

De plus, nous avons ainsi fixé clairement la position du groupe hydroxyle de l'ambréine: il se trouve à la même place que l'hydroxyle du noyau perhydronaphtalénique du sclaréol, en accord avec les résultats de notre précédent mémoire^{1,2}. L'ambréine a donc la formule V³. La lactone C₁₇H₂₈O₂, F 141⁰ (IV), décrite précédemment^{4,5} est ainsi une δ -lactone²; il est intéressant de constater que l'hydroxyacide de cette lactone se cyclise beaucoup plus facilement que celui de la γ -lactone C₁₆H₂₆O₂ (III).

E. LEDERER et D. MERCIER

Laboratoire de chimie biologique de la Faculté des sciences; Institut de chimie, Lyon. Adresse actuelle des auteurs: Institut de biologie physico-chimique, Paris, le 7 mars 1947.

Summary

One of the products of the chromic acid oxidation of the animal triterpene ambreine (V) has been identified with the lactone, C₁₆H₂₆O₂ (III) which RUZICKA and coll.^{6,7} had isolated by oxidation of the plant diterpene sclareol (II). This identification confirms recent findings of the authors¹ and of RUZICKA, DÜRST and JEGER⁸ and shows that the hydroxyle of ambreine (V) is at the same place as the hydroxyle of sclareol which is attached to the perhydronaphtalene ring.

¹ E. LEDERER, D. MERCIER et G. PÉROT, Bull. Soc. Chim. France sous presse (1947).

² D'après ⁴ et ⁵ l'—OH de l'ambréine se trouvait au carbone tertiaire voisin et la lactone en C₁₇ était une γ -lactone.

³ Où, d'après RUZICKA, DÜRST et JEGER, la position du méthyle marqué d'un * est encore incertaine.

⁴ L. RUZICKA et F. LARDON, Helv. chim. acta 29, 912 (1946).

⁵ E. LEDERER, F. MARX, D. MERCIER et G. PÉROT, Helv. chim. acta 29, 1354 (1946).

⁶ L. RUZICKA et M. M. JANOT, Helv. chim. acta 14, 645 (1931).

⁷ L. RUZICKA, C. F. SEIDEL et L. L. ENGEL, Helv. chim. acta 25, 621 (1942).

⁸ L. RUZICKA, O. DÜRST et O. JEGER, Helv. chim. acta 30, 353 (1947).

Sulfamides et granulations de Heinz

L'apparition de granulations dans les hématies après action de la phénylhydrazine a été signalée en premier lieu par HEINZ¹. D'après MOESCHLIN² les hématies à granulations de Heinz se rencontrent au cours du traitement par sulfamidés; il y aurait une relation entre l'apparition de ces éléments et l'éventualité d'une anémie hémolytique. Nous avons jugé utile de reprendre l'étude de ces données dans des conditions techniques améliorées (recherche des granulations de Heinz sur fond noir par la méthode de NIZET³. Nos expériences ont été conduites *in vitro* et *in vivo*.

1⁰ Expériences *in vitro*

A. - Nous avons «étalonné» notre technique de recherche des granulations de Heinz en traitant, *in vitro*, des hématies de sangs de Chien ou d'Homme héparinés ou citratés à 10%. Les sangs mis en présence de phénylhydrazine à des concentrations de 42 ou 23 mg %, pendant 30 minutes à 2 heures, à l'étuve à 37°C, montrent

¹ HEINZ, Virchow's Arch. 122, 112 (1890).

² MOESCHLIN, Folia Haemat. 65, 345 (1941); Schweiz. med. Wschr. 26, 789 (1941).

³ NIZET, Acta biol. Belg. 1, 402 (1941); Acta med. Scand. 117, 199 (1944).

des hématies bourrées de granulations de Heinz, visibles tant sur fond clair que par notre méthode d'examen sur fond noir. A des concentrations de 12,5 à 6,25 mg %, l'examen sur fond clair montre moins de granulations que sur fond noir, ou même pas du tout. A des concentrations inférieures les deux examens sont négatifs. L'observation sur fond noir nous donne donc une garantie aussi complète que possible de la présence ou de l'absence des granulations de Heinz dans les hématies; elle montre encore des granulations là où l'examen sur fond clair est impuissant à les mettre en évidence. De plus, la production de ces éléments est un phénomène tout à fait régulier et constant, que l'on peut reproduire à volonté dans des conditions bien déterminées.

B. - Pour étudier l'action des sulfamidés sur les hématies, nous utilisons également du sang humain citraté à 10%. Les différents sulfamidés sont dissous dans la solution de chlorure sodique à 9⁰/₁₀₀, de façon à atteindre une concentration du même ordre de grandeur que celle rencontrée dans le sang lors du traitement par ces substances. La durée de contact du sang et des solutions des sulfamidés, à volume égal, à 37°C, sans agitation, varie de 1/2 heure à 48 heures. Coloration et examen des frottis se font suivant la technique mentionnée ci-dessus. Un témoin, constitué par du sang additionné de solution physiologique telle quelle, accompagne chaque expérience. Nous avons étudié des sulfamidés utilisés en thérapeutique, d'autres sans activité thérapeutique, enfin quelques substances de structure chimique apparentée. Les concentrations signalées ci-dessous représentent, comme pour la phénylhydrazine, le taux réel des substances en présence des globules rouges. Nous avons utilisé les composés suivants:

Sulfanilamide	25 mg %
Sulfapyridine	25 mg %
Sulfathiazol	25 mg %
Sulfapyridine à 25 mg % + Nicotinamide à 1,1 mg % Sulfimide benzoïque	25 mg %
<i>p</i> -acétamido-benzène-sulfonylmorpholine.	20 mg %
<i>p</i> -acétamido-benzène-sulfonylmorpholine.	12 mg %
N-diméthyl-N ₄ -sulfanilyl-sulfanilamide	25 mg %
<i>p</i> -amino-phénylsulfone-méthyl-acétamide	25 mg %
di-(<i>p</i> -acétylamino-phényl-sulfonyl)amine	25 mg %
di-(<i>p</i> -amino-phénylsulfonyl)aa'-diaminopyridine	25 mg %

En aucun cas ces substances n'ont provoqué l'apparition de granulations de Heinz. Dans les expériences prolongées (5 heures à 48 heures) de légères altérations se manifestent dans les hématies, mais elles ne sont pas plus importantes que dans les témoins. On rencontre rarement quelques granulations de Heinz authentiques, mais elles sont tout aussi fréquentes dans les témoins. On ne peut donc parler d'une action spéciale directe des sulfamidés sur les globules rouges; on ne peut comparer leur action à celle de la phénylhydrazine qui nous paraît être la substance par excellence susceptible de provoquer l'apparition de granulations de Heinz. D'autres corps sulfamidés sans action thérapeutique, ou substances voisines des sulfamidés, ne produisent pas davantage de granulations dans les hématies, aux concentrations employées.

2⁰ Expériences *in vivo*

Nous avons administré quotidiennement, à des souris blanches, par voie sous-cutanée, de la sulfanilamide, de la sulfapyridine et du sulfathiazol, en solution alcaline,

N°	Poids g	Substance injectée	Durée d'observation en jours	Dose injectée par jour/mg	Dose totale	Dose totale par g d'animal	Réticulocytes ‰	Granulations de Heinz ‰
1	21	Témoin	12	—	—	—	115	0
2	20	Témoin	12	—	—	—	145	0
3	16	Sulfanilamide	4	5	20	1,25	60	0 après 2 injections
4	16	Sulfanilamide	12	5	65	4	95	750 après 9 jours
5	13,5	Sulfanilamide	4	5	21	1,55	—	0
6	19	Sulfapyridine	10	5	50	2,6	190–205	0
7	20	Sulfapyridine	14	5	70	3,5	230	0
8	18	Sulfapyridine	2	5	10	0,55	—	0
9	19	Sulfapyridine	6	5	30	1,58	235	0
10	—	Témoin	—	—	—	—	115	0
11	20	Sulfathiazol	5	6	25	1,25	280–300	0
12	19	Sulfathiazol	9	5	45	2,37	—	0
13	22	Phénylhydrazine	1	5	5	0,227	—	1000

de p_H 9 environ. La souris témoin reçoit des injections d'une solution de chlorure sodique à 9‰ alcalinisée jusqu'au même p_H . Les prélèvements de sang sont effectués par coupure de la queue. Granulations de Heinz et réticulocytes sont recherchés journallement et numérés si possible. La technique d'observation est celle de NIZET¹ signalée plus haut, complétée par l'examen courant sur fond clair. Le nombre des hématies et le taux de l'hémoglobine n'ont pas retenu notre attention. Les doses de sulfamidés administrés varient de 0,2 à 0,4 g par kg et par jour. Nous donnons ci-dessous un résumé de nos expériences, en notant pour la recherche des granulations de Heinz le résultat final obtenu au moment de la mort de l'animal.

L'injection de sulfamidés à la Souris n'a donc entraîné l'apparition de granulations de Heinz qu'à partir d'une dose élevée de sulfanilamide. L'injection de sulfapyridine et de sulfathiazol ne produit pas d'altérations globulaires importantes. La réticulocytose de la Souris ne semble pas affectée par ces injections. Le taux des réticulocytes se trouve normalement compris entre 50 et 200‰.

Ces résultats ne sont pas superposables à ceux de MOESCHLIN² et de HURSCHLER³ qui signalent des taux importants d'hématies à granulations de Heinz après injection d'une quantité de sulfapyridine du même ordre de grandeur que celles que nous avons administrées. Nos observations sont au contraire négatives. Le sulfathiazol n'a pas fait non plus apparaître de granulations de Heinz dans nos expériences; la sulfanilamide a produit des granulations après action prolongée. Ici encore, nous ne trouvons à ces divergences d'autre explication, que l'emploi de techniques d'examen différentes, plus spécifiques dans le cas de nos observations.

Chez une série de malades traités par la sulfanilamide, le sulfathiazol, la sulfapyridine, nous n'avons pas observé l'apparition de granulations de Heinz.

Conclusions: *In vitro*, à des concentrations voisines des taux rencontrés au cours de la sulfamidothérapie, dans le plasma, les sulfamidés ne produisent pas de granulations de Heinz par action directe sur les hématies. *In vivo*, la sulfanilamide à fortes doses fait apparaître

des granulations de Heinz chez la Souris. Sulfapyridine et sulfathiazol n'en produisent pas dans les mêmes conditions.

A. LAMBRECHTS, A. NIZET¹ et EL KHADY

Institut de Clinique et de Policlinique médicales, Prof. L. BRULL, Université de Liège, le 4 avril 1947.

Summary

In vitro, experiments on sulfonamides show that these substances are without action on the red cells, in respect to the formation of Heinz's corpuscles, at the blood concentration generally obtained in therapeutic practice.

In vivo, the presence of Heinz's granules was noted after the injection of large sulfanilamide doses in the white mouse, but not after the administration of sulfapyridine and sulfathiazole. Therapeutical doses of all these drugs did not give rise to Heinz's corpuscles in several patients.

¹ Aspirant du Fonds National Belge de la Recherche scientifique.

Action de l'acide folique sur l'hématopoïèse chez l'animal normal

Au cours de recherches sur les substances qui règlent la teneur du sang en ses divers éléments figurés, nous avons été amenés à nous demander si l'acide folique agit sur l'hématopoïèse d'animaux normaux. La figure ci jointe montre que tel est bien le cas; il semblerait que ceci n'ait pas encore été observé¹.

Cette figure se réfère à une jeune lapine de notre élevage que nous avons suivie du point de vue sanguin du 3^{me} au 8^{me} mois de sa naissance. A jeun et en dehors des périodes d'expérimentation, le nombre des leucocytes ne s'est jamais élevé au dessus de 8 à 9000/mm³. La valeur globulaire – ou charge des hématies en hémoglobine – qui chez l'animal normal reste assez stable a subi quelques fluctuations: d'un chiffre relativement élevé chez le lapin (1,08) elle est passée à une valeur plus basse et plus normale (0,88); mais ce qui est essentiel, c'est que ce passage s'est toujours fait par paliers successifs et au moyen de transitions très nuancées dont nous trouvons un exemple dans la figure.

¹ Voir en particulier les revues de C. A. DOAN, Am. J. med. Sci. 212–257 (1946) et de J. P. SOULIER, Le Sang 17, 330 (1946).

¹ NIZET, loc. cit.

² MOESCHLIN, loc. cit.

³ HURSCHLER, Naunyn-Schmiedeberg's Arch. 438 (1941).