

DISTRIBUTION DU SOUFRE RADIOACTIF
APRÈS INJECTION INTRAPÉRITONÉALE, À LA SOURIS,
DE BENZOATE DE ^{35}S - β -MERCAPTOÉTHYLAMINE*

par

W. G. VERLY**, Z. M. BACQ, P. RAYET ET M. F. URBAIN

*Laboratoire de Pathologie Générale, Université de Liège;
Service de Recherches de la Société des Laboratoires Labaz (Belgique)*

Les travaux de BACQ *et coll.*¹ ont montré que 3 mg de β -mercaptoéthylamine protégeaient les souris contre une dose seuil mortelle de rayons X.

Le présent travail indique la distribution tissulaire du soufre de la mercaptoéthylamine à des temps différents après l'injection intrapéritonéale de son benzoate à la dose utilisée pour la radio-protection.

DÉTAILS EXPÉRIMENTAUX

Synthèse du benzoate de ^{35}S - β -mercaptoéthylamine

Le procédé s'inspire de la méthode décrite par MILLS ET BOGERT².

H_2^{35}S , libéré de Ba^{35}S par l'acide phosphorique, est recueilli dans du chloroforme refroidi à -60°C . De l'éthylène-imine, dissoute dans du chloroforme à -60°C , est versée lentement dans la solution qui contient un excès d'hydrogène sulfuré marqué et qui est agitée continuellement. On laisse la solution se réchauffer à la température du laboratoire et on ajoute une solution d'acide benzoïque dans l'éther; après avoir fait bouillir à reflux, la solution est refroidie à 0°C et le benzoate précipite. L'excès de H_2^{35}S est recueilli dans une solution d'acétate de plomb.

Après centrifugation et décantation, le benzoate est lavé plusieurs fois à l'éther anhydre, puis séché sous vide. Il est recristallisé dans le chloroforme; les cristaux sont lavés à l'éther anhydre, puis séchés sous vide à l'étuve.

Dosage du ^{35}S

A. *Dans le benzoate de β -mercaptoéthylamine*: nous avons utilisé la méthode de CARIUS en tube scellé et précipité l'ion sulfate à l'aide de benzidine³.

B. *Dans les tissus*: les tissus ont été oxydés par Na_2O_2 dans des creusets en nickel^{4,5}. Les ions positifs (notamment la grande quantité d'ions sodium) ont été enlevés avec un échangeur d'ions (Amberlite IR-120 acide). L'ion sulfate a été précipité comme précédemment⁶.

Voici une description détaillée de la méthode utilisée pour une souris entière de 20 g:

La souris est placée dans un creuset en nickel de 540 ml; on ajoute 15 ml d'eau et 15 g de peroxyde de sodium; le creuset, coiffé de son couvercle, est placé 30 minutes dans l'eau bouillante; il est ensuite chauffé prudemment avec une petite flamme de bec bunsen pendant 15 minutes. On laisse refroidir. Pour la première fusion, on utilise 5 ml d'eau et 50 g de peroxyde de sodium; on chauffe avec un bec bunsen en commençant avec une petite flamme que l'on augmente prudemment pour arriver finalement à un chauffage maximum qui est maintenu 10 minutes. Après refroidissement, on procède de la même manière à une seconde fusion avec 30 g de peroxyde de sodium. Lorsque le creuset est refroidi, on lave couvercle et parois avec environ 200 ml d'eau, et on fait bouillir modérément pendant 30 minutes.

Le contenu du creuset est centrifugé; le précipité est lavé deux fois. Le liquide surnageant est porté à 1 litre et une portion aliquote de 100 ml est utilisée pour doser le soufre.

* Ce travail a pu être réalisé grâce à l'aide matérielle du Conseil Supérieur de la Sécurité Civile et de l'Institut Interuniversitaire des Sciences Nucléaires.

** Associé du Fonds National Belge de la Recherche Scientifique.

Ces 100 ml sont versés sur environ 150 ml d'Amberlite IR-120 acide; quand la solution est acide, le tout est versé sur un filtre en verre fritté et la résine est lavée 3 fois avec 100 ml d'eau*.

Le filtrat, après addition d'une petite quantité de NaCl, est évaporé à sec. Le résidu est repris à l'eau et la solution filtrée. Une portion du filtrat est utilisée pour préparer le précipité de sulfate de benzidine.

De plus petites quantités de peroxyde de sodium ont été utilisées lorsque la masse de tissu à oxyder était plus petite.

C. *Mesure de la radioactivité*: cette mesure a été faite sur des précipités de sulfate de benzidine avec un compteur à tube sans fenêtre utilisant un courant d'hélium-isobutane, dans la zone Geiger. Les résultats ont été corrigés pour tenir compte du background, de l'absorption des radiations dans l'épaisseur du précipité et de la diminution progressive de l'activité du soufre radioactif; ils sont exprimés en unités arbitraires qui n'ont qu'une valeur comparative.

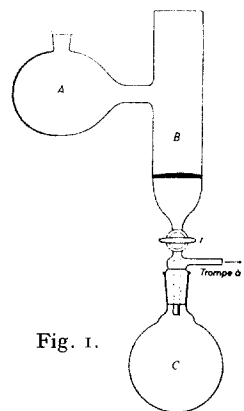


Fig. 1.

Contrôle de la méthode au peroxyde de dosage du S total des tissus

A. Des quantités connues (de l'ordre de 20 à 30 mg) de salicylate de mercaptoéthylamine ont été soumises à la méthode. Les poids des précipités de sulfate de benzidine rendaient compte quantitativement du soufre du produit (96, 103, et 101 % dans trois analyses successives) (la méthode de CARIUS donnait pour le même produit la valeur théorique).

B. Des portions aliquotes identiques d'une solution de ^{35}S - β -mercaptoéthylamine ont été ou bien soumises directement à la fusion au peroxyde de sodium, ou bien elles ont été injectées à des souris mortes qui ont alors été soumises à la fusion au peroxyde. Ceci a permis de montrer que, au cours de la fusion de la souris entière, 5 à 10 % du ^{35}S disparaissaient. Il semble donc que, lorsqu'il y a une très grande quantité de matières à oxyder, la méthode ne soit plus rigoureusement quantitative.

EXPÉRIENCE ET RÉSULTATS

7 souris de race pure (C 57 noire) de 20 g ont reçu chacune dans le péritoine 0.5 ml d'une solution 0.0815 M de benzoate de ^{35}S - β -mercaptoéthylamine (= 3.14 mg base par souris), ce qui représentait $6.66 \cdot 10^6$ coups/minute.

Les souris ont été sacrifiées, deux après 15 minutes, deux après 1 heure, une après 6 heures et deux après 24 heures. On a prélevé du sang, le foie, l'intestin et le pancréas,

TABLEAU I

Temps après injection	Activité par g de tissu; c/m/g $\times 10^{-4}$						
	15 min		1 heure		6 h	24 heures	
	1	2	3	4	5	6	7
Souris no							
Sang	1.14	1.11	0.69	0.69	0.18	0.14	0.15
Foie	5.10	4.55	4.38	4.34	5.60	2.86	3.54
Intestin + pancréas	3.78	2.98	2.22	3.04	2.55	3.24	3.46
Reins	5.37	6.08	4.00	3.31	1.47	1.73	2.05
Encéphale	1.81	1.55	1.57	1.83	0.27	0.30	0.31
Reste	1.94	1.63	1.44	1.63	0.80	0.80	0.63

* L'appareil utilisé pour cette opération a deux parties (voir Fig. 1): la chambre A et le filtre B. L'échangeur d'ions (Amberlite IR-120 acide) est en A; la solution alcaline provenant de la fusion est versée sur la résine. Après quelques minutes, pendant lesquelles on mélange avec une baguette de verre, on observe la production de bulles de CO_2 (ces bulles empêchent d'enlever les cations sur une simple colonne) et la solution est acide. Par des mouvements de bascule, le contenu de A est transféré en B sur le filtre en verre fritté; le robinet r est ouvert et une légère succion à la trompe à eau fait couler la solution acide dans le ballon C. Lorsque la résine est presque sèche, la succion est arrêtée, puis le robinet r fermé; les parois de A sont rincées à l'eau distillée et l'eau de rinçage est transférée en B dont les parois sont aussi lavées; l'eau est laissée 5 minutes au contact de la résine avant d'être aspirée en C. On lave la résine trois fois de cette manière.

La résine est régénérée sur le filtre avec HCl 3 N; elle est ensuite lavée abondamment à l'eau distillée. Par des mouvements de bascule, on ramène l'échangeur d'ions en A; l'appareil est prêt pour une nouvelle opération.

Bibliographie p. 235.

les reins, l'encéphale. Le ^{35}S total de ces organes, de même que le ^{35}S total du reste de l'animal, ont été mesurés par la méthode au peroxyde.

Le Tableau I indique les activités spécifiques, par gramme, dans le sang, le foie, l'intestin et le pancréas, les reins, l'encéphale et le reste. Le Tableau II indique l'activité totale persistant dans le corps de l'animal après 15 minutes, 1 heure, 6 heures et 24 heures; il exprime également cette valeur en % de l'activité injectée.

TABLEAU II

Temps après injection	15 min		1 heure		6 h	24 heures	
Souris no	1	2	3	4	5	6	7
Activités totales dans le corps; $\text{c/m} \times 10^{-6}$	5.02	4.71	3.97	4.20	2.65	2.17	2.33
Exprimées en % de activité injectée	75	71	60	63	40	33	35

DISCUSSION

Le Tableau I indique que la radioactivité par gramme est plus grande dans le foie, l'intestin (+ pancréas), et les reins que dans le reste du corps; cette observation est vraie 15 minutes, 1, 6 et 24 heures après l'injection.

Les pourcentages de ^{35}S retrouvés dans le corps entier donnent une idée de la disparition progressive de l'organisme du soufre introduit sous forme de mercaptoéthylamine. Il faut, bien entendu, se rappeler que les dosages par la méthode au peroxyde de sodium ne sont pas rigoureusement quantitatifs.

Les auteurs remercient Mr G. ESPREUX pour son aide technique soigneuse.

RÉSUMÉ

15 minutes, 1 heure, 6 heure et 24 heures après l'injection dans le péritoine d'une souris de ^{35}S - β -mercaptoéthylamine, le soufre radioactif se trouve concentré dans le foie, l'intestin (+ pancréas) et les reins.

SUMMARY

15 minutes, 1 hour, 6 hours and 24 hours after the injection of ^{35}S - β -mercapto-ethylamine into the peritoneum of a mouse, the radioactive sulphur is found concentrated in the liver, intestines (+ pancreas) and the kidneys.

ZUSAMMENFASSUNG

15 Minuten, 1 Stunde, 6 Stunden und 24 Stunden nach der Injektion von ^{35}S - β -Mercaptoäthylamin in das Bauchfell einer Maus findet sich der radioaktive Schwefel in der Leber, in den Därmen (einschliesslich Bauchspeicheldrüse) und den Nieren konzentriert.

BIBLIOGRAPHIE

- ¹ Z. M. BACQ ET A. HERVE, *J. Suisse Méd.*, 82 (1952) 160;
Z. M. BACQ, *Science*, 117 (1953) 633.
- ² E. J. MILLS AND M. T. BOGERT, *J. Am. Chem. Soc.*, 62 (1940) 1177.
- ³ J. B. NIEDERL, H. BAUM, J. S. MCCOY AND J. A. KUCK, *Ind. Eng. Chem., Anal. Ed.*, 12 (1940) 428.
- ⁴ O. FOLIN, *J. Biol. Chem.*, 1 (1905) 131.
- ⁵ T. S. HELE, *Biochem. J.*, 18 (1924) 589.
- ⁶ C. H. FISKE, *J. Biol. Chem.*, 47 (1921) 59.

Reçu le 17 juillet 1953