

Reçu le 20 mai 1922.

LA DÉSAMIDATION ENZYMATIQUE DE L'ASPARAGINE CHEZ LES DIFFÉRENTES ESPÈCES ANIMALES ET LA SIGNIFICATION PHYSIOLOGIQUE DE SA PRÉSENCE DANS L'ORGANISME

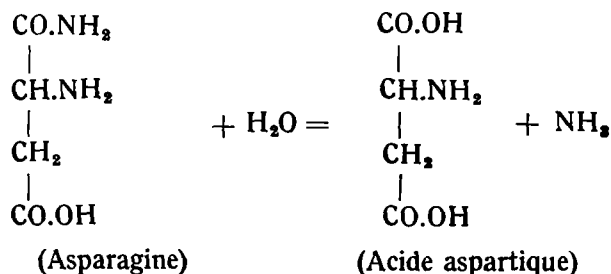
Recherches du D^r A. CLEMENTI

(Institut de Physiologie. Université de Rome. Directeur : Prof. S. Baglioni).

I. — Sujet et but du travail ⁽¹⁾

L'ASPARAGINE, découverte par DELAVILLE en 1802 dans les pousses d'asperge (d'où son nom), est un des corps azotés les plus intéressants de l'économie végétale : en effet sa molécule qui renferme un amido-acide représentant une des pierres structurales fondamentales de la molécule protéique, subit le clivage hydrolytique et donne lieu à un développement d'ammoniaque.

Les premiers expérimentateurs qui se sont occupés de l'analyse de cette substance (CAVENTON BACON, WITTSTOCK, HENRIS et PLISSON, BOUTRON et PELOUZE, MARCHAND, LIEBIG (13)) observèrent sa décomposition en ammoniaque et acide aspartique ; en 1846 PIRIA (16) fit connaître à la septième réunion des savants italiens à Naples, les résultats de ses importantes recherches, qui démontraient que l'asparagine se trouve en forte proportion dans les vesces, qu'elle manque dans les graines de cette plante, qu'elle se développe pendant la germination et pendant la croissance, mais qu'elle diminue et disparaît entièrement à l'époque de la floraison ; d'autre part PIRIA observa que l'asparagine soumise à l'ébullition avec HCl, se transforme en NH³ et acide aspartique et qu'elle doit donc être considérée comme l'amide de l'acide aspartique ; la décomposition de l'asparagine se ferait donc d'après l'équation suivante :



⁽¹⁾ Ces recherches ont été l'objet d'une courte communication à l'Accademia dei Lincei à Rome • au mois d'avril 1921 (4).

Les recherches récentes sur la composition chimique de la molécule protéique sont d'accord pour montrer que l'acide aspartique représente une des pierres constitutives fondamentales de la molécule protéique et que l'hydrolyse des protéines par les acides minéraux ou par les ferments digestifs met en liberté de l'azote à l'état ammoniacal (HENRIQUES et GYALDBAECK) (7). Certains auteurs (OSBORNE, LEAWENWORTH, BRAUTLECHT) (15) émirent l'hypothèse que l'ammoniaque est liée dans la molécule protéique au carboxyle de l'acide aspartique et que par conséquent l'asparagine se trouve préformée dans la molécule protéique ; cependant cette hypothèse n'a pas été confirmée par l'expérience, car il n'a pas jusqu'à présent été possible d'isoler et d'identifier chimiquement l'asparagine parmi les produits de scission de la molécule protéique ou des tissus animaux.

Il faut donc, dans l'état actuel de nos connaissances, considérer l'asparagine comme une substance organique azotée, caractéristique des plantes et de l'économie végétale, et suivant certains auteurs [SCHULZE (18-19), BORODIN (3), BUTCHEWICHT (2)] elle représenterait au point de vue physiologique une substance azotée de réserve, ayant aussi pour rôle de protéger la plante contre un excès d'ammoniaque ; en effet, l'ammoniaque, tout en étant un corps utilisé pour la synthèse des substances protéiques, peut devenir nuisible si elle est en excès. La fonction de l'asparagine serait donc à certains égards analogue dans l'organisme végétal au rôle joué par l'urée dans l'organisme animal.

Les premières recherches exécutées sur l'asparagine au point de vue de la physiologie animale, se rapportent à sa valeur alimentaire [WEISKE, KENNEPOHL et SCHULZE (20-21-22), MUNK (14), GABRIEL (6)] En 1904 pour la première fois, LANG (12) proposa et étudia expérimentalement la possibilité du détachement du groupe amidé de l'asparagine avec dégagement d'ammoniaque par l'action des tissus animaux et par une action analogue à celle des acides ou des bases ; ce phénomène fut considéré par LANG comme un des aspects du problème général relatif à la genèse de l'ammoniaque dans l'organisme par détachement du groupe aminé de la molécule des amino-acides ; LANG trouva que les organes d'animaux réduits en bouillie, déterminent *in vitro* à la température de 37° le départ de l'ammoniaque, non seulement de la molécule de l'asparagine, mais encore de celle des corps voisins et de quelques amino-acides.

Ce résultat, en ce qui concerne les amino-acides ne fut pas confirmé par ABDERHALDEN et SCHITTENHELM (1) qui démontrèrent que le suc du foie extrait par la presse de BUCHNER n'est pas capable de détacher le groupe aminé de la molécule des amino-acides. Successivement O. v. FÜRTH et FRIEDMANN (5) étudièrent l'action exercée par les organes (foie, rate, muscles, reins et poumons) de cheval et de porc sur l'asparagine et trouvèrent que ces organes sont en général tous capables de déterminer *in vitro* le départ du groupe amidique avec formation d'ammoniaque ; ils admirent donc l'existence d'une enzyme endocellulaire, qui exercerait sur l'asparagine une action hydrolytique analogue à celle qu'opèrent les acides ou les alcalis ; en ce qui concerne la signification physiologique de ce ferment, ils admirent qu'elle est analogue à celle des ferments autolytiques des organes capables d'exercer une action protéolytique, c'est-à-dire serait en rapport avec les transformations cataboliques des substances protéiques. Les recherches qui suivirent celles de LANG et de v. FÜRTH et FRIEDMANN se rapportent à l'étude du pouvoir désamidant exercé par les tissus végétaux [KIESEL (11), PRINGSHEIM (17), KATO KAN (10)] sur l'asparagine.

Dans l'état présent de nos connaissances, eu égard au nombre très restreint de recherches faites à ce sujet, nous ne sommes pas en état de porter un jugement certain concernant la signification physiologique de ce phénomène au point de vue biologique ; en effet l'interprétation de v. FÜRTH et FRIEDMANN sur la signification physiologique de la présence du pouvoir désamidant des organes n'est pas d'accord avec le fait que jusqu'à présent on n'a pas réussi à isoler et à individualiser chimiquement l'asparagine dans les tissus animaux ni dans la molécule protéique.

Il m'a semblé que l'étude systématique du pouvoir de désamidation de l'asparagine dans le règne animal pouvait répandre une lumière nouvelle sur la signification physiologique de sa présence dans l'organisme animal ; je me suis proposé d'atteindre ce but dans les présentes recherches, dans lesquelles j'ai poursuivi l'étude du pouvoir désamidant dans tous les organes des différentes espèces de Vertébrés et de beaucoup d'Invertébrés ; je crois avoir atteint en partie ce but. En effet, mes recherches démontrent que contrairement à l'affirmation de v. FÜRTH et FRIEDMANN, le pouvoir désamidant n'existe pas dans tous les organes, ni chez toutes les espèces animales ; elles prouvent aussi que la présence ou l'absence de ce pouvoir n'est pas

accidentelle, mais vraisemblablement en rapport avec la nature (carnivore, herbivore ou omnivore) de l'alimentation propre des différentes espèces animales; la présence du pouvoir de désamider l'asparagine acquerrait ainsi dans l'organisme animal une signification nouvelle et une importance physiologique plus grande que celle qui lui avait été attribuée jusqu'à présent.

II. — Nouveau procédé pour l'étude de la désamidation de l'asparagine.

a) *Principe théorique du procédé.* — Les méthodes employées par les auteurs qui se sont jusqu'à présent occupés du sujet, sont basées ou sur le dosage de l'ammoniaque au moyen de la distillation ou sur la détermination quantitative de l'asparagine par le nitrate de mercure.

LANG (12), V. FÜRTH et FRIEDMANN (5) dosèrent l'ammoniaque par distillation après addition d'oxyde de manganèse; ils faisaient agir la bouillie d'organe sur l'asparagine en présence de chloroforme. KIESEL (11) faisait agir le suc obtenu des plantes par la presse de Buchner en présence de toluol ou de chloroforme sur l'asparagine pendant environ 20 jours et précipitait ensuite l'asparagine par le nitrate de mercure. PRINGSHEIM (17) d'autre part dosait l'ammoniaque par distillation.

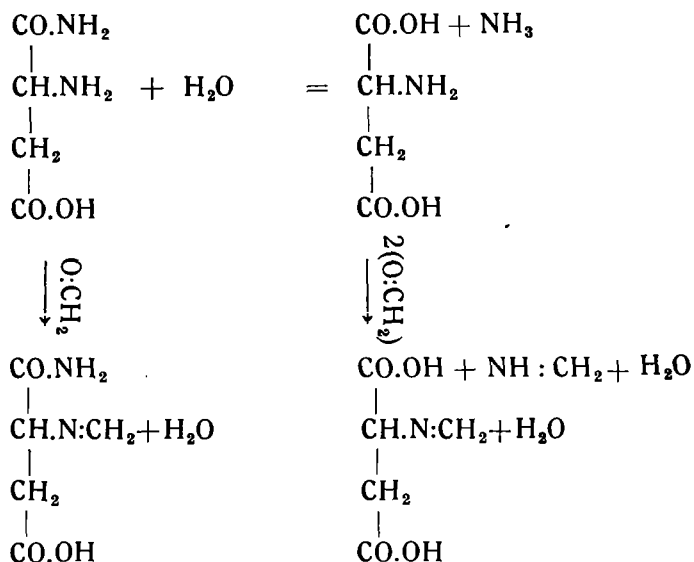
J'ai eu l'idée de suivre un nouveau procédé consistant à doser l'ammoniaque par le titrage direct au formol, procédé basé sur les considérations suivantes démontrées exactes par les analyses que je publie : 1^o L'asparagine se comporte au titrage au formol comme un acide monobasique parce que le groupe amidique n'est pas titrable au formol à la différence du groupe aminique;

2^o L'ammoniaque à l'état de sel se comporte au titrage au formol comme un acide monobasique;

3^o L'asparagine par le processus de désamidation se clive en acide aspartique et en ammoniaque et se transforme en aspartate d'ammoniaque;

4^o L'aspartate d'ammoniaque se comporte au titrage au formol comme un acide bibasique.

On peut donc prévoir que l'asparagine désamidée se comportera au titrage au formol comme un acide bibasique conformément au schéma :



b) *Comment l'asparagine et l'aspartate d'ammoniaque se comportent vis-à-vis de la formaldéhyde et du titrage au formol.* — La manière dont l'asparagine se comporte avant et après la désamidation vis-à-vis du titrage au formol, est, conformément aux considérations exposées plus haut, démontrée et illustrée au point de vue expérimental par les résultats des analyses dans lesquelles nous avons procédé au titrage au formol d'une quantité déterminée d'asparagine avant et après le traitement par les acides à chaud, (qui, comme on le sait, désamident l'asparagine) et d'une quantité déterminée d'acide aspartique neutralisé par l'hydrate de soude ou par l'ammoniaque (Tableau I).

Des données des analyses susdites, il résulte que : 1° L'acide aspartique neutralisé par la soude se comporte au titrage au formol comme un acide monobasique, tandis que l'acide aspartique neutralisé par l'ammoniaque, se comporte comme un acide bibasique ;

2° L'asparagine, au titrage au formol, se comporte comme un acide monobasique, tandis qu'après traitement à chaud par H^+SO_4 dilué, l'asparagine se comporte comme un acide bibasique c'est-à-dire se comporte comme l'acide aspartique neutralisé par l'ammoniaque.

Des faits exposés précédemment, nous pouvons donc conclure que la désamidation de l'asparagine par l'action des acides peut être reconnue et calculée par l'augmentation du nombre de cc. nécessaires pour doser l'azote total titrable au formol d'une quantité déterminée

TABLEAU I

Substance employée dans l'analyse	Indicateur employé dans le titrage		Volume de la solution 1/10 n de la sub- stance employée en cc.	Quantité de NaOH 1/10 n nécessaire pour le titrage en cc.	
Acide aspartique neutralisé à l'azotilmine avec NaOH.	Phénol- phtaléine	{	Coloration rouge évidente	10	9.5
			Coloration rouge intense	10	10.0
Acide aspartique neutralisé à l'azotilmine avec NH ₃	Phénol- phtaléine	{	Coloration rouge évidente	10	19.4
			Coloration rouge intense	10	19.8
Asparagine	Phénol- phtaléine	{	Coloration rouge évidente	10	9.7
			Coloration rouge intense	10	10.0
Asparagine bouillie 12 heures en solution 20 % H ₂ SO ₄ neutralisée à l'azotilmine avec NaOH	Phénol- phtaléine	{	Coloration rouge évidente	10	19.0
			Coloration rouge intense	10	19.7

d'asparagine avant et après l'action prolongée à chaud des mêmes acides.

c) *L'action des tissus sur l'asparagine étudiée au moyen de l'application du titrage au formol.* — Aussi dans le cas de la désamidation par l'action des tissus, l'ammoniaque formée par l'azote amidique de l'asparagine sera neutralisée par l'acide aspartique et, par conséquent, à la base des analyses précédentes, il y aura au titrage au formol le comportement d'un acide bibasique, à la différence de l'asparagine intacte qui se comportera comme un acide monobasique. Pour démontrer expérimentalement l'exactitude de cette déduction théorique, j'ai appliqué comparativement pour reconnaître la désamidation enzymatique de l'asparagine, la méthode du dosage de l'ammoniaque d'après FOLIN et la méthode du dosage global de l'azote titrable au formol (azote aminique et azote ammoniacal).

Voici comment j'ai procédé :

La bouillie obtenue, en pilant environ 2 gr. de foie de Cobaye, (conservé depuis 2 mois en présence de toluol,) avec de la poudre de quartz, fut distribuée en quatre portions parfaitement égales dans quatre matras : au premier et au second matras on ajouta 10 cc. de solution d'asparagine 1/10 *n* ; au troisième on ajouta 10 cc. de solution physiologique de NaCl le quatrième fut soumis à l'ébullition pendant environ une demie heure, puis reçut 10 cc. de solution d'asparagine 1 : 10 *n*.

A chaque matras on ajouta environ 10 cc. de toluol.

Après trois jours de séjour au thermostat à 37°, on procéda au titrage au formol du ma-

TABLEAU II

	Asparagine ajoutée en Mgr.	NH ₃ formée		Asparagine désamidée			
		Méthode volumétrique en Mgr.	Méthode Folin en Mgr.	Méthode volumétrique		Méthode Folin	
				en Mgr.	en %	en Mgr.	en %
Bouillie de foie de cobaye conservée trois jours au thermostat 39°-40°, en présence de toluol	150	14.8	15.1	130.5	—	133.5	—
Bouillie de foie de cobaye (soumise à l'ébullition) 3 jours au thermostat 37°-40°, en présence de toluol	150	0.0	0.0	0.0	0	0.0	0
Suspension de levure de bière en solution physiologique, 36 heures au thermostat 37°-40°, sans addition de toluol	150	10.2	—	90.0	—	—	—
Suspension de levure de bière en solution physiologique, 36 heures au thermostat 37°-40°, sans addition de toluol	300	—	17.5	—	—	174.0	—

tras n° 1 contenant la bouillie d'organe, plus l'asparagine, qui demanda 20.5 cc. de NaOH 1 : 10 *n* ; le titrage au formol du matras n° 3 (bouillie d'organe) demanda 2.1 cc. d'hydrate de soude NaOH 1 : 10 *n*.

Soustrayant les 10 cc. nécessaires pour le titrage de l'asparagine avant l'action de la bouillie d'organe, l'augmentation correspond à 8.7 cc. de NaOH 1 : 10 *n* qui correspondent à 130.5 mgr. d'asparagine désamidée sur 150 mgr. d'asparagine ajoutée et à 14.8 mgr. d'ammoniaque produite. Dans le matras n° 2, on procéda au dosage de l'ammoniaque par la méthode de Folin ; l'ammoniaque trouvée correspond à 9.6 cc. d'hydrate de sodium 1 : 10 *n* ; l'ammoniaque dosée par la méthode de Folin dans le matras n° 4 correspond à 0.7 cc. d'hydrate de sodium 1 : 10 *n* ; donc l'ammoniaque produite par le clivage de l'asparagine correspond à 8.9 cc. de NaOH 1 : 10 *n*, soit à 15.1 mgr. et l'asparagine désamidée correspond à 133.5 mgr. sur 150 mgr. d'asparagine ajoutée. Des expériences analogues furent exécutées en faisant agir la levure de bière sur l'asparagine.

Les données des expériences rapportées plus haut (tableau II) conduisent aux conclusions suivantes :

1° La désamidation de l'asparagine provoquée *in vitro* par les tissus animaux (foie de Cobaye) ou par les organismes inférieurs (levure de bière) peut être reconnue par la méthode du dosage volumétrique de l'azote titrable au formol ; et la quantité d'asparagine désamidée se calcule en se basant sur la différence entre le nombre de centimètres cubes d'hydrate de soude nécessaire pour le titrage au formol de l'asparagine après l'action du tissu et le nombre de centimètres cubes d'hydrate de soude nécessaire pour le titrage d'une égale quantité d'asparagine avant l'expérience.

2° Le calcul par cette méthode de l'asparagine désamidée donne des résultats concordants avec ceux obtenus par le dosage direct de l'ammoniaque (méthode de Folin).

III. Le pouvoir de désamider l'asparagine chez les différentes espèces de vertébrés et d'invertébrés

1° MÉTHODE EMPLOYÉE

Dans nos recherches, nous avons appliqué le procédé volumétrique basé sur le dosage global de l'azote aminé et de l'azote ammoniacal,

par le titrage au formol, lequel (comme nous l'avons démontré plus haut), donne des résultats conformes à la théorie et permet d'exécuter les diverses analyses avec plus de rapidité et d'exactitude que les méthodes précédentes tout en consommant une plus petite quantité d'asparagine.

Toutes les recherches ont été exécutées de la façon suivante : l'organe (environ 1 à 2 gr.) est pilé dans un mortier avec de la poudre de quartz (sable) et transformée en une bouillie très fine ; on divise cette masse en deux parties bien égales. On les introduit dans deux matras : à l'un d'eux on ajoute 10 cc. d'une solution d'asparagine 1 : 10 *n* ; le second matras servira de contrôle. A chacun des matras, on ajoute environ 10 cc. de toluol. Après séjour au thermostat, à 37°-40°, on procède à la neutralisation exacte au papier d'azotilmine des liquides à examiner, puis l'on passe au titrage au formol qui est poussé jusqu'à coloration rouge intense de la phénolphthaléine, (3^e stade de Sørensen). L'épreuve de contrôle rend superflu l'éloignement de petites quantités d'ammoniaque ou de phosphate ou de carbonate éventuellement présents dans la bouillie. La désamidation de l'asparagine se calcule en soustrayant du nombre de cc. d'hydrate de sodium 1 : 10 *n*, employé pour le titrage du 1^{er} matras, le nombre de cc. d'hydrate de sodium pour le titrage de l'épreuve de contrôle et le nombre de cc. employé pour le titrage de l'asparagine ajoutée.

Par le calcul, on obtient la quantité d'asparagine désamidée en mmgr. et en %. Etant donné l'emploi d'une bouillie d'organe suffisamment dense, une différence voisine d'un cc. d'hydrate de soude peut être considérée comme rentrant dans les limites des erreurs de la méthode. L'asparagine employée était des plus pures, en cristaux parfaits, avec une molécule d'eau de cristallisation.

2° LE POUVOIR DE DÉSAMIDER L'ASPARAGINE CHEZ LES MAMMIFÈRES.

a) *Mammifères carnivores.* — Les mammifères à alimentation carnivore que j'ai pu soumettre à l'analyse sont le Chien, le Chat, le Renard, la Chauve-Souris et le Furet ; le pouvoir de désamider l'asparagine fut recherché dans tous les organes, en appliquant la méthode volumétrique décrite plus haut ; dans certains cas, le séjour au thermostat fut prolongé jusqu'à vingt jours pour avoir des résultats plus certains ; les résultats des recherches les plus importantes sont réunis dans les tableaux suivants (pages 378 et 379).

TABLEAU III.

ORGANE	Quantité d'asparagine traitée Mgr.	Quantité de NaOH 1/10 n. employée pour le titrage au formol				Quantité d'asparagine désamidée calculée		Durée du séjour au thermostat 37-40° en jours	Pouvoir désamidant
		de l'asparagine Cc.	de l'asparagine plus bouillie d'organe Cc.	de la bouillie d'organe Cc.	en Mgr.	en %			
Chat n° 1 (Felis Catus)	135	9.0	12.0	3.0	0	0	6	—	
		9.0	12.0	2.5	0	0	6	—	
		9.0	9.0	0.1	0	0	6	—	
		135	9.0	1.5	7	4	15	—	
		135	9.0	2.0	7	4	6	—	
Chat n° 2 (Felis Catus)	135	9.0	9.5	0.5	0	0	15	—	
		135	9.0	1.5	0	0	15	—	
		135	9.0	1.0	0	0	7	—	
		135	9.0	2.0	0	0	20	—	
		135	9.0	1.5	6	4	20	—	
Chauve-souris (Vesperugo noctiluca)	150	10.0	10.5	0.3	1	0	9	—	
		150	10.0	8.6	0	0	9	—	
		150	10.0	0.4	0	0	9	—	
		150	10.0	0.2	1	0	9	—	
		150	10.5	2.0	7	4	10	—	
Furet (Putorius furo)	139	10.0	12.3	2.5	0	0	10	—	
		139	9.3	9.7	0.4	0	0	3	—
		139	9.3	0.4	0	0	3	—	
		139	9.5	0.4	0	0	3	—	

TABEAU IV

ORGANE	Quantité d'Aspara- gine employée en Mgr.	Quantité de NaOH 1/10 n. employée pour le titrage au formol			Quantité d'aspara- gine désamidée calculée			Durée du séjour au thermostat 37-40° en jours	Pouvoir désamidant
		de l'asparagine	de l'asparagine plus bouillie d'organe	de la bouillie d'organe	en %				
					en Mgr.	en %			
Chien n° 1 (Canis familiaris) {	135	9.0	9.7	0.7	0	0	3	—	
Chien n° 2 {	135	9.0	9.3	0.8	0	0	4	—	
	135	9.0	9.5	0.5	0	0	15	—	
	135	9.0	9.7	0.5	1	0	2	—	
Chien n° 3 {	135	9.0	9.5	0.7	0	0	2	—	
	135	9.0	10.0	1.4	0	0	5	—	
	135	9.0	10.0	1.5	0	0	4	—	
	135	9.0	9.5	0.7	0	0	12	—	
	135	9.0	9.4	0.6	0	0	12	—	
	135	9.0	10.5	2.0	0	0	12	—	
Chien n° 4 {	135	9.0	12.0	3.0	0	0	11	—	
	135	9.0	10.0	2.0	0	0	8	—	
	135	9.0	11.0	3.0	0	0	16	—	
	135	9.0	10.5	1.0	7	4	18	—	
	135	9.0	10.2	1.0	3	2	15	—	
	135	9.0	7.3	2.3	0	0	14	—	
	135	9.0	10.0	1.0	0	0	16	—	
	135	9.0	10.0	1.0	0	0	16	—	
	135	9.0	9.7	0.7	0	0	10	—	
	135	9.3	11.2	1.5	7	4	3	—	
Renard (Vulpes melanogaster) {	150	10.0	14.0	3.5	7	4	10	—	

Voici les résultats de ces recherches :

Le pouvoir de désamider l'asparagine n'existe pas dans la bouillie du foie, de l'intestin, de l'estomac, du cœur, du rein, des muscles, du pancréas et de la rate chez le Chien (*Canis f.*), le Chat (*Felis Catus*), le Furet (*Putorius furo*), le Renard (*Vulpes melanogaster*), la Chauve-souris (*Vesperugo noctiluca*).

L'absence de ce pouvoir fut constatée même quand la réaction du milieu était alcaline, et après séjour au thermostat prolongé pendant vingt jours.

b) Mammifères herbivores. — Les Mammifères herbivores soumis à l'analyse sont : le Cobaye, adulte et nouveau-né, le Veau, le Chevreau, le Lapin, le Cheval, l'Antilope.

Les tableaux suivants (pages 381 et 382) donnent les résultats les plus importants.

Les résultats de ces recherches sont :

1^o Le pouvoir de désamider l'asparagine existe dans la bouillie du foie et des autres tissus (à l'exception de la bile et de l'urine) du Cobaye (*Cavia Cobaya*).

2^o Le pouvoir de désamider l'asparagine existe dans le sang du Cobaye, et spécialement dans le sérum du sang, tandis qu'il fait défaut dans les globules rouges lavés ; c'est probablement à la présence du pouvoir désamidant du sérum sanguin qu'il faut attribuer la présence du pouvoir désamidant dans les tissus en général du Cobaye, autres que le foie.

3^o Dans la bouillie du foie de Veau (*Bos Taurus*), du Cheval (*Equus Caballus*), du Chevreau (*Capra Hircus*) et de l'Antilope (*Antilope dorcas*), le pouvoir de désamidation de l'asparagine est faible ou absent.

c) Mammifères omnivores. — Les Mammifères omnivores que j'ai soumis aux analyses sont le Porc, le Rat blanc, l'Homme et le Singe.

Les résultats de mes recherches sont les suivants :

1^o Le pouvoir de désamider l'asparagine existe dans la bouillie de foie de Porc (*Sus Scropha*) et de foie de Rat blanc (*Mus Rattus var. Albina*) : il manque dans les autres tissus et organes (estomac, intestin, rein, pancréas, rate, sang. (Voir tableaux, pages 383 et 384).

TABEAU V

Organe	Quantité d'asparagine employée Mgr.	Quantité de NaOH 1/10 n. employée pour le titrage au formol				Quantité d'asparagine désamidée		Durée du séjour au thermostat 37-40° en jours	Pouvoir désamidant
		De l'asparagine		De la bouillie plus bouillie d'organe Cc.	De la bouillie l'organe Cc.	En mgr.	En %		
		Cc.	Cc.						
Cobaye n° 1 (Cavia cobaya)	135 135	9.0	19.0	2.0	88 80	120 109	25 25	++	
		9.0	17.0	0.7					
Cobaye n° 2	135 135 135 135	9.0	10.0	0.3	7	10	14	--	
		9.0	9.5	0.5	0	0	14		
		9.0	16.7	0.2	82	112	14		
		9.0	14.2	1.0	46	63	2		
Cobaye n° 3	135 135 135 135 135	9.0	18.0	1.5	82	112	6	++	
		9.0	10.5	0.5	11	15	7		
		9.0	15.0	2.5	38	52	4		
		9.0	18.0	1.0	88	120	5		
		9.0	9.5	1.0	0	0	6		
Cobaye n° 4	135 135	9.0	10.3	0.5	8	12	8	--	
		10.0	19.8	0.3	98	147	5		
Cobaye n° 5	150 150 150 150 150	10.0	18.0	0.3	76	115	3	++	
		10.0	12.0	2.5	0	0	3		
		10.0	19.0	1.3	76	115	2		
		10.0	18.5	0.3	82	123	3		
		10.0	20.0	1.0	90	135	8		
Cobaye nouveau-né	150 150 150 150 150	10.0	16.7	1.7	50	75	8	++	
		10.0	12.0	1.0	10	15	8		
		10.0	12.4	0.5	19	29	8		
		10.0	12.5	1.0	14	22	8		
		10.0	12.5	1.0	14	22	8		

TABEAU VI

Organe	Quantité d'asparagine employée Mgr.	Quantité de NaOH 1/10 n. employée pour le titrage au formol			Quantité d'asparagine désamidée calculée		Durée du séjour au thermostat 37-40° en jours	Pouvoir désamidant
		De l'asparagine Cc.	De l'asparagine bouillie d'organe Cc.	De la bouillie d'organe Cc.	En mgr.	En %		
Veau (Bos Taurus)	{ Sang en entier Foie Muscle pectoral Intestin Globules rouges	150	10.0	11.7	1.5	3	2	—
		150	10.0	14.0	1.5	37	24	+
		150	10.0	10.9	0.6	4	3	—
		150	10.0	15.6	5.0	9	6	—
		150	10.0	10.6	0.7	0	0	—
Antilope (Antilope dorcas)	{ Cœur Foie Poumon	150	10.0	12.2	1.0	15	10	—
		150	10.0	18.0	0.6	111	74	+
		150	10.0	11.2	0.7	4	3	—
Chevreau n° 1 (Capra hircus)	{ Foie (échantillon 1)... Foie (échantillon 2)...	150	10.0	14.0	2.5	22	15	+
		150	10.0	14.5	2.5	30	20	+
Chevreau n° 2	{ Foie Poumon Cœur Reins	150	10.0	12.6	0.6	30	20	+
		150	10.0	11.2	0.8	6	4	—
		150	10.0	10.5	0.5	0	0	—
		150	10.0	10.6	0.7	0	0	—
Lapin n° 1 (Lepus cuniculus)	{ Foie Reins	150	10.0	12.5	1.5	15	10	+
		150	10.0	11.5	1.0	7	5	—
Lapin n° 2	Foie	150	10.0	14.5	3.5	15	10	+
Cheval n° 1 (Equus caballus)	{ Foie Reins Intestin	150	10.0	14.7	2.6	30	20	+
		150	10.0	16.0	2.5	52	35	+
		150	10.0	12.3	1.0	19	12	+
Chevreau n° 3	{ Reins Foie	150	10.0	10.5	0.6	0	0	—
		150	10.0	10.3	0.3	0	0	—
Cheval n° 2	{ Reins n° 1 Reins n° 2	150	10.0	10.7	1.0	0	0	—
		150	10.0	11.0	1.0	0	0	—

Organe	Quantité d'asparagine ajoutée Mgr.	Quantité de NaOH 1/10 n. employée pour le titrage au formol			Quantité d'asparagine désamidée		Durée du séjour au thermostat en jours	Pouvoir désamidant	
		De l'asparagine Cc.	De l'asparagine plus bouillie d'organe Cc.	De la bouillie d'organe Cc.	En mgr.	En %			
Porc n° 1 (Sus scropha)	{ Foie	135	9.0	20.0	2.5	127	94	4	+
	{ Rate	135	9.0	10.0	0.8	0	0	4	—
	{ Cœur	135	9.0	9.0	0.1	0	0	6	—
Porc n° 2	{ Foie	150	10.0	24.0	3.5	150	100	15	+
	{ Rate	150	10.0	11.0	0.8	3	2	15	—
	{ Reins (échantillon 1) ..	150	10.0	10.5	0.5	0	0	6	—
	{ Reins (échantillon 2) ..	150	10.0	10.6	0.7	0	0	6	—
	{ Estomac	150	10.0	10.4	0.4	0	0	15	—
	{ Poumons	150	10.0	12.2	1.6	9	5	15	—
Rat n° 1 (Mus Rattus var. Albina)	{ Foie	135	9.0	19.5	2.0	127	94	11	+
	{ Intestin	135	9.0	10.0	1.0	0	0	11	—
	{ Reins	135	9.0	11.5	1.3	18	13	11	—
Rat n° 2	{ Foie	150	10.0	19.0	1.0	120	80	10	+
	{ Intestin	150	10.0	14.0	5.0	0	0	10	—
	{ Reins	150	10.0	15.0	4.0	15	10	10	—
	{ Estomac	150	10.0	12.0	2.0	0	0	10	—
	{ Pancréas	150	10.0	11.3	1.0	4	2	10	—
Rat n° 3	{ Foie	150	10.0	12.7	0.7	30	20	2	+
	{ Sang entier	150	10.0	10.3	0.4	0	0	5	—
	{ Intestin	150	10.0	11.0	1.0	0	0	5	—
	{ Reins	150	10.0	10.3	0.7	0	0	8	—
	{ Rate	150	10.0	10.5	0.6	0	0	5	—
	{ Urine	150	10.0	13.0	3.0	0	0	6	—
Rat nouveau-né	{ Foie	135	9.0	15.5	1.0	82	60	10	+
	{ Reins	135	9.0	11.0	1.5	7	5	10	—
Rat (alimenté 1 1/2 mois à l'albumine d'œuf)	{ Foie	135	9.0	11.0	2.0	0	0	9	—
	{ Intestin	135	9.0	12.0	2.5	0	0	9	—
	{ Reins	135	9.0	11.5	1.5	0	0	9	—
	{ Rate	135	9.0	11.0	2.0	0	0	9	—

TABLEAU VIII

Organe	Asparagine Mgr.	Quantité de NaOH 1/10 n. employée pour le titrage au formol			NH ₃ dégagé de l'asparagine calculée		Durée du séjour au thermostat 37°-40° en jours	Pouvoir désamitant
		De l'aspa- ragine Cc.	De l'aspa- ragine plus bouillie d'organe Cc.	De la bouillie d'organe Cc.	En mgr.	En %		
Femme (Morte par avortement)	150	Foie (1° C°)	10.0	10.3	0.3	0	2	—
		Foie (2° C°)	10.0	10.8	0.8	0	16	—
		Intestin (muqueuse) ..	10.0	11.0	1.6	0	6	—
		Reins	10.0	14.0	2.0	30	20	+
		Placenta	10.0	11.0	0.6	6	4	—
Homme n° 1 (Mort par insuffisance cardiaque)	150	Foie	10.0	10.5	0.6	0	10	—
		Foie	10.0	11.0	1.2	0	2	—
		Reins	10.0	11.0	1.0	0	4	—
Nouveau-né humain (Avortement)	150	Foie	10.0	11.0	1.5	0	4	—
		Intestin	10.0	9.5	10.5	0	12	—
		Cœur	10.0	11.0	0.7	4	2	—
		Pancréas	10.0	10.4	0.3	1	0	—
Homme n° 2 (vivant, sain)	150	Urine	10.0	14.0	5.0	0	3	—
		Sang entier	10.0	10.2	1.0	0	12	—
		Plasma sanguin	10.0	10.7	0.6	0	8	—
Singe (Hapale Iacchus)	150	Foie (n° 1)	10.0	12.5	1.9	7	10	—
		Intestin	10.0	10.7	0.8	0	10	—
		Foie (n° 2)	9.3	9.4	0.3	0	3	—

2° Chez l'homme et chez le Singe, le pouvoir de désamider l'asparagine n'existe ni dans le foie, ni dans les autres organes ou tissus (intestin, cœur, placenta, rein, sang, etc.).

d) *Conclusions.* — La conclusion principale que l'on peut tirer des recherches exécutées sur les organes des Mammifères et qui ont été exposées plus haut, est la suivante :

Le pouvoir de désamider in vitro à 37° l'asparagine fait défaut dans tous les tissus ou organes des Mammifères dont l'alimentation est surtout carnivore : ce pouvoir existe chez les Mammifères dont l'alimentation est principalement herbivore, non seulement dans le foie, mais aussi dans le sérum du sang chez certaines espèces (Cobaye) mais peut aussi être très faible ou faire défaut chez d'autres espèces. Chez les Mammifères à alimentation mixte ou omnivore, ce pouvoir existe chez certaines espèces (Porc, Rat blanc) mais seulement dans le foie ; il manque chez d'autres espèces (Homme, Singe).

3° LE POUVOIR DE DÉSAMIDER L'ASPARAGINE CHEZ LES OISEAUX.

Les oiseaux soumis à l'analyse ont été : le Coq, la Fauvette, la Pie, la Chouette et le Faucon.

Les résultats de ces recherches (tableaux des pages 386 et 387) sont :

1° La bouillie de foie et de rein de Poule (*Gallus bankiva*), de Pie (*Pica rustica*), de Fauvette (*Silvia melanocephala*), de Chouette (*Athene noctua*), de Faucon (*Falco tinnunculus*) possèdent le pouvoir de désamider l'asparagine.

2° Le pouvoir de désamider l'asparagine fait défaut dans tous les autres organes (intestin, pancréas, cœur, rate, sang), excepté dans les testicules.

4° LE POUVOIR DE DÉSAMIDER L'ASPARAGINE CHEZ LES AMPHIBIENS ET LES REPTILES

Les Reptiles et les Amphibiens soumis à l'analyse furent : le Crapaud, la Tortue, la Couleuvre, le Triton. Le tableau de la page 388 donne les résultats les plus importants de ces recherches.

TABEAU IX

Organe	Quantité d'asparagine employée Mgr.	Quantité de NaOH 1/10 n. employée pour le titrage au formol			Quantité d'asparagine désamidée calculée		Durée du séjour au thermostat 37-40° En jours	Pouvoir désamidant
		De l'asparagine ragine.	De l'asparagine plus bouillie d'organe	De la bouillie d'organe	En mgr.	En %		
Poule n° 1 (Gallus Bankiva)	Foie	9.0	15.5	0.9	84	62	4	+
	Intestin	9.0	10.0	1.2	0	0	4	-
	Sang entier	9.0	9.0	0.1	0	0	10	-
Poule n° 2	Foie	9.0	19.0	1.0	135	100	6	+
	Pancréas	9.0	17.5	8.0	7	5	12	-
	Intestin	9.0	9.5	0.5	0	0	12	-
	Testicules	9.0	19.0	2.5	112	82	12	+
	Sang entier	10.0	11.3	1.3	0	0	5	-
	Sérum sanguin	10.0	11.2	1.1	0	0	2	-
	Reins	10.0	20.2	1.8	128	85	6	+
Chouette n° 1 (Athene Noctua)	Foie (échantillon 1) ..	9.0	16.5	0.5	105	77	6	+
	Foie (échantillon 2) ..	9.0	17.5	2.0	97	71	6	+
	Sang entier	9.0	9.5	0.5	0	0	6	-
	Cœur	9.0	10.5	1.0	7	5	6	-
	Pancréas	9.0	10.5	1.0	7	5	6	-
	Reins	9.0	17.0	1.1	104	76	6	+
	Intestin	9.0	10.5	1.5	0	0	6	-
	Rate	9.0	9.5	0.2	3	2	6	-
	Estomac	9.0	9.0	0.2	0	0	6	-
Chouette n° 2	Foie	10.0	19.0	1.0	120	80	10	+
	Reins (éch. 1)	10.0	19.0	0.9	120	80	10	+
	Reins (éch. 2)	10.0	18.7	0.9	117	78	10	+
	Estomac	10.0	10.6	0.6	0	0	10	-
	Intestin	10.0	10.4	0.4	0	0	10	-
	Cerveau	10.0	11.4	0.8	9	6	16	-
	Capsules surrénales ..	10.0	10.4	0.3	1	0	16	-
	Cœur	10.0	10.1	0.3	0	0	16	-
	Muscles pectoraux	10.0	12.5	2.2	4	2	10	-
	Bile	10.0	10.4	0.4	0	0	10	-

TABLEAU X

Organe	Asparagine en mgr.	Quantité de NaOH 1/10 n. employée pour le titrage au formol				Quantité d'aspara- gine désamidée calculée		Durée du séjour au thermostat 37-40° en jours	Pouvoir désamissant
		De l'aspa- ragine plus bouillie d'organe		De la bouillie d'organe		En mgr.	En %		
		De l'aspa- ragine	De l'aspa- ragine plus bouillie d'organe	De l'aspa- ragine plus bouillie d'organe	De la bouillie d'organe				
Pie (Pica rustica)	Foie	150	10.0	21.5	3.4	121	80	8	+
	Intestin	150	10.0	10.7	1.8	0	0	8	—
	Reins	150	10.0	20.5	1.5	135	90	8	+
	Muscles pectoraux ..	150	10.0	10.4	0.5	0	0	8	—
	Rate	150	10.0	10.5	1.3	0	0	8	—
Canard sauvage (Anas boschas) Fauvette (Silvia melan.)	Foie	150	10.0	15.8	0.4	81	54	7	+
	Foie	150	10.0	19.7	0.5	138	92	12	+
Poule n° 3	Cœur	135	10.0	19.7	0.5	7	5	7	—
	Testicules	135	9.0	20.5	3.5	120	88	7	+
Faucon (Falco Tinnunculus)	Foie (éch. 1)	150	10.0	19.5	0.7	132	88	5	+
	Foie (éch. 2)	150	10.0	19.6	0.7	133	88	5	+
	Reins (éch. 1)	150	10.0	19.0	0.4	129	86	5	+
	Reins (éch. 2)	150	10.0	18.4	0.4	120	80	5	+
	Rate	150	10.0	11.6	1.2	6	4	10	—
	Cœur	150	10.0	10.5	0.5	0	0	17	—
	Intestin	150	10.0	12.0	2.0	0	0	17	—

TABEAU XI

Organe	Quantité d'asparagine ajoutée Mgr.	Quantité de NaOH 1/10 n. employée pour le titrage au formol			Quantité d'asparag. désamidée calculée		Durée du séjour au thermostat 37-40° en jours	Pouvoir désamidant	
		De l'asparagine Cc.	De l'asparagine plus bouillie d'organe Cc.	De la bouillie d'organe Cc.	En mgr.	En %			
Testudo graeca	Foie	150	10	11.0	1.0	0	0	6	—
	Intestin	150	10	11.5	1.0	7	4	9	—
	Sang	150	10	9.8	0.3	0	0	11	—
	Cœur	150	10	10.5	0.5	0	0	30	—
Emys europea	Foie	135	9	10.0	1.0	0	0	7	—
	Sang	135	9	9.5	0.5	0	0	7	—
	Muscles striés	135	9	9.7	0.6	0	0	7	—
	Intestin	135	9	9.4	0.5	0	0	7	—
Zamensis viridiflavus	Foie (éch. 1)	150	10	10.4	0.4	0	0	11	—
	Foie (éch. 2)	150	10	11.0	0.7	4	2	15	—
	Reins	150	10	10.7	0.7	0	0	10	—
	Cœur	150	10	10.4	0.3	1	0	15	—
Bufo vulgaris	Foie	150	10	11.1	0.8	0	0	13	—
	Reins	150	10	10.9	0.8	1	0	13	—
	Intestin	150	10	11.2	1.0	3	2	13	—
	Estomac	150	10	10.2	0.2	0	0	13	—
Triton cristatus n° 1	Testicules	150	10	10.2	0.4	0	0	13	—
	Muscle sartorius .	150	10	10.3	0.2	1	0	13	—
	Œufs pondus	150	10	10.3	0.4	0	0	13	—
	Œufs pondus	150	10	10.3	0.4	0	0	13	—
Triton cristatus n° 2	Foie	135	9	8.5	0.1	0	0	10	—
	Intestin	135	9	8.8	0.2	0	0	10	—
	Rate	135	9	9.1	0.1	0	0	10.	—
	Testicules	135	9	9.0	0.1	0	0	10	—
Bufo vulgaris (n° 2)	Organes internes en masse	135	9	10.5	1.0	7	4	5	—
	Foie	150	10	10.3	0.3	0	0	4	—

Les résultats des recherches exécutées sont les suivants :

Le pouvoir de désamider l'asparagine n'existe pas dans la bouillie des organes les plus variés (foie, intestin, cœur, estomac, rate, ovaire), de Grenouille (*Rana esculenta*), de Crapaud (*Bufo vulgaris*), de Triton (*Triton cristatus*), parmi les Amphibiens, de Tortue (*Testudo graeca*, *Emys europea*), de Couleuvre (*Zamensis viridiflavus*), parmi les Reptiles.

5° LE POUVOIR DE DÉSAMIDER L'ASPARAGINE CHEZ LES POISSONS ET CHEZ LES INVERTÉBRÉS

Parmi les Poissons, *Cyprinus auritus* est le seul dont j'ai pu soumettre les organes à l'analyse.

Parmi les Invertébrés, j'ai soumis à l'analyse les organes en bloc de quelques représentants des Vers, des Mollusques et des Arthropodes.

Les résultats de ces recherches figurent dans le tableau, page 390.

Les résultats de ces recherches sont les suivants : Le pouvoir de désamider l'asparagine fait défaut dans le foie et les autres organes de *Cyprinus auritus* parmi les Poissons, de *Sepia officinalis*, *Dytiscus*, *Hirudo medicinalis*, *Libellula* parmi les Invertébrés à alimentation principalement carnivore et d'*Helix pomatia*, de *Pieris Brassicae* (larve) parmi les Invertébrés à alimentation herbivore.

IV. La nature enzymatique du pouvoir des tissus animaux de désamider l'asparagine

L'existence dans les tissus animaux d'une enzyme qui opère la désamidation de l'asparagine *in vitro* a bien été admise par LANG, par v. FÜRTH et FRIEDMANN ; mais on ne peut la considérer comme démontrée rigoureusement ; j'ai cherché à faire cette démonstration en recherchant si le pouvoir de désamider l'asparagine persiste dans le foie du Cobaye après l'ébullition, dans le précipité acétonique ou alcoolique de l'extrait aqueux du foie de Cobaye et comment il se comporte, dans l'extrait aqueux quand la réaction est rendue artificiellement acide ou alcaline au tournesol, par addition d'acides ou de bases minéraux.

TABLEAU XII

Organe	Quantité d'asparagine traitée, Mgr.	Quantité de NaOH 1/10 n. employée pour le titrage au formol			Quantité d'asparagine désamidée calculée		Durée du séjour au thermostat 37-40° en jours	Pouvoir désamidant
		De l'asparagine Cc.	De l'asparagine plus bouillie d'organe Cc.	De la bouillie d'organe Cc.	En mgr.	En %		
Cyprinus auritus { Foie Estomac Testicules Muscles striés ..	150	10	11.0	0.3	10	6	5	—
	135	9	9.8	0.3	7	5	5	—
	150	10	10.6	0.4	3	2	5	—
	150	10	10.3	0.3	0	0	5	—
Sepia officinalis... Hépato-pancréas	135	9.0	10.0	1.0	0	0	6	—
Helix pomatia.... Hépato-pancréas	135	9.0	9.9	0.7	3	2	3	—
Dytiscus (larve)... Animal entier ..	135	9.0	9.3	0.3	0	0	7	—
Pieris Brassicae .. Animal entier ..	150	10.0	10.1	0.2	0	0	10	—
Libellula (larve) . Animal entier (A)	135	9.0	10.0	1.0	0	0	10	—
Libellula (larve) . Animal entier (B)	150	10.0	12.1	2.0	1	0	6	—
Hirudo medicinalis Animal entier ..	150	10.0	10.6	0.6	0	0	3	—

TABEAU XIII

Organe	Asparagine En mgr	Quantité de NaOH 1/10 n. employée pour le titrage au formol			Quantité d'asparag. désamidée calculée		Durée du séjour au thermostat 37-40° En jours
		De l'aspa- ragine Cc.	De l'aspa- ragine plus l'organe Cc.	De l'organe Cc.	En mgr.	En %	
Extrait aqueux de foie de Cavia (tenu 3 mois dans la sol. physiol. additionnée de totuol)	150	10	20.6	2.1	127.5	84	3
Extrait aqueux de foie de Cavia (bouilli pendant 30') ...	150	10	10.5	0.6	0	0	5
Précipité alcoolique de l'extrait aqueux filtré de foie de Cavia (n° 1)	150	10	13.5	0.1	51.0	34	5
Précipité acétonique de l'extrait aqueux filtré de foie de Cavia (n° 1)	150	10	11.5	0.1	21.0	14	5
Précipité alcoolique d'extrait aqueux filtré de foie de Cavia n° 2 (gr. 0.01) (Alcalinité = gr. 0.02 % NaOH)	135	9	16	0.2	102.0	75	3
Précipité alcoolique d'extrait aqueux de foie de Cavia n° 2 (gr. 0.01) (Alcalinité = gr. 0.02 % NaOH)	135	9	16	0.2	102.0	75	3

TABLEAU XIV

	Asparagine en mgr.	Quantité de NaOH 1/10 n. employée pour le titrage au formol				Quantité d'asparag. désamidée calculée		Durée du séjour au thermostat 37-40° En jours
		De l'aspa- ragine	De l'aspara- gine plus organe	De l'or- gane	De l'am- moniaque calculée	En mgr.	En %	
		Cc.	Cc.	Cc.	Cc.			
Foie de Cavia (Extrait sol. physiol. filtré) NaOH 0.02 %	135	9	11.8	0.6	2.2	33	24	3
Foie de Cavia (id.) NaOH 0.040 %	135	9	14.0	0.6	4.4	66	48	3
Foie de Cavia (id.) NaOH 0.066 %	135	9	13.3	0.6	3.7	55	40	3
Foie de Cavia (id.) NaOH 0.093 %	135	9	13.8	0.6	4.2	63	46	3
Foie de Cavia (id.) H ² SO ⁴ 0.025 %	135	9	10.8	0.6	1.2	18	13	3
Foie de Cavia (id.) H ² SO ⁴ 0.050 %	135	9	10.0	0.6	0.4	6	4	3
Foie de Cavia (id.) H ² SO ⁴ 0.083 %	135	9	9.8	0.6	0.2	3	2	3
Foie de Cavia (id.) H ² SO ⁴ 0.115 %	135	9	9.8	0.6	0.2	3	2	3

TABLEAU XV

	Asparagine en mgr.	Quantité de NaOH 1/10 n. employée pour le titrage au formol				Quantité d'asparagine désamidée calculée		Durée du séjour au thermostat 37-40° en jours
		De l'asparagine Cc.	De l'asparagine plus l'organe Cc.	De l'organe Cc.	De l'analyse monétique Cc.	En mgr.	En %	
Foie de Cavia (Extrait sol. physiol. filtré) ...	135	9	15.5	0.8	5.7	85	62	10
Foie de Cavia (Extrait sol. physiol. filtré) NaOH 0.02 %	135	9	17.0	0.8	7.2	108	80	10
Foie de Cavia (id.) NaOH 0.040 %	135	9	17.0	0.8	7.2	108	80	10
Foie de Cavia (id.) NaOH 0.066 %	135	9	17.0	0.8	7.2	108	80	10
Foie de Cavia H ₂ SO ₄ 0.025 %	135	9	11.5	0.8	1.7	25	18	10
Foie de Cavia H ₂ SO ₄ 0.050 %	135	9	10.0	0.8	0.2	3	2	10
Foie de Cavia H ₂ SO ₄ 0.083 %	135	9	10.0	0.8	0.2	3	2	10
Foie de Cavia H ₂ SO ₄ 0.115 %	135	9	9.8	0.8	0.0	0	0	10

Les résultats des expériences figurant aux tableaux précédents, pages 391, 392, 393, démontrent que le pouvoir de désamider l'asparagine *in vitro*, existe encore dans le foie du Cobaye même après trois mois de séjour dans le toluol, mais disparaît par ébullition. Il est présent dans le précipité alcoolique et en partie aussi dans le précipité acétonique de l'extrait aqueux de foie de Cobaye ; le pouvoir de l'extrait aqueux de foie de Cobaye de désamider l'asparagine persiste dans les milieux à réaction amphotère ou alcaline, mais disparaît par la réaction acide.

Des données rapportées ci-dessus, nous pouvons tirer les conclusions suivantes :

1^o Le pouvoir de désamider l'asparagine *in vitro* à la température de 37°, pouvoir qui appartient à des organes animaux (foie des mammifères et foie et reins, des oiseaux) ou à des tissus et au sérum sanguin (de Cobaye) est dû à la présence d'une enzyme, qu'on peut appeler *asparaginase*.

2^o Cette enzyme (*asparaginase*) est détruite à la température de 100°, elle est soluble dans l'eau, et est précipitée par l'alcool ou l'acétone.

L'asparaginase agit en solution neutre ou alcaline au tournesol, mais son activité est arrêtée par une réaction acide au tournesol, correspondant environ à 0.025 gr. % de H²SO⁴.

V. Conclusions générales.

Les faits les plus importants qui résultent des recherches exposées ci-dessus sont les suivants :

1^o La désamidation de l'asparagine (opérée à chaud par les acides ou par les tissus animaux *in vitro* à 37° et 40°) peut être reconnue par la méthode du dosage volumétrique de l'azote titrable au formol, grâce au fait que l'asparagine se comporte au titrage au formol comme un acide monobasique, tandis que l'aspartate d'ammoniaque se comporte comme un acide bibasique.

2^o La quantité d'asparagine désamidée peut se calculer d'après la différence entre le nombre de cc. d'hydrate de sodium nécessaire pour le titrage au formol de l'asparagine avant l'action des acides ou des tissus et le nombre de cc. d'hydrate de sodium nécessaire pour le titrage de la même quantité d'asparagine après l'action des acides ou des tissus.

3° Dans les tissus et dans les organes capables de désamider *in vitro* l'asparagine, se trouve un *ferment*, qu'on peut appeler *asparaginase*. Ce ferment est soluble dans l'eau, précipité par l'alcool ou par l'acétone, est actif à 37°, si la réaction est amphotère ou alcaline au tournesol, mais non dans un milieu acide (acidité correspondant à 0.025 % en poids de H²SO⁴).

4° L'*asparaginase* n'est pas répandue dans tout le règne animal.

5° Dans la classe des Mammifères, l'*asparaginase* fait défaut chez les espèces à alimentation principalement carnivore (Chien, Chat, Chauve-souris, Renard, Furet); parmi les espèces à alimentation omnivore, ce pouvoir est présent chez quelques-unes (Rat blanc, Porc), mais manque chez d'autres (Homme, Singe); parmi les espèces à alimentation principalement herbivore, ce pouvoir existe chez quelques-unes (Cobaye), mais peut manquer chez d'autres.

6° Dans la classe des Oiseaux, l'*asparaginase* existe tant chez les espèces frugivores, que chez celles à alimentation principalement carnivore.

7° Dans la classe des Reptiles (Sauriens, Ophidiens, Chéloniens) et dans celle des Amphibiens (Anoures et Urodèles) l'*asparaginase* est absente; il est de même pour certaines espèces de Poissons.

8° Parmi les Invertébrés, l'*asparaginase* est absente aussi bien chez les herbivores (*Pieris Brassicae*, *Helix*) que chez les carnivores (*Hirudo medicinalis*).

9° Le foie des Mammifères, le foie et les reins des Oiseaux sont les organes chez lesquels l'*asparaginase* est présente, tandis qu'en général les autres organes en sont privés; chez les Cobayes, elle existe aussi dans le sang, à proprement parler dans le sérum et non dans les globules rouges lavés.

VI. Considérations générales

Parmi les faits nouveaux mis en lumière par les présentes recherches deux sont dignes du plus grand intérêt, parce qu'il peuvent verser une lumière nouvelle sur la signification physiologique de la présence de l'*asparaginase* dans l'organisme animal :

1° La présence de l'*asparaginase* uniquement chez certaines espèces animales et uniquement dans certains organes ou tissus, fait qui est nettement opposé à la théorie de V. FÜRTH et FRIEDMANN (5), qui croient que ce ferment est répandu dans tous les tissus

et admettent qu'il a une signification physiologique analogue à celle de l'éreptase des tissus, c'est-à-dire qu'elle serait en rapport avec la dégradation de la molécule protéique au cours des échanges intermédiaires de l'organisme.

2° *Le type principalement carnivore de l'alimentation des espèces de Mammifères chez lesquels l'asparaginase manque et le type principalement herbivore ou omnivore de ceux chez lesquels l'asparaginase est présente.* Ce fait conduit à penser que la présence de l'asparaginase dans l'organisme représente un *phénomène d'adaptation biochimique des espèces animales*, en rapport avec une des caractéristiques chimiques de l'alimentation d'origine végétale, qui, comme on le sait, est représentée par la présence de l'asparagine.

Contre cette interprétation sur la signification physiologique de la présence de l'asparaginase dans l'organisme animal, plaideraient un certain nombre de faits mis en évidence par nos propres recherches, c'est-à-dire l'absence de l'asparaginase dans beaucoup d'espèces d'herbivores et la présence chez certaines espèces d'oiseaux rapaces à alimentation principalement carnivore. Mais ce contraste est, croyons-nous, plus apparent que réel; et en voici les raisons.

1° L'asparagine est présente dans beaucoup de plantes, mais n'est pas répandue dans tout le règne végétal [(BORODIN (3), SCHULZE (19))]; elle n'est donc pas présente en quantité égale dans les différents aliments d'origine végétale et elle peut être absente ou non constamment présente dans les aliments de toutes espèces d'herbivores ou d'omnivores.

2° Il existe vraisemblablement chez les différents animaux une aptitude différente à réagir vis-à-vis de l'introduction alimentaire de l'asparagine par l'élaboration de l'asparaginase.

3° Les oiseaux rapaces, quoique surtout carnivores, ne sont probablement pas exclusivement carnivores dans toutes les périodes de leur vie; d'ailleurs certains auteurs admettent que les Oiseaux rapaces peuvent, quand il y a pénurie d'aliments d'origine animale, ingérer aussi des graines végétales.

Aussi, croyons-nous que les résultats des recherches présentes sont contraires à la théorie de v. FÜRTH et de FRIEDMANN et peuvent être considérés comme favorables à une nouvelle théorie nutritive sur la signification physiologique de la présence de l'asparaginase dans l'organisme animal: théorie d'après laquelle l'asparaginase aurait le rôle fonctionnel de faciliter l'utilisation de la part de l'organisme de cette

substance azotée caractéristique des aliments d'origine végétale ; en effet, l'asparagine transformée par l'action de l'asparaginase en acide aspartique et ammoniacque peut être plus facilement oxydée dans la phase catabolique des échanges nutritifs ou plus facilement utilisée dans la phase anabolique de la synthèse des substances protéiques.

Cette interprétation concernant la signification physiologique de l'asparaginase serait d'accord avec les observations de certains chercheurs (WEISKE, KENNEPOHL et SCHULZE (20), MUNK (14), GABRIEL (6), suivant lesquels l'asparagine administrée aux Mammifères omnivores ou herbivores exercerait une action de réparation des protéiques plus manifeste que si on l'administre aux Mammifères carnivores.

L'absence d'asparaginase dans le foie de Chien est aussi importante à noter ; car puisqu'il a été démontré par JACOBY (8) que pendant l'autolyse du foie, il y a mise en liberté d'ammoniacque, nous devons admettre, que ce phénomène est dû à des ferments désamidants, peut-être différents de l'asparaginase, et, dans ce cas, que l'ammoniacque puisse être aussi liée dans la molécule protéique à des aminoacides autres que l'acide aspartique. Ceci m'amène à poursuivre des recherches analogues à celles que je viens d'exposer, sur la désamidation enzymatique de la glutamine par l'action des tissus animaux.

La présence de l'asparaginase dans le sérum du sang du Cobaye doit engager à étudier le problème qui se rapporte à la possibilité de provoquer la genèse de l'asparaginase dans le sérum sanguin ou dans le foie des Mammifères carnivores, au moyen de l'administration prolongée d'asparagine *per os* ou par voie sous-cutanée ou endo-veineuse ; je me réserve de poursuivre des recherches spéciales sur ce problème.

BIBLIOGRAPHIE

1. ABDERHALDEN u. SCHITTENHELM : Die Wirkung der proteolytischen Fermente keimender Samen des Weizens und der Lupinen auf Polypeptide. *Zeitsch. f. physiol. Chemic*, II, 1906.
2. BUTKEWITSCH : Die Umwandlung der Eiweissstoffe in verdunkelten grünen Pflanzen. *Biochem. Zeitsch*, XII, 1908, 314.
3. BORODIN : Ueber die physiologische Rolle und Verbreitung des Asparagins im Pflanzenreiche. *Botan. Zeitsch.*, XXXVI, N° 51 e 52, 1878.

4. CLEMENTI A. : Sulla deamidazione enzimatica dell' asparagina in diverse specie animali e sul significato fisiologico della sua presenza nell' organismo. *Reale Acc. dei Lincei. Cl. Sc. Fs.*, Roma 1921, XXX.
5. FÜRTH O. V. u. FRIEDMANN : Ueber die Verbreitung asparaginspaltender Organfermente. *Biochem. Zeitsch.*, 1900, XXVI.
6. GABRIEL : Bedeutung des Asparagins als Nahrungstoff. *Zeits. f. Biol.*, XXIX, 195.
7. HENRIQUES u. GYALDBAECK : Ueberhydrolyt. Spaltung von Proteinen durch Einwirkung von Pepsin, Trypsin, Säuren u. Alkalien. *Zeisch. f. physiol. Chem.* LXXV, 1911, 363.
8. JACOBY : Ueber die fermentative Eiweisspaltung und Ammoniakbildung in der Leber. *Zeits. f. physiol. Chem.* XXX, 149.
9. KNIERIEM : Beiträge zur Kenntniss der Bildung des Harnstoffs im thierischen Organismus. *Zeits. f. Biol. Bot.*, X, 253.
10. KATO KAN : Ueber Fermente in Bambusschösslingen. *Zeits. f. physiol. Chem.* LXXV, 456.
11. KIESEL : Ueber das Verhalten des Asparagins bei Autolyse von Pflanzen. *Zeits. f. physiol. Chem.* LX.
12. LANG : Ueber deamidierung im Thierkörper. *Beitr. z. chem. Physiol. u. Pathol.*, 5, 1904.
13. LIEBIG : *Traité de Chimie organique*. Paris, 1842.
14. MUNK : Der Einfluss des Asparagins auf den Eiweissumsatz und die Bedeutung desselben als Nahrungstoff. *Virchow's Arch.*, 1883, XCIV.
Ueber den Einfluss des Asparagins auf den Eiweissumsatz *Vichow's Arch.* XCVIII, 1884.
15. OSBORNE : LEAWENWORTH and BRAUTLECHT : The different forms of nitrogen in proteins. *Amer. Journ. of physiol.*, XXIII, 1908-09, 181.
16. PIRIA R : Memoria sulla costituzione molecolare dell' asparagina e dell' acido aspartico. VII *Adunanza degli Scienziati italiani a Napoli*, 1846.
17. PRINGSHEIM : Ueber Pilzdesamidase. *Biochem. Zeits.*, XII, 1902.
18. SCHULZE : Neue Beiträge zur Kenntniss der Zusammensetzung und des Stoffwechsels der Keimpflanzen. *Zeits. f. physiol. Chem.*, XLVII, 1906.
19. SCHULZE : Ueber die Verbreitung des Glutamins in den Pflanzen. *Laudov. Vers. Station*, XLVIII, 33, 1897.
20. WEISKE, KENNEPOHL und SCHULZE : Ueber die Bedeutung des Asparagins für die thierische Ernährung. *Zeits. f. Thier. Ernähr.*, XVIII, 145.
21. WEISKE : Ueber die Bedeutung des Asparagins für die Ernährung der Herbivoren. *Zeist. f. Biol.*, XXX.
22. WEISKE und SCHULZE : Versuche über das Verhalten verschiedener Amidkörper im thierischen Organismus. *Zeits. f. Biol.* XX, 1884, 277.