

Biochimie des cyclitols*

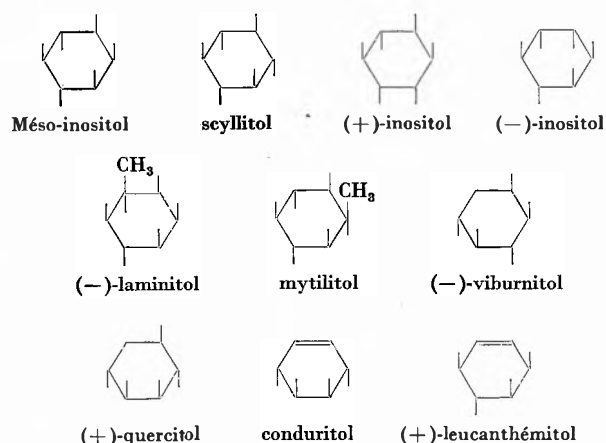
Par TH. POSTERNAK

Laboratoire de Chimie biologique et organique spéciale de l'Université de Genève

Généralités

On entend par cyclitols des polyalcools isocycliques. Leurs représentants naturels (tableau I) sont tous des dérivés du cyclohexane. Le plus répandu et le plus important de tous les cyclitols est le *méso-* ou *myo-*inositol, qui semble être un composant obligatoire de la matière vivante.

Tableau I. Cyclitols naturels



Oxydations microbiologiques

Des oxydations microbiologiques de cyclitols en céto-ses cycliques (cycloses) ont été effectuées le plus fréquemment au moyen d'*Acetobacter suboxydans*. Toutes les souches étudiées contiennent des déshydrogénases qui s'attaquent aux cyclitols inférieurs (possédant au maximum 3 OH voisins); certaines souches possèdent en outre des ferments qui utilisent comme substrats des cyclitols supérieurs contenant plus de 3 OH voisins^{1,2}.

Déshydrogénases des cyclitols inférieurs^{1,2}. On distingue parmi ces ferments :

1. des déshydrogénases «acides» particulières, de *pH* optimum 5,0, non activées par le DPN ou le TPN, activées par Mg^{++} $5 \cdot 10^{-3}$ jusqu'à $1 \cdot 10^{-2}$ M.
2. Des déshydrogénases «alcalines», solubles, de *pH* optimum 8,0, activées par le DPN ou le TPN, non activées par Mg^{++} .

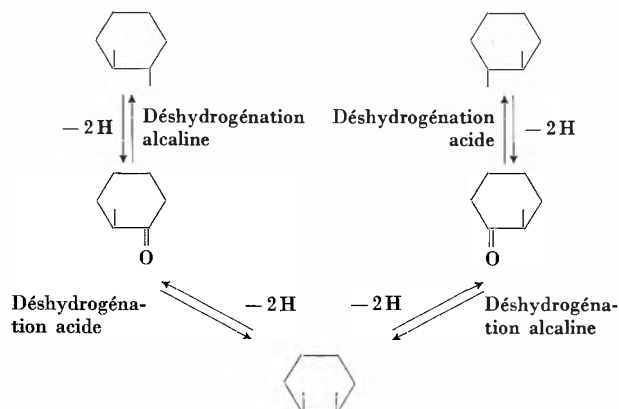
* Résumé d'une conférence faite le 23 février 1966 devant la Section de Chimie de la Société Vaudoise des Sciences naturelles à Lausanne.

¹ A. RAPIN, Thèse, Université de Lausanne (1958).

² A. L. HAENNI, Thèse, Université de Genève, n° 1336 (1962).

Les enzymes particulières «acides» s'attaquent aux carbones de configuration D, les enzymes solubles «alcalins» aux carbones de configuration L. Les déshydrogénations, par les ferments «acides» et «alcalins», du cyclohexane-diol-1,2 *cis* ou du cyclohexane-diol-1,2 *trans* racémique fournissent ainsi des cyclohexanolones-1,2 énantiomères (tableau II).

Tableau II. Déshydrogénations de cyclitols inférieurs



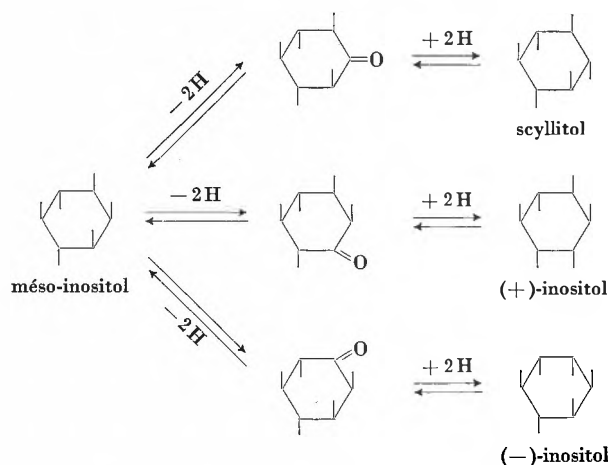
Déshydrogénases des cyclitols supérieurs. Ce sont des ferments particuliers, de pH optimum 6,5, non activés par le DPN ou le TPN, activés par $Mg^{++} 5 \cdot 10^{-3}$ jusqu'à $1 \cdot 10^{-2}$ M. Ils ont été étudiés chez *Acetobacter suboxydans* ATCC 621^{3,4,5} et chez *Acetobacter suboxydans* KLUYVER et DE LEEUW^{1,6,7}. Ces ferments sont remarquables par leurs exigences conformationnelles. Ils s'attaquent uniquement aux carbones porteurs d'hydroxyles axiaux ; la souche ATCC 621 a encore d'autres exigences : présence de OH équatoriaux en *para* et en *méta* (dans le sens contraire des aiguilles d'une montre lorsque le OH axial est dirigé vers le haut).

Biosynthèses des cyclitols

Certains cyclitols sont interconvertibles *in vivo*. Chez le rat, le méso-inositol-¹⁴C et le scyllitol-¹⁴C sont ainsi interconvertibles ; le produit intermédiaire est probablement le méso-inosose-2⁸. Ce cyclose administré sous forme radioactive à l'animal est en effet transformé en scyllitol et en ms-inositol avec un rendement radioactif global atteignant 60%. Chez la plante supérieure *Calicanthus occidentalis*, la biosynthèse du scyllitol a lieu par la même voie⁹. Le méso-inositol est également la

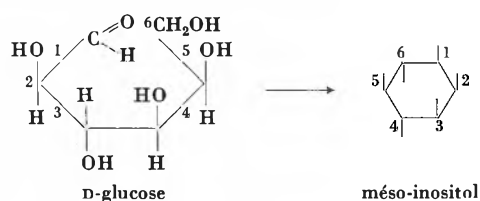
substance mère du (+)-inositol et du (-)-inositol présents respectivement chez *Trifolium incarnatum*¹⁰ et chez *Artemisia vulgaris* ou *A. dracunculus*¹¹ ; ici encore, la conversion se fait probablement par l'intermédiaire des inososes correspondants (tableau III)^{11a}.

Tableau III. Interconversions de cyclitols



Le méso-inositol lui-même prend naissance dans la nature suivant un mécanisme déjà proposé en 1887 par MAQUENNE^{12,13}, impliquant une aldolisation interne (tableau IV). Des essais effectués avec des glucoses marqués au moyen de ¹⁴C en C-1, C-2 et C-6, ont conduit à du ms-inositol dont la localisation isotopique est compatible avec un tel processus. Des systèmes enzymatiques effectuant de telles synthèses ont été obtenus à partir de la levure *Candida utilis*¹⁴ et des testicules de rats¹⁵. La nécessité de la présence de DPN rend probables des oxydo-réductions conformément au schéma du tableau V. Seuls les composés (1) et (2) ont pu être mis en évidence. Il est possible qu'il existe dans la nature d'autres modes d'inositogénèse.

Tableau IV. Cyclisation du D-glucose



³ B. MACASANIK et E. CHARGAFF, *J. Biol. Chem.* 174 (1948) 173.

⁴ B. MACASANIK, R. E. FRANZL et E. CHARGAFF, *J. Amer. Chem. Soc.* 74 (1952) 2618.

⁵ L. ANDERSON, R. TAKEDA, S. J. ANGYAL et D. J. MCHUGH, *Arch. Biochem. Biophys.* 78 (1958) 518.

⁶ TH. POSTERNAK et D. REYMOND, *Helv. Chim. Acta* 36 (1953) 260.

⁷ TH. POSTERNAK, A. RAPIN et A. L. HAENNI, *Helv. Chim. Acta* 40 (1957) 1594.

⁸ TH. POSTERNAK, W. H. SCHOPFER, B. KAUFMANN-BOETSCH et S. EDWARDS, *Helv. Chim. Acta* 46 (1963) 2676.

⁹ R. SCHOLDA, G. BILLEK et O. HOFFMANN-OSTENHOF, *Z. physiol. Chem.* 339 (1964) 28.

¹⁰ R. SCHOLDA, G. BILLEK et O. HOFFMANN-OSTENHOF, *Z. physiol. Chem.* 335 (1964) 180.

^{11a} En réalité, la biosynthèse du (+)-inositol se fait probablement par l'intermédiaire du 5-0-méthyl-méso-inositol (séquoyitol), d'un 0-méthyl-inosose et d'un 0-méthyl-(+)-inositol (pinitol).

¹¹ R. SCHOLDA, G. BILLEK et O. HOFFMANN-OSTENHOF, *Mh. Chem.* 95 (1964) 541, 1305.

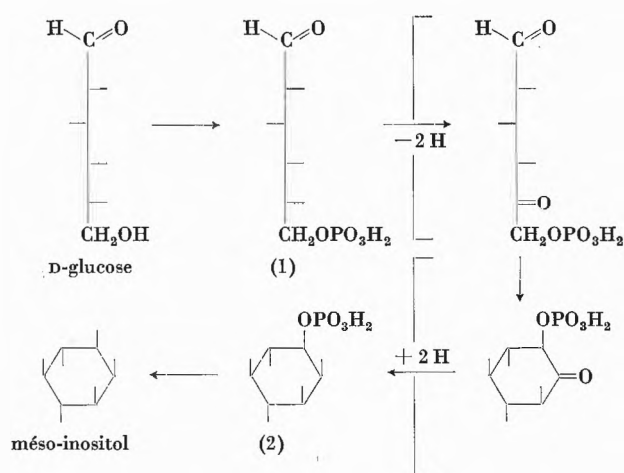
¹² L. MAQUENNE, *Ann. Chim. Physique* 12 (1887) 129.

¹³ L. MAQUENNE, *Les sucres et leurs principaux dérivés*, p. 189, Gauthier-Villars, Paris 1900.

¹⁴ I. W. CHEN et F. C. CHARALAMPOUS, *J. Biol. Chem.* 239 (1964) 1905.

¹⁵ F. EISENBERG, A. H. BOLDEN et F. A. LOEWUS, *Biochem. Biophys. Res. Comm.* 14 (1964) 419.

Tableau V. Biosynthèse du méso-inositol



Glucogenèse à partir de l'inositol

Inversément, l'inositol est converti *in vivo* en glucose. La réaction clé est due à la présence dans les reins de rats¹⁶, dans des plantes supérieures et chez divers microorganismes d'un ferment qui, par oxydation, transforme l'inositol en acide D-glucuronique. A partir de ce dernier, des réactions enzymatiques connues conduisent au glucose par l'intermédiaire, entre autres de l'acide 3-céto-gulonique, des L- et D-xyluloses, et par la voie des pentoses (tableau VI). Partant d'inositols deutériés en des emplacements déterminés, on peut prévoir la localisation de l'isotope dans le glucose, ce qui est en accord avec les observations effectuées sur le glucose urinaire de rats phlorizinés auxquels le cyclitol avait été administré par injections intrapéritonéales^{17, 18} (tableau VII).

Lorsqu'on administre à l'animal de l'inositol-2-¹⁴C, on trouve l'isotope à la fois en position 1 et 6 du glu-

Tableau VII. N°s des C principalement marqués par le deutérium

Ms-inositol administré	Intermédiaires supposés Ac·D-glucuronique	D-xylulose	Glucose urinaire
2	2	5	6
4	4	3	pas de D
6	6	1	1 et 3

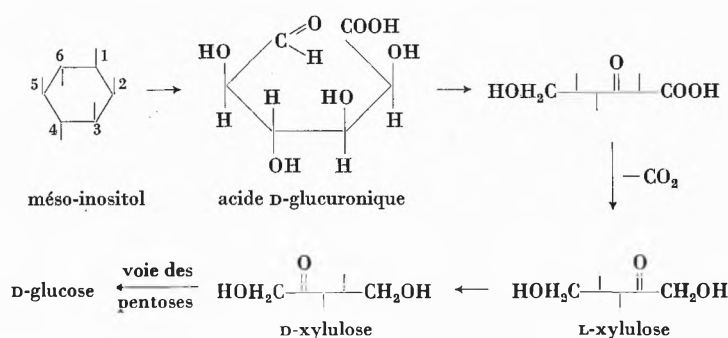
cose (randomization) alors que le deutérium n'est présent qu'en position 6 du glucose formé à partir d'inositol-2-d. Ceci est dû essentiellement à une perte du deutérium en position 1, par suite de l'énolisation stéréospécifique qu'implique la réaction de la phosphoglucose isomérase. Chez le rat normal, la glucogenèse à partir de l'inositol n'est que de 3-4% ; elle atteint par contre 37% chez le rat phloriziné¹⁹.

Esters inositol-phosphoriques

Les dérivés naturels les plus importants du méso-inositol sont représentés par ces esters phosphoriques qui se rencontrent aussi comme composants de phospholipides nommés phosphoinositides. L'ester inositol-phosphorique qui a donné lieu au plus grand nombre de travaux est sans doute l'hexaphosphate, nommé aussi acide phytique. Très répandu dans les plantes à chlorophylle, en quantité particulièrement abondante dans les graines, il était considéré avant tout comme une réserve phosphorée pour la jeune plante. D'après des travaux récents, il représente aussi une réserve énergétique. La richesse en énergie de certaines liaisons de cet hexaphosphate permet des transphosphorylations sous l'action d'enzymes, décelés en particulier dans l'endosperme de blé²⁰.



Tableau VI. Conversion du méso-inositol en D-glucose



Les phosphoinositides

Dans la nature, on a trouvé notamment trois formes de phosphoinositides : mono-, di- et tri-phosphoinositides. Les polyphosphoinositides se forment à partir des mono-phosphoinositides sous l'action de kinases. Leurs groupes phosphoryles sont très mobiles *in vivo* ; on leur attribue parfois pour cette raison un rôle dans le transport des ions à travers les membranes cellulaires. La synthèse chez l'animal des mono-phosphoinositides s'effectuerait d'après les équations du tableau VIII²¹.

¹⁶ F. C. CHARALAMPOUS, *J. Biol. Chem.* 234 (1958) 220.

¹⁷ TH. POSTERNAK, W. H. SCHOPFER et D. REYMOND, *Helv. Chim. Acta* 38 (1955) 1283, 1660.

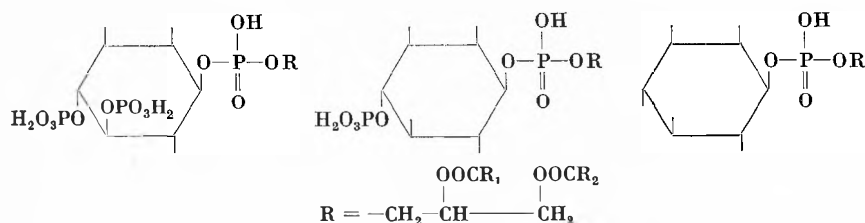
¹⁸ TH. POSTERNAK, W. H. SCHOPFER, D. REYMOND et C. LARK, *Helv. Chim. Acta* 41 (1958) 235.

¹⁹ E. CHAROLLAIS et TH. POSTERNAK, *Helv. Chim. Acta* 48 (1965) 280.

²⁰ R. K. MORTON et J. K. RAISON, *Nature* 200 (1963) 429.

²¹ H. PAULUS et E. P. KENNEDY, *J. Biol. Chem.* 235 (1960) 1303.

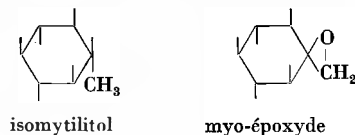
Tableau VIII. Phosphoinositides



$L\text{-}\alpha\text{-glycerophosphate} + 2R\text{-CO-SCoA} \rightleftharpoons \text{acide phosphatidique} + 2\text{ CoASH}$
 $\text{acide phosphatidique} + \text{CTP} \rightleftharpoons \text{CDP-diglyceride} + \text{pyrophosphate}$
 $\text{CDP-diglyceride} + \text{inositol} \rightleftharpoons \text{CMP} + \text{mono-phospho-inositide}$
 (CTP = cytidine-triphosphate; CMP = cytidine-monophosphate)

Antagonistes de l'inositol et rôle microbiologique des phosphoinositides

Les phosphoinositides représentent la forme fonctionnelle de beaucoup la plus importante du méso-inositol. On sait que ce cyclitol joue un rôle de facteur de croissance vitaminique pour divers microorganismes. On a effectué des analyses de cultures de *Neurospora crassa* inositolless et de *Schizosaccharomyces pombe* qui ont un besoin absolu en inositol comme facteur de croissance et qui ne catabolisent pas le cyclitol : on a constaté que plus de 80% de l'inositol offert sont transformés en phosphoinositides.

Tableau IX. Inhibiteurs compétitifs pour *S. pombe*

Divers dérivés du méso-inositol agissent comme inhibiteurs compétitifs chez *N. crassa* inositolless²² ; deux d'entre eux seulement ont une action notable sur la levure *S. pombe*²³ : l'isomytilitol et le myo-époxyde. Les inhibitions de croissance de *S. pombe*, levure qui se multiplie par scission transversale, s'accompagnent de modifications morphologiques très curieuses supprimées par addition au milieu d'inositol supplémentaire : allongement allant jusqu'à 10-20 fois sous l'action du myo-époxyde ; formation de cellules compartimentées sous l'action de l'isomytilitol. Des effets morphogénétiques analogues sont obtenus en présence d'inhibiteurs non compétitifs²⁴ : cellules allongées : azaguanine, 5-fluoro-uracile, β -propionolactone ; cellules allongées et compartimentées : actinomycine C. Ces substances, comme on sait, réagissent au niveau des acides nucléiques. Nous avons étudié quelques perturbations biochimiques qui

accompagnent ces altérations morphologiques ; des perturbations analogues ont été observées dans certains cas chez des cellules de *S. pombe* en hypovitaminose, dont le milieu de culture contenait moins de 1 à 2 γ d'inositol par ml, ou chez des cellules en hypervitaminose, cultivées en présence de quantités supérieures d'inositol. Le tableau X montre que l'incorporation

d'inositol par mg de cellules et aussi les teneurs en phosphoinositides, sont beaucoup plus élevés dans les cellules anormales, à l'exception de celles en hypovitaminose²⁴. Le cas des cellules à isomytilitol est particulier. Leur teneur en phosphoinositides est voisine de celle des cellules normales, mais on y trouve en outre, dans nos conditions d'expériences, des quantités 2 à 3 fois plus importantes de phospholipides aberrants contenant de l'isomytilitol : ces cellules ont donc elles aussi une teneur exagérée en phospholipides à cyclitol²⁵.

Tableau X. Incorporations d'inositol chez *S. pombe*

Types de cellules	% d'inhibition de croissance	Incorporations relatives d'inositol- ¹⁴ C par mg de cellules
Normal	0	1,00
Hypovitaminose	70	0,28
Hypervitaminose	0	3,40
Isomytilitol	53	0,85
Myo-époxyde	49	2,97
Epi-époxyde	43	1,85
Azaguanine	77	3,50
5-Fluoro-uracile	80	4,35
β -Propionolactone	78	5,35
Actinomycine C	77	3,53
2,4-Dinitrophénol	78	3,75

Nous avons constaté que toutes les cellules allongées ont *par cellule* une respiration voisine de celle des cellules normales ; la respiration est, par contre, fortement réduite chez les cellules en hypovitaminose, ainsi que chez les cellules à isomytilitol. Les cellules à actinomycine C ont, *par cellule*, une respiration comprise entre celle des cellules allongées et celle des cellules à isomytilitol²⁴.

Le tableau XI montre chez les cellules anormales examinées des modifications de la composition des polysaccharides des parois cellulaires. Les proportions en mannanes sont abaissées, elles sont remplacées en partie par des galactanes²⁴.

Le tableau XII indique des modifications des teneurs en bases des acides ribonucléiques ribosomiques (r-RNA) et solubles (s-RNA). Dans les cellules anormales, les

²² TH. POSTERNAK et W.H. SCHOPFER, *Arch. Sci. (Genève)* 8 (1955) 316.

²³ W.H. SCHOPFER, TH. POSTERNAK et D. WUSTENFELD, *Arch. Mikrobiol.* 44 (1962) 113.

²⁴ TH. POSTERNAK, J. DESHUSSES, V. PARANJAPYE, J.P. CHENEVAL et S. BERTHOUD, recherches non publiées.

²⁵ TH. POSTERNAK, W.H. SCHOPFER et J. DESHUSSES, *Helv. Chim. Acta* 42 (1959) 1351.

Tableau XI. Composition des polysaccharides des parois cellulaires de *S. pombe*

Types de cellules	Glucanes %	Mannanes %	Galactanes %
Normal	85,0	15,0	0
Hypovitaminose	84,5	8,1	7,3
Hypervitaminose	82,3	8,8	8,9
Isomytilitol	88,2	6,1	5,6
Myo-époxyde	90,0	3,8	6,2

acides ribonucléiques contiennent moins de cytosine, et le rapport G/C est notablement augmenté²⁴.

Tableau XII. Composition des acides ribonucléiques de *S. pombe*

Types de cellules	r-RNA				s-RNA				G/C	
	G	A	C	U	G/C	G	A	C		
Normal	29,8	23,2	16,1	30,9	1,85	27,1	17,6	23,0	32,3	1,18
Hypervitaminose	30,8	24,2	16,4	28,6	1,88	28,1	24,1	17,5	30,3	1,60
Hypovitaminose	32,4	22,4	13,2	32,0	2,45	31,0	20,0	16,9	32,1	1,83
Isomytilitol	33,3	25,0	11,3	30,4	2,95	28,8	20,0	17,2	34,0	1,67
Myo-époxyde	31,7	24,8	11,5	32,0	2,75	29,2	25,9	14,9	30,0	1,96

G = guanine, A = adénine, C = cytosine, U = uracile

En ce qui concerne la composition des nucléotides solubles (tableau XIII), on constate au contraire une élévation de la teneur en cytosine ; ceci est peut-être significatif en raison du rôle joué par le CTP dans la formation des phosphoinositides et traduit probablement un pouvoir accru de synthèse, dans les cellules anormales, des phospholipides à cyclitols²⁴.

L'effet primaire, dans les cellules en hypo- et en hypervitaminose, et dans les cellules à isomytilitol, concerne sans doute la quantité et la composition des phospho-

Tableau XIII. Compositions des nucléotides solubles de *S. pombe*

Types de cellules	Teneurs en bases (en $\mu\text{mol.}$) par g de cellules			
	A	G	C	U
Normal	37,8	8,0	4,4	20,2
Hypovitaminose	15,7	8,6	6,5	15,3
Hypervitaminose	25,4	18,3	9,8	31,0
Isomytilitol	53,7	30,3	14,4	52,3
Myo-époxyde	20,7	10,3	8,4	21,6

lipides à cyclitols. Il semble alors qu'il existe entre ces derniers et les acides nucléiques des interactions de mécanismes inconnus. Les cellules à myo-époxyde ont, elles aussi, une teneur modifiée en phosphoinositides, mais, d'autre part, le myo-époxyde, substance très réactive, peut réagir avec divers composants cellulaires. Nous avons constaté en particulier qu'il se combine *in vitro*, dans des conditions physiologiques, avec des restes de guanine du RNA de levure par une réaction analogue à celle qui a été établie dans le cas de la β -propionolactone²⁶.

Les modifications concernant les phospholipides à cyclitols que présentent les cellules anormales ont comme corollaires des changements de la composition des membranes cellulaires qui sont riches, comme on sait, en phospholipides. Il en résulte peut-être des altérations de la perméabilité cellulaire et de la formation de parois. Cette dernière formation est probablement induite et réglée par la membrane cytoplasmique ; or, les modifications morphologiques décrites se ramènent précisément, en fin de compte, à des perturbations de la formation des parois.

²⁶ J.J. ROBERTS et G.P. WARWICK, *Biochem. Pharmacol.* 12 (1963) 1441.