

4-isobutoxy-4'-méthylthiocarbanilide
 4-isoamyloxy-4'-méthylthiocarbanilide
 4-hydroxy-4'-*n*-propoxythiocarbanilide
 4-*n*-amyloxy-4'-chlorothiocarbanilide
 4-bromo-4'-fluorothiocarbanilide
 N-(4-*n*-butoxyphényl)-N'-(8-hydroxy-1-naphtyl)thiourée
 N-(4-isoamyloxyphényl)-N'-β-naphtylthiourée
 N-(4-isoamyloxyphényl)-N'-α-pyridylthiourée
 N-(4-diméthylaminophényl)-N'-β-naphtylthiourée
 N,N'-di(5-hydrindyl)thiourée

Comme dans le groupe précédent, l'activité diminue de façon importante lorsque l'on passe aux lectures faites après 3 semaines d'incubation.

3° Les 7 substances suivantes inhibent totalement la croissance bactérienne à la concentration de 10^{-4} (100 γ par ml) aussi bien après 14 jours qu'après 3 semaines d'incubation:

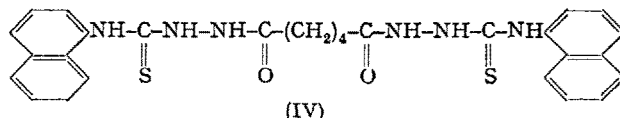
4-diméthylamino-2',4'-diméthylthiocarbanilide
 4-arsono-4'-méthylthiocarbanilide
 4-méthoxy-4'-sulfamidothiocarbanilide
 4-éthoxy-3',4'-diméthylthiocarbanilide
 4-fluoro-4'-*n*-propoxythiocarbanilide
 4-*n*-butoxy-4'-hydroxythiocarbanilide
 4-isoamyloxy-4'-sulfamidothiocarbanilide

Les résultats montrent que, bien que la probabilité de rencontrer des composés fortement tuberculostatiques soit particulièrement élevée dans le groupe des thiocarbanilides 4,4'-disubstitués, il existe aussi des thiocarbanilides très actifs qui portent des substitutions en d'autres positions. En outre, l'influence favorable de certains radicaux tels que les groupements fluoro, *n*-amyl et isoamyl mérite d'être soulignée.

Nous avons complété l'étude des propriétés tuberculostatiques dans le groupe des thiourées par l'examen d'une série de l'acyl-4-arylthiosemicarbazide de formule générale (III), et dont nous avons décrit récemment la synthèse et les propriétés complexantes vis-à-vis des cations métalliques². Les composés suivants inhibent complètement la croissance du bacille tuberculeux à la concentration de 10^{-4} , aussi bien au bout de 2 semaines qu'après 3 semaines d'incubation:

1-isonicotinoyl-4-(*p*-tolyl)thiosemicarbazide
 1-isonicotinoyl-4-(2,3-xylyl)thiosemicarbazide
 1-isonicotinoyl-4-(*p*-méthoxyphényl)thiosemicarbazide
 1-isonicotinoyl-4-(*p*-éthoxyphényl)thiosemicarbazide
 1-isonicotinoyl-4-(*o*-éthoxyphényl)thiosemicarbazide
 1-isonicotinoyl-4-(*p*-isoamyloxyphényl)thiosemicarbazide
 1-isonicotinoyl-4-(*p*-fluorophényl)thiosemicarbazide
 1-isonicotinoyl-4-(*p*-bromophényl)thiosemicarbazide
 1-isonicotinoyl-4-(α-naphtyl)thiosemicarbazide
 1-isonicotinoyl-4-(β-naphtyl)thiosemicarbazide
 1-isonicotinoyl-4-(*o*-xényl)thiosemicarbazide
 1-nicotinoyl-4-(α-naphtyl)thiosemicarbazide
 1-nicotinoyl-4-(β-naphtyl)thiosemicarbazide
 1-nicotinoyl-4-(*o*-xényl)thiosemicarbazide
 1-salicoyl-4-(*p*-tolyl)thiosemicarbazide
 1-salicoyl-4-(*p*-méthoxyphényl)thiosemicarbazide
 1-salicoyl-4-(*p*-éthoxyphényl)thiosemicarbazide
 1-salicoyl-4-(*p*-isoamyloxyphényl)thiosemicarbazide
 1-salicoyl-4-(*p*-fluorophényl)thiosemicarbazide
 1-salicoyl-4-(α-naphtyl)thiosemicarbazide
 1-salicoyl-4-(β-naphtyl)thiosemicarbazide
 1-(5-chlorosalicyl)-4-(*p*-méthoxyphényl)thiosemicarbazide
 1-(5-chlorosalicyl)-4-(*p*-éthoxyphényl)thiosemicarbazide
 1-(5-chlorosalicyl)-4-(*p*-isoamyloxyphényl)thiosemicarbazide
 1-(5-chlorosalicyl)-4-(α-naphtyl)thiosemicarbazide
 1-(5-chlorosalicyl)-4-(*p*-fluorophényl)thiosemicarbazide
 1-(5-chlorosalicyl)-4-(*p*-bromophényl)thiosemicarbazide
 1-(3,5-dichlorosalicyl)-4-(*p*-tolyl)thiosemicarbazide

1-(3,5-dichlorosalicyl)-4-(*p*-éthoxyphényl)thiosemicarbazide
 1-(5-bromosalicyl)-4-(*p*-éthoxyphényl)thiosemicarbazide
 1-(5-bromosalicyl)-4-(α-naphtyl)thiosemicarbazide
 1-(5-bromosalicyl)-4-(β-naphtyl)thiosemicarbazide
 1-(5-bromosalicyl)-4-(*o*-xényl)thiosemicarbazide
 1-lauroyl-4-(*p*-isoamyloxyphényl)thiosemicarbazide
 1-phénoxyacétyl-4-(*p*-éthoxyphényl)thiosemicarbazide
 1-phénacétyl-4-(*p*-éthoxyphényl)thiosemicarbazide
 1-(2-coumarylyl)-4-(*p*-éthoxyphényl)thiosemicarbazide
 1-(2-coumarylyl)-4-(α-naphtyl)thiosemicarbazide
 1,1'-adipoyl-bis[(α-naphtyl)thiosemicarbazide] (IV).



L'activité tuberculostatique aux concentrations de l'ordre de 10^{-4} , présente chez un grand nombre de 1-acyl-4-arylthiosemicarbazides, semble devoir correspondre à une activité de base du groupement chimique complexant CO-NH-NH-CS-NH- . Pour certaines structures moléculaires favorables, cette activité tuberculostatique devient perceptible, quoiqu'incomplète, à la concentration de 10^{-5} ; c'est le cas de la 1-isonicotinoyl-4-(*p*-isoamyloxyphényl)thiosemicarbazide, de la 1-salicoyl-4-α-naphtylthiosemicarbazide, de la 1-(5-chlorosalicyl)-1-(*p*-méthoxyphényl)thiosemicarbazide, et de la 1-phénoxyacétyl-4-(*p*-éthoxyphényl)thiosemicarbazide.

M. WELSCH, N. P. BUU-HOÏ,
 M^{lle} P. DANTHINNE et N. D. XUONG

Laboratoire de Microbiologie de l'Université de Liège et
 Institut du Radium de l'Université de Paris, le 12 octobre 1955.

Summary

A large number of N,N'-diarylthiouras and N-aryl-N'-pyridylthiouras have been tested for *in vitro* tuberculostatic activity, and several of them have been found highly active. A series of 1-acyl-4-arylthiosemicarbazides have likewise been investigated, and most of them found to be active at a concentration of 10^{-4} ; this is considered the basic activity corresponding to the molecular grouping CO-NH-NH-CS-NH- .

Limitation de l'emploi des coupes tissulaires pour l'étude des phénomènes métaboliques

L'étude des différentes fonctions métaboliques tissulaires et de leurs étapes intermédiaires a fait d'indéniables progrès; ceux-ci sont notamment dus à l'utilisation des isotopes. De nombreux auteurs ont employé ces substances au cours d'expériences *in vivo* ou *in vitro*. Dans ce dernier cas, le matériel tissulaire varie de la suspension d'organites intracellulaires (noyaux, mitochondries, etc.) à la coupe de tissu.

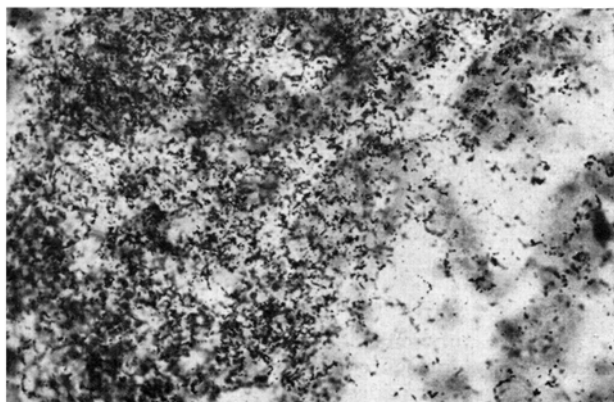
Un point important, dans le cas précis du métabolisme protéique, est de savoir si l'incorporation des acides aminés marqués n'est pas troublée au cours d'expériences *in vitro*; la qualité des éléments tissulaires importe assurément, puisque des coupes de foie incorporent de 4 à 41 fois plus de méthionine que l'homogénat¹; le diaphragme du rat incorpore 4 à 5 fois plus de glycine que l'homogénat².

¹ T. WINNICK, F. FRIEDBERG et D. M. GREENBERG, J. biol. Chem. 175, 117 (1948).

² H. BORSOOK, C. L. DEASY, A. J. HAAGEN-SMIT, G. KEEHLEY et P. H. LOWY, Fed. Proc. 8, 589 (1949).

² N. P. BUU-HOÏ, N. D. XUONG et N. H. NAM, C. r. Acad. Sci. Paris 238, 295 (1954).

Le cas des coupes de tissu («slices») retiendra plus particulièrement notre attention.



On voit à gauche le bord de la coupe, très actif; à droite, assimilation très réduite.

DEANE *et al.*³ ont montré, par des méthodes histo-chimiques, que la glycogénèse hépatique est restreinte à un ruban cellulaire situé à la périphérie de la tranche, large de 8 à 12 cellules, dans le cas des coupes de tissus.

La méthode autoradiographique mise au point par FICQ *et al.*⁴ nous a semblé susceptible de servir utilement à une étude de cette question, en ce qui concerne l'incorporation des acides aminés marqués. Nous avons prélevé des cylindres de tissu hépatique par ponction à l'aide de l'aiguille de P. IVERSEN, dont le diamètre intérieur est de 1 mm; la longueur de ces cylindres est de 8 à 10 mm. Ils sont plongés aussitôt dans du milieu de KREBS contenant 0,36 mg de glycine-1-C 14 par cm³ (radio-activité de 16 μ C), maintenu à 38° et oxygéné. Après 60 min, ils sont sortis du milieu et lavés avec une solution de glycine non radio-active, puis fixés à l'alcool acétique, enrobés et coupés à 5 μ . Les autoradiographies et la coloration au vert de méthyl-pyronine ont été effectuées suivant la technique décrite par FICQ, GAVOSTO et ERRERA⁴.

La méthode histo-chimique de détection des acides nucléiques par la coloration au vert de méthyl-pyronine permet immédiatement de se rendre compte de la disparition des blocs de BERG au niveau des cellules intérieures; seul, un ruban cellulaire large de 3 à 5 cellules, situé à la périphérie de la coupe, présente encore la basophilie caractéristique de l'acide ribonucléique.

Cette disparition, dans les cellules internes, est à mettre en rapport avec l'anoxie tissulaire (DROCHMANS⁵). Rappelons en effet, que l'épaisseur maximale d'une tranche tissulaire pour les mesures des échanges respiratoires, répond à la formule établie par WARDBURG⁶:

$$d' = \sqrt{8 C_0 \frac{D}{A}}$$

dans laquelle C_0 est la concentration en oxygène à la surface de la coupe, A l'activité respiratoire du tissu, D la constante de diffusion de l'oxygène dans le tissu et d' , l'épaisseur de la coupe telle que la concentration en oxygène au centre de la coupe est égale à zéro. On peut atteindre une concentration au centre de la coupe égale

à 0,6 atmosphère en remplaçant l'air par de l'oxygène pur. Mais jamais la coupe, quand il s'agit du foie, ne peut excéder 0,3 mm.

C'est cette anoxie qui explique également que les traces d'électrons sont limitées aux cellules extérieures du cylindre tissulaire (voir Figure); l'assimilation de la glycine n'a lieu qu'au niveau des cellules bien oxygénées; en effet, nous savons que si l'on bloque la respiration cellulaire, il n'y a plus de formation de liaisons peptidiques (BOROOK *et al.*², REINER⁷).

Conclusions. Les résultats obtenus par l'emploi de coupes tissulaires dans l'étude des phénomènes métaboliques ne sont valables que qualitativement. L'épaisseur de la tranche de tissu ne doit jamais excéder 0,3 mm. L'examen de préparations autoradiographiques de foie incubé avec de la glycine marquée nous a montré que l'incorporation est localisée aux cellules périphériques de la coupe.

F. MOYSON

Laboratoire de morphologie animale, Université libre de Bruxelles, le 11 octobre 1955.

Summary

The use of tissues slices for metabolic studies gives results valuable only from the qualitative view-point. The histochemistry of liver slices reveals indeed that there is a disappearance of the basophilia of the inner layers of cells and, consequently, autoradiographic preparations of slices incubated with tagged glycine show that the incorporation of the amino-acid is limited to the outer layers of cells.

⁷ REINER, Fed. Proc. 8, 176 (1949).

Quantitative Changes of the Free Phospholipids in the Sea-Urchin Egg at Fertilization

MAGGIO and MONROY¹ have recently put forth the working hypothesis that in the sea-urchin egg upon fertilization a release of phospholipids occurs which would then be broken down first to lysophosphatides and finally to water-soluble products, probably glyceryl-phosphoryl-choline. This hypothesis rested on the evidence obtained from the study of the reactions taking place in a model system consisting of living sea-urchin sperm and a lipoprotein. It appeared then interesting to investigate whether any change does actually occur in the phospholipid fractions of the sea-urchin egg upon fertilization. It must also be mentioned that ÖHMAN² had already found a decrease in the amount of free phospholipids in the sea-urchin egg 10 min after fertilization and on the basis of his experimental evidence he suggested that these became bound, probably to proteins.

The data presented in the Table show the results of a preliminary fractionation of the phospholipids of the unfertilized and fertilized eggs of the sea-urchin *Arbacia lixula* into a "free" and a "bound" fraction. Under the name of free those phospholipids are meant which can be extracted with cold ether, whereas the bound ones need a prolonged extraction with hot alcohol-ether. It appears that in the eggs of *Arbacia* there is a sizeable

³ H. W. DEANE, F. B. NESBETT, J. M. BUCHANAN et A. B. HASTINGS, J. cell. and compar. Physiol. 30, 255 (1947).

⁴ A. FICQ, F. GAVOSTO et M. ERRERA, Exper. Cell Res. 6, 69 (1954).

⁵ P. DROCHMANS, Arch. Biol. 61, 475 (1950).

⁶ WARDBURG cité dans «Manometric Methods» par M. DIXON (University Press, Cambridge, 1934).

¹ R. MAGGIO and A. MONROY, Exper. Cell Res. 8, 244 (1955).

² L. O. ÖHMAN, Ark. Zool. 35A, No 7 (1944).