

EFFET DE LA MESCALINE, DU LSD 25 ET DE DERIVES DE L'ADRENOCHROME SUR LA DECARBOXYLYASE GLUTAMIQUE DU CERVEAU

G. H. DELTOUR, J. M. GHUYSEN* et A. CLAUS

Services de Recherche de la Société des Laboratoires LABAZ, S.A.
Bruxelles, Belgique

Abstract—The inhibitory effect of adrenochrome on glutamic decarboxylase from brain homogenates *in vitro*, does not occur with mescaline and LSD 25. Certain stable derivatives of adrenochrome such as MSCA and AHA, in which the quinonic function is blocked, have an opposite effect, and behave like activators of brain glutamic decarboxylase. This activation seems to be indirect; MSCA and AHA do not constitute new coenzymes.

L'EFFET inhibiteur exercé par l'adrénochrome et certains de ses précurseurs, comme l'oxytyramine et l'adrénaline, sur la décarboxylation de l'acide glutamique en acide γ -aminobutyrique par les extraits cérébraux, ont incité Holtz et Westermann^{1, 2} à postuler une relation éventuelle entre cet effet et le pouvoir hallucinogène attribué à l'adrénochrome par Osmond, Smythies et Hoffer.^{3, 4}

Quoique l'adrénochrome puisse également inhiber d'autres processus enzymatiques cérébraux tels que la glycolyse aérobie,⁵ l'hypothèse suggérée par Holtz et Westermann semble particulièrement intéressante étant donné le rôle de plus en plus important attribué à l'acide γ -aminobutyrique dans la biochimie et la physiologie du système nerveux central.

L'effet hallucinogène de l'adrénochrome étant très controversé, nous avons voulu voir quel serait l'effet sur la décarboxylase glutamique cérébrale:

(1) D'agents typiquement hallucinogènes comme la Mescaline ou la diéthylamide de l'acide lysergique (LSD 25).

(2) De substances ne différant de l'adrénochrome que par le blocage d'une fonction quinonique, et pour lesquelles il n'a jamais été observé d'effet hallucinogène, même à très forte dose.

MATERIEL ET METHODES

L'adrénochrome, la monosemicarbazone de l'adrénochrome (MSCA) et l'acéthydrone de l'adrénochrome (AHA) répondant aux formules figurées ci-contre ont été préparés dans notre Laboratoire de Chimie par MM. Beaudet et Hénaux. Toutes les solutions sont préparées extemporanément malgré la très grande stabilité de MSCA et la relative stabilité de AHA.

* Adresse actuelle: Laboratoires de Microbiologie générale et médicale de l'Université de Liège, 32 Bvd. de la Constitution, Liège, Belgique.

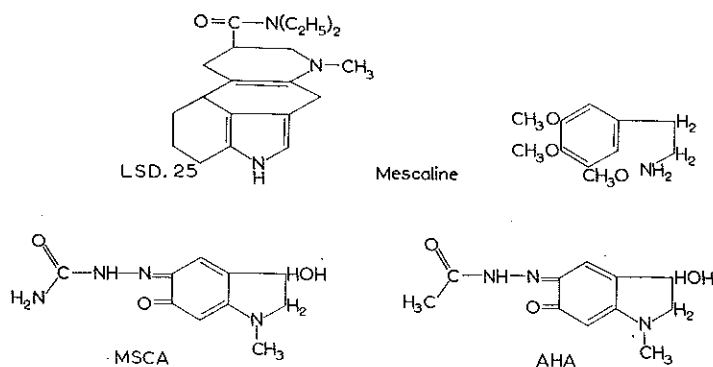


FIG. 1

Les cerveaux ont prélevés sur des souris blanches, adultes, tuées par dislocation de la vertèbre cervicale, et des homogénéisats sont réalisés en tampon phosphate 0,05 M pH 6,2. La vitesse avec laquelle s'effectue la décarboxylation de l'acide glutamique par ces homogénéisats, additionnés, isolément ou non suivant le cas, de phosphate de pyridoxal (PP), des substances hallucinogènes ou des adrénochromes bloqués, est mesurée par la méthode manométrique de Warburg, à 38°C et en atmosphère d'azote, selon la technique décrite par Roberts et Frankel.⁶

Dans chaque cas, le volume contenu dans la fiole manométrique est de 2,5 ml, dont 2 ml sont constitués par le tampon phosphate.

Dans certains cas spécifiés, la décarboxylase cérébrale a été purifiée par salting-out au sulfate ammonique et dialyse. A cet effet, à un volume d'homogénéisat clarifié par centrifugation, on ajoute trois volumes d'une solution saturée de sulfate ammonique. Le précipité recueilli est remis en solution dans un volume d'eau égal à celui de l'homogénéisat centrifugé. La solution est dialysée contre eau distillée, puis concentrée en plaçant le sac de dialyse dans un courant d'air froid. La solution concentrée est enfin ramenée à la moitié du volume de l'homogénéisat centrifugé, par un tampon phosphate tel que la concentration finale en phosphate soit 0,05 M. Toutes ces opérations, excepté la concentration, sont réalisées à 2°C.

RESULTATS

Effets in vitro

Aux concentrations de $2 \cdot 10^{-6}$, $2 \cdot 10^{-5}$, $2 \cdot 10^{-4}$ M, le LSD 25 et la mescaline sont sans effet sur la vitesse de décarboxylation observée lors de l'incubation des extraits cérébraux et d'acide glutamique (0,004 et 0,04M), éventuellement associé à 30 γ /ml de PP.

Le MSCA et l'AHA augmentent la vitesse de décarboxylation de l'acide glutamique par les extraits cérébraux. Le tableau 1 indique le dégagement d'anhydride carbonique par incubation de 500 mg de cerveau frais en présence d'acide glutamique et de quantités variables de PP ou d'AHA ou de MSCA pendant 210 minutes.

Ajoutés séparément à l'extrait cérébral, le MSCA, le AHA et le PP apparaissent comme étant des activateurs de la décarboxylation de plus en plus efficaces, L'un et l'autre présentent une concentration limite à laquelle correspond une vitesse maximale de la réaction et qui se situe aux environs de 20 γ /ml pour le PP et le MSCA et de 5 γ /ml pour le AHA. A ces concentrations limites et dans les conditions expéri-

mentales
MSCA so
d'activate
cérébral b
En repr
cérébral et
respective
de concen
à 175. 10
centration

y =
représent
par l'asso
des deux
L'expé
tions (PP
étudiés a
lorsque l
saturé, l'
de la dé
valeur n

TABLEAU I

Concentration de l'activateur (10 ⁻⁶ M)	Nature de l'activateur		
	Phosphate de pyridoxal	Acéthydrazone de l'adrénochrome	Monosemicarbazone de l'adrénochrome
0	87	100	96
1,6	141	—	—
1,75	—	—	155
2	—	158	—
4	202	—	—
8	274	—	—
16	339	—	—
17,5	—	—	149
20	—	238	—
40	403	—	—
80	428	—	—
87,5	—	—	196
100	—	250	—
160	422	—	—
175	—	—	198
200	—	237	—
1000	—	225	—

Décarboxylation de l'acide glutamique, mesurée en μl de CO_2 dégagé après 210 minutes d'incubation de 500 mg de cerveau additionnés d'acide glutamique (0,04 M) et de quantités variables d'activateur.

mentales présentes, les quantités de CO_2 dégagé en présence de PP, de AHA et de MSCA sont respectivement 4,9, 2,5 et 2 fois supérieures à celle observée en l'absence d'activateur autre que la quantité de PP normalement contenue dans l'homogénéisat cérébral brut.

En représentant par c la concentration (en 10^{-6}M) en PP ajouté à l'homogénéisat cérébral et par $\mu\text{l}_{(0)}$, $\mu\text{l}_{(\text{PPvar})}$, $\mu\text{l}_{(\text{adr})}$ et $\mu\text{l}_{(\text{PPvar} + \text{adr})}$ les quantités de CO_2 , en μl , dégagées respectivement, en l'absence de tout activateur volontairement ajouté, et en présence de concentrations variables en PP, d'une concentration fixe en adrénochrome bloqué à $175 \cdot 10^{-6}\text{M}$ et des associations (adrénochrome bloqué ($175 \cdot 10^{-6}\text{M}$) + PP (concentrations variables)), la fonction:

$$y = (\mu\text{l}_{(\text{PPvar} + \text{adr})} - \mu\text{l}_{(0)}) - (\mu\text{l}_{(\text{PPvar})} - \mu\text{l}_{(0)}) - (\mu\text{l}_{(\text{adr})} - \mu\text{l}_{(0)}) = f(c)$$

représente la différence, exprimée en μl de CO_2 , entre d'une part l'activation provoquée par l'association de l'adrénochrome bloqué et de PP, et d'autre part, par la somme des deux activations individuelles.

L'expérience nous a montré que y est toujours négatif. Les activations par les associations (PP + MSCA) et (PP + AHA) sont compétitives. Chacun des trois activateurs étudiés agirait donc au niveau des mêmes centres actifs de la décarboxylase. D'ailleurs, lorsque l'extrait cérébral est additionné d'une quantité de PP telle que l'enzyme soit saturé, l'addition supplémentaire de MSCA par exemple, n'augmente plus la vitesse de la décarboxylation de l'acide glutamique. Dans ces conditions, y a atteint une valeur négative limite:

$$y = - (\mu\text{l}_{(\text{adr})} - \mu\text{l}_{(0)})$$

La cinétique de la décarboxylation de l'acide glutamique a été étudiée en présence de AHA et de MSCA. Fig. 2 montre, en particulier, le dégagement de CO_2 en μl , en fonction du temps lorsque l'acide glutamique (0,04M) est incubé—présence d'extraits cérébraux en quantités variables, additionnés ou non d'une quantité fixe de AHA égale à $100 \cdot 10^{-6}\text{M}$.

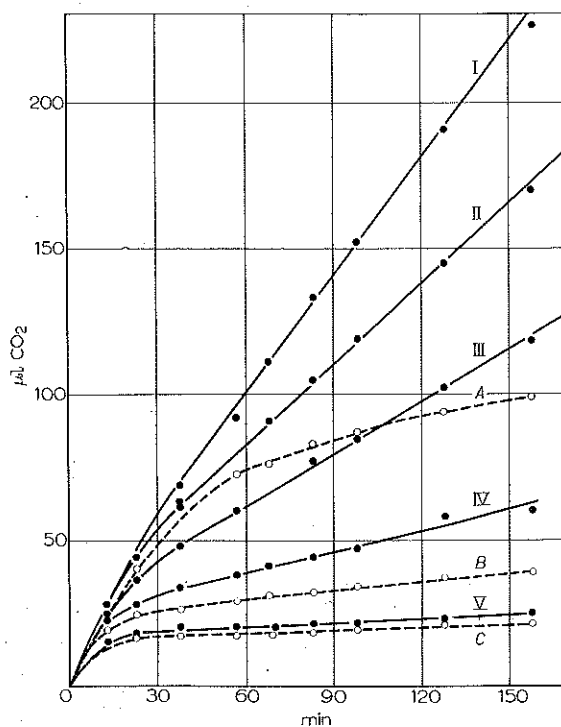


FIG. 2

Pour une quantité donnée d'adrénochrome "bloqué", l'activation dépend de la quantité d'extrait cérébral. Associé à 100 mg de cerveau frais, le AHA est pratiquement sans effet sur la vitesse de la réaction (courbes V et C). Associée à 200 et 500 mg de cerveau frais, la même quantité de AHA multiplie la quantité de CO_2 dégagé après 160 minutes d'incubation par un facteur respectivement égal à 1,7 et 2,5.

L'effet activateur du AHA et du MSCA ne se manifeste qu'après un certain temps d'incubation. Si l'on excepte ces premiers temps de réaction, la cinétique de la décarboxylation de l'acide glutamique représentée sur la Fig. 2 peut s'exprimer par

$$\Delta \mu\text{l} = 5,9 \cdot 10^{-6} \cdot \Delta t \cdot x^2$$

où Δt est l'intervalle de temps en minutes et x le poids de cerveau frais en mg. La réaction est d'ordre 1 par rapport au temps d'incubation. Elle est du second ordre par rapport à la concentration en homogénéisat cérébral.

Après salting-out et dialyse, l'apoenzyme inactif par lui-même, est activable par le PP, mais ne l'est pas par le AHA ou le MSCA.

Effets in

L'acti
bloqués
une heu
manifest
non trai
telle inj
convuls
le méca
décarb

Deux
carbazi
temps
viduell
corrige
le lot t

L'ét
décarb
par l'a
ceux c
No
tion c
avec
être r

En
d'effe
soit p
 CO_2
l'adv
A
par
gluta
sembl
réac

L
en p
tion
acti
requ
se c
de l
nou

Effets in vivo

L'activation de la décarboxylase glutamique cérébrale par les adrénochromes bloqués semble être réalisable *in vivo*. En effet, les homogénéisats de cerveau prélevés une heure après une injection intrapéritonéale de 500 mg/kg de AHA chez la souris, manifestent une activité décarboxylante supérieure à celle des cerveaux de souris non traitées, les deux homogénéisats étant ou non additionnés de PP. De plus, une telle injection protège, de façon faible mais significative, les souris contre la mort par convulsion que provoque l'injection intrapéritonéale de thiosemicarbazide et dont le mécanisme résiderait, selon Killam et Bain^{7, 8} dans une inhibition du système décarboxylase glutamique-phosphate de pyridoxal.

Deux lots de 100 souris ont reçu par voie intrapéritonéale 15 mg/kg de thiosemicarbazide. Deux heures auparavant, un des lots avait reçu 500 mg/kg de AHA. Le temps s'écoulant entre l'injection de la carbazide et la mort a été déterminé individuellement. Le temps moyen de survie a été de 87 minutes (erreur standard corrigée: 4) pour le lot non traité, et de 106 minutes (erreur standard corrigée: 2,5) pour le lot traité par le AHA.

DISCUSSION

L'étude de l'influence exercée éventuellement par la mescaline et le LSD 25 sur la décarboxylation de l'acide glutamique par les extraits cérébraux, nous a été suggérée par l'analogie proposée par de nombreux auteurs⁹⁻¹² entre l'effet de ces substances et ceux de l'adrénochrome sur les mécanismes neurohumoraux adrénergiques centraux.

Nos expériences montrent que ni la mescaline ni le LSD 25 ne provoquent l'inhibition de la décarboxylase glutamique cérébrale, que Holtz et Westermann constatent avec l'adrénochrome, et à laquelle ils suggèrent que l'activité hallucinogène peut être rattachée.

En ce qui concerne l'adrénochrome proprement dit, il ne nous a pas été possible d'effectuer une expérience dans laquelle nous soyons assurés que l'adrénochrome ne se soit pas oxydé pendant le laps de temps nécessaire pour obtenir un dégagement de CO₂ mesurable. Il reste donc un doute quant à l'attribution de cette inhibition à l'adrénochrome même ou à l'adrénochrome seul.

A l'inverse de ce que l'on observe avec l'adrénochrome, les adrénochromes stabilisés par le blocage de la fonction quinonique, activent la décarboxylation de l'acide glutamique par les homogénéisats de cerveau. Ces dérivés de l'adrénochrome ne semblent pas constituer de nouveaux coenzymes, car l'apoenzyme purifié n'est pas réactivable en leur présence.

L'activation doit se faire par une voie indirecte. La cinétique de la décarboxylation, en présence de AHA, par exemple, étant du deuxième ordre par rapport à la concentration en extrait cérébral, peut s'interpréter par la présence dans celui-ci de deux activateurs: le PP, coenzyme naturel, et un autre dont la manifestation de l'activité requiert la présence de AHA ou d'une substance de structure analogue. Cette activation se constatant aussi *in vivo*, nous disposons là d'un moyen d'augmenter la rapidité de la conversion de l'acide glutamique en acide γ -aminobutyrique, fait qui ouvre de nouvelles possibilités expérimentales.

Toute considération théorique mise à part, peu après notre communication préliminaire,¹³ nous avons voulu nous rendre compte de l'effet hallucinogène de l'adrénochrome. L'un de nous a reçu par voie intraveineuse, 10, puis 20 mg d'adrénochrome fraîchement préparé, sans ressentir aucun trouble subjectif ni présenter le moindre signe objectif. Notre manque de compétence dans le maniement des tests permettant d'extérioriser des modifications de la perception ou de l'idéation, explique peut-être la divergence de nos résultats avec ceux de l'école canadienne;^{3, 4} ils sont cependant en accord avec ceux de Sobotka,¹⁴ qui a utilisé des doses encore plus élevées que nous, sans effet apparent.

Enfin rappelons à ce sujet que les adrénochromes bloqués, comme le MSCA et l'AHA, qui peuvent être administrés en quantités considérables en raison de leur très large index thérapeutique, ne provoquent aucun phénomène du type hallucinatoire.

RESUME

Le LSD 25 et la mescaline sont sans effet sur la décarboxylation de l'acide glutamique par les extraits cérébraux *in vitro*.

La monosemicarbazone (MSCA) et l'acéthydrazone (AHA) de l'adrénochrome activent cette décarboxylation. Ils ne constituent pas des coenzymes nouveaux. Les centres de l'apoenzyme indirectement activés par l'un et par l'autre, semblent être identiques à ceux qu'active le phosphate de pyridoxal.

BIBLIOGRAPHIE

1. P. HOLTZ et E. WESTERMANN, *Naturwiss.* **43**, 38 (1956).
2. P. HOLTZ et E. WESTERMANN, *Arch. Exper. Path. Pharmacol.* **231**, 311 (1957).
3. H. OSMOND et J. SMYTHIES, *J. Ment. Sci.* **98**, 309 (1952); **99**, 29 (1953).
4. A. HOFFER, H. OSMOND et J. SMYTHIES, *J. Ment. Sci.* **100**, 29 (1954).
5. L. O. RANDALL, *J. Biol. Chem.* **165**, 733 (1946).
6. E. ROBERTS et S. FRANKEL, *J. Biol. Chem.* **187**, 55 (1950); **188**, 789; **190**, 505 (1951).
7. K. F. KILLAM et J. A. BAIN, *J. Pharmacol.* **119**, 255 (1957).
8. J. A. BAIN, *J. Pharmacol.* **119**, 263 (1957).
9. R. FISHER, *J. Ment. Sci.* **100**, 623 (1954).
10. I. H. PAGE, *Science* **125**, 721 (1957).
11. F. F. YONKMAN, *J. Michigan State Med. Soc.* **56**, 203 (1957).
12. A. S. MARRAZZI et E. ROSS HART, *Science* **121**, 365 (1955).
13. G. H. DELTOUR, J. M. GHUYSEN et A. CLAUS, IV^e Cong. Internat. Biochimie, Vienne 1958—*Résumé des communications* p. 184. Pergamon Press, Paris (1958).
14. H. SOBOTKA, N. BARSEL et J. D. CHANLEY, *Progrès dans la Chimie des Substances Organiques Naturelles* (Edited by L. ZECHMEISTER) Vol. XIV, p. 217. Springer, Wien (1957).