyau benzénique. La question se pose naturellement de savoir si l'on pourrait simplifier encore la molécule en remplaçant l'un des noyaux par d'autres groupes.

Agents æstrogènes synthétiques à un noyau benzénique. — Étant donné le succès des expériences précédentes, on décida d'explorer l'activité æstrogène éventuelle des composés ne possédant qu'un noyau benzénique avec un groupe hydroxyle en position p par rapport à une chaîne alkylée. L'un des premiers composés étudiés fut l'alcool p-hydroxyphényléthylique. Administré à des rates à la dose de 100<sup>mg</sup>, ce produit amenait une réaction positive dans 70 pour 100 des cas, et l'on en conclut donc qu'il possédait une légère activité æstrogène.

Un grand nombre d'autres substances furent étudiées et l'on en découvrit une d'une activité particulière, c'est-à-dire le simple phénol dérivé de l'huile essentielle constituée par l'anéthole. Cette substance, l'anol, possède un très grand pouvoir œstrogène, et sa formule est la suivante :



Toute une gamme de doses, de 100mg jusqu'à 0mg,001 ont été capables de produire l'æstrus chez la rate. Il semblerait donc que cette substance simple possède une activité du même ordre que celle de l'hormone naturelle. On a constaté qu'aux petites doses, l'æstrus survenait plus tard et que la réaction complète ne pouvait s'obtenir qu'au bout de six à sept jours après l'injection. On vit aussi que le matériel devait être fraîchement préparé. Au moment où j'écris, les expériences sur le comportement de cette substance intéressante n'en sont encore qu'à leur premier stade, et par conséquent il n'est pas possible de faire plus que d'indiquer l'importance de cette substance en ce qui concerne son activité æstrogène.

Du point de vue chimique, le p-hydroxypropénylbenzène possède des propriétés tout à fait spéciales. Ainsi, à l'état pur, il fond à 93° C., mais, faute de précautions très minutieuses, le point de fusion s'abaisse au cours des douze heures qui suivent la préparation. En plus de cette chute du point de fusion, qui est probablement due à une oxydation, il peut aussi se produire une polymérisation. Il est aussi possible d'obtenir des échantillons d'anol ayant des propriétés physiques extrêmement différentes. Un Rapport sur ces faits paraîtra ultérieurement.

Conclusions. — Dans les pages précédentes, on a décrit des expériences destinées à déterminer la structure moléculaire nécessaire à l'activité æstrogène. On doit admettre tout d'abord qu'on pourrait difficilement trouver une collection plus hétérogène de substances que celle que j'ai décrites, et il semble que

ces corps ont peu de points communs. Par exemple certains contiennent le noyau phénanthrène, d'autres contiennent des groupes polaires; d'autres sont des hydrocarbures, etc. Comment peut-on expliquer l'activité commune à ces diverses substances? Deux explications se présentent immédiatement: 1º les substances sont transformées par l'organisme en æstrone; 2º elles sont détruites par l'organisme qui les ramène à une substance simple qui est la molécule æstrogène active; et il est possible que l'æstrone et ses dérivés soient ramenés eux aussi à cette même substance simple active.

Nous devons admettre franchement que pour le moment il n'y a aucun argument concluant qui appuie ou réfute l'une ou l'autre de ces théories opposées. Cependant, l'examen de la première semble indiquer qu'elle est au moins improbable. En premier lieu, les tests sont faits sur les animaux ovariectomisés, et si une synthèse de la molécule d'æstrone devait s'accomplir dans l'organisme, on imagine naturellement qu'elle se passerait dans l'ovaire lui-même. Et encore, on imagine très difficilement que des substances différant autant par leur constitution que les dibenzanthracènealkyldiols et les composés d'acénaphtène actifs puissent tous être transformés en une même molécule, l'æstrone.

La seconde hypothèse paraît certainement mieux adaptée aux faits. Le schéma suivant montre un mode possible selon lequel

la molécule d'æstrone pourrait être brisée. Un noyau de diphényle résulterait d'une telle désintégration, qui serait parfaitement possible chimiquement. On se rappellera que nous avons déjà démontré l'activité de substances du groupe du diphényle. L'ouverture du noyau cyclohexyle amènerait le production d'un p-hydroxyalkylbenzène, qui pourrait à son tour être transformé

en une substance telle que le p-hydroxypropénylbenzène. On doit cependant faire remarquer que pour le moment il n'existe pas de preuves expérimentales suffisantes pour étayer cette théorie, et nous la proposons simplement à titre de suggestion spéculative.

Nous espérons que le présent Rapport réussira à convaincre le lecteur de l'importance de ce champ de recherches, du fait qu'il donne l'un des moyens d'étudier la stimulation et le réglage de la croissance des cellules d'organismes mammifères au moyen de substances de constitution chimique définie.

# TABLEAU VIII (Cook, Dodds, Hewitt et Lawson, 1934).

3-Hydroxyphénanthrène.

4-Céto-1:2:3:4-tétrahydrophénanthrène.

1-Céto-g-méthyl-1;2;3;4-tétrahydrophénanthrène.

2;4-Dicéto-1;2;3;4;9;10;11;12-octahydrophénanthrène.

1-Carbethoxy-2:4-dicéto-1;2;3;4;9;10;11;12-octahydrophénanthrène.

4-Céto-7-méthyl-1;2;3;4-tétrahydrophénanthrène.

1-Céto-g-hydroxy-1;2;3;4-tétrahydrophénanthrène.

Phénanthrène.

1-Méthylphénanthrène.

1;2-Cyclo-Penténophénanthrène.

Anthracène,

1:2-Benzanthracène.

Rétène,

Fluorène.

Chrysène.

2':6-Diméthyl-1:2-benzanthracène.

1;2;5;6-Dibenzanthracène.

4'-Céto-1':2':3':4'-tétrahydro-1:2-benzopyrène.

9:10-Dihydroxy-9:10-diméthyl-9:10-dihydro-1:2:5:6-dibenzanthracène.

9; 10-Dihydroxy-9; 10-di-n-amyl-9; 10-dihydro-1; 2; 5; 6-dibenzanthracène.

9:10-Dihydroxy-9:10-di-n-hexyl-9:10-dihydro-1:2:5:6-dibenzanthracene.

9:10-Dihydroxy-9:10-di-n-butyl-9:10-dihydrophénanthrène.

9:10-Dihydroxy-9:10-di-n-butyl-9:10-dihydro-1:2-benzanthracene.

9:10-Dihydroxy-9:10-diéthyl-9:10-dihydroanthracène

Cholestérol.

Isocholestérol.

Hydrocarbure C<sub>19</sub> H<sub>28</sub>, résultant de la pyrogénation du chlorure de cholestéryle.

6-Cholestanone.

Lumistérol.

Iso-Lumistérol.

# TABLEAU VIII (suite).

Acide déhydrocholique.

Acide perodesoxybilianique.

Cétone, C22 H32 O formée par pyrogénation de l'acide désoxybilianique.

1-Céto-1;2;3;4-tétrahydronaphtalène.

1-Phénylacétyl-At-cyclo-hexène,

1-α-Naphtylacétyl-2-méthyl-Δ1-cyclo-pentène.

7:8-Dihydrophénalyl-g-spirocyclo-pentane.

Benzène et pyridine extraits du charbon.

#### RÉFÉRENCES.

Blum-Bergmann (O.), Naturwiss., 21, 1933, p. 578.

GLAR (E.), Ber. deuts. Chem. Ges., 63, 1930, p. 118.

COKE (E. C.), C. R. Soc. de Biol., 105, 1930, p. 251,

COOK (J. W.), J. Chem. Soc., 1931, p. 497.

COOK (J. W.), DODDS (E. C.), HEWITT (C. L.), et LAWSON (W.), Proc. Roy. Soc., B., 414, 1934, p. 272.

COOK (J. W.), DODDS (E. C.), et LAWSON (W.), Proc. Roy. Soc., B., 121, 1936, p. 133.

COOK (J. W.) et GALLEY (R. A. E.), J. Chem. Soc., 1931, p. 2014.

CUTTING (W. C.), MEHRTENS (H. G.), et TAINTER (M. L.), J. Amer. Med. Assoc., 101, 1933, p. 193.

Dodds (E. C.) et Greville (G. D.), Nature, 132, 1933, p. 966.

Dodds (E. C.), et Lawson (W.), Nature, 137, 1936, p. 996.

Dodds (E. C.), et Lawson (W.), Nature, 139, 1937, p. 627.

Dodds (E. C.) et Pope (W. J.), Lancet, 11, 1933, p. 352.

Dodds (E. C.) et Robertson (J. D.), Lancet, 11, 1933, p. 1137, 1197.

DOISY (E. A.), MAC CORQUODALE (D. W.) et THAYER (S. A.), Wkly. Bull. St. Louis Med. Soc., 29, no 28, 1935.

HARINGTON (C. R.) et BARGER (G.), Biochem. J., 21, 1927, p. 169.

HEMMINGSEN (A. M.) et Krarup (N. B.), Det. Kgl. Danske Vidensk. Selskab. Biol. Med., 13, 1937, p. 8.

Inhoffen (H. H.), Naturwiss., 25, 1937, p. 125.

KENDALI. (E. C.), J. Amer. Med. Assoc., 64, 1915, p. 2042.

MURRAY (G.), Brit. Med. J., 11, 1891, p. 1796.

NOTHMANN (M.) et WAGNER (A.), Deut. med. Woch., 52, 1926, p. 2067.

Schwenk (E.) et Hildebrandt (F.), Naturwiss., 21, 1933, p. 177.

THAYER (S. A.), MAC CORQUODALE (D. W.) et DOISY (E. A.), J. Pharm. et Exper. Therap., 59, 1937, p. 48.

WERNER (A.) et GROB (A.), Ber. deut. Chem. Gesel., 37, 1904, p. 2901.

WOLFE (J. M.), Amer. J. Physiol., 115, 1936, p. 3.

ZINCKE (TH). et TROPP (W.), Liebig's Ann., 362, 1908, p. 254.

# EXPOSÉ DE M. DODDS ET DISCUSSION DE SON RAPPORT.

M. Dodds. — Dans le Rapport présenté à ce Conseil nous avons décrit en détail le développement des travaux concernant les principes æstrogènes synthétiques. Depuis la rédaction de ce Rapport, beaucoup de faits nouveaux sont apparus, dont je voudrais vous entretenir.

Lorsque nous fûmes en état de montrer que des corps aussi simples que le 4.4'-dihydroxydiphényle sont capables de remplacer qualitativement l'æstrone dans ses diverses activités physiologiques il apparut clairement qu'un champ d'étude entièrement neuf s'ouvrait et que le nombre des composés à essayer était très grand. Parmi les difficultés à surmonter, il y avait toutefois l'impossibilité d'établir un plan d'étude rationnel. L'examen du rapport avec les divers composés allant des phénanthrènes complexes et des dibenzanthracènes jusqu'aux substances peu complexes mentionnées plus haut, montre l'impossibilité d'établir un plan basé sur l'analogie de structure chimique aussi bien que sur les propriétés physiques.

Nous avons décidé d'étudier les principaux types des séries du diphényle et du dibenzyle, espérant pouvoir recueillir par ce travail des indications définitives quant à la structure chimique dans ses relations avec la fonction physiologique. Des expériences antérieures avaient montré la nécessité d'étudier l'effet produit par l'introduction d'une double liaison dans la chaîne unissant deux anneaux benzéniques. C'est ainsi que fut étudié le 4.4'-dihydroxystilbène. Celui-ci accusa une activité plusieurs fois plus grande que celle de la substance dépourvue de double liaison. L'introduction d'une triple liaison, dans le cas du 4.4'-dihydroxytolane conduisit à un composé doué du même degré d'activité que celui du stilbène. On se souviendra que tous ces composés ont un caractère commun, celui de posséder deux anneaux benzéniques portant des groupes hydroxyles en position para. Il semblait rationnel d'entamer dès lors l'étude de composés ne contenant qu'un seul anneau benzénique.

C'est ainsi qu'il fut constaté que le p-hydroxypropényl-benzène possède une activité considérable et peut, en réalité, remplacer quantitativement la molécule d'æstrone elle-même. A nouveau l'étape logique avait consisté dans l'introduction d'une double liaison dans la chaîne latérale; le composé en résultant correspondant dès lors au 4.4'-dihydroxystilbène dans lequel un anneau benzénique est remplacé par un groupement méthyle.

L'anéthole nous apparut comme le meilleur point de départ pour obtenir une telle substance; sa déméthylation fut effectuée par chauffage en tube scellé et ensuite en autoclave avec de la potasse et de l'alcool. Le p-hydroxypropénylbenzène ainsi obtenu fut purifié par cristallisation dans beaucoup d'eau ou dans le chloroforme. L'activité de trois échantillons fut étudiée. Cette substance apparut comme très active, aussi active que l'œstrone; en effet, un gamma en était capable de provoquer une réaction chez le rat. Les essais faits sur un grand nombre de rats permirent d'en établir l'activité; ces résultats furent publiés en avril.

A ce moment je n'avais aucun doute quant à l'exactitude de ces observations. Peu de temps après cette publication d'autres chercheurs se mirent en rapport avec nous et il devint assez déconcertant de constater qu'ils se divisaient en deux groupes : ceux qui avaient pu confirmer nos observations et ceux qui n'y avaient pas réussi, même en augmentant considérablement la dose administrée par nous. Le problème fut remis à l'étude de façon approfondie dans notre laboratoire et il s'avéra que la grande activité de ces substances, signalée précédemment, n'existait que pour certains échantillons, tandis qu'une activité prononcée se manifestait toujours dans les liqueurs mères, chloroformiques ou aqueuses.

M. W. Schœller nous informa personnellement qu'il avait retiré un produit doué d'une activité assez grande de ces liqueurs mères. Nous avons pu montrer nous-mêmes que le produit resté en solution chloroformique ou aqueuse après cristallisation de l'anol était une huile foncée présentant une activité de 5ο à 75γ. Sa distillation dans un vide poussé nous donna par fractionnement des préparations plus actives. L'explication de ces faits est difficile à donner. La très grande activité de certains de nos échantillons d'anol et de ceux d'autres chercheurs, s'explique

seulement par leur contamination au moyen d'une fraction très active provenant des liqueurs mères, car il est évident que les eaux mères brutes contiennent un mélange complexe de substances dont une petite partie seulement peut constituer la fraction active.

L'explication la plus plausible est la contamination par des polymères, car il est bien connu que les substances du type de l'anol se polymérisent facilement. L'anol peut toutefois se polymériser de bien des façons, nous examinons les différentes possibilités à cet égard. Celles-ci semblent être de deux espèces, à savoir : la polymérisation accompagnée de cyclisation ou la polymérisation sans cyclisation. Je ne puis actuellement donner aucun détail précis, mais il semble y avoir des preuves que la polymérisation est du type acyclique. Il n'y a toutefois aucun doute que l'étude de ce problème ne conduise à la connaissance d'un grand nombre de substances simples douées d'une très grande activité.

Sir Pope. - A mon sens, le point le plus important dans l'intéressant rapport de M. Dodds n'est pas le fait qu'un certain nombre de composés organiques simples possèdent une activité æstrogène prononcée, mais plutôt sa découverte que des substances de ce genre peuvent avoir effectivement un effet æstrogène. Ce point de vue est justifié par le fait que nous pouvons nous attendre, par analogie avec ce qui s'est passé dans d'autres domaines de la Chimie, à la découverte de composés relativement simples, doués d'un pouvoir œstrogène supérieur à celui de l'æstrone elle-même, Il en fut ainsi des premiers colorants synthétiques qui étaient à plusieurs points de vue, inférieurs à beaucoup de colorants végétaux naturels tandis que les colorants synthétiques récents leur sont au contraire de loin supérieurs. M. Dodds a suggéré que le 4.4'-dihydroxydiphényle, œstrogéniquement actif serait susceptible de se former dans l'animal par oxydation de l'æstrone. Si cette hypothèse est exacte, les produits d'oxydation intermédiaires entre les deux produits cités devraient aussi être œstrogènes. L'un de ces produits d'oxydation serait l'acide 4.4'-dihydroxydiphényl-2.2'-carboxylique.

Pourrais-je demander à M. Dodds s'il possède des renseignements

au sujet de l'activité œstrogène de ce produit ou d'un autre produit éventuel de l'oxydation de l'œstrone?

M. Dodos. — L'acide dicarboxylique du dérivé diphénylé n'a pas été examiné. Si le point de vue est exact, il faudrait essayer l'action des dérivés correspondants du cyclohexylphénol.

M. Наwовти. — Pour autant que l'anéthole puisse exister sous deux configurations géométriques du type maléique et fumarique, je désirerais demander à M. Dodds s'il croit que l'une de ces deux formes ne serait pas plus active que l'autre. Les eaux mères de recristallisation ont-elles été examinées pour y rechercher l'autre isomère; le poids moléculaire des produits actifs découverts dans ces eaux mères a-t-il été déterminé?

M. Dodos. — Il est certain que l'on a envisagé la question des isomères géométriques. Ils ne sont pas décrits dans la littérature et pour l'instant je ne vois pas comment ils pourraient être préparés.

M. Barger. — M. Dodds a-t-il obtenu des substances cestrogéniques contenant un groupe carboxyle, et a-t-il des indications quant au poids moléculaire de l'impureté active contenue dans le phénol

L'essai de séparation de cette impureté n'a-t-elle pas été tentée par la méthode chromatographique?

M. Dodos. — Nous n'avons obtenu aucune substance œstrogénique contenant un groupe carboxyle. Le poids moléculaire du phénol en question correspond à celui d'un dimère d'après les mesures ébullioscopiques.

L'examen des distillats au point de vue de leur absorption est faite par M. Drummond.

M. LAQUEUR. — Des contrôles de l'activité physiologique ont-ils été faits par application locale des substances synthétiques présumées æstrogéniques? Je soulignerai l'importance des recherches de MM. Dodds et Cook sur les propriétés cancérigènes des substances dont il est question ici, propriétés auxquelles il n'a été fait allusion que très brièvement.

M. Dodos. — Nous n'en avons pas encore étudié l'application locale et attendons d'avoir caractérisé les substances contenues dans les eaux mères.

M. Cooκ. — A propos de la question soulevée par M. Laqueur de l'influence éventuelle d'agents œstrogéniques synthétiques sur la production du cancer du sein, il faut noter que le dipropyldiol de la série du dibenzanthracène, fortement œstrogénique est capable de produire quelques-uns des effets pathologiques qui se manifestent lors de l'administration continue de fortes doses d'œstrone. Cette action conduit rapidement à la mort, ce qui constitue une difficulté dans l'étude de la substance au point de vue de son pouvoir cancérigène sur la glande mammaire; toutefois des expériences sont poursuivies dans cette direction. M. Dodds a signalé l'inactivité de quelques produits synthétiques apparentés à l'œstrone et préparés par M. Robinson. L'un d'eux a été transformé, dans mon laboratoire, en un isomère de l'œstrone, lequel isomère est complètement dépourvu d'activité œstrogénique.

Le fait que jusqu'à présent, seuls les composés dont la molécule contient deux groupes polaires paraissaient doués d'un pouvoir œstrogénique élevé, rend assez surprenante l'annonce récente que l'activité du composé (II) correspondrait au 1/58e de celle de l'æstrone (I) (1),

(1) Hocn, C. R. Acad. Sc., t. 205, 1937, p. 65.

La nature de l'impureté à pouvoir œstrogénique élevé qui se trouve dans la préparation brute d'anol fournit un champ d'investigation intéressant au point de vue spéculatif. On est tenté de supposer qu'elle est peut-être constituée par un hydrochrysène portant des groupes polaires à chacune des extrémités de la molécule, mais l'explication de la formation d'un tel composé par dimérisation ne va pas sans soulever certaines difficultés au point de vue théorique.

M. Dodds. — J'ai aussi été surpris par la publication parue dans les Comptes rendus, mais je ne suis pas documenté. '

M. LAQUEUR. — Je ferai la remarque suivante à M. Cook : les effets pathologiques tels que le développement d'une tumeur de l'hypophyse, produits avec des doses que l'on considère comme minimes, ne s'obtiennent en réalité qu'avec des doses relativement très grandes par rapport à celles qui suffisent pour produire des effets physiologiques. Voici un exemple : la quantité de substance nécessaire pour produire l'œstrus chez les rats par voie naturelle, est probablement plus réduite que celle qu'il est nécessaire de mettre en œuvre pour obtenir le même résultat par administration sous-cutanée; par contre, elle n'est peut-être pas plus grande que la quantité nécessaire pour obtenir cet effet par application locale (c'est-à-dire 0,05 y d'æstrone pour la souris). Tandis que Zondek administre deux fois par semaine la « petite dose » de mille unités rats (soit 2 × 1000γ, c'est-à-dire une dose 20 000 fois supérieure à la dose œstrogène normale) pendant environ un an ou plus longtemps encore et obtient alors seulement des tumeurs volumineuses de l'hypophyse.

Faisons une comparaison : Nous dirons que la ration quotidienne de 15g de NaCl représente une « petite » quantité de sel dans le régime alimentaire de l'homme. Une ration de sel 20 000 fois plus élevée s'élèverait à 300 kg!

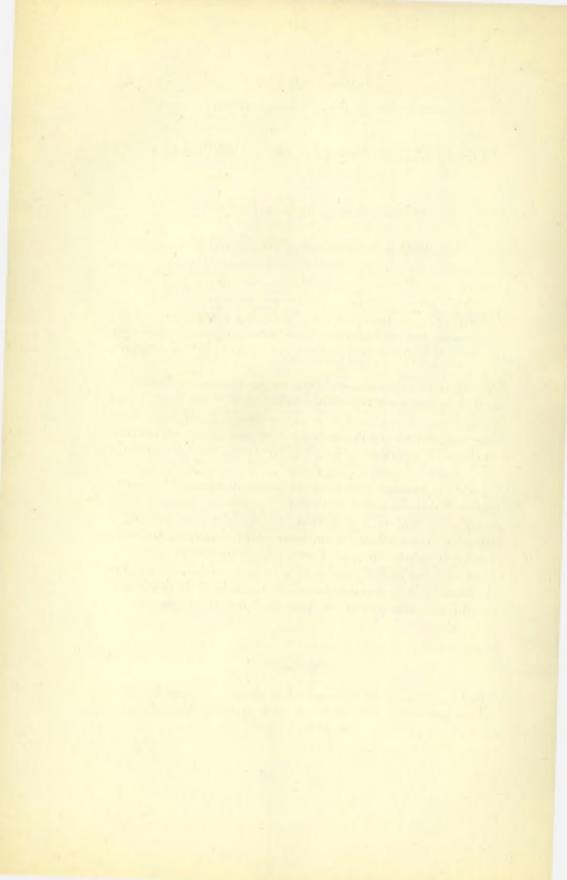
M. Ruzicka. — A Zurich, nous avons réduit l'équilénine par le sodium en solution alcoolique et obtenu ainsi un dérivé hexahydré. Ce composé possédait une très faible action œstrogénique. Sa constitution est donnée par la formule suivante :

Cette constatation est en accord avec le résultat de la réduction du déshydronéœrgostérol obtenu par Windaus; elle est en contradiction avec l'observation de Marker, qui prétend avoir obtenu un produit phénolique par cette même opération.

Les résultats de Korenchewsky et d'autres auteurs ont montré que l'emploi de très grandes doses d'hormones androgènes ne provoque ni le cancer ni d'autres perturbations chez les rongeurs.

M. Zunz. — Je voudrais appuyer les très justes remarques de M. Laqueur sur l'importance de la quantité administrée aux animaux ou à l'homme. Souvent on a recours à des doses beaucoup trop élevées lors des recherches physiologiques ou pharmacologiques. En réalité, les investigations ainsi conduites doivent être considérées comme ressortissant de la toxicologie.

Voici un exemple pris dans un autre domaine. Le tartrate double d'antimoine et de potassium à antimoine trivalent a des propriétés vomitives à dose relativement faible, par suite de la formation d'oxychlorure d'antimoine dans l'estomac. Or, on a préparé le même composé à antimoine pentavalent qui ne se transforme pas dans l'estomac et n'est pas vomitif. Mais si l'on administre de très grandes quantités (100 à 200<sup>g</sup>) de ce composé à antimoine pentavalent on provoque des vomissements par effet toxique.



# LES PREMIERS CONSEILS DE CHIMIE SOLVAY

#### PREMIER CONSEIL DE CHIMIE SOLVAY

BRUXELLES, 21-27 AVRIL 1922

à l'Institut de Physiologie Solvay, Parc Léopold

#### Membres du Conseil.

Sir W. J. POPE, président, professeur à l'Université de Cambridge;

MM. H. E. ARMSTRONG, professeur à l'Université de Londres;

Sv. ARRHENIUS, professeur à l'Université de Stockholm;

F. W. ASTON, professeur à Trinity College, Cambridge;

A. BERTHOUD, professeur à l'Université de Neuchâtel;

Sir W. H. BRAGG, professeur à University College, Londres;

MM. E. BIILMANN, professeur à l'Université de Copenhague;
G. CHAVANNE, professeur à l'Université libre de Bruxelles;

G. CHAVANNE, professeur à l'Université libre de Bruxelles; A. DEBIERNE, maître de conférences à l'Université de Paris;

M. DELÉPINE, professeur à la Faculté de Pharmacie de Paris;

O. DONY-HENAULT, professeur à l'Université libre de Bruxelles;

A. HALLER, professeur à l'Université de Paris;

F. M. JAEGER, professeur à l'Université de Groningue;

A. JOB, professeur au Conservatoire des Arts et Métiers, Paris;

T. M. LOWRY, professeur à l'Université de Cambridge;

Ch. MAUGUIN, professeur à la Sorbonne, Paris;

Ch. MOUREU, professeur au Collège de France;

Aug. PICCARD, professeur à l'Université de Zurich;

R. H. PICKARD, directeur du Battersea Polytechnic, Londres;

J. PERRIN, professeur à la Faculté des Sciences de Paris;

H. RUPE, professeur à l'Université de Bâle;

F. SODDY, professeur à l'Université d'Oxford;

F. SWARTS, professeur à l'Université de Gand;

G. URBAIN, professeur à la Faculté des Sciences de Paris,

#### Secrétariat.

M. H. WUYTS, professeur à l'Université libre de Bruxelles.

Les rapports et les discussions du Premier Conseil de Chimie Solvay ont été publiés à Paris, chez Gauthier-Villars, sous le titre : Cinq questions d'actualité.

#### DEUXIÈME CONSEIL DE CHIMIE SOLVAY

BRUXELLES, 16-24 AVRIL 1925

# à la Fondation Universitaire, rue d'Egmont

# Membres du Comité scientifique.

- Sir W. J. POPE, président, professeur à l'Université de Cambridge;
- MM. E. BRINER, professeur à la Faculté des Sciences de Genève;
  - O. DONY-HENAULT, secrétaire, professeur à l'Université libre de Bruxelles;
  - J. DUCLAUX, de l'Institut Pasteur, Paris;
  - F. M. JAEGER, professeur à l'Université de Groningue;
  - A. JOB, professeur au Conservatoire des Arts et Métiers, Paris;
  - J. PERRIN, professeur à la Faculté des Sciences de Paris;
  - F. SWARTS, professeur à l'Université de Gand.

#### Membres invités.

- MM. H. E. ARMSTRONG, professeur à l'Université de Londres;
  - E. F. ARMSTRONG, de Londres;
  - G. BARGER, professeur à l'Université d'Édimbourg;
  - W. BARLOW, de Stanmore (Angleterre);
  - A. BERTHOUD, professeur à l'Université de Neuchâtel;
  - J. BOESEKEN, professeur à la Technische Hoogeschool de Delft;
  - W. L. BRAGG, professeur à l'Université de Manchester;
  - F. G. DONNAN, professeur à University College, Londres;
- Sir W. B. HARDY, de l'Université de Cambridge;
- MM. T. M. LOWRY, professeur à l'Université de Cambridge;
  - Ch. MAUGUIN, professeur à la Sorbonne, Paris;
  - Ch. MOUREU, professeur au Collège de France;
  - E. K. RIDEAL, de l'Université de Cambridge;
  - H. STAUDINGER, professeur à l'Université de Zurich;
  - M. TIFFENEAU, pharmacien en chef de l'Hôpital Boucicaut, Paris;
  - H. von EULER, professeur à l'Högskola de Stockholm.

#### Secrétariat.

- MM. H. WUYTS, professeur à l'Université libre de Bruxelles;
  - J. TIMMERMANS, professeur à l'Université libre de Bruxelles.

Les rapports et les discussions du Deuxième Conseil de Chimie Solvay ont été publiés à Paris, chez Gauthier-Villars, sous le titre : Structure et activité chimiques.

# TROISIÈME CONSEIL DE CHIMIE SOLVAY BRUXELLES, 12-18 AVBIL 1928

# à l'Institut de Physiologie Solvay, Parc Léopold

#### Membres du Comité scientifique.

Sir W. J. POPE, président, professeur à l'Université de Cambridge;

MM. E. BRINER, professeur à la Faculté des Sciences de Genève;

J. DUCLAUX, de l'Institut Pasteur, Paris;

F. M. JAEGER, professeur à l'Université de Groningue;

A. JOB, professeur à la Faculté des Sciences de Paris;

J. PERRIN, professeur à la Faculté des Sciences de Paris;

F. SWARTS, professeur à l'Université de Gand;

H. WUYTS, secrétaire, professeur à l'Université libre de Bruxelles,

#### Membres invités.

MM. A. BERTHOUD, professeur à l'Université de Neuchâtel;

J. BOESEKEN, professeur à la Technische Hoogeschool de Delft;

J. N. BRONSTED, professeur à l'Université de Copenhague;

F. G. DONNAN, professeur à University College, Londres;

Pierre GIRARD, du Laboratoire de Chimie physique de l'Université, Paris:

V. GRIGNARD, professeur à l'Université de Lyon;

P. KARRER, professeur à l'Université de Zurich;

T. M. LOWRY, professeur à l'Université de Cambridge;

W. MUND, professeur à l'Université de Louvain;

M. PADOA, professeur à la Royal Scuola superiore di Chimica industriale, Bologne;

Amé PICTET, professeur à l'Université de Genève;

Slater PRICE, directeur du Laboratoire de la British Photographical Association;

E. K. RIDEAL, de l'Université de Cambridge;

N. V. SIDGWICK, professeur au Dyson Perrins Laboratory, Oxford;

G. URBAIN, professeur à la Faculté des Sciences de Paris;

Paul WALDEN, professeur à l'Institut chimique de l'Université de Rostock.

#### Secrétariat.

MM. J. TIMMERMANS, secrétaire adjoint, professeur à l'Université libre de Bruxelles:

PINKUS, secrétaire adjoint, professeur à l'Université libre de Bruxelles.

Les rapports et les discussions du Troisième Conseil de Chimie Solvay ont été publiés à Paris, chez Gauthier-Villars, sous le titre : Questions d'actualité.

#### QUATRIÈME CONSEIL DE CHIMIE SOLVAY

BRUXELLES, 9-14 AVRIL 1931

à la Fondation Universitaire, rue d'Egmont

#### Membres du Comité scientifique.

- Sir W. J. POPE, président, professeur à l'Université de Cambridge;
- MM. M. BODENSTEIN, professeur à l'Université de Berlin;
  - E. BRINER, professeur à l'Université de Genève;
    - M. DELÉPINE, professeur au Collège de France, Paris;
    - J. DUCLAUX, de l'Institut Pasteur, Paris;
    - F. M. JAEGER, professeur à l'Université de Groningue;
    - J. PERRIN, professeur à la Faculté des Sciences de Paris;
    - F. SWARTS, professeur à l'Université de Gand;
    - H. WUYTS, secrétaire, professeur à l'Université libre de Bruxelles.

#### Membres invités.

- MM. H. F. BACKER, professeur à l'Université de Groningue;
  - J. BOESEKEN, professeur à la Technische Hoogeschool de Delft;
  - G. BRUNI, professeur au Reale Politecnico, Milan;
  - Br. HOLMBERG, professeur à la Kungl. Tekniska Hogskolan, Stockholm;
  - C. K. INGOLD, professeur à University College, Londres;
  - R. KUHN, professeur au Kaiser Wilhelm Institut, Heidelberg;
  - T. M. LOWRY, professeur à l'Université de Cambridge;
  - W. H. MILLS, de l'Université de Cambridge;
- Mme P. RAMART, professeur à la Faculté des Sciences de Paris;
- MM. R. ROBINSON, professeur à University College, Londres;
  - L. RUZICKA, professeur à l'Eidgen. Technische Hochschule de Zurich;
  - H. STAUDINGER, professeur à l'Université de Fribourg (Bade);
  - W. SCHLENK, professeur à l'Université de Berlin;
  - Alfr. STOCK, professeur à la Technische Hochschule de Karlsruhe;
  - Sam. SUGDEN, professeur au Birbeck College, Université de Londres;
  - J. F. THORPE, professeur à l'Imperial College of Science de Londres;
  - J. TIMMERMANS, secrétaire adjoint, professeur à l'Université libre de Bruxelles;
  - G. URBAIN, professeur à la Faculté des Sciences de Paris;
  - G. VAVON, professeur à la Faculté des Sciences de Nancy.

#### Secrétariat.

MM. P. BRUYLANTS, secrétaire adjoint, professeur à l'Université de Louvain;
A. PINKUS, secrétaire adjoint, professeur à l'Université libre de Bruxelles.

Les rapports et les discussions du Quatrième Conseil de Chimie Solvay ont été publiés à Paris, chez Gauthier-Villars, sous le titre : Constitution et configuration des molécules organiques.

### CINQUIÈME CONSEIL DE CHIMIE SOLVAY

BRUXELLES, 3-8 OCTOBRE 1934

#### à l'Université libre de Bruxelles

#### Membres du Comité scientifique.

Sir W. J. POPE, président, professeur à l'Université de Cambridge;

MM. M. BODENSTEIN, professeur à l'Université de Berlin;

E. BRINER, professeur à l'Université de Genève. M. DELÉPINE, professeur au Collège de France, Paris;

J. DUCLAUX, professeur au Collège de France, Paris; F. M. JAEGER, professeur à l'Université de Groningue;

J. PERRIN, professeur à la Faculté des Sciences de Paris:

F. SWARTS, professeur à l'Université de Gand;

H. WUYTS, secrétaire, professeur à l'Université libre de Bruxelles.

#### Membres invités.

MM. H. BACKSTROM, de l'Institut Nobel de Stockholm;

G. BERTRAND, professeur à la Faculté des Sciences de Paris;

W. H. BONE, professeur à l'Imperial College of Science, Londres;

G. CHAVANNE, professeur à l'Université libre de Bruxelles;

J. A. CHRISTIANSEN, professeur à l'Institut polytechnique de Copenhague;

Ch. DUFRAISSE, de l'École de Physique et de Chimie industrielle,

A. V. HILL, de l'University College de Londres;

C. N. HINSHELWOOD, de Trinity College, Université d'Oxford;

W. P. JORISSEN, de l'Université de Leyde;

R. KUHN, professeur au Kaiser Wilhelm Institut für medizinische Forschung, Heidelberg;

A. MEYER, professeur au Collège de France, Paris;

O. MEYERHOF, professeur au Kaiser Wilhelm Institut für medizinische Forschung, Heidelberg;

K. NEUBERG, professeur au Kaiser Wilheim Institut für Biochemie, Berlin:

R. G. W. NORRISH, de l'Emmanuel College, Université de Cambridge;

O. WARBURG, professeur au Kaiser Wilhelm Institut für Zellphysiologie, Berlin;

H. WIELAND, professeur à l'Université de Munich;

R. WURMSER, directeur du laboratoire de Biophysique, École des Hautes Études, Paris;

INSTITUT SOLVAY (CHIMIE).

#### Secrétariat.

MM. J. TIMMERMANS, secrétaire adjoint, professeur à l'Université libre de Bruxelles;

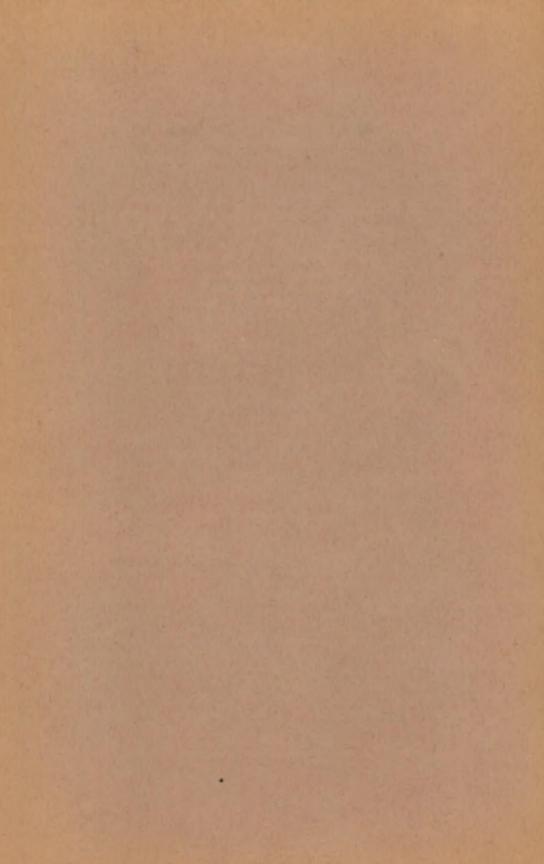
A. PINKUS, secrétaire adjoint, professeur à l'Université libre de Bruxelles;
E. J. BIGWOOD, secrétaire adjoint, professeur à l'Université libre de Bruxelles.

Les rapports et les discussions du Cinquième Conseil de Chimie Solvay ont été publiés à Paris, chez Gauthier-Villars, sous le titre : L'Oxygène, ses réactions chimiques et biologiques.

# TABLE DES MATIÈRES.

		Pages.
1.	Statuts de l'Institut international de Chimie Solvay	A. A
	Composition des Comités de l'Institut :	
1967	a. Comité scientifique	XI
	b. Commission administrative	XI
		-2.1
	Liste des participants au Sixième Conseil de Chimie 1937,	XIII
4.	Allocution de M. Fréd. Swarts, Président	XV
	LES VITAMINES ET LES HORMONES.	
	Rapport de M. Gabriel Bertrand : Importance de traces d'éléments dans	
1.	les processus biologiques	i
0	Discussion du Rapport de M. Bertrand	21
	Rapport de M. P. Karrer : Rapport général sur les vitamines	33
	Discussion du Rapport de M. Karrer	53
	Rapport de M. A. Szent-Györgyi : Propriétés physiologiques et théra-	
-	peutiques des vitamines	59
6.	Discussion du Rapport de M. Szent-Györgyi	77
	Rapport de M. A. Windaus : La vitamine antirachitique	91
	Discussion du Rapport de M. Windaus	117
	Rapport de M. H. von Euler : Les vitamines du type caroténoïde	121
	Discussion du Rapport de M. von Euler	163
	Rapport de M. A. Windaus ; Sur la vitamine B,	168
12.	Discussion du Rapport de M. Windaus	180
13.	Rapport de M. H. von Euler : Vitamine B, ou lactoflavine	184
14.	Discussion du Rapport de M. von Euler	217
15.	Rapport de M. W. N Haworth : La chimie de l'acide ascorbique et de	
	ses analogues	225
	Discussion du Rapport de M. Haworth	248
	Rapport de M. Ruzicka: Rapport général sur les hormones	255
	Discussion du Rapport de M. Ruzicka	325
	Rapport de M. Laqueur : Biologie des hormones sexuelles	335
	Discussion du Rapport de M. Laqueur	418
	Rapport de M. F. Kögl : Les hormones végétales	421
	Discussion du Rapport de M. Kögl	438
	Rapport de M. EC. Dodds : Les hormones artificielles	447
	Discussion du Rapport de M. Dodds	469
20+	Les premiers Conseils de Chimie (1922 à 1934)	477

PARIS. — IMPRIMERIE GAUTHIER-VILLARS. 107400 Quai des Grands-Augustins, 55.



# LIBRAIRIE GAUTHIER-VILLARS

55, QUAI DES GRANDS-AUGUSTINS, PARIS (6°)

Envoi dans toute la France et l'Union postale coutre mandat-poste ou valeur sur Paris.

Frais de port en sus (Chèques postaux : Paris 29 223).

INSTITUT INTERNATIO	NAL DE C	HIMIE SOI	VAY
Cinq questions d'Actualité			
ture moléculaire et rayons A	r; 3. Structure	e moléculaire	et activité
optique; 4. La Valence; 5.	La mobilité c	himique 1	Rapports et
Discussions du premier Cons	eil de Chimie	tenu à Brux	elles du 21
au 27 avril 1922, publiés par l	a Commission	administrative	de l'Institut
et MM. les Secrétaires du Con	seil. Un volum	ne in-8º (25-16	) de 336 p.,
avec figures			56 fr.

# 

107400-38 Paris. - Imp. GAUTHIER-VILLARS, quai des Grands-Augustins, 55.