

SUR LES POSSIBILITES D'APPLICATION DE 9-ANTHRALDEHYDE
EN TANT QUE REACTIF-UV SENSIBLE LUMINESCENT, PERMETTANT
DE PROUVER LES LIENS DE VALENCE ETHYLENIQUES C 15

E.Tchakarov, I.Kratchmarov, M.Kiliowska, D.Popov

L'analyse lumineuse connaît une application toujours plus large dans le domaine de la cyto- et histochimie, étant donné les possibilités considérables qu'elle offre pour le rehaussement de la sensibilité des méthodes de localisation topique d'une série de composants cellulaires chimiquement individualisés. Les études d'Ornstein et col. (1957) montrent que des quantités de fluorochromes de l'ordre de 50 - 100 molécules au micron carré peuvent être décelées par la voie de l'analyse lumineuse au microscope.

Au cours de nos recherches concernant les possibilités d'application de certains hydrocarbures polycycliques et leurs dérivés en qualité de lipofluorochromes, nous avons eu la possibilité d'observer une réaction assez sensible et spécifique qui donne le 9-anthraldéhyde sous l'action de la radiation ultraviolette par des composés contenant des liaisons non saturées aliphatiques.

L'objet de la présente communication est la description de cette réaction, sa spécificité, sa sensibilité et son mécanisme.

Description de la réaction.

Lors d'une radiation ultraviolette (source - lampe de quartz à mercure sous haute pression HBO-200; filtre excitateur GG - 1/2,5 mm + BG - 12/3 mm) de coupes tissulaires à partir de matériaux fixés dans du formol à 15%, imprégnées pendant 1-2 heures dans une solution saturée de 9-anthraldéhyde dans 70° d'éthanol et mis sous une couverture en verre moyennant de la glycérine à 90° au niveau de la plupart des lipides tissulaires on observe après 1 - 2 mi-

minutes l'apparition d'une luminescence bleue non saturée qui, durant la radiation, migre graduellement en couleur bleuâtre-pâle stable. La luminescence propre au 9-anthraldéhyde est de couleur jaune-canaris et s'estompe sous l'action de la radiation ultraviolette. Le cytoplasme des éléments cellulaires et les structures fibrillaires du tissu de jonction accusent une luminescence stable jaune-verdâtre.

Sensibilité de la réaction.

La sensibilité de la réaction a été éprouvée sur des mélanges à volumes égaux de différentes dilutions de géranol dans d'éthanol à 70% et une solution saturée de 9-anthraldéhyde dans le même solvant. La radiation fut effectuée dans les conditions de préparations histologiques sur la table porte-objets du microscope fluorescent et entre le verre de porte-objets et le verre protecteur. L'apparition d'une luminescence bleue intensive fut observée dans des dilutions dépassant 0,001 microgrammes/millimètre.

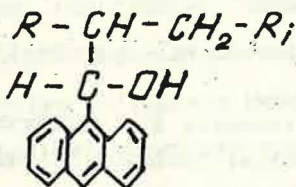
Importance chimique et mécanisme de la réaction.

a) Etudes sur des modèles chimiques. Les recherches ont porté sur des mélanges de 9-anthraldéhyde et de divers composés chimiques purs, relevant des groupes suivants: composés saturés aliphatiques; composés non saturés aliphatiques; composés aromatiques; composés aliphatiques avec un groupe non saturé aliphatique; polymères biogéniques. Les substances étudiées et le 9-anthraldéhyde étaient mélangés moyennant leurs solutions dans d'éthanol à 70° ou benzol. Il n'y a que les composés non-saturés aliphatiques et les composés aromatiques avec un groupe non-saturé aliphatique qui accusèrent l'apparition d'une luminescence intensive bleue de transition sous l'action de la radiation ultraviolette.

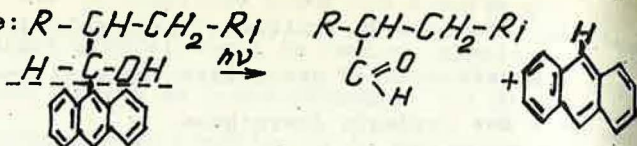
b) Négativisation de la réaction. La réaction observée devient négative lors du traitement préalable des coupes tissulaires ou des composés-modèles non-saturés aliphatiques à l'iode, au bromure ou à des oxydants énergiques.

c) Mécanisme possible. En vue d'établir si sous l'action de la radiation ultraviolette se forme un produit individualisé, montrant la luminescence bleue intensive, a été faite une chromatographie à couches minces sur du gypse-silicagel en présence d'une phase mobile de Hexane/acéton dans une proportion de 100:1 de mélanges de 9-anthraldéhyde et de squalène dans d'éthanol à 70°, soumis à la radiation. En tant que témoins furent appliqués du 9-anthraldéhyde et de l'anthracène. L'analyse des chromatogrammes a accusé la présence de deux taches à luminescence bleue intensive et transitoire, situées plus près de la ligne de départ par rapport aux deux taches suivantes correspondant aux témoins. La chromatographie des mélanges soumis à la radiation de 9-anthraldéhyde et des différents composés non-saturés - squalène, géraniol, acide oléique, a démontré que la mobilité des taches imprimant une luminescence bleue intensive caractéristique dépend du poids moléculaire du composant aliphatique. L'analyse aux mêmes conditions de mélanges de 9-anthraldéhyde et du squalène, irradiés durant un différent temps a démontré une augmentation de la tache correspondant à l'anthracène au fur et à mesure de la radiation.

Ces observations nous permettent de supposer que la réaction que nous décrivons d'effectue probablement par la formation d'un composé du type suivant:



lequel, lors d'une radiation plus prolongée, subit une fission et libère de l'antracène:



Les résultats exposés peuvent être résumés ainsi:

1. Sous l'action de la radiation ultraviolette, le 9-anthraldéhyde donne une réaction photochimique spécifique pour les liens de valence de l'éthylène. Elle se caractérise par la formation de produits de transition à luminescence bleue intensive.

2. La sensibilité de la réaction dépasse 0,001 microgrammes/millimètre.

3. Les produits à luminescence bleue spécifique accusent un poids moléculaire plus élevé du 9-anthraldéhyde. Leur mobilité chromatographique est différente et dépend du composant aliphatique.

4. Une radiation de ces produits, à durée plus longue, a pour effet de les décomposer; ils donnent de l'antracène.

5. La réaction peut être effectuée sur des coupes tissulaires et "in vitro" sur des composants liquides.

B I B L I O G R A P H I E

1. Kiliovska M., Tchakarov E., Popov D., C.R. de l'Acad.bulg. des Sc., 20, 1967, 133.
2. Kiliovska M., Tchakarov E., Popov D., Kratchmarov I., C.R. de l'Acad.bulg. des Sc., 20, 1967, 867.
3. Ornstein L., Mautner W., Davis B.J., Tamura R., J.Mount Sinai Hosp.24,1957, p.1066.
4. Tchakarov E., Kiliovska M., C.R. de l'Acad.bulg.des Sc., 20, 1967,1003.
5. Tchakarov E., Kratchmarov I., Kiliovska M., Popov D. Annual Sc. Papers, Higher Medical Institute - Varna, VII,1968, 3.