

Systeme cuivre-cyanure comme «modèle d'oxydase»

Autor(en): **Pongratz, Edmond**

Objektyp: **Article**

Zeitschrift: **Archives des sciences [1948-1980]**

Band (Jahr): **3 (1950)**

Heft 1

PDF erstellt am: **12.07.2024**

Persistenter Link: <https://doi.org/10.5169/seals-739437>

Nutzungsbedingungen

Die ETH-Bibliothek ist Anbieterin der digitalisierten Zeitschriften. Sie besitzt keine Urheberrechte an den Inhalten der Zeitschriften. Die Rechte liegen in der Regel bei den Herausgebern.

Die auf der Plattform e-periodica veröffentlichten Dokumente stehen für nicht-kommerzielle Zwecke in Lehre und Forschung sowie für die private Nutzung frei zur Verfügung. Einzelne Dateien oder Ausdrucke aus diesem Angebot können zusammen mit diesen Nutzungsbedingungen und den korrekten Herkunftsbezeichnungen weitergegeben werden.

Das Veröffentlichen von Bildern in Print- und Online-Publikationen ist nur mit vorheriger Genehmigung der Rechteinhaber erlaubt. Die systematische Speicherung von Teilen des elektronischen Angebots auf anderen Servern bedarf ebenfalls des schriftlichen Einverständnisses der Rechteinhaber.

Haftungsausschluss

Alle Angaben erfolgen ohne Gewähr für Vollständigkeit oder Richtigkeit. Es wird keine Haftung übernommen für Schäden durch die Verwendung von Informationen aus diesem Online-Angebot oder durch das Fehlen von Informationen. Dies gilt auch für Inhalte Dritter, die über dieses Angebot zugänglich sind.

pas le signe d'une moindre liberté des molécules de caroténoïdes à l'intérieur de la cellule (liaisons aux lipides complexes des gaines cireuses).

L'identification d'un pigment caroténoïde acide de nature cétonique chez *Mycobacterium phlei* précise le mécanisme de la biosynthèse des caroténoïdes. Nous avons montré qu'il y a un parallélisme étroit entre la présence de fer dans le milieu de culture et la production de caroténoïde cétonique par le bacille; en présence des autres métaux oxydo-réductibles stimulant la biosynthèse des caroténoïdes neutres, à savoir Mn, Co, Ni, (Cu), nous ne décelons que des traces de pigment acide. D'autre part, Hopkins et Chibnall (*Biochem. J.*, 26, 133, 1932) ont montré que les cétones représentent le premier produit d'oxydation (décelable, G. T.) des hydrocarbures (oxydation par l'*Aspergillus versicolor* de la paraffine synthétique). Haas et Bushnell ont appliqué ces conclusions au cas des hydrocarbures polyéniques. On peut alors envisager la biosynthèse des caroténoïdes par le bacille de la fléole comme une série d'oxydations (par déshydrigénéation et oxygénation) catalysées par le fer: précurseurs polyéniques incolores — carotènes en $C_{40}H_{56}$ et léprotène en $C_{41}H_{54}$ si abondant chez ce germe (Takeda et Ohta) — dérivés polycétoniques tel que l'Astacine en $C_{30}H_{47}O_4$.

Edmond Pongratz. — *Système cuivre-cyanure comme « modèle d'oxydase ».*

Nous avons dernièrement montré le rôle capital que joue le cuivre comme catalyseur de processus d'oxydation et avons attiré l'attention sur l'influence qu'exerce l'anion cyanhydrique sur l'activité de ce métal¹.

Les substances qui exercent une influence sur l'activité d'un ferment ou d'un catalyseur sont appelées (d'après Th. Bersin) des *effecteurs*; l'influence exercée peut être de deux sortes: ou bien la substance exerce une action paralysante sur l'enzyme (ou le catalyseur), c'est alors un *inhibiteur* ou *poison*; ou bien la substance stimule l'activité enzymatique (ou catalytique): on aura dans ce cas affaire à un *activateur*.

¹ *Helv. chim. Acta*, 33, 1950 (à paraître).

L'acide cyanhydrique et les cyanures alcalins constituent des effecteurs particulièrement actifs sur nombre de réactions diastasiques et, comme nous le montrons ici, sur les réactions catalysées par le cuivre.

Comme nous l'avons déjà signalé, le cyanure de potassium dans des concentrations supérieures à environ 1,4 molécules par atome de cuivre présent, inhibe, quasi complètement, les réactions d'oxydation catalysées par ce métal (voir figure 1). Les modèles non protidiques d'oxydases à base de cuivre que nous avons constitués, sont également tous très sensibles et inhibés dans leur action par le cyanure. Dans tous ces cas d'inhibition, il faut incriminer la formation de combinaisons diverses du cyanure avec le métal; les principales sont: le cyanure de cuivre II et I et surtout l'anion complexe tétracyanocuvrique I. Le caractère réducteur de la molécule de cyanure joue peut être également un certain rôle dans l'inhibition des processus oxydatifs. Il n'est pas superflu d'attirer l'attention sur la grande affinité de l'anion cyanhydrique pour le cuivre, car dans la littérature: « inhibition par le cyanure » est souvent associé à l'idée de présence et blocage de fer.

Le cyanure agit sur les métalloprotéides à métaux lourds en général. Les combinaisons cyanées de plusieurs ferroprotéines, très importantes, sont connues: ainsi on connaît les propriétés et le spectre d'absorption des combinaisons cyanées de la catalase, de la peroxydase et des hémoglobines entre autres. Mais ces faits ne doivent pas faire oublier que d'autres métaux que le fer, qui existent à l'état de traces plus faibles que ce dernier dans la matière vivante, et qui jouent un rôle oligodynamique très important, peuvent être également desionisés par le cyanure.

Les mono et polyphénoloxydases sont inhibées par le cyanure; Kubowitz puis Keilin et Mann ont montré que le groupement prosthétique de ces enzymes contenait du *cuivre*.

En plus des possibilités d'inactivation des métaux lourds, le cyanure peut encore inhiber par formation d'une cyanhydrine avec un groupe carbonyle de l'enzyme (dans le cas de l'histaminase par exemple).

Recherches personnelles: effet activateur du cyanure.

Nous avons étudié l'influence de concentrations croissantes de CNK sur une réaction d'oxydation catalysée par le Cu^{+2} ionique; nous avons utilisé à cet effet le mélange « Nadi » (mélange équimoléculaire d' α Naphtol et de Diméthyl-p-phénylènediamine) qui, en présence de traces de cuivre, est oxydé en bleu d'indophénol (la Nadiréaction est utilisée généralement

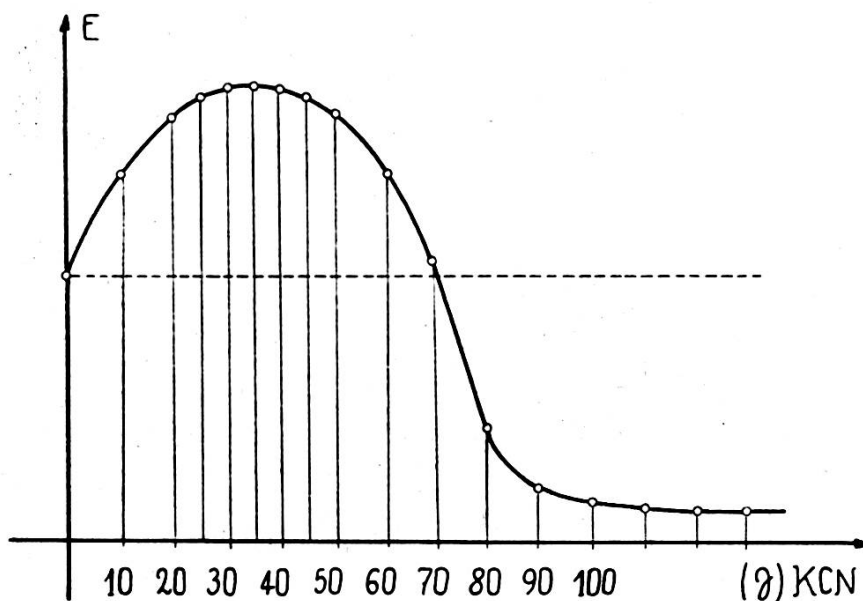


Fig. 1.

Variation de la vitesse d'oxydation du Nadi catalysée par 50 γ Cu^{+2} ionique en fonction de quantités croissantes de CNK.

En ordonnée nous avons porté directement les valeurs colorimétriques. (Observations après cinq minutes, température const. = 18°, pH = 7,3, filtre jaune S 50, cuves de 1 cm.)

pour mettre en évidence *in vivo* la cytochrome-oxydase; nous avons montré qu'elle est quasi spécifique de l'ion cuivrique).

Pour obtenir des résultats plus constants, nous avons observé qu'il était avantageux d'utiliser des mélanges préformés de cuivre et de cyanure. Le mode opératoire est décrit ailleurs.

Interprétation du graphique: Le CNK, précédemment signalé comme inhibiteur, fonctionne comme activateur lorsque sa concentration est inférieure à 1,4 molécules environ par atome de cuivre présent. L'exaltation des propriétés catalytiques d'oxydation du cuivre, par des quantités définies de cyanure,

nous permet d'assimiler le système formé par le mélange de ces deux corps à un modèle d'enzyme.

Pour les expériences suivantes, nous avons utilisé le système formé par le mélange de 50 γ d'ion Cu^{+2} et 35 γ de CNK dans 10 cm^3 de solution tampon phosphate de $\text{pH} \simeq 7,3$.

Influence du pH sur l'activité du système cuivre-cyanure, ci-dessus signalé.

Comme le montre le graphique n° 2, la vitesse d'oxydation du Nadi par le complexe cuivre-cyanure, décroît très rapide-

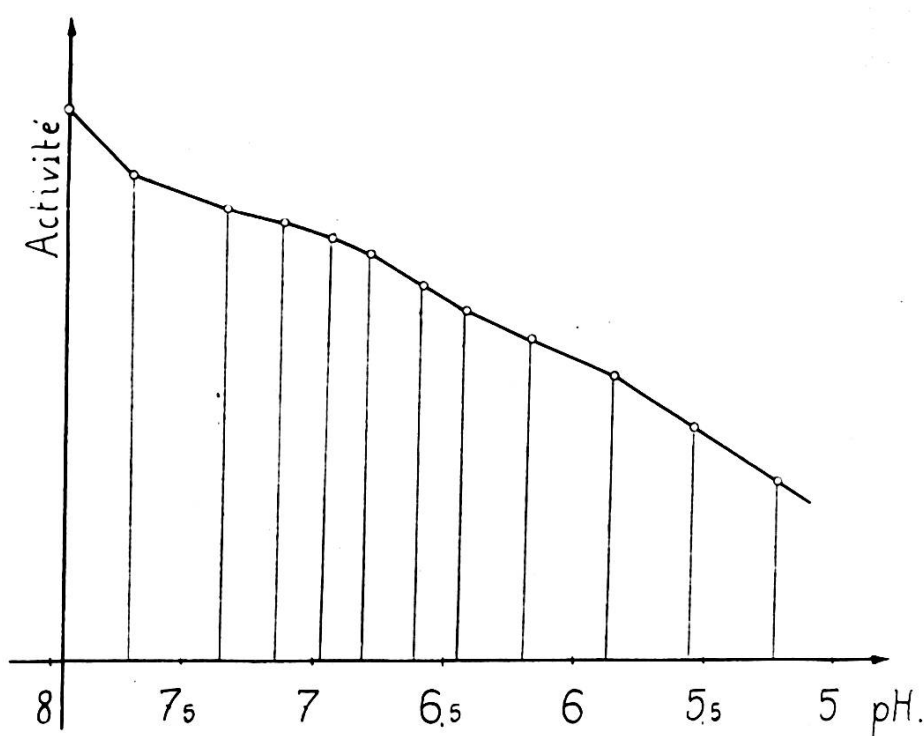


Fig. 2.

ment lorsque le pH diminue. Ce phénomène très général (également vrai pour les réactions enzymatiques) peut être facilement interprété par la dissociation du « complexe » en milieu acide: le cuivre plus ou moins libéré de son activateur, perd en même temps son état d'exaltation, soit les propriétés catalytiques particulières que lui avait conférées la molécule de CNK.

Activité du complexe cuivre-cyanure.

Le système cuivre-cyanure présente une activité catalytique d'oxydation considérable; par opposition aux oxydases et

peroxydases naturelles, il ne présente pour ainsi dire aucune spécificité d'action: des substrats variés sont oxydés plus ou moins rapidement à l'air.

<i>Substrats</i>	<i>Produits d'oxydation</i>
	Coloration
Pyrogallol	jaune orange → précipité brun.
Phloroglucine	jaune citron → jaune orange.
Hydroquinone	rosée.
Résorcinol	rose chair → brun rouge.
Catéchol	jaune citron → gris.
Orcinol	rose orange à rouge.
Gaïacol	jaune orange → rose.
Teinture de gaïac	bleu vert.
<i>m</i> -phénylène-diamine	violette.
α Naphtol	violet lilas → précipité violet.
α Naphtylamine	rose → précipité rose.
Adrénaline	rose orange.
Dihydroxyphénylalanine (Dopa)	rose → gris (mélanines).
Tyrosine	Inchangée.
Tyrosine + traces d'inducteur (H_2O_2 ou orthoquinone)	Coloration brun rose → gris brun (mélanines).

Ces substrats, en présence simultanée de peroxyde d'hydrogène et du complexe cuivre-cyanure, donnent des réactions très semblables mais en général beaucoup plus rapides: à partir de l'hydroquinone par exemple, il se développe immédiatement une belle coloration rouge, le catéchol donne une coloration brun foncé d'o-quinone, l'aniline une coloration jaune.

On observe souvent que les substrats facilement oxydés par le système cuivre-cyanure en présence d'oxygène atmosphérique (exemple: orcinol, résorcinol, etc.) le sont moins rapidement en présence d'eau oxygénée: suivant le substrat sur lequel agit le complexe cuivre-cyanure, ce dernier manifestera tantôt une activité oxydasique, tantôt une activité peroxydasique. Nous avons déjà signalé ce que ce classement a d'irrational, car les différences portent sur l'intensité et non sur la nature des propriétés du complexe. Plusieurs facteurs sont encore déterminant dans ces phénomènes: nous avons signalé la nature du substrat, il intervient encore le pH, les concentrations et proportions relatives des éléments: catalyseur-substrat — H_2O_2 .

En présence d'eau oxygénée et dans certaines conditions (par exemple en milieu alcalin) ou au contact de certains substrats (particulièrement la tyrosine) c'est un effet catalasique du complexe cuivre-cyanure qui peut prédominer.

Signalons encore que l'activité oxydante du système cuivre-cyanure est maximale lorsqu'on forme ce dernier au contact même du substrat à oxyder. Au cours des réactions d'oxydation, lorsqu'il apparaît des groupements pouvant fixer du cyanure (gr. carbonyle), ce dernier est alors soustrait au système catalyseur; on observe dans ce cas un abaissement de l'exaltation de l'activité catalytique du cuivre et une diminution concomitante des processus d'oxydation, mais d'autre part le groupement carbonyle qui a fixé le cyanure n'intervenant plus dans l'équilibre chimique, ce dernier est alors déplacé vers l'oxydation. Nous voyons que l'action du cyanure est loin d'être simple; l'étude de son action sur des systèmes simplifiés permet d'en mieux saisir le mécanisme.

La littérature scientifique nous apprend que le cyanure peut augmenter l'activité d'un enzyme par trois mécanismes différents:

- 1^o Par stimulation directe de l'enzyme; le cyanure active la papaïne et la catépsine par réduction de la forme disulfure ($R - S - S - R$), moins active, du ferment;
- 2^o Par action sur un inhibiteur qui de ce fait est éliminé. Le cyanure active certains ferments (exemple uréase) par formation de sels complexes non ionisés avec les métaux lourds qui exercent sur ces ferments une action inhibitrice;
- 3^o Par action activante sur le substrat.

L'anion cyanhydrique active la carboxylase par exemple, par formation avec son substrat, l'acide pyruvique, d'une cyanhydrine, dont la réactivité avec l'enzyme est augmentée.

Dans nos expériences le cyanure n'intervient pas, en toute évidence, par l'un des trois mécanismes mentionnés ci-dessus. Nous pensons que le cyanure intervient directement sur le cuivre et constitue avec lui un système catalyseur où la présence du métal est aussi indispensable que celle du coferment dans l'holoferment.

Par analogie avec les autres systèmes catalyseurs que nous avons constitués (nos modèles non protidiques d'oxydases), nous pensons que le cyanure forme avec le cuivre un complexe wernerien d'addition qui voit son potentiel rédox augmenté par rapport à celui du couple $\text{Cu}^{+2}/\text{Cu}^{+1}$.

Un fait à l'appui de cette thèse est l'utilisation, en microchimie, à des fins analytiques, des propriétés du cyanure de déclencher l'oxydation d'un mélange d'acétate de cuivre et d'acétate de benzidine en un colorant mériquinoidique bleu (bleu de benzidine).

Conclusion.

L'inversion des propriétés classiques d'inhibition du cyanure, lorsque ce dernier se trouve en faible concentration, permet d'expliquer d'une façon élégante certaines réactions biochimiques exaltées par ce poison.

Fort des constatations que nous avons faites *in vitro*, nous pouvons admettre que le cyanure forme *in vivo* de combinaisons actives avec le cuivre qu'il rencontre dans les cellules et catalyse de ce fait certains processus oxydatifs physiologiques.

*Université de Genève.
Institut de Botanique.
Laboratoire de Microbiologie et de Fermentations.*
