

Substanz unmittelbar in das Blut wird Fallen des Blutdrucks und sodann Verlangsamung und Stillstand der Atmung mit nachfolgendem Steigen des Blutdrucks und Verlangsamung der Herzschläge, von allgemeinen Convulsionen begleitet, beobachtet. Wie die Convulsionen, so hängt auch des Steigen des Blutdrucks nicht von der unmittelbaren Wirkung des Giftes ab, sondern es sind secundäre, von der Asphyxie herrührende Erscheinungen, da bei Anwendung künstlicher Atmung nach jeder einzelnen Einspritzung des vorliegenden Giftes nur progressives Fallen des Blutdrucks, ohne nachfolgendes Steigen und ohne Convulsionen, stattfindet. Ausserdem wird verstärkte Secretion in den Drüsen, öfterer Abgang des Urins, Verringerung der Empfindsamkeit zuweilen bis zu völliger Empfindungslosigkeit, Störungen in den Bewegungen, Erweiterung der Pupille beobachtet. Infolge der Reichhaltigkeit an Harnstoff übt das *Urein* beim Anwenden an das Muskelgewebe und an die Nerven einen unmittelbaren Reiz auf dieselben aus.

Effet de l'agitation sur le blanc d'œuf de poule ¹⁾.

Par Mr. M. Chalféiéff,

Professeur de chimie physiologique à l'Université Impériale de Varsovie.

Le phénomène de la formation de coagulums dans des liquides albuminoïdes sous l'influence d'agents mécaniques avait déjà été observé vers la moitié du siècle qui termine, mais la signification de ce fait n'avait pas été éclaircie.

Le plus récent des travaux consacrés à cette question qui nous soit connu, appartient à W. Ramsden ²⁾. Ses essais ont porté sur l'ovalbumine cristallisée suivant la méthode d'Hofmeister et sur plusieurs autres représentants des corps albuminoïdes. Au nombre des résultats qu'il a obtenus, les suivants méritent particulièrement notre attention: 1) la séparation, d'une solution d'albumine cristallisée, de 96,4 pour cent de la substance employée, après 60 heures d'agitation produite par un moteur hydraulique, et 2) la séparation du sérum sanguin et d'un albuminate alcalin de coagulums qui, peu de temps après, se redissolvent dans le liquide abandonné au repos. Le résultat était le même, que le liquide fût agité dans une atmosphère d'air ordinaire, d'hydrogène, d'air raréfié, dans un flacon en verre ordinaire ou enduit de paraffine

¹⁾ Communication faite dans une séance de la Section de Physique et de Chimie de la Société des Naturalistes à Varsovie le 27 mai 1900.

²⁾ W. Ramsden. Die Coagulation von Eiweisskörpern auf mechanischem Wege. Arch. f. Physiologie. S. 517. 1894.

ou enfin dans un vase de plomb, ce qui montre clairement que l'action mécanique seule entraine en ligne de compte. Le processus de coagulation dans ces conditions a reçu le nom assez vague d'«agrégation moléculaire».

Le fait solidement établi de la coagulation des albumines par voie purement mécanique est selon moi d'une haute importance pour la question de la nature des corps albuminoïdes. Ce sont ces considérations qui m'ont amené à pousser aussi loin que possible mes recherches sur le processus de cette espèce de coagulation.

Des essais préalables furent faits en avril et en mai 1899 de la manière suivante:

Un blanc d'œuf entier ayant été trituré avec du verre pilé, on fit traverser la liqueur filtrée limpide, pendant 8 heures consécutives, par un courant de CO_2 , qui provoqua la formation graduelle d'un précipité. Après la séparation de ce précipité par filtration, on fit passer par le filtrat 400 litres d'air venant d'un gazomètre, ce qui donna lieu à la formation d'un nouveau précipité. La liqueur filtrée à nouveau et enfermée dans un vase clos fut agitée à la main 5—8 heures par jour pendant un mois. Un nouveau précipité se formait et augmentait au fur et à mesure qu'on agitait. En même temps on procédait d'une façon toute pareille en agitant la solution d'une partie de blanc d'œuf dans 2 parties d'eau. La formation d'un précipité s'observait également, mais le 5-me jour la liqueur exhalait une odeur putride très prononcée, et des microbes y pullulaient, on ne s'en servit donc plus. Dans le blanc d'œuf non étendu d'eau on ne put découvrir à la fin du mois les moindres vestiges de putréfaction. Soit qu'on fasse passer un gaz ou qu'on agite, l'écume remplit le vase très vite, ne se dépose qu'en partie à l'état de repos et d'autant plus lentement que le diamètre des bulles prises séparément est plus petit. C'est en observant la manière dont se dépose l'écume qu'on parvient à s'expliquer le mécanisme de la formation du précipité. Nous voyons que, en crevant, chaque bulle d'écume laisse après elle des filaments ou des pellicules extrêmement tenus et ressemblant à de la toile d'araignée déchirée; en se tassant lorsque le liquide est en mouvement, ces filaments forment des fibrilles pareilles aux fibrilles fibrineuses ou des amas arrondis qui se déposent en couches sur les parois du flacon. La vitesse de la formation et de la descente de l'écume, ainsi que la quantité de celle-ci peuvent servir d'indications sur la marche du processus de coagulation.

Cet essai nous a montré que, d'un côté, il faut se servir de blanc d'œuf non dilué et que, de l'autre, la précipitation ne s'effectuant que fort lentement, il est nécessaire de se servir d'un moteur mécanique.

Ayant reçu un «agitateur» (d'Altmann, Berlin) faisant 200—250 oscillations par minute, nous disposâmes le 9 septembre 1899 notre essai de la manière suivante. 500 grs de blanc d'œuf n'ayant subi aucun traitement préalable furent versés dans un flacon de 1800 cc. de capacité. Après que l'agitation eut duré 1 h. et demie, le flacon était rempli d'écume et dans le liquide resté au fond se déposaient des pellicules pareils à ceux qu'on obtient en coupant le blanc d'œuf avec des ciseaux. Le lendemain la liqueur fut passée à travers un filtre de 16 cts. de diamètre. En 40 minutes on obtint 400 grs de

filtrat et en 1 h. 35 min. la filtration était achevée, ayant donné 460 grs d'un liquide jaune pâle presque tout-à-fait limpide. Cette liqueur ayant été agitée durant 1 h. et 20 minutes, on put déjà observer les phénomènes de coagulation décrits plus haut.

Pendant toute la durée de l'essai on agitait le liquide en moyenne 6 heures par jour. Au courant des premiers mois le flacon se remplissait d'écume jusqu'au bouchon, et ce n'est que 14—18 heures après qu'on voyait se former de petites cavités par suite de la descente de l'écume. Tous les 5—6 jours on débouchait le flacon, sans qu'on y observât jamais de pression positive ou négative. Le liquide avait pris une odeur très prononcée, semblable à celle d'un œuf cuit encore chaud, aucunement putride.

Par suite de l'amoncellement d'une grande quantité de dépôt, et pour voir si la coagulation continuait ou si elle avait déjà cessé, la liqueur fut filtrée le 28 octobre. La filtration s'effectuait très lentement. Dans le courant de 6 heures 230 grs d'un liquide légèrement trouble passèrent à travers 2 filtres de 16 cts de diamètre chacun, qu'on fut obligé de changer trois fois, par suite de l'obstruction des pores du papier. Après avoir encore passé en 5 minutes par un filtre de la même dimension, ce filtrat fut immédiatement agité. En 40 minutes le flacon se remplit d'écume et sur les parois et dans la liqueur parurent des filaments, des pellicules etc. Depuis le 28 octobre jusqu'à la fin de l'essai le flacon ne fut plus débouché.

Dans le courant de la nuit 78 grs de liquide passèrent encore. Le précipité sur l'un des filtres fut lavé à l'eau, sur l'autre non. 24 heures après, le premier exhalait une odeur putride assez prononcée, tandis que le précipité qui n'avait pas été lavé n'avait aucune odeur. Le précipité des 2 filtres, fortement comprimé entre 2 lames de papier à filtre, pesait 30 grs.

Ayant enlevé 1 c.c. de liquide au dernier filtrat, on y ajouta une quantité égale d'eau, ce qui produisit un léger trouble, qui n'augmenta presque pas par l'addition d'autres 2 c.c. d'eau.

Environ 6 c.c. du filtrat furent chauffés dans un tube plongé dans l'eau; à 50° C. la liqueur se troubla, à 59° C. un précipité floconneux se produisit. Après que celui-ci eut été séparé par filtration, on y observa un nouveau trouble à 63° et un précipité à 64°. La liqueur filtrée se troubla à 67°, et à 75°—80° se prit en une masse compacte d'où l'on ne put faire sortir, en la pressurant, que 2—3 gouttes de liquide.

Le 2 novembre, c'est-à-dire le 6-me jour après la filtration, 60 grs (des 78 grs. reçus en second lieu) de la liqueur furent versés dans un flacon d'une capacité de 250 c.c. environ et agités à la main 20—30 minutes par jour. Ordinairement 25 minutes suffisaient pour que le flacon se remplit d'écume qui ne descendait un peu que vers le lendemain matin. En débouchant ce flacon tous les 5—6 jours, on n'y observait ni pression de gaz, ni odeur fétide jusqu'à la fin de l'essai sur la masse principale de la liqueur albuminoïde. Ce flacon témoin était d'une haute importance pour l'essai tout entier, en nous aidant à tirer nos conclusions. Pendant tout le mois de novembre on ne put observer rien de particulier dans le flacon agité mécaniquement, si ce n'est une lente augmentation du précipité qui se séparait du liquide en très grande

quantité. Mais au commencement de décembre, même après 6 heures de travail de la machine, le flacon ne se remplissait plus d'écume. Celle-ci était devenue plus mobile et descendait complètement pendant la nuit. Vers la fin de décembre l'écume ne remplissait que la moitié du flacon et à la fin du mois de janvier 1900 un tiers seulement. Depuis lors il devint possible de mesurer assez exactement la hauteur de l'écume, ce qui fut fait journalièrement 10 minutes après l'arrêt de la machine. Le 2 février la hauteur de l'écume=6 cts (la hauteur du flacon jusqu'au bouchon=19 cts.), le 3 mars=10 mm., le 15 mars=8 mm., le 27 mars=7 mm.; depuis le 18 avril jusqu'au 12 mai la hauteur de l'écume variait entre 5 et 6 mm., atteignant 7 et même 8 mm. lorsque la machine donnait son maximum de travail. 1 heure après, la liqueur commençait à se débarrasser de l'écume, et le lendemain matin la surface en était presque toujours tout-à-fait libre.

Déjà en février on put observer que le précipité se formait en quantité moindre et qu'en même temps la liqueur acquérait un éclat soyeux. A la fin de mars on observait dans le col du flacon un dépôt de globules à structure cristalline évidente, atteignant jusqu'à 1 mm. de diamètre; un grand nombre de ces globules se déposèrent aussi au fond du vase. En général, la liqueur ressemblait beaucoup à celle qu'on obtient à la fin de la digestion tryptique des albumines.

Afin de pouvoir encore déterminer les produits obtenus avant l'interruption des travaux amenée par les vacances qui allaient commencer, nous cessâmes d'agiter la liqueur le 12 mai.

L'essai avait duré 247 jours, la machine ayant été en mouvement pendant 1473 heures.

Vers la fin de l'essai le flacon principal contenait une liqueur qui ne formait presque plus d'écume et un précipité cristallin beaucoup de fois moins volumineux que le précipité amorphe qui se formait au début.

En même temps le flacon témoin contenait un liquide qui donnait une écume abondante, peu mobile et ne se déposant presque pas, et un volumineux précipité amorphe.

En débouchant (le 12 mai) le flacon principal, on entendit le faible bruit d'un gaz qui s'échappe; cette pression peut facilement s'expliquer par le fait que la température du laboratoire était de 17° C. au moment où l'on débouchait le flacon et s'élevait à 24° lorsqu'on le débouchait. L'odeur exhalée par la liqueur était forte comme auparavant, mais point putride. Le liquide traversait le filtre lentement et n'était pas limpide; en 4 heures on en obtint 156 grs.: cette même quantité filtrait en 10 minutes à travers un filtre ayant 9 cts. de diamètre; la même quantité d'eau passe par le même filtre en 3 minutes.

C'est M. le professeur Ouchinski qui eut l'extrême amabilité de faire un essai par rapport à la présence de microorganismes dans la liqueur. Selon ses observations on y rencontre très peu de bactéries ou de leurs enveloppes, et le tableau qu'on y observe représente plutôt le dépérissement que le développement de microorganismes. Il ne fut point fait de cultures, vu que cela nous aurait entraîné à résoudre une question qui n'entraînait pas dans notre tâche, savoir: si les liqueurs albuminoïdes sont bactéricides. Il nous importait seule-

ment de savoir que, comme on pouvait s'y attendre, la liqueur contenait des bactéries, mais que celles-ci ne s'y développaient pas.

Une goutte de la liqueur donne sous le microscope, en s'évaporant en l'absence d'un verre-couvreur, un tableau de cristallisation assez compliqué, dans lequel on voit d'abord se former des druses de tyrosine, puis des globules de leucine qui se disposent en étoiles et forment des ramifications.

La réaction du liquide est franchement alcaline. Lorsque, après avoir évaporé la liqueur à sec, on fait sécher le résidu à 100° C., il n'en reste que 8,9 pour cent; la masse ainsi obtenue, grasse au toucher, assez molle et tombant facilement en poussière, ne ressemble nullement à du blanc d'œuf séché.

Chauffée à 71°, la liqueur se troublait; lorsqu'on élevait la température à 80°, il se formait un précipité amorphe, floconneux, facilement isolé par filtration. En acidulant la liqueur par l'acide acétique, on accélérât visiblement la formation du précipité. Avec l'ammoniaque diluée ou la soude caustique le précipité formait une liqueur trouble et filtrant difficilement, dans laquelle l'acide produisait de nouveau un précipité; la solution de ce dernier donnait les réactions caractéristiques des albumines: la réaction xanthoprotéique, celle du biuret et la réaction de Millon. Après l'élimination du précipité par la chaleur la liqueur fut évaporée à siccité et le résidu traité par l'alcool porté à l'ébullition. Dans cette solution apparurent les globules caractéristiques de la leucine. La substance séchée sublimait facilement sous forme de flocons répandant l'odeur de l'amylamine. La leucine ayant été extraite au moyen de l'alcool, il resta une masse brune visqueuse très soluble dans l'eau. La solution aqueuse donne avec le sulfate de cuivre en présence de la soude caustique une coloration rouge vif; quelques heures après il se forme un précipité peu abondant d'un rouge brunâtre.

Le précipité qui donnait au liquide l'apparence soyeuse consistait principalement en druses microscopiques, caractéristiques pour la tyrosine. Après avoir été fortement comprimé entre deux lames de papier à filtre, ce précipité fut traité par l'esprit de vin mélangé d'ammoniaque, porté à l'ébullition. Les cristaux qui s'étaient séparés de la liqueur filtrée donnèrent très clairement la réaction connue de Millon. On obtint 0,3 grs de substance pure. La substance qui ne s'était pas dissoute dans l'alcool présentait les mêmes propriétés albumineuses que le précipité séparé de la liqueur totale par la chaleur.

Le précipité qui s'était formé dans le flacon témoin paraissait sous le microscope tout-à-fait amorphe. La liqueur qui en avait été séparée par filtration se troubla à 59°; la précipitation entière d'un volumineux dépôt ne s'acheva que vers 80°, et encore en put-on séparer par filtration une assez grande quantité de liquide qui, en s'évaporant, déposait des globules de leucine non mélangés de cristaux de tyrosine.

Le travail à la main comparé à celui de la machine ne présentant qu'une grandeur tout-à-fait insignifiante, la différence entre les changements qui s'étaient produits dans les liqueurs albuminoïdes du flacon principal et celles du flacon témoin doit être mise entièrement sur le compte de l'action mécanique.

Les recherches sur les substances que nous avons obtenues du blanc

d'œuf sont encore à peine ébauchées; mais on peut déjà affirmer la présence indubitable dans ce dernier de toutes les substances qui caractérisent le plus l'action de la trypsine sur les albumines, savoir: la tyrosine, la leucine et les peptones.

Si la présence de ceux-ci est le résultat de l'action mécanique sur le blanc d'œuf, il est nécessaire d'admettre aussi la constitution mécanique de ce dernier, laquelle, d'ailleurs, dans certaines limites, s'observe très facilement. Un blanc d'œuf entier est formé microscopiquement d'une multitude de cavités, séparées les unes des autres par de fines membranes et remplies d'un liquide qui s'en échappe, lorsqu'on coupe le blanc d'œuf avec des ciseaux, qu'on le triture etc. Cependant il faut croire que par ces opérations on est loin d'atteindre la destruction complète de la structure du blanc d'œuf, et que celle-ci se conserve encore après qu'il a été réduit en parcelles microscopiques. Cette structure microscopique du blanc d'œuf peut être observée, comme le montrent les toutes dernières recherches du prof. A. Fischer ¹⁾, à un grossissement de 600 fois, c'est-à-dire relativement petit. Les précipités de différents corps albuminoïdes obtenus par l'action de réactifs qui provoquent la coagulation des albumines montrent sous le microscope la même structure que le blanc d'œuf entier, c'est-à-dire des cavités, microscopiques cette fois, remplies d'un contenu liquide.

C'est la destruction de cette structure microscopique au moyen d'une action mécanique prolongée que nous considérons être, dans notre essai la cause de la séparation du blanc d'œuf des substances nommées plus haut.

Il est possible qu'une telle destruction du blanc d'œuf ait aussi lieu pendant qu'il subit l'action de la trypsine, en admettant que cette enzyme diminue l'élasticité des parois des cavités du blanc d'œuf et, en même temps, les rend plus propres à la diffusion.

Notre essai, pour le moment encore unique, nous permet déjà de poser ces thèses qui serviront à déterminer la direction de nos essais ultérieurs.

1) Les corps albuminoïdes sont des tissus et non des individus chimiques.

2) Les corps albuminoïdes ne donnent des solutions qu'en apparence; en réalité ils ne sont solubles dans aucun dissolvant et, par conséquent, ne peuvent pas dialyser.

3) La détermination du poids moléculaire ainsi que la synthèse des corps albuminoïdes ne peuvent être comptées parmi les problèmes que résoudra la chimie.

4) L'action des enzymes sur les albumines n'est probablement pas un processus chimique, mais un processus physique.

¹⁾ A. Fischer, Fixirung, Färbung und Bau des Protoplasmas. Jena 1899.