

Informations - Informationen - Informazioni - Notes

STUDIORUM PROGRESSUS

Contribution à la chimiothérapie rationnelle de la tuberculose. Activité antituberculeuse de la bis-(dihydroxy-2,3-propoxyéthyl)-amine et de ses dérivés n-alcoylés

Par I. GRUNDLAND, P. RUMPF, R. GALLAND, N. CABAU et J. SADET¹

Les recherches effectuées depuis plus d'un demi-siècle, concernant le problème de la tuberculose et de sa chimiothérapie, ont contribué à réduire notablement, dans ce domaine, l'écart existant entre les sciences physique, chimique et biologique. Ainsi, grâce au travail patient des chercheurs, il est actuellement permis de raisonner :

a) sur la constitution chimique du bacille qui provoque la maladie (B.K.);

b) sur la qualité de la réponse de l'organisme et en particulier sur la composition des lésions caséuses caractérisant la tuberculose.

D'autre part, une connaissance parfaite de la structure de molécules douées d'activité thérapeutique autorise des efforts de synthèse en vue de déceler les liens de cause à effet entre les éléments du problème étudié.

Dans l'ensemble, cette étude se ramène à suivre les incidences possibles des agents chimiothérapeutiques sur les résultats de la rencontre entre les constituants du B.K. et ceux de l'organisme. Les faits accumulés concernant l'agent causal, le B.K., et la réponse de l'organisme à son contact, le caséum, nous obligent à accorder une attention particulière à la fraction lipidique de ces éléments.

Il n'est pas sans intérêt de rappeler que le B.K. contient 22,7 à 30 % de son poids sec en lipides, lipides particuliers puisqu'ils renferment des acides gras ramifiés et de poids moléculaires élevés: acides phthioïque, tuberculostéarique, mycolique ($C_{88}H_{76}O_4$). Les lipides extraits du bacille, comme d'ailleurs ces acides gras, suffisent seuls pour déterminer l'apparition d'une lésion tuberculeuse caractéristique caséifiée². D'ailleurs, les acides gras ramifiés disubstitués en α (α , α -diméthylstéarique ou α , α -diméthyl-oléylacétique), obtenus par voie de synthèse (n'ayant donc pas été en contact avec le bacille) déterminent la même lésion³. Quant à la lésion caséuse, elle est essentiellement constituée par un mélange de graisses (13,77 % à 23,79 % de son poids sec) et de protéines. Il semble donc y avoir, lors de la constitution de la lésion tuberculeuse, une rencontre entre les fractions grasses provenant du B.K. et de l'organisme avec mise à découvert de celles-ci.

Il est intéressant de noter que l'introduction d'une chaîne grasse dans une molécule envisagée en vue d'une action antituberculeuse contribue à faire apparaître ou à accentuer le pouvoir thérapeutique. Ainsi BARRY

constate une activité antituberculeuse du mono-ester éthylique de l'acide α -méthyl- α 'n-dodécyl succinique¹, activité liée d'une façon étroite à la présence de la chaîne grasse dans la constitution de la molécule.

AMES et BOWMAN², étudiant les pipéridines alcoylées et NODZU et collaborateurs³ étudiant les dérivés de l'alpha-amino-phénol, soulignent également l'importance de la chaîne grasse pour l'apparition de l'activité antituberculeuse. Le schéma de D'ARCY HART et collaborateurs⁴ (éthers polyoxyéthyléniques du paratertiocyl phénol condensés par le formaldéhyde) comporte une chaîne grasse octylique. Le Triton A 20 (aryl alcoyl polyether du phénol) accentue le pouvoir antituberculeux de la streptomycine⁵. ERLENMEYER⁶ observe une accentuation du pouvoir bactériostatique des amines aromatiques, substituées en para- par un groupement $R-O$, $R-S$, ou $R-CO_2$, en fonction de la longueur de la chaîne grasse du substituant. Enfin, tant pour le P.A.S.⁷ (combinaisons avec les acides chaulmoogriques et d'autres acides à radical cyclopentényle) que pour la streptomycine⁸ (alcoyl-streptomycylamines), l'introduction d'une chaîne grasse semble favoriser l'activité thérapeutique.

Tout se passe comme si, pour ces substances, une constitution apparentée aux lipides par la présence d'une chaîne grasse augmentait la probabilité d'atteinte du B.K.

Vu sous l'angle de l'incidence de la fraction lipidique dans le problème étudié, on peut dire que la caséification est l'aboutissement de la grande affinité des lipides du bacille pour ceux du protoplasme. Cette affinité entraîne une décomposition (démixion) des complexes lipoprotéiques protoplasmiques: la structure fine de l'éulsion protoplasmique est détruite, les lipides mis à découvert s'agglomérant à ceux du bacille pour former le caséum. L'action thérapeutique devrait donc tendre à atténuer l'effet pathologique du bacille, en réduisant l'affinité qu'il a pour les autres lipides, ceci par l'emploi de substances qui soient susceptibles d'adhérer aux lipides du bacille par leur chaîne paraffinique et qui, portant des groupements fonctionnels hydrophiles, formeraient un écran polaire entre le B.K. et le milieu ambiant, réduisant son affinité pour les lipides.

Grosso modo, on peut retrouver le schéma de la conception pharmacodynamique proposée dans l'expérience de LANGMUIR⁹ de prélèvement de couches monomoléculaires multiples sur lame métallique.

Cependant, en dehors de l'attraction latérale entre chaînes polyméthyléniques qui conditionnerait la caséifi-

¹ V. C. BARRY et D. TWOMEY, Proc. roy. Irish Acad. [B] 51, 192 (1947). - Voir également Mc. NALLY, Brit. J. exp. Path. 28, 161 (1947).

² D. E. AMES et R. E. BOWMAN, J. Chem. Soc. 1952, 1057.

³ R. NODZU, H. WATANABE, J. OKA, CH. NAGAISHI, T. TERAMATSU, H. ARIMA, M. KOGAME et K. KOBAYASHI, J. Pharmaceut. Soc. Japon 71, 713 (1951).

⁴ J. W. CORNFORTH, L. D'ARCY HART, R. J. W. REES et J. A. STOCK, Nature 168, 150 (1951).

⁵ M. SOLOTOROVSKY et F. J. GREGORY, Amer. Rev. Tuberculosis 65, 718 (1952).

⁶ H. BLOCH, G. BRUBACHER, H. ERLENMEYER et E. SUTER, Helv. chim. Acta 30, 539 (1947).

⁷ W. TATERKA, A. DEMOLIS et R. URSPURUNG, Exper. 7, 28 (1951).

⁸ W. A. WINSTEIN, C. I. JAROWSKI, F. X. MURPHY et W. A. LAZIER, J. Amer. Chem. Soc. 72, 3969 (1950).

⁹ K. B. BLODGETT et J. LANGMUIR, Phys. Rev. 51, 964 (1937) et Proc. roy. Soc. 1, 170 (1939).

¹ Laboratoire de Biochimie, Faculté de médecine, Paris, et Centre de recherche de Chimie organique, section de physico-chimie à Bellevue.

² R. ROBINSON, J. Chem. Soc. 1940, 505.

³ NG. PH. BUU HOI et A. RAKOTO RATSIMAMANGA, C. r. Soc. Biol. 137, 189 (1943).

cation, mais également une éventuelle rétention des substances thérapeutiques, un aspect particulier au bacille de Koch est la présence de carboxyles provenant des acides gras libres de sa fraction lipidique. Ce dernier fait entraîne l'utilité de la présence de groupements basiques au voisinage de la chaîne grasse, afin d'aider la fixation de la molécule thérapeutique sur les substances du B.K. Certains produits médicamenteux seraient susceptibles de se fixer sur le bacille seulement par leurs groupements basiques (pour la streptomycine, les groupements guanidiques et aminés, le groupement aminé pour le P.A.S., l'azote basique du noyau de la pyridine pour l'hydrazide de l'acide isonicotinique¹). Les molécules thérapeutiques conjuguant les deux aspects possibles de fixation au B.K. et comportant par ailleurs des groupements faiblement polaires, une fois fixées sur le B.K., lui communiquerait un caractère polaire que le bacille n'avait pas auparavant, modifiant complètement et annulant le problème de la tuberculose tel qu'il ressort des faits cités.

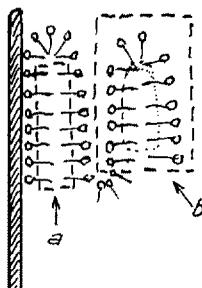


Fig. 1. a Problème de la tuberculose.—Attraction latérale entre chaînes polyméthyléniques amenant la caséification.
b Son traitement—revêtement polaire.

une molécule de l'acide gras et connaissant également la force correspondant à la mouillabilité acquise (par la balance de torsion), nous avons calculé l'énergie de liaison entre une molécule qui flottait en couche mince sur le plan de l'eau, et la lame de cire. Cette énergie (20×10^{-14} erg./mol. = 2900 cal/Mol-g) est d'un ordre de grandeur qui correspond bien à l'attraction latérale entre chaînes paraffiniques (forces de VAN DER WAALS), plutôt qu'aux énergies mises en jeu par les réactions ioniques — ce qui concorde avec l'hypothèse émise concernant le mécanisme physico-chimique de l'atteinte tuberculeuse.

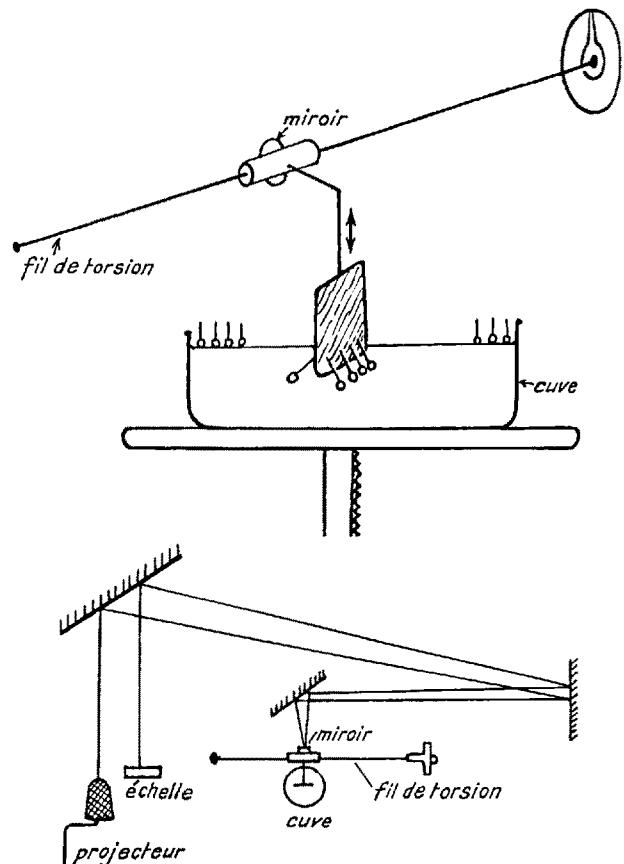


Fig. 2. Tensiomètre de mouillage de J. GUASTALLA, appareil présenté à la Société française de Physique, 49^e Exposition d'Instruments de Matériel scientifique, 29 mai 1952. D'après J. GUASTALLA, L. GUASTALLA et H. ROSANO, Bull. J.T.E.R.G. 1952, 60.

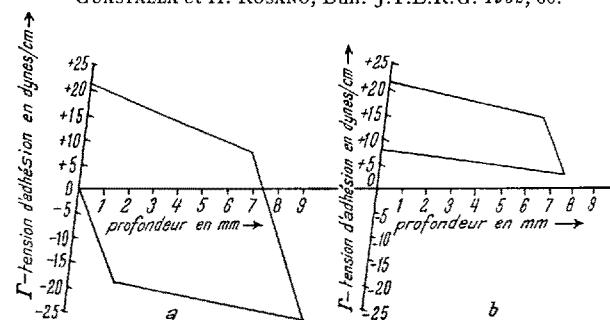


Fig. 3. Courbes de mouillage.

a Lame enduite de cire du B.K. sur eau pure; lectures toutes les 30".
b Lame enduite de cire de B.K. sur eau couverte d'un film monomoléculaire d'acide oléique ($\rho = 30$ dynes); lectures toutes les 30".

$$f = \frac{f}{\omega} = \frac{\Delta N \cdot 98}{\Delta N 100 \text{ mg } \omega}$$

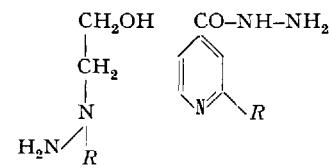
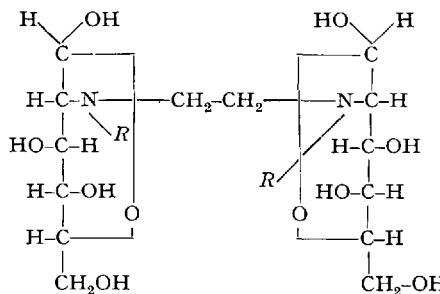
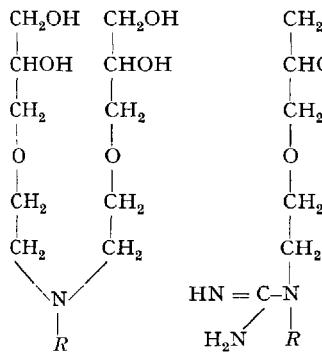
f = tension d'adhésion dynes/centimètres. ω = périmètre de la lame. ΔN = déviation du spot en centimètres.

¹ On connaît par ailleurs le pouvoir antiinflammatoire intense de l'I.N.H. qui interviendrait également dans son activité thérapeutique [R. DOMENJOZ, Schweiz. med. Wschr. 82, 1028 (1952)].

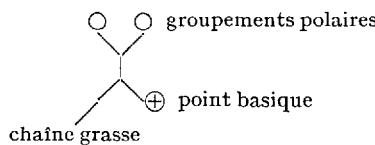
² I. GRUNDLAND, H. BULLIARD et M. MAILLET, Presse méd. 59, 406 (1951).

³ I. GRUNDLAND et D. LUZZATI, C. r. Soc. Biol. 143, 891 (1949). — I. GRUNDLAND, C. r. Acad. Sci. 232, 74 (1951).

⁴ I. GRUNDLAND et D. LUZZATI, C. r. Soc. Biol. 143, 891 (1949).

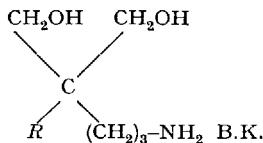


Ces prémisses nous ont guidés dans l'élaboration d'un schéma structural utile à titre d'antituberculeux — en vue de la synthèse de substances thérapeutiques dont les molécules comportent une partie destinée à être orientée vers le B.K. afin de s'y fixer, et une autre, destinée à modifier les caractéristiques globales du complexe ainsi formé, tendant en particulier à ôter au bacille son caractère paraffinique, lui communiquant au contraire un aspect hydrophile par un ensemble de groupements faiblement polaires. Faiblement polaires, pour ne point risquer le départ de la substance médicamenteuse fixée aux matières du B.K., à la faveur d'une réaction ionique entre les groupements polaires de ce produit et les molécules environnantes. En suivant le schéma structural suivant¹:



Nous avons effectué la synthèse de diverses molécules (voir les formules à la tête de cette page).

Peu après la publication de nos premiers résultats (27 février 1952), nous avons pris connaissance de la note de V.C. BARRY (mars 1952)²: partant de considérations différentes des nôtres, BARRY a réussi à obtenir des substances tuberculostatiques se rapprochant beaucoup des amines que nous avons préparées et notamment des alcoyl- δ , δ -bis-(hydroxyméthyl)-amines, où le même schéma structural se retrouve aisément.



C'est surtout la série des bis-(dihydroxy-2,3-propoxy-éthyl)-alcoylamines qui nous a servi pour éprouver la validité de l'idée pharmacodynamique exposée. Dans les synthèses de ces composés³, nous avons pris soin de pourvoir la molécule d'une chaîne voisine d'un groupement alcalin, d'y incorporer par ailleurs un certain nombre de groupements faiblement polaires et de lier les deux entre eux solidement. Nous attendions une activité antituberculeuse d'une telle configuration moléculaire.

¹ I. P. GRUNLAND, RUMPF et R. GALLAND, C. r. Acad. Sci. 234, 1098 (1952).

² V. C. BARRY et D. TWOMEY, Proc. roy. Irish Acad. [B] 55, 3 (1952).

³ Par condensation de la monochlorhydrine de la glycérine avec la diéthanolamine sodée ou ses homologues alcoylés à nombre varié de carbones (4 à 12).

Dès l'introduction d'une chaîne grasse dans l'édifice moléculaire, nous avons eu à envisager la balance hydrophile-lipophile de ces molécules. Ainsi l'étude de leur

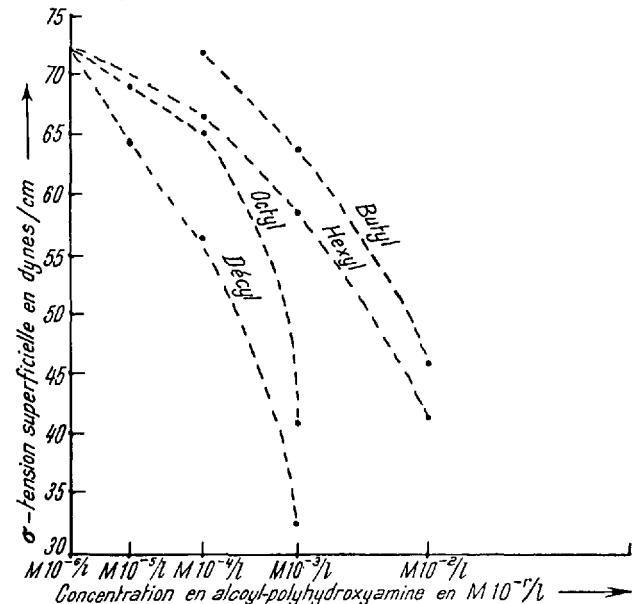
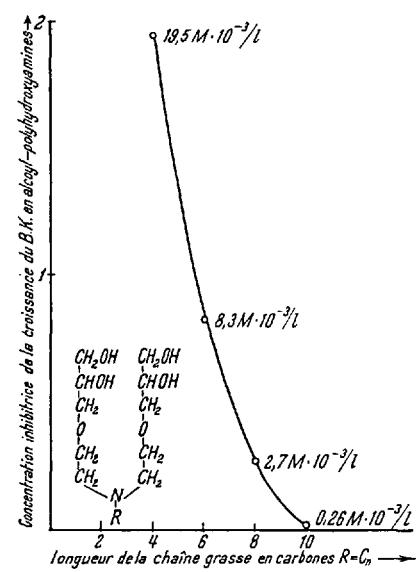


Fig. 4. Concentration en alcoyl-polyhydroxyamine en $M.10^{-n}/l$.—Absc. σ = tension superficielle en dynes/centimètres.—Ord.



Longueur de la chaîne grasse en carbones $R = C_n$. —Absc. Concentration inhibitrice de la croissance du B.K. en alcoyl-polyhydroxyamines.—Ord.

Fig. 5.

Tableau I

Concentration des alcoyl-polyhydroxy- amines au point d'activité isocapillaire de FREUNDLICH (à 60 dynes/centimètres)	Tension superficielle à la concentration de $M \cdot 10^{-3}/1$ (en dynes/centimètres)	Taux d'inhibition totale de la croissance du B.K. souche DUPRAY S pour 1 cm ³ milieu de culture (DUBOS et TWEEN 80)
$R =$		
H	63	(réduction croiss. 50%) (6,6 mg $26 M \cdot 10^{-3}/1$)
C_4H_9 15,87 $M \cdot 10^{-4}/1$	59,5	6 mg $19,5 M \cdot 10^{-3}/1$
C_6H_{13} 8,71 $M \cdot 10^{-4}/1$	41	2,8 mg $8,3 M \cdot 10^{-3}/1$
C_8H_{17} 2,188 $M \cdot 10^{-4}/1$	33	0,98 mg $2,7 M \cdot 10^{-3}/1$
$C_{12}H_{25}$ 0,398 $M \cdot 10^{-4}/1$	28	0,1 mg $0,26 M \cdot 10^{-3}/1$
(produit presque totalement en surface)		

solubilité montre une dissolution parfaite des termes comportant des chaînes jusqu'à 8 carbones, alors qu'une opalescence apparaît à partir de l'homologue à 10 carbones et s'accentue pour les molécules plus lourdes. L'étude de la tension superficielle de ces solutions montre une tendance à l'enrichissement superficiel et à l'émergence de la phase aqueuse, d'autant plus accentuée que la masse du substituant croît.

Une activité bactériostatique vis-à-vis du B.K. en milieu de culture a été constatée et évolue dans le même sens que l'action de ces substances sur la tension superficielle. Ainsi, dans le schéma destiné à être bactériostatique, une telle activité est apparue, confirmant la justesse des prémisses théoriques. De plus, alors que l'amine polyhydroxylée secondaire ne réduit que de 50% la croissance du B.K. au taux de 6,6 mg par centimètre cube de milieu de culture (et n'est donc nullement毒ique pour ce bacille, même présente en forte concentration), ces amines polyhydroxylées alcoylées sont bactériostatiques. Elles le sont à des concentrations d'autant plus faibles que la chaîne grasse du substituant est plus importante: en proportions équimoléculaires, on obtient un effet bactériostatique, avec la décyl-polyhydroxyamine par exemple, à une concentration près de cent fois plus faible que celle qui, avec l'amine secondaire correspondante (non alcoylée) ne détermine qu'une réduction de 50% de la croissance bactérienne.

Tableau II

Cobayes de 300 g tuberculinisés par voie intra-dermique
(inoculation B.K. souche DUPRAY S)
traités par

Produit (Durée de traitement 30 jours)	Peau, Ganglions (Gravité maximum 4 pour chaque organe)	Rate	Total
<i>Polyhydroxyamines</i>			
$R = H$			
33 mg dans 1 cm ³ par jour	3	4	7
$R = C_6H_{13}$	3	4	7
18 mg dans 1 cm ³ par jour	4	4	8
$R = C_8H_{17}$			
28 mg dans 1 cm ³ par jour			
$R = C_{12}H_{25}$			
35 à 23 mg dans 1 cm ³ par jour	Petite escarre Pas de ganglions	1	3
	Escarre cicatrisée		
	Ganglion caséux		
<i>Streptomycine</i>			
15 mg dans 1 cm ³ par jour	2	0	2
<i>I. N. H.</i>			
10 mg à 7 mg dans 1 cm ³ par jour.	0	0	0

Dès qu'on déséquilibre suffisamment la balance lipophile-hydrophile en faveur de la phase lipophile, la substance émerge plus aisément de la phase aqueuse: il en résulte un enrichissement superficiel avec abaissement de la tension superficielle de l'eau, et corrélativement, la molécule tend à se fixer de mieux en mieux aux substances paraffiniques (légèrement acides) et en particulier, à celles du B.K. introduisant un écran de groupements hydroxyle entre les individus microbiens.

Les hydroxyles alcooliques sont peu réactifs. Nous pouvions donc nous attendre, lorsque la balance lipophile-hydrophile de la molécule, très nettement orientée en faveur de la phase lipidique, favorise la rencontre avec le B.K., à ce que cette molécule soit peu sollicitée par des substances à activité ionique appréciable. Une activité antituberculeuse durable *in vivo* était donc prévisible.

Des expériences préliminaires, actuellement reprises sur une plus large échelle, nous ont montré l'apparition d'un pouvoir protecteur pour les cobayes tuberculinisés par voie intradermique. Alors que l'amine secondaire non alcoylée et certains dérivés à chaîne trop courte (2, 4, 6 ou 8 carbones) provoquent l'aggravation et l'essaimage de la tuberculose expérimentale, avec la lauryl-polyhydroxyamine, une certaine protection s'est manifestée aux taux de 60 à 100 mg par kg, en injections intramusculaires, tant pour les organes profonds qu'au point d'inoculation. Il importe cependant de souligner que les premiers produits étudiés sont néanmoins très irritants par injections répétées: il serait donc fort imprudent de préjuger dès maintenant de leurs possibilités d'applications thérapeutiques.

La lauryl glycéroxy-éthyl guanidine reproduisant le même schéma structural est tuberculostatique à 40 μ par centimètre cube. L'hydroxyamine de BARRY à même schéma structural est active à 50 μ .

Il apparaît donc que la somme des connaissances accumulées par l'analyse du problème de la tuberculose conduit à une synthèse efficace, englobant l'explication du mécanisme de la lésion et la façon d'y obvier.

Zusammenfassung

Eine Prüfung der Bedingungen zur Erzielung einer antibakteriellen Wirkung in der Tbc-Therapie hat uns dazu geführt, ein Molekülschema zu verwirklichen. Für eine gleiche Anzahl polarer Hydroxylreste enthaltender Gruppen, die durch ätherische Sauerstoffbrücken an den hydrophoben Teil des Moleküls gebunden sind, tritt in diesem Modell eine tuberkulostatische Wirkung auf, wenn das Molekül außerdem eine basische Gruppe enthält. Die Wirkung wird noch verstärkt durch einen aliphatischen Rest in einer zur basischen Gruppe benachbarten Stellung.