REVUE CRITIQUE

REMARQUES SUR LES ANTIBIOTIQUES PRINCIPALEMENT D'ORIGINE FONGIQUE

Par Ph.-J. LUTERAAN

Nous pensons que le moment est venu de coordonner les résultats partiels que nous avons exposés dans différentes publications et d'éclairer ceux qui ont pu les lire sur le but que nous poursuivions et sur la pensée qui a dirigé nos recherches, d'ailleurs toutes récentes, sur les antibiotiques.

Si les efforts effectués dans ce domaine visent, en général, à obtenir un résultat immédiat, spectaculaire, tel que la découverte d'un antibiotique nouveau, ou un résultat pratique, tel que l'essai des antibiotiques, leur extraction, leur purification, l'étude d'une action spécifique ou non à l'égard de tel ou tel microorganisme, leur identification chimique ou leur synthèse, nous avons, au contraire, pensé que le hasard des recherches se restreindrait considérablement si on arrivait à résoudre ces trois problèmes fondamentaux (1):

- pourquoi les antibiotiques sont-ils produits ?
- quel est leur rôle biologique ?
- comment agissent-ils ?

Nous n'avons pas la prétention d'apporter une solution définitive, mais seulement de donner des solutions partielles à ces divers problèmes, avec l'espoir qu'elles contribueront efficacement à la découverte de nouveaux antibiotiques et à la réalisation d'antibiotiques de synthèse en se basant sur des données physiologiques précises que nous exposerons.

(1) Toutefois, nous n'avons jamais négligé le côté purement pratique et, dans une publication antérieure, nous avons démontré l'avantage qu'il y avait à utiliser, pour la recherche et l'essai de substances antibiotiques, des milieux non alcalinisés, stérilisés suivant la méthode de Sabouraud-Langeron, milieux à point de liquéfaction peu élevé et beaucoup plus diffusifs.

I. — SIGNIFICATION PHYSIOLOGIQUE DE LA PRODUCTION DES ANTIBIOTIQUES

Tout d'abord, il apparaît que la production de substances antibiotiques n'est pas un hasard, elle est une propriété de groupe chez les *Penicillium* et correspond étroitement avec la classification de ces Aspergillacées, comme l'a indiqué Langeron (1).

La production d'antibiotiques représente une adaptation biochimique caractéristique d'un genre, d'une espèce ou d'un groupe d'espèces (2).

Nous considérons ces vues de Langeron comme une indication importante pour les recherches futures d'antibiotiques en se basant sur des données tirées de la systématique.

Nous pensons qu'un antibiotique est, essentiellement vis-à-vis de l'organisme qui le produit, une substance d'excrétion. Excrétion a ici une signification bien précise : élimination d'un catalyseur usé, devenu inutilisable pour la cellule qui l'a produit, ou d'un catalyseur produit en excès (3).

Il s'agit souvent d'un catalyseur respiratoire, ou de la desmolyse si on préfère, qui parvient progressivement ou par étapes à un potentiel d'oxydo-réduction si élevé que finalement il jouerait, à l'égard de la cellule qui le produit, le rôle d'antibiotique s'il s'accumulait. Cette substance d'excrétion peut être soluble ou non, diffusible ou non ; elle peut, dans ce dernier cas, s'accumuler dans la paroi cellulaire.

Nous tenterons, en nous basant sur quelques exemples simples, de démontrer cette conception du rôle physiologique de la production des antibiotiques.

Un premier exemple, très démonstratif, est fourni par l'étude, en culture sur lame, du développement du *Pullularia pullulans* ; on

(1) Cours complémentaire de mycologie médicale à l'Institut de parasitologie de la Faculté de médecine de Paris, juin 1946.

(2) Heim (Heim, 1942) avait, dans un exposé remarquable, introduit, en ce qui concerne les pigments des champignons, la notion de leurs rapports avec la systématique ; Florkin (1944) démontre l'importance des faits d'adaptation et d'évolution biochimique dans leur ensemble ; ils se retrouvent dans toute une série de phénomènes physiologiques, notamment dans l'excrétion dans la série animale.

(3) Cette définition physiologique de l'excrétion mérite d'être généralisée, car il est bien probable que l'on finira par trouver, pour toutes les substances d'excrétion, qu'elles soient d'origine végétale ou animale, une signification de catalyseur en excès ou usé ; l'action de l'urée sur la diurèse et du gaz carbonique sur la fréquence et la régulation respiratoire chez l'homme en sont des exemples simples.

sait que les éléments cellulaires les plus jeunes et les spores sont incolores et ne présentent pas de pigment mélanique (1).

Celui-ci apparaît progressivement dans les cellules plus âgées et est maximum dans les cellules mortes. D'autre part ce champignon, comme tous les champignons à pigment mélanique, tels que les Dématées des genres *Alternaria*, *Hormodendron*, est azymatique. Nous en avons conclu, avec Champeau (Champeau et Luteraan, 1946), que la mélanine agit comme substance prooxygène, ayant pour effet d'élever dans son ensemble le potentiel d'oxydo-réduction cellulaire et de s'opposer ainsi à une anaérobiose éventuelle. La mélanine, en s'oxydant, parvient à son potentiel d'oxydo-réduction le plus élevé, de façon irréversible et elle ne figure finalement dans la paroi des cellules que comme une substance d'excrétion. Un fait remarquable encore et d'observation courante est que ces champignons à pigment mélanique, de même que les *Aspergillacées*, les champignons du genre *Fusarium*, etc..., ont la propriété de se développer d'emblée en culture pure, c'est-à-dire non souillés de bactéries (assez rarement de *Bacillus subtilis*) ; ceci nous avait conduit primitivement à rechercher une substance antibiotique produite par des *Alternaria* ou des *Hormodendron* ; nous avons compris par la suite que ce pouvoir de défense contre les bactéries devait dépendre totalement ou essentiellement du pouvoir prooxygène élevé des mélanines. Il y a donc là une relation frappante entre les pigments et le pouvoir antibiotique.

Un second exemple, encore très banal, est le suivant : si on prélève par raclage une certaine étendue de la surface d'une culture de bactéries ou de levures, on constate que ces microorganismes, du moins pour un certain temps, ne se développent plus sur la surface raclée. On a pu parler de milieux vaccinés, d'épuisement local en substances nutritives ou en facteurs de croissance (ce qui est, en l'occurrence, contraire aux lois de diffusion dans les gels) (2).

L'explication la plus générale nous semble être l'accumulation de substances d'excrétion qui exercent une véritable action inhibitrice sur les organismes producteurs.

De ce second exemple, il convient de rapprocher celui des ferment-

(1) Nous considérons le pigment fuligineux des Dématées comme une mélanine, et nous appuyons cette opinion sur nos recherches personnelles et celles de Gastaud (Gastaud, 1944).

(2) Voir à ce sujet l'article de Broom (Broom, 1929). Nous pensons que l'on pourrait améliorer la qualité et la longévité des cultures en y adjoignant certains adsorbants sélectifs fixant les substances d'excrétion. Dans d'autres cas, il pourrait y avoir intérêt à augmenter artificiellement cette excrétion par l'emploi de milieux de culture appropriés pour en tirer des substances antibiotiques pour le micro-organisme lui-même.

tations en anaérobiose stricte. L'alcool et les autres substances produites au cours de la fermentation représentent physiologiquement des substances d'excrétion ; le rendement énergétique est mauvais, vu la faible multiplication cellulaire ; mais l'abaissement du potentiel d'oxydo-réduction chez la cellule astreinte à l'anaérobiose empêche l'assimilation plus avancée des glucides.

Un exemple encore plus particulier est celui de l'*Eremothecium ashbyi* qui, dans les milieux gélosés glycosés et peptonés, excrète en abondance de la lactoflavine (Guilliermond). Pourtant la lactoflavine, coenzyme de la protéoflavine ou tampon respiratoire de Wurmser, est quasi-constante dans les organismes cellulaires, même anaérobies ; peut-être y a-t-il là un processus de détoxication de la cellule de l'*Eremothecium ashbyi* vis-à-vis de l'alloxane ou du ribose (1) ?

L'excrétion d'antibiotiques à structure polypeptidique nous rapproche de l'excrétion des toxines par les bactéries ; nous ne pensons pas qu'il s'agisse de catalyseurs ayant servi à la desmolyse.

Ces différents exemples nous montrent que les antibiotiques constituent des substances d'excrétion parmi d'autres. L'importance de cette excrétion et la nature des substances excrétées dépendent en grande partie des conditions d'aérobiose et de la composition du milieu nutritif. Ces faits sont bien connus en ce qui concerne les *Penicillium* ; nous n'y insisterons pas sinon pour faire remarquer que les champignons effectuent souvent les synthèses les plus compliquées alors qu'ils végètent sur des milieux nutritifs très pauvres ; c'est là un fait, connu depuis longtemps des mycologues, mais qui n'exclut nullement que l'addition à un milieu de culture d'un facteur particulier, jouant le rôle de catalyseur, puisse accroître la production d'antibiotiques, de même que l'addition de phosphates à un milieu de fermentation accroît la production d'alcool.

II. — RÔLE BIOLOGIQUE DES ANTIBIOTIQUES

Les exemples précédents nous amènent tout naturellement à considérer le rôle biologique, ou naturel si on préfère, des antibiotiques, car il est bien évident que ces catalyseurs, excrétés parce qu'usés ou en excès, peuvent exercer une action favorisante ou

(1) Il est en effet très remarquable que le ribose, composant de l'acide zymonucléique, n'est pas fermentescible par les levures (Spegelman et Mozawa, 1945). Des travaux récents, notamment ceux de Verne (Verne, 1946), ont mis en évidence l'importance physiologique de l'alloxane, dont la présence a été reconnue dans différents tissus animaux.

inhibitrice sur d'autres organismes. On ne saurait séparer ces deux modes d'action qui peuvent appartenir à une même substance, ce qui exclut toute interprétation finaliste, à savoir que l'excrétion d'un antibiotique serait un procédé de défense pour certains organismes contre d'autres organismes.

En réalité l'action de la substance d'excrétion sur d'autres organismes dépend du type respiratoire de ces derniers et on ne peut séparer la question des antibiotiques de celle des facteurs de croissance. Nous voyons-là une voie nouvelle de recherches, devant amener à trouver des substances antibiotiques parmi des facteurs de croissance et à trouver parmi des antibiotiques des facteurs de croissance nouveaux.

C'est cette voie que nous avons commencé à suivre et nous avons trouvé que des substances comme la lactoflavine R (Roche) avaient un effet antibiotique à l'égard de levures telles que le *Candida krusei* et le *Torulopsis neoformans* (Luteraan et Denis, 1946, 1 et 2).

Un autre exemple est celui de la pénicilline ; nous n'insisterons pas sur son action antibiotique, si bien établie et si bien étudiée depuis la découverte géniale de Fleming. Mais nous devons rapporter la remarquable observation de Schopfer qui, à un moment où la pénicilline était encore aussi ignorée (Schopfer, 1933), avait constaté qu'un *Penicillium* ayant souillé une culture de *Phycomyces nitens*, avait excrété dans cette culture une substance qui agissait comme un facteur de croissance exceptionnel à l'égard de ce *Phycomyces* (1).

Enfin l'étude de l'action des catalyseurs sur divers microorganismes, par la méthode de diffusion en gélose, nous a montré (Luteraan et Denis, 1946, I) qu'une même substance, suivant sa dose ou sa concentration, peut exercer une action inhibitrice ou favorisante (2) ; c'est le cas notamment du fluorure de sodium, facteur de croissance à faible dose, facteur d'inhibition à dose plus importante pour les levures. Nos expériences confirment, à propos de cette dernière substance, celles de Béraud (1943), dont nous n'avions pas tout d'abord eu connaissance.

(1) Peut-être s'agit-il d'un facteur autre qu'une pénicilline ou d'un autre antibiotique produit par les *Penicillium* ; nos expériences confirment qu'il s'agit d'un facteur différent de l'aneurine et qui ne peut remplacer celle-ci. Nous aurons l'occasion de revenir sur cet important sujet. Mais le fait qu'une même substance puisse être antibiotique à l'égard d'un microorganisme et facteur de croissance pour tel autre subsiste ; ainsi la lactoflavine R, antibiotique pour les levures, est un facteur de croissance pour le *Pseudomonas aeruginosa* (Luteraan, 1946, 3).

(2) La notion de facteurs favorisants ou d'inhibition semble par trop méconnue des microbiologistes, qui emploient couramment la peptone dans leurs milieux, les neutralisent brutalement par la soude et pratiquent des stérilisations à des températures trop élevées et de façon trop prolongée.

III. — MÉCANISMES D'ACTION DES ANTIBIOTIQUES

On nomme antibiotiques des substances qui s'opposent au développement et à la multiplication d'organismes cellulaires. Ce sont donc des substances bien différentes de celles qui se produisent dans les organismes animaux sous l'effet, notamment, d'un antigène.

Néanmoins ce terme d'antibiotique reste très général et ne préjuge en rien du mécanisme d'action. Ainsi on pourrait conclure que les antagonismes entre champignons, entre bactéries ou entre champignons et bactéries, si bien décrits par Waksman (Waksman 1945) ; que l'antagonisme d'un tubercule d'ophrydée à l'égard de certains champignons des mycorhizes (Noël Bernard et Magrou) ; que la défense des graines en voie de germination contre les bactéries du sol ; que la formation de tanin, d'alcaloïdes ; que la production d'anthocyanes ; que les barrages sexuels si bien étudiés par Brodie et Vandendries, puis par Buller (Langeron, 1945, p. 627), sont tous des actions antibiotiques ! Ces différents phénomènes sont extrêmement intéressants, mais qu'il s'agisse toujours d'une action antibiotique, ceci est loin d'être démontré.

Quelle est donc la définition d'un antibiotique ? Doit-on définir une substance comme antibiotique en se basant sur son origine biologique ? Non, car il est des substances chimiques entièrement synthétiques qui ont une action comparable.

Peut-on la définir par le fait d'une action intense à une dose très faible ? Non, car il est des substances antibiotiques qui n'agissent qu'à une dose relativement importante.

Peut-on la définir par une absence de toxicité à l'égard des organismes animaux ? Non plus, la gliotoxine par exemple est très toxique.

Peut-on la définir par une action bactériostatique analogue à celle des sulfamides ? Non, car il est des antibiotiques bactériostatiques (type streptomycine), des antibiotiques qui tuent les microorganismes de façon immédiate, d'autres qui, non seulement tuent (1), mais détruisent les cellules (surtout par exemple) (2). Enfin, dans l'action des antibiotiques à l'égard des bactéries à l'intérieur du corps des animaux, il faut tenir compte de l'effet secondaire dû aux

(1) Nous considérons que la façon dont les micro-organismes sont tués (rayonnements, dessiccation, éclatement, antibiotiques, etc...) exerce une grande influence sur la libération chimique de telle ou telle molécule au cours de l'autolyse aseptique qui suit.

(2) La subtiline n'a, par contre, aucune action lésante sur les cellules animales (Sall et Taun, 1946).

cadavres des bactéries tuées ; ceci pourrait expliquer que des antibiotiques peu actifs *in vitro* peuvent être beaucoup plus actifs *in vivo*.

En réalité, la définition de substance antibiotique ne peut être donnée que si on connaît son mécanisme d'action. Le problème se resserre immédiatement, si on fait cette première constatation que nous ne disposons pas actuellement d'antibiotiques à l'égard des virus filtrants qui, selon des données récentes, ne respireraient pas, et cette seconde constatation que l'on ne connaît pas d'antibiotiques produits par des organismes anaérobies.

Fildes, Hotchkiss (in Waksman 1945, p. 196) avaient entrevu que l'action particulière des antibiotiques était due à leur pouvoir anticatalysant sur la respiration des bactéries. A la spécificité du type respiratoire devrait donc correspondre un type donné d'antibiotique.

Nous pensons avoir réalisé un progrès dans la solution de ce problème en établissant par des expériences précises (Luteraan 1946, 3 et 4), l'action de certains antibiotiques (et également de facteurs de croissance), sur la respiration de bactéries ou de levures.

Deux éléments essentiels nous ont guidé au cours de l'expérimentation :

1° la méthode manométrique de Warburg indique un arrêt respiratoire sans en indiquer la cause ; il pourrait être aussi bien considéré comme une conséquence de la mort cellulaire ;

2° la méthode néphélométrique de Lwoff et Quérido n'indique qu'une modification de la multiplication cellulaire.

Nous avons alors imaginé de remplacer l'étude directe des phénomènes respiratoires par l'étude de l'assimilation du glucose, et de ses dérivés desmolytiques par une bactérie ou une levure, grâce à la méthode de Beijerinck ; en somme, nous amplifions par l'expérience les phénomènes desmolytiques intracellulaires et nous obtenons ainsi une image indirecte, mais très précise et photographiable, de ce qui se passe dans la cellule, de sa respiration et de l'action de diverses substances sur cette respiration. Cette méthode est très générale et susceptible d'applications immenses. Elle a confirmé des résultats obtenus par d'autres méthodes et nous a permis aussi de constater de nombreux faits nouveaux. Cependant, aussi intéressante que soit cette adaptation de la méthode auxanographique de Beijerinck, elle reste une méthode qualitative, et nous préconisons pour la remplacer la méthode suivante que nous avons imaginée, mais que, faute de moyens, nous n'avons pu réaliser. Le principe en est le suivant :

— associer, par un même appareil, la mesure néphélométrique et la mesure manométrique de la respiration ;

— comparer les mesures obtenues dans des milieux contenant soit du glucose, soit un de ses dérivés desmolytiques : acide malique, ou succinique, ou citrique, ou pyruvique, etc...

On obtiendra ainsi un dosage rigoureux d'une action favorisante ou inhibitrice sur la respiration cellulaire et notamment d'une activité antibiotique. On pourra aussi, par cette méthode, déterminer l'identité d'une substance antibiotique par sa spécificité d'action.

C'est ainsi que nous avons découvert que la lactoflavine R a sur le *Candida krusei*, pour lequel elle est antibiotique, l'effet suivant : elle bloque l'assimilation du glucose à un stade desmolytique, compris d'une part entre ce sucre et d'autre part entre acide succinique ou acide citrique, qui ne sont pas assimilés, pas plus que l'acide pyruvique. Dans le cas présent, la lactoflavine étant électroactive, la mesure de son potentiel de demi-réduction pourrait contribuer à localiser cette action inhibitrice.

Nous ne saurions trop insister sur l'importance qu'il y a à déterminer si une substance antibiotique est électroactive et à mesurer son potentiel de demi-réduction en ce cas ; la notion de potentiel d'oxydo-réduction, si bien exposée par Wurmser qui en a notamment établi l'importance pour de nombreux phénomènes biologiques, ne saurait tout expliquer, notamment dans le domaine de la lipogénèse et de la protéogénèse, mais est capitale pour une étude approfondie des phénomènes desmolytiques, de ses catalyseurs et de ses anticatalyseurs. Elle peut s'étendre à des substances non électroactives, quand on peut localiser leur action dans une chaîne de réactions.

Donc, dans cette action des antibiotiques sur la respiration, il faut considérer deux éléments essentiels :

1° à quelle étape de la desmolyse, une substance antibiotique exerce son action, et quel est son potentiel de demi-réduction ;

2° quel est le type respiratoire de la cellule atteinte : type respiratoire déjà indiqué par une tendance plus ou moins aérobie ou anaérobie, précisé par la nature de ses catalyseurs et le potentiel d'oxydo-réduction intracellulaire, comme l'a indiqué Wurmser.

Nous avons encore pu prouver indirectement que l'action antibiotique devait être presque toujours une action anticatalytique sur la respiration cellulaire, en démontrant que des inhibiteurs de fermentation et des substances pro- ou antioxygènes possèdent fréquemment un pouvoir antibiotique élevé.

IV. — ESSAI DE CLASSIFICATION DES ANTIBIOTIQUES D'APRÈS LEUR MÉCANISME D'ACTION

Nous considérons que, dans l'état actuel de la science, les antibiotiques peuvent se répartir en trois grands groupes d'après leur action sur la respiration ; un quatrième groupe constitue un groupe d'attente et comprend essentiellement les antibiotiques à structure polypeptidique.

A. Groupe des substances électroactives

Il comprend un grand nombre de substances biologiques à action antibiotique : pyocyanine, chlororaphine, iodinine, etc..., probablement pénicilline, qui contient un fragment thiazolique, ce même fragment thiazolique qui, dans la cocarboxylase, joue le rôle de transporteur d'électrons en vibrant de l'état oxydé à l'état réduit (1).

Ce sont des substances généralement peu toxiques pour les organismes animaux, très sélectives, agissant sur un type respiratoire cellulaire déterminé.

Le processus de détoxication réalisé par les organismes qui les produisent et leur absence relative de toxicité doivent inciter, dans le domaine de la synthèse chimique, à tenter de fixer, en un point convenable des molécules de substances toxiques, telles que les dérivés quinoniques ou des alcaloïdes, etc..., un fragment thiazolique ou une molécule de ribose (2), etc...

On pourrait ainsi tenter de réaliser trois effets :

- 1° conférer l'électroactivité ;
- 2° diminuer la toxicité ;
- 3° augmenter la sélectivité.

De plus, la notion d'électroactivité doit inciter à rechercher un pouvoir antibiotique à des substances électroactives synthétiques et notamment à certaines d'entre elles qui fournissent des leuco-dérivés, tels que les colorants oxaziniques et thiaziniques (3).

(1) Nous avons constaté expérimentalement que, dans certains milieux synthétiques, le développement des *Penicillium* pouvait s'effectuer en l'absence d'aneurine ou de l'une de ses deux fractions, pyrimidique et thiazolique ; peut-être la synthèse de cette dernière est-elle beaucoup plus rapide que celle de la fraction pyrimidique ; ces deux synthèses s'effectuent indépendamment, comme l'a montré Schopfer, d'où la conséquence vraisemblable que la fraction thiazolique produite en excès doit être excrétée.

(2) La lactoflavine atoxique devient toxique par perte de la molécule de ribose en se transformant en lumiflavine.

(3) Nous avons constaté notamment que la gallocyanine (colorant oxazinique) agissait comme facteur de croissance à l'égard des levures.

B. Groupe des substances non électroactives

Le type classique de ces substances est représenté par les inhibiteurs de fermentation, tels que le fluorure de sodium, l'acide acétique monohalogéné, l'uréthane et le rouge Congo, ce dernier paraissant le moins toxique. Ils ont une action très précise de blocage sur une réaction diastasique déterminée.

Il y a là une voie de recherche surtout pour des antibiotiques à usage externe (Luteraan, 1946, 5).

C. Groupe des substances pro- et antioxygènes

Nous considérons, dans le domaine biologique,

— *comme prooxygènes* : les substances qui tendent à élever le potentiel d'oxydo-réduction d'un système, en favorisant son oxydation ou le transfert catalytique de l'oxygène ;

— *comme antioxygènes* : les substances qui tendent à abaisser le potentiel d'oxydo-réduction d'un système, en s'opposant à son oxydation ou au transfert catalytique de l'oxygène à son niveau.

« A toute substance autoxydable, correspond un antioxygène approprié. » (Moureu et Dufraisse) et, nous ajouterons volontiers, qui peut être spécifique.

Les mélanines, les carotènes se comportent comme prooxygènes (1).

Nous pensons que le *Bacillus subtilis* agirait par un pouvoir prooxygène élevé ; ce pouvoir prooxygène ne disparaît pas dans les cultures soumises à la stérilisation.

Le type des antioxygènes est l'hydroquinone avec ses dérivés : quinhidrone et p-quinone ; ce sont des substances hautement antibiotiques *in vitro* et en aérobose à l'égard des champignons pathogènes pour l'homme (2).

Il serait intéressant d'essayer comme antibiotiques toute la série

(1) Retovski (Retovski, 1935) et Verne (Verne, 1936), ce dernier par des méthodes histo-chimiques, ont établi l'action anti-oxygène des carotènes vis-à-vis des lipides, et vice versa ; aussi l'oxydation des carotènes ne s'effectue que lentement et progressivement *in vivo* ; les cultures de *Rhodotorula* se décolorent lentement et progressivement, mais même des cultures presque complètement décolorées sont encore vivantes ; la rapidité de décoloration dépend d'ailleurs des espèces. Il y a là un bel exemple d'une substance qui peut agir en même temps comme pro-oxygène et comme anti-oxygène *in vivo*. De plus, il y a là encore une relation frappante entre la vitesse de destruction d'un catalyseur, vitesse réglée ici par deux facteurs opposés, et son action physiologique.

(2) Il s'agit d'une action sur des champignons à l'état saprophytique. Nous insistons sur ce dernier point car, à l'état parasitaire, ces champignons présentent fréquemment, point sur lequel ont insisté Henrici et Langeron, une réduction morphologique considérable ; il est possible qu'il y ait concomitamment une adaptation particulière du système respiratoire cellulaire.

des corps phénoliques. La structure phénolique est représentée dans de nombreux produits biologiques, notamment dans les anthraquinones et leurs dérivés. Lutz (Lutz, 1942) a établi la réalité du pouvoir antioxygène de nombreuses substances biologiques. Bien que celles-ci représentent généralement des substances d'excrétion, elles sont loin d'être toujours toxiques, mais elles ont l'inconvénient d'être souvent des substances insolubles. On devrait donc, dans le domaine de la synthèse chimique, si cela apparaît possible, tenter de réaliser des composés solubles et de diminuer leur toxicité par une des voies, par exemple, que nous avons indiquées.

Déjà d'importantes recherches ont été effectuées sur l'action biologique des naphthoquinones : phtiocol et méthyl-naphthoquinones (Heise and Steenken, 1941, Colwel and Mac Call 1945 et Vinet 1945), du plumbagol (de Saint-Rat, Olivier et Chouteau), cette dernière substance étant fortement antibiotique à l'égard de nombreux germes, et même à l'égard du *Mycobacterium tuberculosis in vitro*. De Saint-Rat et nous, avons constaté l'action fongicide du plumbagol et démontré que cette action était liée à deux ordres de faits : tout d'abord, et ceci constitue l'originalité des recherches de de Saint-Rat et de ses collaborateurs, au fait que le plumbagol est un isomère du phtiocol, comme l'est probablement la lactoflavine R à l'égard de la lactoflavine naturelle ; ensuite au fait que ces substances ont une action à la fois prooxygène et antioxygène absolument spécifiques vis-à-vis de systèmes biologiques. Ceci apporte encore une confirmation à notre théorie, mais montre en même temps combien peut être complexe le mécanisme d'action des antibiotiques puisque interviennent non seulement des questions de structure chimique, mais des propriétés physico-chimiques qui expliquent en dernier ressort l'action physiologique si particulière de ces substances. Nous pensons d'ailleurs qu'apporter des progrès dans ce domaine de nos connaissances équivaut à faire mieux connaître la physiologie des microorganismes eux-mêmes.

D. Quatrième groupe

Ce groupe d'attente comporte notamment des substances peptidiques qui se rapprochent très nettement des toxines microbiennes ; leur rôle et leur mode d'action ne peuvent être éclairés par les seules méthodes que nous avons indiquées ; nous cherchons par la suite à établir ce rôle et ce mode d'action.

Nous nous bornerons à indiquer qu'il serait intéressant, pour tenter de diminuer leur toxicité assez fréquente, d'essayer la technique générale de Ramon, appliquée notamment pour la préparation des anatoxines.

RÉSUMÉ

1° Les antibiotiques sont des substances d'excrétion ; excrétion prenant ici la signification bien précise d'une élimination de catalyseur usé ou en excès.

2° Ce sont en général des catalyseurs ayant servi à la desmolyse.

3° S'ils agissent comme antibiotiques à l'égard de certains microorganismes, ils représentent pour d'autres des facteurs de croissance possibles. Il y a notamment des liens étroits entre certains antibiotiques et certaines vitamines qui peuvent être des éléments d'une codiastase.

4° L'action antibiotique peut être définie en général comme une action anticatalysante sur la desmolyse, chez les microorganismes atteints ; cette action particulière sur la respiration n'est pas démontrée encore pour les antibiotiques à structure polypeptidique. Pour les autres :

— elle est *démontrée* directement par l'expérimentation pour la lactoflavine R antibiotique ;

— elle est *confirmée* :

par la signification physiologique de leur production ;

par l'absence d'action antibiotique à l'égard des virus filtrants ;

par l'absence d'activité antibiotique des substances d'excrétion des germes anaérobies, du moins actuellement connus ;

par leur structure chimique ;

par une action antibiotique similaire, de substances synthétiques telles que les inhibiteurs de fermentation, les substances pro- ou antioxygènes, dont l'action est souvent très sensible à des concentrations extrêmement faibles ;

par une action spécifique très étroite, dépendant essentiellement du type respiratoire de la cellule atteinte.

5° La mesure d'une activité antibiotique pourra être faite avec une très grande précision *in vitro*, en associant la technique néphélométrique de Lwoff et Quérido et la technique manométrique de Warburg par un même appareil, à condition d'effectuer les mesures comparativement dans un milieu glycosé et dans des milieux différents, renfermant chacun un dérivé desmolytique de cet hexose. Nous n'avons pu, faute de moyens, réaliser cet appareil que nous avons imaginé.

6° La recherche des antibiotiques naturels sera grandement facilitée si on tient compte des faits suivants :

— que la production d'antibiotiques est en général une propriété de genre, d'espèce ou de groupe d'espèces ;

— que certaines substances insolubles représentent des substances d'excrétion et ont une action de défense très nette vis-à-vis de microorganismes ; ceci même chez des végétaux supérieurs. Le problème qui se pose est alors un problème chimique : tirer des dérivés solubles de ces substances et aussi peu toxiques que possible. Il faudrait enfin rechercher la production d'antibiotiques par des organismes anaérobies.

7° La recherche d'antibiotiques de synthèse sera guidée par les considérations suivantes :

— certains facteurs de croissance peuvent être antibiotiques pour d'autres microorganismes et vice-versa ;

— on doit se rapprocher autant que possible des processus naturels de détoxication, aboutissant à la formation de composés souvent peu toxiques à l'égard des organismes animaux ;

— certaines substances synthétiques, telles que les inhibiteurs de fermentation et les substances pro- ou antioxygènes, ont une action antibiotique souvent remarquable et spécifique.

8° Il ne doit plus y avoir opposition entre antibiotiques naturels et antibiotiques de synthèse que rapprochent parfois des homologies de structure et surtout une analogie d'action sur la respiration, si bien qu'on peut les classer, polypeptides exceptés, en trois grands groupes :

- 1) groupe des substances *électroactives* ;
- 2) groupe des substances *non électroactives* ;
- 3) groupe des substances *pro- ou antioxygènes*, ces dernières étant ou non électroactives.

9° La voie des antibiotiques de synthèse est ainsi largement et définitivement ouverte, en partant des bases physiologiques que nous avons contribuées à établir.

BIBLIOGRAPHIE

- BÉRAUD (P.). — Sur l'exaltation du développement des levures traitées au fluorure. *C.R. Soc. Biol.*, CXXXVII, 1943, p. 579.
- BROOM (J. C.). — The exhaustion of media in bacterial culture. *British J. exper. pathol.*, X, 1929, p. 71.
- CHAMPEAU et LUTERAAN. — De quelques données histochimiques et physiologiques concernant des champignons levuriformes. *Ann. de Paras.*, 1946, XXI, p. 344-355.
- COLIN (H.). — *La chimie des plantes*, Flammarion, Paris, 1946.
- COLWEL (C.-A.) et MAC CALL (M.). — *Science*, C. I., 1945, n° 2632, p. 592.
- COMBES (R.). — *La vie de la cellule végétale*. Collection Armand Colin, n°s 96, 109, 203, 1933, 2° éd. ; 1938, 2° éd. ; 1937.

- COURTOIS (J.). — Les facteurs de croissance de la levure, *Cycle des industries de fermentation 1942-43*, Editions de la Maison de la chimie.
- DIDDENS et LODDER. — *Die anaskosporegenen Hefen*. N. V. Noord Hollandsche uitgevers Maatschappij, Amsterdam, 1942.
- DUFRAISSE (Ch.). — Catalyse d'autoxydation, antioxygènes. *Traité de chimie organique* publié sous la direction de V. Grignard, II, 2, Masson et Cie, Paris.
- FILDES (P.). — A rational approach to research in chemotherapy. *Lancet*, I, 1940.
- FLEMING (A.). — La pénicilline. *Le médecin français*, 1945, n° 48-49.
- FLORKIN. — *L'évolution biochimique*, Masson et Cie, Paris, 1944.
- GASTAUD (J.-M.). — Etude chimique du pigment de *Sphaerotheca humuli*. *Annales de l'Ecole nationale d'agriculture de Montpellier*, VI, 1944.
- HEATLEY (N. G.). — A method for assay of penicilline. *Biochem. J.*, 1944, p. 61-69.
- HEIM (R.). — Les pigments des champignons ; leurs rapports avec la systématique. *Bull. Soc. Chimie biol.*, XXIX, 1942, p. 49-78.
- HEISE (F.-H.) et STEENKEN (W.). — Growth and virulence of tubercle Bacilli. A study of the effect of vitamine B1 and B6, Riboflavin, Colchicin, Phthiocol and Thyloquinon. *Am. rev. of tuberc.*, XLIV, 1941, p. 635.
- HOTCHKISS (R. D.). — Gramicidin, tyrocidin and tyrothricin. *Advances in enzymology*, IV, 1944.
- LANGERON (M.). — *Précis de microscopie*, Masson et Cie, Paris, 6^e éd., 1942.
- *Précis de mycologie*, Masson et Cie, Paris, 1945.
- LISON (L.). — *Histochimie animale*, Gauthier-Villars, Paris, 1936.
- LUTERAAN et DENIS. — Application de la méthode auxanographique de Beijerinck à l'étude des facteurs de croissance. *C.R. Soc. Biol.*, CXL, 1946, p. 131.
- LUTERAAN et DENIS. — De l'activité antibiotique de la lactoflavine à l'égard de certaines levures. *C.R. Soc. Biol.*, CXL, 1946, p. 294.
- LUTERAAN (Ph.-J.). — La diffusion dans la gélose et ses applications à l'étude de la physiologie des micro-organismes. *Ann. de Paras.*, XXI, 1946, p. 356-375.
- Du mécanisme de l'action antibiotique de la lactoflavine à l'égard de certains champignons. *C.R. Soc. Biol.*, CXL, 1946, p. 759.
- De l'action empêchante de diverses substances sur la croissance des champignons pathogènes pour l'homme. *C.R. Soc. Biol.*, CXL, 1946, p. 832.
- LUTZ (L.). — *Traité de cryptogamie*, p. 121 et p. 394-396, Masson et Cie, Paris, 1942.
- LWOFF et QUERIDO. — Dosage de l'amide de l'acide nicotinique au moyen du test Proteus. Principe de la méthode. *C.R. Soc. Biol.*, CXXXIX, 1938, 1039.
- LWOFF (A.). — La vitamine PP. *Exposés annuels de biochimie médicale*, 5^e série, 1945, Masson et Cie, Paris.
- MOUREU et DUFRAISSE. — *Bull. Soc. chimie*, XXXI, 1922, p. 1152.
- OOSTERHUIS (H. K.). — *Antibiotica uit schimmels*. Thèse de doctorat ès sciences. N. V. Druckerij Jacob van Campen, Amsterdam, 1946.
- POLONOVSKI et coll. — *Eléments de biochimie médicale*, Masson et Cie, Paris, 1942.
- POLONOVSKI (M.). — Glycolyse et respiration. *Exposés annuels de biochimie médicale*, 4^e série, 1944, Masson et Cie, Paris.

- POURBAIN. — Action des corps cancérigènes sur le métabolisme du glucose des tissus survivants ou des levures vivantes. *Acta de l'union internationale contre le cancer*, 1935, n° 1.
- SAINT-RAT (L. de), OLIVIER (H.-R.) et CHOUTEAU (J.). — Etude des propriétés abiotiques du plumbagol. *Bull. Acad. méd.*, 1946, p. 57.
- SAINT-RAT (L.) et LUTERAAN (Ph.). — Action antibiotique *in vitro*, du plumbagol, à l'égard des champignons pathogènes pour l'homme. *C.R. Acad. sc.*, CLXXIV, 1947, p. 1587.
- RETOVSKI (M. S.). — Modèle de respiration avec le système huile de tournesol. I. Caroténoïdes. *Bull. Soc. Chimie biol.*, XVII, p. 1615.
- SALL et TAUN. — Subtilin, antibiotie produced by *Bacillus subtilis*. II. Toxicity of subtilin to living embryonic tissue. *Proc. Soc. exper. biol. med.*, LXI, 1946, p. 23.
- SALVINIEN. — Dispersion protégée d'un corps insoluble dans un sol ou un gel de colloïde stable. *Thèse Fac. Sciences de Paris*, 1945.
- SANNIÉ (Ch.). — Les mélanines. *Exposés annuels de biochimie médicale*, 5^e série, 1945, Masson et Cie, Paris.
- Pigments et substances antibiotiques des champignons et des bactéries. *Exposés annuels de biochimie médicale*, 6^e série, 1946, Masson et Cie, Paris.
- SCHOPFER (W.). — Etude d'un cas de stimulation unilatérale et d'un cas d'inhibition chez un micro-organisme. *C.R. des séances de la société de physique et d'histoire naturelle de Genève*, 1933, p. 152-154.
- SPEGELMAN et MOZAWA. — On the inability of intact yeasts cells to ferment their carbohydrates reserves. *Arch. biochem.*, VI, 1945, p. 303-322.
- VERNE (J.). — *Couleurs et pigments des êtres vivants*. Collection Armand Colin, n° 123, Paris, 1930.
- Observation histochimique sur l'oxydation des lipides et ses rapports avec les caroténoïdes. *Bulletin d'histologie appliquée*, XIII, 1936, n° 10, p. 433.
- VINET (A.). — Activité bactériostatique de la série de la méthylnaphtoquinone. Son rapport éventuel avec l'isomorphisme. *C.R. Soc. Biol.*, CXXXIX, 1945, p. 155.
- Action histophysiologique de l'alloxane sur le pancréas endocrine. *Presse médicale*, 1946, n° 36, p. 509.
- WAKSMAN (S.). — *Microbial antagonisms and antibiotic substances*. Commonwealth bund, New-York, 1945.
- WATTIEZ et STERNON. — *Eléments de chimie végétale*, Masson et Cie, Paris, 1942, 2^e éd.
- WURMSER (R.). — Les potentiels d'oxydo-réduction des systèmes biologiques. *Exposés annuels de biochimie médicale*, 1^{re} série, 1939, Masson et Cie, Paris.

Institut de parasitologie de la Faculté de médecine de Paris

(Directeur : Professeur E. Brumpt)

Section de mycologie (Chef de service : Dr M. Langeron) (1).

(1) Nous remercions aussi M. le Prof. J. Verne, de la Faculté de Médecine de Paris, qui nous a fait l'honneur de lire le présent mémoire, de le corriger et d'apporter sur certains points des précisions intéressantes.