

peared under the binocular microscope, to be completely cleaned of articular cartilage and of soft tissues.

The specific activities have been expressed in number of counts per minute per mg of phosphorus. Since the interest lies in the comparison of various portions of the bones at various intervals, an arbitrary value of 100 has been assigned to the middle fifth of the humerus in the three animals and all the measures have been reduced accordingly.

SPECIFIC ACTIVITIES DAYS	6			31			76			SPECIFIC ACTIVITIES DAYS	6			31			76		
	H 1	344	286	R 1	90	101	145	U 1	110	186	249	F 1	156	271	263	T 1	288	346	302
H 2	211	160	140	R 2	47	44	86	U 2	72	98	154	F 2	115	176	155	T 2	221	142	190
H 3	100	100	100	R 3	81	51	144	U 3	56	63	119	F 3	77	91	81	T 3	141	108	150
H 4	90	85	94	R 4	65	65	152	U 4	62	76	181	F 4	78	89	99	T 4	151	97	131
H 5	155	161	194	R 5	169	359	379	U 5	57	65	174	F 5	101	155	180	T 5	126	152	127
								U 6	155	142	358	F 6	107	274	219	T 6	137	104	217
								T 7	294	184	179								

Specific activities at various time intervals of the portions of the bones as indicated by the Figure.

The results are tabulated (Table) and the Figure gives the key to the symbols indicating the portions of the bones.

**Discussion.** Large doses of radiophosphorus were used in order to recover a fairly good activity in the smallest portions of the bones, even after 76 days. With such doses, radiation damage is a theoretical possibility, although it should be pointed out that the animals did not lose weight during the experiment.

The number of animals is too small to allow comparison between them of corresponding portions of bones at various time intervals. The only conclusion which may be drawn from the results as a whole is that, at least up to the 76<sup>th</sup> day, the phosphorus specific activities of the epiphyses and of the diaphyses do not show any tendency to be reduced to uniform values.

We have used fully grown animals, and the discrepancy between our results and those reported up to now is thus easy to explain; it shows that the two sets of experiments, the previous ones with growing, and ours with adult animals, must be clearly distinguished from each other.

It is suggested that in the discussion of results obtained with adult animals, due consideration be given to the studies of WEIDMAN and ROGERS<sup>1</sup>. These authors have found that the cancellous femoral bone of the adult rabbit femur contains less calcium and more nitrogen than the cortical bone. Similar figures had been reported by STROBINO and FARR<sup>2</sup> who had found that a minimum value for nitrogen and a maximum for ash existed at the longitudinal midpoint of the long bones of cows and oxen. In connection with these values, let us recall here that COHN and GREENBERG<sup>3</sup> had been led to assume that the organic phosphorus metabolism may be an important factor in the mineralization of the bone.

<sup>1</sup> S. M. WEIDMAN and H. J. ROGERS, Biochem. J. 47, 493 (1950).

<sup>2</sup> L. J. STROBINO and L. E. FARR, J. Biol. Chem. 178, 599 (1949).

<sup>3</sup> W. E. COHN and D. M. GREENBERG, J. Biol. Chem. 130, 625 (1939).

**Addendum:** Since this article was submitted to the Editors, three papers<sup>1</sup> have appeared on closely related subjects. RUTISHAUSER and MAJNO have confirmed that cancellous bone is less mineralized than compact bone in man. PERROTET and DUCKERT have found the same difference in rabbits. AMPRINO has presented the first results of a radioautographic analysis of the distribution of labelled Ca and P in bones which might lead to an understanding of the data recorded here.

P. LACROIX, R. DEVIS, and E. SCHICKS

Institute of Anatomy, University of Louvain, Belgium,  
November 18, 1951.

### Résumé

Dans les os longs du lapin adulte, les activités spécifiques du phosphore des épiphyses et des diaphyses ne manifestent pas, au cours d'une période d'observation de 76 jours, cette tendance à se réduire à des valeurs uniformes qui avait été enregistrée dans les expériences utilisant des animaux en croissance.

<sup>1</sup> E. RUTISHAUSER and G. MAJNO, Bull. Hosp. Joint Dis. 12, 468 (1951). — E. PERROTET et R. DUCKERT, Exper. 7, 419 (1951). — R. AMPRINO, Exper. 8, 20 (1952).

### Sur l'action des esters amides polyphosphoriques de l'aneurine sur la glycolyse par le sang lavé

Nous avons précédemment rapporté<sup>1</sup> la faible activité cocarboxylasique des esters amides polyphosphoriques de l'aneurine (E.A.P.P.). Nous pouvions dès lors nous demander si la présence des deux chaînes au moins triphosphoriques que nous fixons par valence chimique sur la molécule d'aneurine<sup>2</sup> ne conférait pas à ces corps d'autres propriétés biochimiques. Nous avons, dans cette voie, entrepris des recherches préliminaires en réalisant la chaîne de glycolyse constituée par du sang humain lavé 3 fois avec du liquide de Ringer alcalin et mis ensuite en suspension dans une solution de Ringer additionnée de glucose (2 g pour 1000), de pyruvate de sodium (1 g pour 1000) et de chlorure de magnésium (0,005 g pour 1000).

Nous portons dans plusieurs matras 40 cm<sup>3</sup> de cette suspension de globules correspondant à 20 cm<sup>3</sup> de sang total initial. Deux des matras sont utilisés tels quels (témoins), et nous ajoutons aux autres une certaine quantité de cocarboxylase ou d'E.A.P.P. Ces derniers ont été utilisés avant séparation des polyphosphates minéraux<sup>3</sup> (liqueur totale) ou après séparation de ces derniers corps au moyen du roussinat de sodium (esters purifiés).

Après avoir effectué les prises d'essai nécessaires aux dosages, nous établissons une atmosphère d'azote et nous portons les matras au thermostat à 37°. Nous agitons 1 à 2 heures et nous effectuons ensuite de nouvelles prises d'essai en vue des dosages. Ces recherches préliminaires étant destinées à reconnaître si ces corps avaient ou non une action biochimique sur le déroulement des phénomènes de glycolyse, nous avons utilisé dans ce premier travail des méthodes de dosage qui nous fournissaient seulement des résultats globaux.

Nous dosons les substances réductrices fermentescibles aldosiques par la méthode de HAGEDORN-JENSEN<sup>4</sup>.

<sup>1</sup> H. Roux et A. CALLANDRE, Exper. 6, 386 (1950).

<sup>2</sup> H. ROUX, Y. TEYSSEIRE et G. DUCHESNE, Bull. Soc. Chim. Biol. 30, 592, 600 (1948).

<sup>3</sup> H. Roux et A. CALLANDRE, Exper. 6, 386 (1950); Bull. Soc. Chim. Biol. (sous presse). — H. ROUX, Y. TEYSSEIRE et G. DUCHESNE, Bull. Soc. Chim. Biol. 30, 592, 600 (1948).

<sup>4</sup> H. C. HAGEDORN et B. N. JENSEN, Biochem. Z. 135, 46 (1923).

Tableau I

Action des esters de l'aneurine sur la glycolyse par le sang lavé. Les valeurs ci-dessous se rapportent aux 40 cm<sup>3</sup> de suspension contenue dans un matras.

Esters de l'aneurine utilisés	Sucres réducteurs Hagedorn-Jensen mg			Acide lactique formé mg	% différence au témoin	Acide pyruvique en fin d'expérience mg
	avant	après	% variation			
Témoins . . . . .	58,4	50,4	- 13,7	11,2		19
Cocarboxylase 100 µg . . . . .	59,6	59,6	0	12,2	+ 8,5	22,7
E.A.P.P. 100 µg (liqueur totale) .	56,8	58,4	+ 3	6,4	- 40	18,4

Nous dosons les composés cétoniques, dont l'acide pyruvique, par formation des 2-4 dinitrophénylhydrazones<sup>1</sup>.

Nous dosons l'acide lactique par oxydation permanganique en acétaldéhyde, selon FRIEDMANN<sup>2</sup> et dosage colorimétrique de ce dernier corps<sup>3</sup>.

Nous avons opéré d'abord avec la cocarboxylase pure et avec les E.A.P.P. avant leur séparation des polyphosphates de sodium (liqueur totale). Nous portons au tableau I les résultats d'une des nombreuses expériences effectuées.

Nous remarquons d'abord que la présence de cocarboxylase ou d'E.A.P.P. en liqueur totale rend invariable le taux des sucres réducteurs, alors que ce taux varie d'une manière sensible pour les témoins sans esters: ces variations ont été pour plusieurs expériences de 13,7 - 11,7 - 17,5 - 14 - 18 - 12 - 17,5 et 22 %. Par contre, elles n'excédaient jamais la limite de sensibilité de la méthode en présence d'esters.

Mais nos résultats mettent de plus en évidence un autre fait qui nous paraît tout à fait digne d'intérêt: c'est l'influence des E.A.P.P. en liqueur totale sur la formation d'acide lactique. Nous avons, en effet, toujours trouvé des teneurs en acide lactique nettement inférieures en présence d'E.A.P.P. et de polyphosphates de sodium: ces écarts de 40 % pour l'expérience rapportée ont été de 37 - 20 - 21 - 31 - 43 - 34 - 27 et 20 % pour d'autres expériences analogues.

Nous avons indiqué que les E.A.P.P. utilisés dans l'expérimentation précédente n'étaient pas séparés des polyphosphates minéraux contenus dans la liqueur totale. Or, nous avons établi<sup>4</sup> que ces polyphosphates minéraux

étaient doués d'une puissante action anticarboxylation. Il convenait donc de déterminer l'influence de ces corps sur la formation de l'acide lactique par nos chaînes. Aussi nous avons repris cette expérimentation en utilisant les E.A.P.P. purifiés et les polyphosphates de sodium. Toutefois comme les variations du taux de l'acide pyruvique et des sucres réducteurs sont minimes avec la liqueur totale nous n'avons dosé pour cette expérimentation que l'acide lactique. Les résultats que nous avons obtenus sont portés au tableau II.

Ces résultats établissent que l'effet enregistré est causé aussi bien par les E.A.P.P. que par les polyphosphates de sodium.

Toutes nos expériences ayant été concordantes nous pensons que l'existence de ces variations est certaine. Cette variation n'a pas le caractère du «tout ou rien» que l'on a coutume d'exiger pour la démonstration d'une action enzymatique. Elle suffit, cependant, croyons-nous, à montrer que les polyphosphates de sodium comme les esters amides polyphosphoriques de l'aneurine interviennent sur l'un des maillons de la chaîne glycolytique, de telle sorte que nous n'observons actuellement que la somme d'un très grand nombre de phénomènes. Mais il est légitime de supposer que si nous parvenons à déterminer la réaction exacte dans laquelle ces corps interviennent, nous observerons la sélectivité d'un véritable mécanisme enzymatique.

H. ROUX et ANNA CALLANDRE

Laboratoire de physique, Faculté de médecine de Marseille, et Institut national d'hygiène de Paris, le 30 juillet 1950.

#### Summary

The polyphosphoric amidic esters of thiamine and the sodium polyphosphates markedly influence the formation of lactic acid in the fermentatory processus established by employing washed human blood. Under the same conditions cocarboxylase does not act.

Tableau II

Influence des E.A.P.P. et des polyphosphates de sodium sur la formation d'acide lactique dans la glycolyse par le sang lavé.

Corps actif ajouté (quantité pour 40 cm <sup>3</sup> de suspension)	Acide lactique formé		% différence au témoin
	mg pour 40 cm <sup>3</sup>		
E.A.P.P. purs à 7 atomes de phosphore hydrolysable et 9 atomes de phosphore total . . . . .	témoin	3,2	
	113 µg d'E.A.P.P.	1,7	47
Polyphosphates de sodium . . . . .	témoin	4,4	
	600 µg de phosphore en chaîne	3,4	22