

DESHALOGENATION DE DIVERS DERIVES IODES PHENOLIQUES CHEZ LE RAT NORMAL ET THYROIDECTOMISE

PAUL DUMAS*

Laboratoire de Biochimie Cellulaire, I.B.A.N.A., 21 Dijon, France

(Received 21 October 1972; accepted 19 January 1973)

Abstract—Deiodination of eleven compounds including, 3-iodo-L-tyrosine, 3,5-diiodo-L-tyrosine and their analogs were studied in rats *in vivo*. While L-iodotyrosines were almost completely dehalogenated in normal rats, D-iodotyrosines, 3,5-diiodo-4-hydroxyphenyl-DL-lactic acid, 3,5-diiodo-4-hydroxyphenyl acetic acid and 3,5-diiodo-tyramine were poorly deiodinated. All the other products remained unchanged. L- and D-3-iodotyrosines were more rapidly deiodinated than L- and D-3,5-diiodotyrosines. Similar results were found with thyroidectomized rats, except that the D-iodotyrosines were deiodinated to a lesser extent than in normal rats. Metabolism *in vivo* of iodophenolic compounds is in accord with specificity of the thyroidal and hepatic microsomal iodotyrosine-deiodinase.

L'ADMINISTRATION à l'homme ou à l'animal des iodotyrosines de la série L est suivie par une excrétion urinaire d'iodures dont la quantité dépend de la dose de produit injecté, tandis que les isomères D sont peu ou pas désiodés et se retrouvent en grande partie sous forme d'iode organique dans les urines.¹⁻⁵ Cependant, des voies secondaires du métabolisme des acides aminés iodés conduisent à des composés organiques halogénés acides ou aminés, par désamination oxydative ou décarboxylation.^{6,7}

L'excrétion urinaire d'iodures qui suit l'administration des iodotyrosines de la série L est due à l'intervention de l'iodotyrosine désiodase. Cet enzyme, principalement thyroïdien, mais aussi hépatique et rénal, est localisé dans les microsomes. Il est actif sur les iodotyrosines de la série L et inactif sur leurs isomères D.⁸⁻¹³ La fonction L-amino-acide permet une activité enzymatique maximum puisque toute substitution radicalaire à son niveau, réduit ou supprime la désiodation. Le rôle du radical phénolique est également primordial puisque l'enzyme est sans action sur la iodo-3 nitro-5 L-tyrosine ainsi que sur la iodo-3 L-phénylalanine, laquelle, après injection à l'animal, subit une accumulation sélective dans le pancréas et ne semble pas être désiodée.¹⁴⁻¹⁶ On a pu mettre en évidence un défaut congénital de l'iodotyrosine désiodase grâce à un test qui comporte l'étude de la cinétique de l'excrétion de l'iode par la voie urinaire chez le sujet recevant de la L-diiodotyrosine marquée. Chez l'euthyroïdien, on constate une excrétion d'iodures importante et rapide, alors que chez certains hypothyroïdiens, la quantité d'iode organique éliminée au cours du temps, est relativement élevée.³⁻⁵

On peut se demander s'il existe une corrélation entre la spécificité très stricte de l'iodotyrosine désiodase des microsomes isolés et le métabolisme *in vivo* des analogues

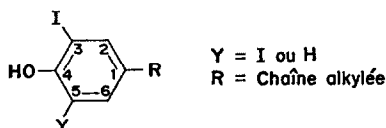
* Cet article fait partie d'un travail destiné à une thèse es Sciences qui sera soutenue par Paul Dumas devant l'Université de Dijon.

structuraux des iodotyrosines. L'objet de notre travail est de suivre, chez le rat normal et thyroéprive, la dégradation de divers dérivés phénoliques ortho-iodés et para-substitués, en procédant au dosage des iodures urinaires éliminés.

EXPÉRIMENTATION

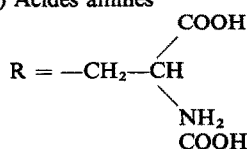
Les recherches comportent la préparation des produits iodés marqués par ^{131}I , lesquels sont injectés à des rats normaux et thyroéprives dans le but d'étudier leur deshalogénéation.

Nature et préparation des produits iodés. La formule générale des composés utilisés est la suivante:

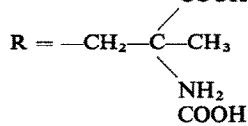


Ces produits peuvent être classés en trois groupes chimiques distincts:

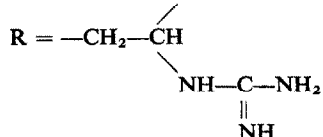
(1) Acides aminés



Y = H monoiodo-3 tyrosine, isomères L et D
Y = I diiodo-3,5 tyrosine, isomères L et D

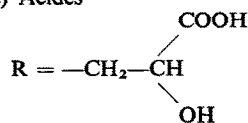


Y = H monoiodo-3 α -méthyl DL-tyrosine
Y = I diiodo-3,5 α -méthyl DL-tyrosine

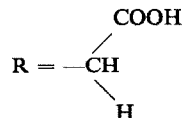


Y = I acide β (diiodo-3,5 hydroxy-4 phényl) α -guanidyl propionique

2) Acides

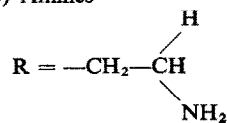


Y = I acide β (diiodo-3,5 hydroxy-4 phényl) DL-lactique

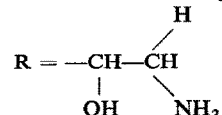


Y = I acide α (diiodo-3,5 hydroxy-4 phényl) acétique

(3) Amines



Y = I β (diiodo-3,5 hydroxy-4 phényl) éthylamine ou diiodo-3,5 tyramine



Y = I β (diiodo-3,5 hydroxy-4 phényl) β hydroxyéthyl amine ou diiodo-3,5 norsynéphrine

Ces substances sont préparées selon la méthode de ROCHE et coll., par halogénéation directe en milieu ammoniacal grâce à une solution éthanolique d'iode marquée par ^{131}I .¹⁷ Les produits iodés sont séparés par chromatographie sur papier et isolés dans les conditions précédemment décrites.¹⁴ Leur activité spécifique est de 0,2 à 0,4 mCi/ μmole .

Conditions expérimentales. Nous avons étudié le métabolisme des iodophénols chez des rats normaux et thyroéoprives.

La thyroïdectomie est pratiquée chirurgicalement chez des rats mâles de souche Wistar, pesant 60 à 80 g. Lors des essais, soit quatre semaines environ après l'opération, les rats sont répartis en lots de six animaux, placés individuellement dans des cages à métabolisme permettant la séparation des urines et des fèces. Chaque animal reçoit par voie intrapéritonéale, 30 nmoles de produit iodé marqué par 100 g de poids corporel, soit une radioactivité comprise entre 10 et 20 μCi . Des expériences préliminaires ont montré, que si la dose de produit injecté est plus faible, la désiodation des iodotyrosines est trop élevée et trop rapide pour permettre une comparaison valable entre les divers produits.

Les urines recueillies pendant 24 heures sont alcalinisées par 1 à 2 gouttes de lessive de soude et conservées à -15° . Les iodures radioactifs sont séparés par électrophorèse sur papier Whatman 3 MM, pendant 3 heures, en tampon acétate d'ammonium 0,2 M (pH = 7), sous une tension de $4 \text{ V} \times \text{cm}^{-1}$ et une intensité de $0,8 \text{ mA} \times \text{cm}^{-1}$. Les proportions respectives des composés organiques halogénés et des iodures formés, sont calculées après enregistrement des radioélectrophorégrammes au Scanner Packard. Les animaux sont ensuite sacrifiés 24 h après l'injection et leur thyroïde prélevée. Les radioactivités urinaire, fécale, thyroïdienne, celle de l'animal et du matériel utilisé sont mesurées au computer γ à scintillation grâce à un dispositif qui supprime pratiquement les erreurs de géométrie.

RÉSULTATS

L'intensité de la désiodation des iodotyrosines et de leurs analogues structuraux est indiquée par des tableaux qui comportent les pourcentages de répartition de la radioactivité après injection aux rats et le taux d'iodures éliminés par voie urinaire. Les valeurs trouvées représentent la moyenne des résultats obtenus avec six animaux. La dispersion des valeurs individuelles autour de la moyenne est exprimée par le calcul de la déviation standard sur un petit échantillon pour un intervalle de confiance à 5 pour cent.

L'examen du Tableau 1 montre que l'élimination urinaire des métabolites iodés est importante puisqu'elle représente au minimum 30 pour cent de la radioactivité totale mise en jeu quel que soit le produit injecté. Cependant la captation thyroïdienne de ^{131}I semble plus élevée avec les dérivés iodés de la tyrosine qu'avec les autres composés étudiés.

Le taux d'iodures retrouvés dans les urines rend parfaitement compte de la désiodation périphérique d'un produit, comme il ressort du Tableau 2. La deshalogénéation des iodotyrosines de la série L est plus importante que celle de leurs analogues structuraux. La monoiodo-3 L-tyrosine et son isomère D sont plus rapidement désiodées que leurs homologues disubstitués.

L'influence de la glande thyroïde sur la désiodation *in vivo* des mêmes phénols

TABLEAU 1. RÉPARTITION EN POUR CENT DE LA RADIOACTIVITÉ TOTALE INJECTÉE, APRÈS LES 24 PREMIÈRES HEURES QUI SUIVENT L'ADMINISTRATION AU RAT NORMAL DE DIVERS PRODUITS PHÉNOLIQUES IODÉS

Produit injecté	Répartition de la radioactivité totale injectée (%)				
	Urines	Fèces	Thyroïde	Animal*	Matériel
Monoiodo-3 L-tyrosine	50,4 ± 5,0	6,5 ± 1,2	14,9 ± 2,5	14,1 ± 2,5	8,3 ± 1,5
Monoiodo-3 D-tyrosine	40,6 ± 4,8	8,2 ± 1,5	12,6 ± 2,1	20,6 ± 3,2	9,2 ± 1,6
Monoiodo-3 α-méthyl DL-tyrosine	60,7 ± 4,8	8,4 ± 1,5	2,4 ± 0,5	15,6 ± 2,5	6,1 ± 1,2
Diiodo-3,5 L-tyrosine	30,8 ± 4,2	8,1 ± 1,5	9,0 ± 1,6	36,7 ± 4,7	9,2 ± 1,6
Diiodo-3,5 D-tyrosine	36,5 ± 4,7	9,2 ± 1,6	6,2 ± 1,2	35,4 ± 4,6	7,8 ± 1,4
Diiodo-3,5 α-méthyl DL-tyrosine	56,5 ± 4,9	10,4 ± 1,8	2,4 ± 0,5	16,2 ± 2,7	9,3 ± 1,6
Acide β(diiodo-3,5 hydroxy-4 phényl) α-guanidylpropionique	48,0 ± 5,0	17,4 ± 3,2	4,6 ± 0,9	14,4 ± 2,4	8,5 ± 1,5
Acide β(diiodo-3,5 hydroxy-4 phényl) DL-lactique	44,5 ± 4,8	7,4 ± 1,3	3,2 ± 0,6	30,8 ± 4,2	6,4 ± 1,2
Acide α(diiodo-3,5 hydroxy-4 phényl) acétique	52,6 ± 4,9	5,4 ± 1,2	7,3 ± 1,3	16,0 ± 2,5	10,6 ± 1,8
Diiodo-3,5 tyramine	28,1 ± 4,2	7,3 ± 1,3	4,2 ± 0,8	45,6 ± 4,8	8,4 ± 1,6
Diiodo-3,5 norsynéphrine	28,5 ± 4,2	7,2 ± 1,3	3,2 ± 0,6	46,7 ± 4,8	8,4 ± 1,6

* Mesure réalisée après ablation de la thyroïde.
Chaque résultat est la moyenne obtenue avec six animaux.

TABLEAU 2. RÉPARTITION EN POUR CENT DE LA RADIOACTIVITÉ DES IODURES ÉLIMINÉS PAR LA VOIE URINAIRE, AU COURS DES 24 PREMIÈRES HEURES APRÈS ADMINISTRATION AU RAT NORMAL DE DIVERS PRODUITS PHÉNOLIQUES IODÉS

Produit injecté	Répartition de la radioactivité des iodures urinaires (%)	
	0-6 h	6-24 h
	Iodure	Iodure
Monoiodo-3 L-tyrosine	80,5 ± 3,5	90,8 ± 1,8
Monoiodo-3 D-tyrosine	50,6 ± 5,0	70,2 ± 4,5
Monoiodo-3 α-méthyl DL-tyrosine	4,2 ± 0,9	8,2 ± 1,6
Diiodo-3,5 L-tyrosine	65,5 ± 4,5	78,0 ± 3,8
Diiodo-3,5 D-tyrosine	18,2 ± 3,0	25,7 ± 3,7
Diiodo-3,5 α-méthyl DL-tyrosine	2,5 ± 0,5	4,2 ± 0,9
Acide β(diiodo-3,5 hydroxy-4 phényl) α-guanidylpropionique	4,0 ± 0,9	17,2 ± 3,1
Acide β(diiodo-3,5 hydroxy-4 phényl) DL-lactique	10,5 ± 1,9	25,0 ± 3,8
Acide α(diiodo-3,5 hydroxy-4 phényl) acétique	8,1 ± 1,6	25,5 ± 3,7
Diiodo-3,5 tyramine	10,2 ± 1,9	40,8 ± 4,8
Diiodo-3,5 norsynéphrine	5,2 ± 1,0	12,0 ± 2,2

Chaque résultat est la moyenne obtenue avec six animaux.

TABLEAU 3. RÉPARTITION EN POUR CENT DE LA RADIOACTIVITÉ TOTALE INJECTÉE, APRÈS LES 24 PREMIÈRES HEURES QUI SUIVENT L'ADMINISTRATION AU RAT THYRÉOPRIVE ET AU RAT NORMAL DE DIVERS PRODUITS PHÉNOLIQUES IODÉS

Traitement	Produit injecté	Répartition de la radioactivité totale injectée (%)				
		Urines	Fèces	Thyroïde	Animal*	Matériel
Animaux normaux	Monoiodo-3 L-tyrosine	33,8 ± 4,6	5,2 ± 1,0	15,5 ± 2,5	33,5 ± 4,5	6,3 ± 1,3
	Monoiodo-3 D-tyrosine	28,4 ± 4,2	6,4 ± 1,2	12,4 ± 2,2	35,9 ± 4,6	10,2 ± 1,9
	Monoiodo-3 α-méthyl DL-tyrosine	57,5 ± 4,8	9,3 ± 1,7	3,5 ± 0,6	15,2 ± 2,5	8,5 ± 1,5
	Diiodo-3,5 L-tyrosine	37,6 ± 4,6	9,4 ± 1,7	6,4 ± 1,2	33,4 ± 4,5	8,4 ± 1,5
	Diiodo-3,5 D-tyrosine	42,5 ± 4,8	10,3 ± 1,9	5,8 ± 1,1	28,1 ± 4,2	6,2 ± 1,2
Animaux thyroéoprives	Diiodo-3,5 tyramine	20,4 ± 3,2	9,6 ± 1,7	4,2 ± 0,9	49,4 ± 4,9	9,7 ± 1,7
	Monoiodo-3 L-tyrosine	38,5 ± 4,8	3,2 ± 0,8		48,5 ± 5,0	4,3 ± 0,9
	Monoiodo-3 D-tyrosine	25,7 ± 3,9	6,2 ± 1,2		56,4 ± 4,8	5,3 ± 1,0
	Monoiodo-3 α-méthyl DL-tyrosine	53,4 ± 4,9	8,5 ± 1,5		23,2 ± 3,6	7,4 ± 1,3
	Diiodo-3,5 L-tyrosine	30,8 ± 4,2	6,4 ± 1,2		50,6 ± 5,0	6,5 ± 1,2
	Diiodo-3,5 D-tyrosine	35,6 ± 4,6	7,9 ± 1,4		40,8 ± 4,8	9,2 ± 1,7
	Diiodo-3,5 tyramine	22,5 ± 3,5	8,1 ± 1,5		51,4 ± 5,0	9,7 ± 1,7

* Mesure réalisée après ablation de la thyroïde.

Chaque résultat est la moyenne obtenue avec six animaux.

TABLEAU 4. RÉPARTITION EN POUR CENT DE LA RADIOACTIVITÉ DES IODURES ÉLIMINÉS PAR LA VOIE URINAIRE, AU COURS DES 24 PREMIÈRES HEURES APRÈS ADMINISTRATION AU RAT THYRÉOPRIVE ET AU RAT NORMAL DE DIVERS PRODUITS PHÉNOLIQUES IODÉS

Traitement	Produit injecté	Répartition de la radioactivité des iodures urinaires (%)	
		0-6 h	6-24 h
		Iodure	Iodure
Animaux normaux	Monoiodo-3 L-tyrosine	88,6 ± 2,6	95,5 ± 1,0
	Monoiodo-3 D-tyrosine	40,8 ± 4,8	78,2 ± 3,9
	Monoiodo-3 α-méthyl DL-tyrosine	3,5 ± 0,8	11,4 ± 2,1
	Diiodo-3,5 L-tyrosine	61,7 ± 4,7	73,4 ± 4,3
	Diiodo-3,5 D-tyrosine	23,5 ± 3,5	60,5 ± 4,7
Animaux thyroéoprives	Diiodo-3,5 tyramine	15,6 ± 2,5	32,8 ± 4,4
	Monoiodo-3 L-tyrosine	85,5 ± 2,5	97,2 ± 0,8
	Monoiodo-3 D-tyrosine	22,3 ± 3,6	48,3 ± 5,0
	Monoiodo-3 α-méthyl DL-tyrosine	4,2 ± 0,8	18,4 ± 3,0
	Diiodo-3,5 L-tyrosine	61,8 ± 4,8	85,5 ± 2,5
	Diiodo-3,5 D-tyrosine	14,6 ± 2,6	35,7 ± 4,5
	Diiodo-3,5 tyramine	10,2 ± 1,8	44,9 ± 4,8

Chaque résultat est la moyenne obtenue avec six animaux.

iodés est illustrée par les Tableaux 3 et 4. Les différences constatées entre les animaux normaux du Tableau 3 et ceux du Tableau 1 peuvent s'expliquer par le fait que ces expériences ont été réalisées sur deux séries de rats prises à des époques différentes de l'année. L'influence des variations saisonnières sur les activités métaboliques de la thyroïde a déjà été signalée par divers auteurs.^{11,18} Malgré ces différences, la teneur en ¹³¹I de la thyroïde, qui est le reflet de la désiodation périphérique d'un produit, ne varie pas de façon notable.

La répartition de la radioactivité chez l'animal reste du même ordre, que les rats soient thyroéoprives ou normaux. L'analyse des urines révèle que la désiodation des iodotyrosines de la série L reste intense et n'est guère affectée par l'état hypothyroïdien des animaux. Mais il n'en est pas de même de leurs stéréoisomères D qui sont plus faiblement deshalogénés chez l'animal thyroéoprive que chez le rat normal. Cependant la monoiodo-3 L-tyrosine et son isomère D sont plus rapidement désiodées que leurs homologues disubstitués.

DISCUSSION ET CONCLUSION

La quantité d'iodures retrouvés dans l'urine dépend de la nature du composé iodophénolique administré à l'animal. Si la deshalogénéation des iodotyrosines de la série L est importante, celle de leurs isomères D, des acides diiodo-3,5 hydroxy-4 phényl DL-lactique et diiodo-3,5 hydroxy-4 phényl acétique, ainsi que de la diiodo-3,5 tyramine reste faible. Les autres produits iodés restent pratiquement inattaqués. Il est d'ailleurs probable que la formation d'iodures à partir des iodotyrosines de la série D procède d'une réaction secondaire car elles sont susceptibles de subir une désamination oxydative pour donner naissance au dérivé pyruvique qui se désiode spontanément.^{3,19} On peut penser que l'acide diiodo-3,5 hydroxy-4 phényl DL-lactique est attaqué par une oxydoréductase susceptible de le transformer également en composé pyruvique. Par contre, aucun fait ne permet d'expliquer a priori le comportement de l'acide diiodo-3,5 hydroxy-4 phényl acétique qui est un produit stable. La diiodo-3,5 tyramine est vraisemblablement désaminée en aldéhyde correspondant puis transformée en dérivé acétique que nous avons pu caractériser par chromatographie.

La monoiodo-3 α -méthyl DL-tyrosine est un inhibiteur de la tyrosine-hydroxylase plus puissant que son précurseur non iodé.²⁰ Cette substance n'est pas désiodée *in vivo* de même que son homologue diiodé. La substitution du radical aminé des iodotyrosines par un groupement guanidylé empêche toute désiodation du produit. La diiodo-3,5 norsynéphrine possède une activité hypertensive supérieure à celle de la norsynéphrine.²¹ Comme elle n'est pas désiodée *in vivo*, on peut supposer que ses propriétés pressives sont dues à la molécule elle-même, soit par action directe, soit en chassant les catécholamines de leur site de stockage.

La deshalogénéation des iodotyrosines de la série L n'est pas sensiblement affectée chez les sujets ayant subi l'ablation préalable de la thyroïde. Il n'en est pas de même de leurs isomères D qui sont plus faiblement désiodés. Le métabolisme de la diiodo-3,5 tyramine n'est pas modifié. En effet, l'inhibition éventuelle de la monoamine oxydase hépatique par la sécrétion thyroïdienne ne doit pas intervenir car la thyroxine n'en diminue l'activité qu'avec des doses élevées.²²

L'ensemble de notre travail montre qu'il existe une bonne corrélation entre la deshalogénéation des différents dérivés phénoliques administrés au rat et la spécificité

de l'iodotyrosine désiodase des microsomes thyroïdiens et hépatiques de mouton et de rat.¹⁴ En effet, dans les deux cas, ce sont les mêmes produits, principalement les iodotyrosines naturelles qui sont le plus intensément décomposées.

Résumé—Les recherches ont consisté à étudier chez le rat, la désiodation de onze composés représentés par la monoiodo-3 L-tyrosine, la diiodo-3,5 L-tyrosine et leurs analogues structuraux. Chez l'animal normal, les iodotyrosines de la série L sont intensément deshalogénées, alors que leurs isomères D, les acides diiodo-3,5 hydroxy-4 phényl DL-lactique et diiodo-3,5 hydroxy-4 phényl acétique, ainsi que la diiodo-3,5 tyramine sont en partie désiodés. Les autres produits iodés restent pratiquement inattaqués. Cependant, la monoiodo-3 L-tyrosine et son isomère D sont plus rapidement désiodés que leurs homologues diiodés. On obtient des résultats semblables chez le rat thyroïdectomisé, mis à part le fait que les iodotyrosines de la série D sont plus faiblement désiodées que chez le rat normal. Il existe une bonne corrélation entre la deshalogénation des différents dérivés phénoliques administrés au rat et la spécificité de l'iodotyrosine désiodase des microsomes thyroïdiens et hépatiques.

BIBLIOGRAPHIE

1. W. TONG, A. TAUROG et I. L. CHAIKOFF, *J. biol. Chem.* **207**, 59 (1954).
2. J. B. STANBURY, A. A. KASSENAR et J. W. MEIER, *J. clin. Endocrinol. Met.* **16**, 735 (1956).
3. J. ROCHE, R. MICHEL, O. CLOSON et O. MICHEL, *Rev. Franç. Et. Clin. Biol.* **3**, 135 (1958).
4. J. B. STANBURY et J. LITVAK, *J. clin. Endocrinol. Met.* **17**, 654 (1957).
5. P. E. FLETCHER, J. LITVAK et J. B. STANBURY, *Acta Endocrinol.* **29**, 307 (1958).
6. J. ROCHE, R. MICHEL, R. SONNTAG-NUSSENZWEIG et M. F. MELDOLESI, *C.R. Soc. Biol.* **154**, 1144 (1960).
7. R. MICHEL, R. TRUCHOT et B. POILLOT, *Bull. Soc. Chim. Biol.* **48**, 479 (1966).
8. J. ROCHE, R. MICHEL, O. MICHEL et S. LISSITZKY, *Biochim. biophys. Acta* **9**, 161 (1952).
9. J. ROCHE, O. MICHEL, R. MICHEL, A. GORBMAN et S. LISSITZKY, *Biochim. biophys. Acta* **12**, 570 (1953).
10. J. B. STANBURY, *J. biol. Chem.* **228**, 801 (1957).
11. J. B. STANBURY et M. L. MORRIS, *J. biol. Chem.* **233**, 106 (1958).
12. S. LISSITZKY, M. T. BENEVENT et J. ROCHE, *C.R. Soc. Biol.* **152**, 10 (1958).
13. S. LISSITZKY, M. T. BENEVENT, M. ROQUES et J. ROCHE, *Bull. Soc. Chim. Biol.* **41**, 1329 (1959).
14. P. DUMAS, B. MAZIERE, N. AUTISSIER et R. MICHEL, *Biochim. biophys. Acta* **293**, 36 (1973).
15. R. E. COUNSELL, T. D. SMITH, W. DIGUILIO et W. H. BEIERWALTES, *J. Pharmac. Sci.* **57**, 1958 (1968).
16. V. B. SCHATZ, B. C. O'BRIEN et W. R. SANDUSKY, *J. med. Chem.* **11**, 140 (1968).
17. J. ROCHE, S. LISSITZKY, O. MICHEL et R. MICHEL, *Biochim. biophys. Acta* **7**, 439 (1951).
18. R. MICHEL, 18ème Congr. Ass. Pédiâtres Langue Franç., Genève, Vol. I, pp. 1-43. Karger, Bâle (1961).
19. T. SHIBA et M. J. CHAMANN, *J. org. Chem.* **27**, 1773 (1962).
20. P. A. WEINHOLD et V. B. RETHY, *Biochem. Pharmac.* **18**, 677 (1969).
21. R. MICHEL, J. KLEPPING, H. TRON-LOISEL, R. TRUCHOT et J. P. DIDIER, *Biochem. Pharmac.* **13**, 1593 (1964).
22. R. MICHEL, R. TRUCHOT, N. AUTISSIER et B. ROSNER, *Biochem. Pharmac.* **15**, 1127 (1966).