

CHIMIE BIOLOGIQUE. — *Isolement dans le plasma et dans l'urine d'ester-sulfate de 5-androstène-3 $\beta$  ol-17 one chez une malade atteinte de tumeur surrénalienne.* Note (\*) de M. ÉTIENNE-ÉMILE BAULIEU, présentée par M. Léon Binet.

---

Dans le plasma et les urines d'une malade ayant une tumeur cortico-surrénalienne, un ester-sulfate de 5-androstène-3 $\beta$  ol-17 one (DHEA) a été isolé par chromatographie d'adsorption sur alumine et de partage sur colonne et sur papier.

Depuis le travail de Munson (1) qui a isolé des urines de sujets normaux le sulfate de la 5-androstène-3 $\beta$  ol-17 one (déhydroépiandrostérone ou DHEA) sous forme de semicarbazone, nous avons avec Jayle, Weinmann, Crépy et Malassis (2) démontré l'exclusive sulfoconjugaison de ce stéroïde dans les urines humaines normales ou pathologiques sur la base d'expériences utilisant la séparation chromatographique des ester-sulfates et des glycuronides de stéroïdes (3), l'hydrolyse des  $\Delta$ -5-stéroïdes sulfoconjugés à pH 4,7 (4), (5) et par la sulfatase d'*Helix Pomatia* (6). Si aucune autre forme de conjugaison n'a jusque-là été démontrée dans les urines, dans le sang, au contraire, le problème de la conjugaison de la DHEA reste discuté; elle n'est pas directement extractible par les solvants organiques mais est libérée après hydrolyse à pH 0,8 et extraction par l'éther (7), ce qui est aussi le fait des esters-sulfates (8); d'autre part, on a pu hydrolyser une partie de la DHEA plasmatique par des phosphatases (9) et isoler des complexes DHEA-phosphate du plasma de sujets normaux recevant de l'ACTH (10), mais on n'a pas trouvé jusque-là d'ester-sulfate de DHEA dans le sang.

Nous avons traité plusieurs échantillons d'urines et de sang d'une jeune fille atteinte de cortico-surréalome; selon les jours, les 17-cétostéroïdes urinaires totaux oscillaient entre 300 et 900 mg/jour dont 60 à 90 % étaient de la DHEA.

Les urines ont été extraites à leur pH par le nor-butanol ou par le mélange éthanol-éther (1-3) après addition de 50 % de sulfate d'ammonium. Les extraits ont été adsorbés sur des colonnes d'alumine et les éluats par des mélanges éthanol-acétone ont été fractionnés par chromatographie de partage sur des colonnes de celite 535 ou de gel de silice/eau-ammoniaque,

à l'aide d'alcool isoamylique. Après purification terminale et plusieurs cristallisations dans des mélanges méthanol-dichlorométhane, un produit blanc (F 190-192°) a été obtenu. Ce corps a été chromatographié sur papier dans trois systèmes différents [(alcool isoamylique-ammoniaque-eau, 55/27/18 <sup>(11)</sup>), toluène-*t*-butanol-acide acétique-eau, 85/15/30/70 <sup>(12)</sup> et acétone-méthanol-eau <sup>(13)</sup>]; une électrophorèse sur papier sous  $6 \cdot 10^{-2} \text{V} \cdot \text{m}^{-1}$ , en tampon borate  $3 \cdot 10^{-2} \text{M}$ , pH 8,9 a été pratiquée, et le produit a migré vers l'anode. Il s'est toujours montré homogène, donnant la réaction de Zimmermann des 17-cétostéroïdes, contenant l'ion  $\text{SO}_4^{--}$  révélé après hydrolyse *in situ* <sup>(14)</sup> par la technique au rhodizonate alors qu'on n'a pas mis en évidence de  $\text{PO}_4^{--}$  [recherché selon <sup>(15)</sup> avant et après hydrolyse acide]. Tous ces critères physicochimiques ont été analogues à ceux de l'ester-sulfate de DHEA de synthèse (sous forme de sel de sodium) <sup>(16)</sup>. Après hydrolyse à pH 4,7 la fraction éthérosoluble a été chromatographiée, isolée sous forme libre et acétylée, enfin authentifiée comme DHEA par spectrophotométrie infrarouge <sup>(17)</sup>. Une hydrolyse acide complémentaire n'a libéré aucun autre 17-cétostéroïde.

40 ml de *plasma* ont été lyophilisés, et traités au Kumagawa par le dichlorométhane, puis le méthanol. 40 autres millilitres ont été directement extraits par le mélange éthanol-éther (5-1); la phase hydroalcoolique après séparation des protéines a été lavée à l'hexane et au dichlorométhane. Les deux extraits alcooliques ont été chromatographiés sur alumine et les éluats par les mélanges éthanol-acétone ont été étudiés avec les méthodes indiquées plus haut pour caractériser le sulfate de DHEA. Environ 600  $\mu\text{g}$  de produit ont été isolés et caractérisés par chromatographie sur papier, électrophorèse, révélation du  $\text{SO}_4^{--}$ , réaction de Zimmermann et hydrolyse suivie de chromatographie sur papier de la DHEA libérée. La mesure de l'ester-sulfate par complexe avec le bleu de méthylène <sup>(18)</sup> a montré un rapport moléculaire sulfate/DHEA  $\neq 1$ . Le produit dissous dans l'eau en a été extrait par le *nor*-butanol; il ne contenait pas de  $\text{PO}_4^{--}$ .

Dans le sang et dans l'urine, le cation salifiant la deuxième fonction acide du  $\text{SO}_4^{--}$  de l'ester-sulfate de DHEA n'a pas été déterminé.

Par ailleurs dans le plasma, un « complexe »  $\text{PO}_4^{--}$ -17-cétostéroïde a été détecté.

(\*) Séance du 23 février 1959.

(1) P. L. MUNSON, T. F. GALLAGHER et F. C. KOCH, *J. Biol. Chem.*, 152, 1944, p. 67.

(2) D. MALASSIS, E. E. BAULIEU, S. H. WEINMANN, O. CREPY et M. F. JAYLE, *C. R. Soc. Biol.*, 151, 1957, p. 447.

(3) O. CREPY, M. F. JAYLE et F. MESLIN, *C. R. Soc. Biol.*, 151, 1957, p. 322.

(4) W. B. TALBOT, J. RYAN et J. K. WOLFE, *J. Biol. Chem.*, 148, 1943, p. 593.

- (5) J. BITMAN et S. L. COHEN, *J. Biol. Chem.*, 191, 1951, p. 351.
- (6) R. HENRY, M. THEVENET et P. JARRIGE, *Bull. Soc. Chim. Biol.*, 34, 1952, p. 897.
- (7) C. J. MIGEON et J. E. PLAGER, *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 15, 1955, p. 702.
- (8) K. DOBRINER, *Conf. Metabolic aspects of Convalescence*, Trans. 8th, 1944, p. 109.
- (9) G. W. OERTEL et K. B. EIK-NES, *Acta Endocrinol.*, 28, 1958, p. 293.
- (10) G. W. OERTEL et K. B. EIK-NES, *Acta Endocrinol.*, 30, 1959, p. 93.
- (11) G. CAVINA et L. TENTORI, *Bull. Soc. Ital. Biol. Sper.*, 32, 1956, p. 1109.
- (12) I. E. BUSH, *Biochemical J.*, 67, 1957, p. 23.
- (13) E. E. BAULIEU, non publié.
- (14) J. J. SCHNEIDER et M. L. LEWBART, *J. Biol. Chem.*, 222, 1956, p. 787.
- (15) F. FEIGL, *Spots tests in inorganic analysis*, Elsevier publ. Co, 5<sup>e</sup> éd., 1958, p. 333.
- (16) Préparé par M. R. Zelnick.
- (17) Par M. S. H. Weinmann.
- (18) A. J. VLITOS, *Contr. Boyce Thompson Instr.*, 17, 1953, p. 127.

(Laboratoire de Chimie médicale,  
Faculté de Médecine, 45, rue des Saints-Pères, 6<sup>e</sup>.)

(Extrait des *Comptes rendus des séances de l'Académie des Sciences*,  
t. 248, p. 1441-1443, séance du 2 mars 1959.)