

eine Lösung des entsprechenden Kations in Form des Chlorids, bzw. Uramildiacetats gewählt (beim T' wurde statt Chlorid das Bromid verwendet). Vor der Adsorption der Alkalionen wurden die Säulen mit den Elutionslösungen vorgewaschen, bis die ausfließenden Anteile denselben pH-Wert erreichten, wie die einfließende Lösung. Die Durchflussgeschwindigkeit betrug $3 \text{ cm}^3/\text{cm}^2$ in der Minute.

Die Mittel zur Beschaffung der radioaktiven Substanzen verdanke ich der Studienkommission für Atomenergie. Herrn Prof. Dr. A. v. Muralt danke ich für die Erlaubnis zur Benützung der Apparaturen des Isotopenlaboratoriums in seinem Institut und der Firma Siegfried AG. in Zofingen für die geschenkweise Überlassung von Barbitursäure.

Zusammenfassung.

Es wurde mit Hilfe von Elutionskurven dargelegt, dass die Trennung von Lithium, Natrium und Kalium nach dem Elutionsverfahren mit Hilfe von Kationenaustauschern durch Komplexbildung des Na^+ und Li^+ mit Uramildiessigsäure stark beschleunigt werden kann. Ausserdem wurde gefunden, dass beim vorliegenden Elutionsverfahren die Affinität zum Austauscher in der Reihenfolge $\text{K}^+ > \text{NH}_4^+ > \text{Na}^+ > (\text{CH}_3)_2\text{NH}_2^+ > \text{Li}^+ > (\text{CH}_3)_4\text{N}^+$ abnimmt.

Institut für anorganische, analytische
und physikalische Chemie der Universität Bern.

195. Etude de la résorption intestinale des graisses à l'aide de deutéro-glycérol et d'acides gras marqués

par P. Favarger, R. A. Collet¹⁾ et E. Cherbuliez.

(11 VI 51)

Le passage des acides gras à travers la paroi intestinale est à l'heure actuelle une des questions les plus controversées en chimie physiologique. Dans le cas des graisses, le problème est beaucoup plus complexe que pour les glucides et les protides, par suite de l'insolubilité des molécules des acides gras séparés par scission hydrolytique des graisses. Deux théories opposées tentent d'expliquer la résorption des graisses. Selon la théorie lipolytique qui fut développée par Verzár²⁾, les graisses sont d'abord hydrolysées; le glycérol et les acides gras ne franchissent la membrane externe des cellules intestinales qu'après hydrolyse, pour être estérifiés à nouveau à l'intérieur des cellules. Les acides gras seraient résorbés non pas sous forme de savons, car ces composés sont instables au pH de l'intestin grêle supérieur (6,5), mais plutôt sous forme de complexes avec les acides biliaires.

Plus récente est la conception de Frazer³⁾ qui opte pour une résorption de la graisse intacte ou partiellement hydrolysée, sous forme

¹⁾ Thèse n° 1178 (Faculté des Sciences), Genève 1951.

²⁾ F. Verzár & E. J. McDougall, "Absorption from the intestine", London 1936.

³⁾ A. C. Frazer & H. G. Sammons, Biochem. J. 39, 122 (1945).

de particules d'un diamètre inférieur à $0,5 \mu$. Selon cet auteur, l'hydrolyse n'irait jamais jusqu'au stade glycérol. Ses arguments sont d'ordre morphologique, théorique et expérimental:

a) On a cru démontrer l'existence de canalicules dans la membrane épithéliale¹⁾;

b) Les particules de graisse chargées négativement franchissent cette membrane selon les principes développés par Teorell²⁾;

c) Les paraffines peuvent traverser la muqueuse intestinale, pourvu que leur état de dispersion soit suffisant. Frazer³⁾ a procédé à toute une série d'expériences qui sont favorables à cette conception, mais qui ne constituent cependant que des présomptions, et qui toutes peuvent être interprétées de différentes manières. La même objection peut d'ailleurs être faite à la théorie lipolytique.

En réalité, il semble que l'organisme utilise un grand nombre de mécanismes biochimiques pour s'incorporer les substances dont il a besoin. Beaucoup d'expériences *in vitro* ou *in vivo* ont démontré ces possibilités, sans pouvoir servir à fixer leur importance relative. Il devient nécessaire de donner des chiffres permettant d'évaluer l'ampleur de chacun de ces mécanismes; c'est pourquoi il nous a paru indispensable de contrôler par une méthode aussi directe que possible quel était le degré d'hydrolyse des graisses pendant la digestion.

A cet effet, des graisses à glycérol ordinaire, et du glycérol marqué par du deutérium sont administrés à un certain nombre d'animaux. Si l'hydrolyse se poursuit jusqu'à la libération du glycérol, la resynthèse des graisses dans la muqueuse intestinale s'effectuera à partir d'un mélange de glycérol marqué et de glycérol ordinaire libéré par la lipolyse. En dosant le deutérium dans les graisses de la paroi intestinale ou du sang, et en tenant compte des graisses constitutionnelles de ces tissus, on pourra voir combien de molécules de glycérol ont été échangées, c'est-à-dire combien de molécules de triglycérides ont été complètement hydrolysées. Si la graisse ingérée, à glycérol ordinaire, est marquée dans ses restes acides, on pourra connaître la proportion des acides gras participant à la résorption. D'une manière analogue, on peut estimer la proportion maximum d'acides gras libérés en administrant à des rats un mélange de glycérides (élaïdine), et d'acides gras libres marqués au D, et en déterminant la répartition des acides marqués estérifiés dans la muqueuse intestinale. En effet, on doit admettre que les acides qui sont séparés par hydrolyse vont se mélanger aux acides gras administrés à l'état libre. Ainsi, la resynthèse va se faire à partir d'un mélange dont la composition est précisément conditionnée par l'ampleur de l'hydrolyse intraluminaire.

¹⁾ J. R. Baker, Quart. J. micr. Sci. **84**, 73 (1942).

²⁾ R. Teorell, Trans. Faraday Soc. **33**, 920, 939 (1937).

³⁾ A. C. Frazer, J. H. Schulman & H. C. Stewart, J. Physiol. **103**, 306 (1944).

Nous ne tenons pas compte des autres possibilités d'introduction du glycérol dans les glycérides, telles que les réactions d'acidolyse et d'alcoolysis. Leur existence biologique n'a pas encore été mise en évidence, et semble peu probable.

Partie expérimentale.

Préparation de substances deutériées.

Préparation de glycérol deutérié au carbone. Les essais d'échange direct (chauffage de glycérol en tube scellé avec D₂O en présence de PtO₂ à 100° ou à 130°, avec ou sans addition d'acide acétique¹⁾) ne nous ayant pas donné de résultats positifs, nous nous sommes adressés à la réduction de la hydroxyacétone par l'hydrogène lourd. Des diverses méthodes que nous avons essayées: réduction catalytique ou électrolytique, par l'hydrure de lithium, par l'amalgame de sodium, c'est cette dernière qui s'est révélée la plus avantageuse avec le matériel et les moyens dont nous disposions. Ce n'est donc que celle-ci que nous décrirons.

On dissout dans 150 g d'eau lourde²⁾, 5 g de dihydroxyacétone³⁾ et 21 g de sulfate d'aluminium (méthode de Piloty⁴⁾ modifiée). On refroidit dans de l'eau glacée et on ajoute par petites portions 170 g d'amalgame de sodium à 4%, finement broyé. La réaction dure 2 à 3 jours. Après filtration et séparation du mercure, on récupère l'eau lourde par distillation. Notons qu'il faut utiliser du sulfate d'aluminium déshydraté pour ne pas diluer l'eau lourde que l'on récupère. Le résidu contenant le glycérol est malaxé avec du sulfate de sodium anhydre, de manière à former une pâte presque solide que l'on extrait par l'acétone sèche dans un appareil de Soxhlet (Shukoff⁵⁾). On distille l'acétone, et on échange le D fixé sur les groupes alcooliques en traitant 3 fois par 100 cm³ d'eau qui sont distillés à pression réduite (15 mm) avec une colonne Vigreux. Le produit huileux que l'on obtient finalement pèse 1,7 g; il ne donne plus de réaction avec le réactif de Benedict. Le faible rendement obtenu est probablement dû à la formation d'autres dérivés plus volatils non identifiés, qui ont été entraînés avec l'eau dans les distillations.

Teneur en glycérol (*Desnuelle*⁶⁾: 96%;

Teneur en deutérium: 12,5 at. %

ce qui correspond bien à la formule CH₂OH—CDOH—CH₂OH. Deux autres préparations (avec D₂O récupéré) ont donné 11,5 et 10,9 at. %.

Préparation des acides D-palmitique et D-laurique. Ils ont été préparés par échange avec D₂SO₄ selon van Heyningen⁷⁾. On ajoute à 2 g d'acide gras, 3,7 g de D₂SO₄ 100% (préparé à partir de SO₃ et D₂O) et 0,37 cm³ de D₂O à 99,7%. Ce mélange est introduit dans une ampoule en pyrex qui est placée à 100–102° pendant 21 h. Le contenu de l'ampoule est versé dans l'eau, puis on extrait l'acide gras par l'éther. On obtient 1,9 g d'acide palmitique à 4,5 at.% de deutérium. L'acide D-laurique préparé d'une manière identique contenait 4,8 at.% de deutérium.

Dosage du deutérium.

Le dosage du D s'effectue selon la méthode de Keston, Rittenberg & Schoenheimer⁸⁾.

Des prises de 100 à 200 mg de graisse sont placées dans une petite nacelle en porcelaine que l'on introduit dans un tube de quartz rempli de CuO et chauffé à 750°. L'eau formée est condensée dans un piège plongé dans de l'alcool refroidi à –50° par de la neige carbonique.

¹⁾ K. Bloch & D. Rittenberg, J. Biol. Chem. **149**, 507 (1943).

²⁾ Cette eau lourde provient de la Norsk Hydro-Elektrisk Kvelestofjaktieselskab, Oslo.

³⁾ Offerte gracieusement par Kemball, Bishop & Co., Ltd., Bromley-by-Bow, London E. 3. ⁴⁾ O. Piloty, B. **30**, 3161 (1897).

⁵⁾ A. A. Shukoff & P. J. Schestakoff, Angew. Ch. **18**, 294 (1905).

⁶⁾ P. Desnuelle, S. Antonin & M. Naudet, Bl. Soc. Chim. biol. **26**, 1168 (1944).

⁷⁾ W. E. van Heyningen, D. Rittenberg & R. Schoenheimer, J. Biol. Chem. **125**, 495 (1938).

⁸⁾ A. S. Keston, D. Rittenberg & R. Schoenheimer, J. Biol. Chem. **122**, 227 (1937).

Distillation. Nous nous sommes inspirés de la méthode de *Keston*¹⁾ et des modifications de *Fetcher*²⁾. L'eau obtenue après combustion est reçue dans un piège A, qui contient quelques mg de BaCO₃; on la fait passer dans B contenant du CaO, en chauffant à 30—40° sous une pression de 0,5 mm deHg. L'eau est ensuite condensée dans les pièges D, E et F. Le piège C sert à arrêter les particules solides qui pourraient être entraînées par le souffle produit lors de la mise en marche de la pompe à vide; dans le même but, on intercale en G un capillaire, entre la pompe et le train de distillation. L'eau condensée en F est transvasée au moyen d'une pipette étirée, et conservée dans un petit tube en pyrex. Toute la verrerie utilisée pour la manipulation des échantillons d'eau doit être en pyrex. Le temps de chute de ces échantillons est mesuré, puis on procède à une redistillation, et ainsi de suite jusqu'à ce que l'on obtienne des valeurs concordantes. Il est nécessaire de faire périodiquement des essais à blanc avec une eau standard (eau distillée, redistillée dans un appareil de pyrex), pour s'assurer de la propreté des appareils.

Mesure du temps de chute (Cohn³⁾). On observe le temps de chute de gouttes d'eau d'un volume constant tombant dans le tube de verre A (fig. 2), d'un diamètre intérieur de 8 mm, rempli de méta-fluorotoluène (*Keston*¹⁾). Nous avons utilisé la microburette proposée par *Scholander & Evans*⁴⁾ pour la microanalyse des gaz; elle permet d'obtenir des gouttes de 3 mm³ avec une précision de 0,003 mm³.

Pendant les mesures, la température T₁ du tube A doit être stable au 1/1000 de degré. A cet effet, nous avons mis au point un dispositif qui présente certains avantages sur celui qui est utilisé en général: notre dispositif⁵⁾, basé sur le principe de l'inertie thermique, est plus mobile et d'un usage plus souple.

¹⁾ *A. S. Keston, D. Rittenberg & R. Schoenheimer, J. Biol. Chem.* **122**, 227 (1937).

²⁾ *E. S. Fetcher Jr., Ind. Eng. Chem. Anal. Ed.* **16**, 412 (1944).

³⁾ *M. Cohn, "Preparation and Measurement of isotopic Tracers", p. 51 (J. N. Edwards, 1947).* ⁴⁾ *P. F. Scholander & H. J. Evans, J. Biol. Chem.* **169**, 551 (1947).

⁵⁾ *R. A. Collet & P. Favarger, Helv. physiol. pharmacol. acta* **8**, C5 (1950).

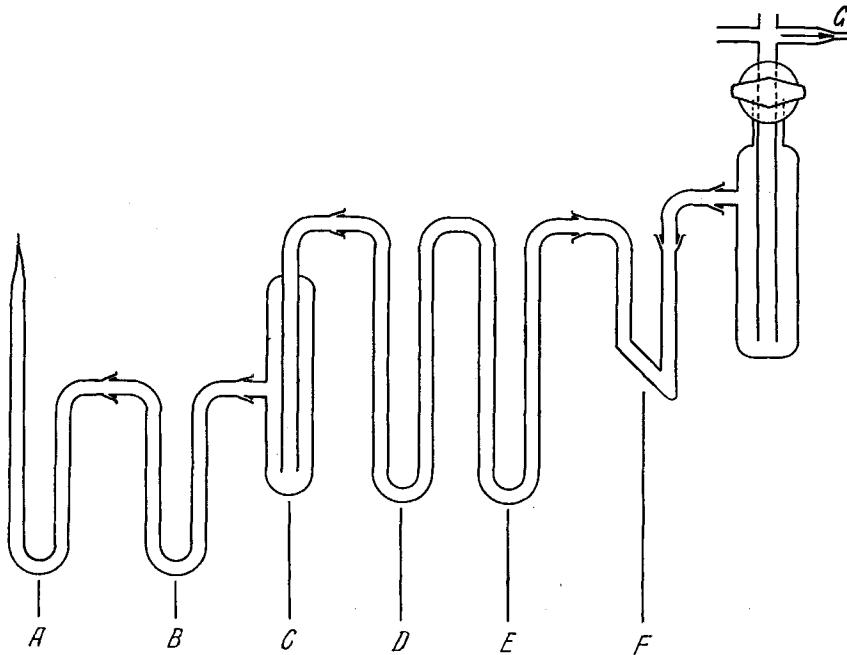


Fig. 1.

Le tube A est immergé dans le compartiment interne d'une cuve à double paroi, d'un encombrement de $50 \times 6,5$ cm. L'eau C circulant entre les deux parois est reliée à une pompe P munie d'un corps de chauffe CC de 400 watts et d'un serpentin de réfrigération E. La température de l'eau de la pompe est réglée par un thermomètre à contact qui oscille entre deux températures différent de $0,1^\circ$. Le débit de cette pompe qui contient 6,7 l. est de 2 l./min. L'eau C de la cuve est renouvelée ainsi toutes les 15 sec. Une fois l'équilibre atteint, l'inertie thermique permet d'avoir une température pratiquement constante à l'intérieur du tube A, pour autant que l'on évite toute variation brusque de la température de l'air ambiant. Dans ce but, la pièce où se font les mesures est thermostatisée à $20^\circ \pm 0,2^\circ$ pendant le fonctionnement de l'appareil. En outre, le corps de la pompe, les tuyaux et la cuve sont isolés au moyen d'amiante. La température d'équilibre dépendra finalement de la température de l'eau circulant dans le serpentin E placé à l'intérieur de la pompe P, et de son débit. Pour rendre ce débit indépendant des variations de pression, nous utilisons un réservoir F à niveau constant.

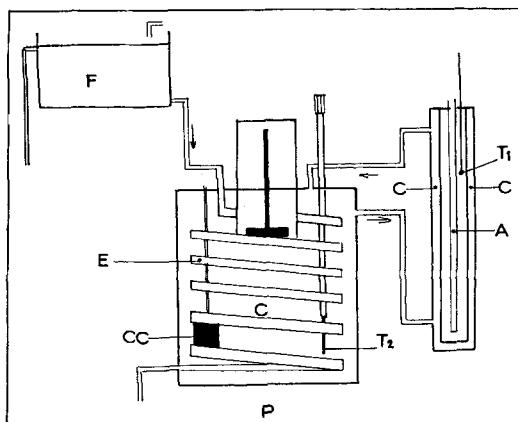


Fig. 2.

Nous avons travaillé à une température de $19,2^\circ$ contrôlée au moyen d'un thermomètre de Beckmann placé en T_1 .

On s'arrange de manière que les températures T_1 et T_2 soient aussi proches que possible de $19,2^\circ$ au moment de la mise en marche de l'appareil, ce qui a pour but de diminuer l'amplitude des oscillations thermiques. On obtient une température stable en moins de 2 h. Notons que le thermomètre T_1 atteint rapidement une température stable, mais que le véritable équilibre n'est atteint que lorsque les temps de chute de l'eau standard sont constants à 0,5 sec. près.

Dans les conditions de nos expériences ($T = 19,2^\circ$), les gouttes d'eau standard de 3 mm^3 tombent de 20 cm en 220 sec.

Essais biochimiques.

Série N° 1 (rats + glycérol et élaïdine). Dans chaque expérience, on utilise un groupe de 3 ou 4 rats albinos d'un poids global de 760 à 880 g. Les rats, à jeun depuis 48 h., ingèrent librement de l'élaïdine à 52,5% d'acide élaïdique, mélangée à de la viande maigre, puis progressivement du glycérol marqué à 12,5 at. D %. Les quantités respectives sont indiquées sur le tableau 1. Trois h. après l'ingestion de la graisse, les animaux sont sacrifiés par exsanguination, le sang étant recueilli par ponction cardiaque. On prélève l'intestin, que l'on vide de son contenu et qui est soigneusement débarrassé de la graisse mésentérique. L'intestin est broyé dans un mortier avec de l'alcool-acétone 1/1, puis extrait 4 fois à l'ébullition et dans une atmosphère de CO_2 au moyen du même solvant. On filtre et distille l'extrait sous pression réduite de CO_2 , à une température inférieure à 50° , après avoir

ajouté 50 cm³ d'eau distillée pour éviter des émulsions subséquentes. On arrête la distillation lorsque des gouttes d'eau se condensent sur les parois du ballon. Le résidu est extrait 3 fois avec 100 cm³ d'éther exempt de peroxydes¹⁾. L'extrait éthétré est lavé à l'eau distillée. On élimine les phospholipides de cette fraction lipidique par double précipitation à l'acétone (*Sinclair*²)). La solution acétonique restante est divisée en deux moitiés. L'une est chauffée 1 h. au bain-marie avec 25 cm³ de KOH alcoolique à 10%. On isole les acides gras et sépare les acides solides des acides liquides au moyen des savons de plomb (*Sinclair*³)). La proportion d'acide élaïdique est évaluée d'après la concentration et l'indice d'iode (déterminé selon *Yasuda*⁴) des acides solides⁵⁾. L'autre moitié de la fraction «acétone-soluble» contenant les graisses, les acides libres et le cholestérol est brûlée, et le deutérium dosé dans l'eau de combustion.

Le sang est centrifugé, et le sérum traité de la même façon que l'intestin.

Tableau 1.

Analyse des graisses intestinales chez le Rat, après ingestion de tri-élaïdine et de D-glycérol.

	G _I * Graisses intestinales	G _{II} * Graisses intestinales	G _{III} * Graisses intestinales	G _{IV} * Graisses intestinales	Sang G _{III} + G _{IV}
D-glycérol** administré	340 mg	420 mg	730 mg	600 mg	—
Elaïdine résorbée	1,75 g	1,10 g	1,35 g	1,05 g	—
Graisse des intestins	520 mg	500 mg	650 mg	375 mg	77 mg
Indice d'iode	47	55	44	52	61
Proportion d'ac. élaïdique .	23%	32%	19,5%	28,5%	28%
Proportion des graisses ingérées	44%	61%	43%	54,5%	53,5%
at. D % + 0,002)	0,013	0,010	0,013	0,020	0,030
Proportion des graisses marquées	1,3%	1%	1,3%	2%	3%
Proportion des graisses ingérées marquées au D-glycérol.	3%	1,6%	3%	3,7%	5,6%

* Groupes de 3 à 4 rats pesant au total de 760 à 880 g, recevant 3 g de graisse à 52,4% d'ac. élaïdique. Sacrifice après 3 h. ** Glycérol à 12,5 at. D %.

Le tableau 1 indique la proportion des graisses ingérées contenant du glycérol lourd à la place du glycérol ordinaire. Pour obtenir ces valeurs, on détermine tout d'abord la teneur des graisses intestinales totales en graisses marquées au D-glycérol, en considérant que les triglycérides marqués contiennent 1 atome D pour 103 atomes H (glycérol à 1 atome D pour 7 atomes H). Ces chiffres sont abaissés par la dilution due aux graisses constitutionnelles. La concentration en acide élaïdique permet de calculer la proportion des glycérides qui ont participé à la résorption pendant l'expérience. *Les graisses intestinales qui ont incorporé du glycérol lourd représentent dans cette expérience 1,6 à 3,7% des graisses ingérées.*

Erreur de dilution. Le glycérol libre administré est dilué par celui qui provient de l'hydrolyse. Cette erreur pourrait être très importante si la quantité de glycérol libre résorbé en même temps que la graisse était petite par rapport au glycérol provenant de l'hydrolyse. En admettant que le glycérol retrouvé dans la paroi intestinale est une mesure du glycérol lourd disponible lors de la resynthèse, on peut calculer l'erreur en connaissant

¹⁾ W. R. Bloor, J. Biol. Chem. **82**, 283 (1929).

²⁾ R. G. Sinclair, J. Biol. Chem. **86**, 579 (1930); **88**, 575 (1930).

³⁾ R. G. Sinclair, J. Biol. Chem. **134**, 71 (1940).

⁴⁾ M. Yasuda, J. Biol. Chem. **94**, 401 (1931-32).

⁵⁾ P. Favarger, Arch. intern. Pharmacodyn. **68**, 409 (1942).

la quantité de glycérol marqué et la quantité de glycérol libéré telle qu'on la détermine en première approximation. En réalité, tout laisse supposer que cette erreur est plus petite que les valeurs portées sur le tableau 2. Nous avons en effet observé que le glycérol est plus rapidement résorbé que les graisses.

Tableau 2.
Calcul de l'erreur de dilution.

	G _I	G _{II}	G _{III}	G _{IV}
Hydrosoluble de la muqueuse intestinale	130 mg	180 mg	130 mg	257 mg
Atomes D %	0,27	0,20	0,43	0,48
Glycérol marqué retrouvé de la muqueuse intestinale	5,8 mg	5,8 mg	4,4 mg	9,4 mg
Glycérol hydrolysé*	0,7 mg	0,5 mg	0,84 mg	0,76 mg
<i>Erreur de dilution</i>	12%	9%	19%	8%

* Calculé d'après le glycérol lourd marqué.

Série N° 2. Il était nécessaire de contrôler ces résultats en remplaçant l'élaïdine par une graisse plus physiologique. Dans une deuxième expérience, les rats reçoivent du lard et du glycérol marqué au D. Pour connaître la proportion approximative de graisse ingérée présente dans l'intestin, nous avons déterminé la concentration en graisses constitutionnelles dans un groupe de rats de mêmes souche, sexe et âge. Il est particulièrement indispensable dans ce cas d'éliminer la graisse mésentérique. Dans ces conditions, on peut évaluer à 75% la proportion des graisses du dernier repas, contenue dans les graisses intestinales extraites. Les conditions expérimentales sont les mêmes que pour la série 1.

Les résultats figurent sur le tableau 3. On voit qu'ils sont du même ordre de grandeur que dans les premières expériences.

Tableau 3.
Analyse des graisses intestinales chez le Rat, après ingestion de lard et de D-glycérol.

	G _V *	G _{IV} **	G _{VII} **
D-glycérol administré	288 mg	216 mg	216 mg
Lard (à 96%) résorbé	1,87 g	0,95 g	1,05 g
Quantité de graisse dans l'intestin	732 mg	404 mg	508 mg
Atomes D % ($\pm 0,002$)	0,013	0,028	0,013
Proportion de graisse marquée	1,3%	2,8%	1,3 %
Proportion de graisses ingérées*** marquées (D-glycérol)	1,8%	3,9%	1,6 %
Hydrosoluble de la muqueuse intestinale	112 mg	128 mg	231 mg
Atomes D %	0,44	0,34	0,14
Glycérol marqué retrouvé dans la muqueuse intestinale	3,9 mg	3,5 mg	2,6 mg
Glycérol hydrolysé	0,95 mg	1,13 mg	0,65 mg
<i>Erreur de dilution</i>	24%	32%	25 %

* 3 rats ayant ingéré au total 9 g de lard.

** 3 rats ayant ingéré au total 3 g de lard.

*** La proportion des graisses nouvellement ingérées est estimée à 75% des graisses intestinales.

Plusieurs auteurs ont relevé les différences entre espèces animales en ce qui concerne la résorption des graisses. Il est probable que ces divergences ne proviennent pas de l'existence de mécanismes fondamentalement différents, mais plutôt de variations quantitatives dans l'utilisation de tel ou tel processus. Notre but essentiel est de connaître comment les graisses sont résorbées chez l'Homme. Pour remplacer ce dernier, on choisit souvent le Rat qui est également omnivore et se rapproche de l'Homme en ce qui concerne le métabolisme des lipides. Néanmoins, il était important de faire les mêmes expériences chez un autre animal encore plus proche de l'Homme, comme le Singe.

Série N° 3. Cette série comprend 3 singes. Le premier, un rhésus mâle de 2,5 kg, est à jeun depuis 48 h. Il ingère librement 7 g de margarine mélangée à une banane, puis progressivement en 2 h. 500 mg de D-glycérol à 11,7 at. D %, en solution dans 25 cm³ H₂O.

Le second est un mâle de 1,9 kg. Il ingère librement une bouillie composée de 4 g d'élaïdine, de 600 mg de glycéról (à 10,9 at. D % dans 5 cm³ d'eau, et d'une demi-banane. L'autopsie révèle une tuberculose généralisée; l'intestin néanmoins ne présente pas de lésions.

Le troisième est une femelle de 2,3 kg. Nous avons dû lui administrer à l'aide d'une sonde stomacale le même mélange que pour le singe précédent, dilué à un volume de 70 cm³.

Tableau 4.

Analyse des graisses intestinales chez le Singe, après ingestion de graisse et de D-glycérol.

		Duodénum	Jéjunum	Iléum	Sérum
Graisse (mg)	Singe 1 ^{a)}	194	310	560	87,5
	Singe 2 ^{b)}	69	144	196	72
	Singe 3 ^{c)}	106	268	—	52
At. D %	S 1	0,030	0,020	0,025	0,040
	S 2	0,040	0,035	0,025	0,045
	S 3	0,015	0,012	—	0,010
% graisses marquées	S 1	3 %	2 %	2,5 %	4 %
	S 2	4 %	3,5 %	2,5 %	4,5 %
	S 3	1,5 %	1,2 %	—	1 %
% de graisses ingérées* marquées au glycéról lourd	S 1	3,8**—6%***	2,4—4%	3,1—5%	5—8%
	S 2	5—8%	4,4—7%	5—6,3	5,6—9%
	S 3	1,9—3%	1,5—2,4	—	1,3—2%
Glycérol libre marqué	S 1	0,76 mg	0,67 mg	0,85 mg	1,16 mg
	S 2	2,8 mg	2,1 mg	2,2 mg	1,2 mg
	S 3	1,5 mg	1,4 mg	—	2,1 mg
Glycérol hydrolysé	S 1	0,58 mg	0,62 mg	1,4 mg	0,35 mg
	S 2	0,27 mg	0,50 mg	0,49 mg	0,32 mg
	S 3	0,16 mg	0,32 mg	—	0,05 mg
Erreur de dilution	S 1	76 %	93 %	17 %	30 %
	S 2	9,6 %	24 %	22 %	27 %
	S 3	11 %	23 %	—	2 %

^{a)} Résus mâle 2,5 kg: 7 g margarine; 500 mg D-glycérol à 11,7% D.

^{b)} Résus mâle 1,9 kg; 4 g élaïdine; 600 mg D-glycérol à 10,9% D.

^{c)} Résus fem. 2,3 kg; 4 g élaïdine; 600 mg D-glycérol à 10,9% D.

* D'après les dosages d'ac. élaïdique, la proportion des graisses ingérées est estimée à 50—80%. ** = 80%. *** = 50%.

Trois h. après ingestion de la graisse, le sang est recueilli par une canule introduite dans l'aorte abdominale¹⁾, après narcose au « Nural ». On prélève l'intestin grêle et le sectionne arbitrairement en 3 tronçons : duodénum (1er cinquième), jéjunum (les 2 cinquièmes suivants) et iléum (les 2 derniers cinquièmes). L'extraction des lipides s'effectue comme pour la série 1. Nous procérons en outre pour les singes 2 et 3 au dosage du deutérium dans les phospholipides.

On voit (tableau 4) que *le glycérol retrouvé dans l'intestin est réparti à peu près également dans toute sa longueur*. Dans les deux premiers cas, le pourcentage de graisse marquée, retrouvée dans l'intestin, est légèrement plus élevé que pour les rats. Dans le premier cas, la quantité de glycérol présente dans la muqueuse est passablement plus faible, et l'erreur de dilution est assez importante.

Série N° 4. Les expériences précédentes nous ont permis d'estimer la quantité de glycérol renouvelé dans les glycérides pendant la résorption. Les deux tiers des restes d'acides gras des graisses pourraient être hydrolysés dans la lumière intestinale, sans que le glycérol se renouvelât. Il était donc nécessaire de répéter avec des acides gras libres les expériences faites avec le glycérol. La discussion fera ressortir que dans ce cas les résultats doivent être interprétés avec beaucoup de prudence. Ils ne constituent qu'une indication sur la quantité maximum d'acides gras qui peuvent se renouveler pendant la digestion.

Nous administrons à des rats de 150 à 280 g., à jeun depuis 48 h., un mélange composé d'un triglycéride marqué par un acide non physiologique (élaïdine) et d'acides gras libres marqués (acides D-palmitique, D-laurique), selon le tableau 5. L'intestin est prélevé, et les graisses sont extraites et dosées comme plus haut.

Si les acides gras administrés à l'état libre ne s'estérifient pas avec du glycérol synthétisé dans l'intestin, le degré d'hydrolyse intraluminaire peut s'exprimer au moyen de la formule suivante :

$$h = \frac{R \cdot C_D}{D \cdot C_D - R \cdot C_H}$$

où h = pourcentage d'hydrolyse.

R = at. D % dosés dans les graisses ingérées retrouvées dans la muqueuse intestinale.

C_D = concentration molaire en acide D-palmitique administré.

C_H = concentration molaire en acides gras non marqués au D, administrés sous forme de graisse.

D = concentration en deutérium de l'acide D-palmitique ingéré.

Nous arrivons ainsi à évaluer à 11—33% la proportion de fonctions ester hydrolysées des graisses ingérées. Or, une partie des acides gras libres est probablement transformée en glycérides dans la muqueuse grâce à du glycérol néoformé. Dans ce cas, le degré d'hydrolyse serait encore inférieur à celui que nous indiquons. Des résultats analogues sont obtenus avec l'acide D-laurique et avec l'acide D-palmitique. Pour simplifier notre calcul, nous avons supposé que les acides libres et les graisses neutres ingérés sont résorbés simultanément tout le long de l'intestin.

Quelques essais nous ont montré que les acides libres sont résorbés de préférence dans l'intestin grêle supérieur. Leur disparition prématûre modifie la proportion du mélange disponible pour la resynthèse dans le reste de l'intestin (tableau 6).

Note. Le renouvellement du glycérol des phospholipides de l'intestin est particulièrement faible et ne semble pas dépasser 1 à 1,5%. Ce résultat, que nous compléterons dans une publication ultérieure, montre que la synthèse des phospholipides doit s'effectuer à partir d'une substance plus complexe que le glycérol.

¹⁾ Nous remercions les assistants de l'Institut de Physiologie de l'Université de Genève, qui nous ont prêté leur précieux concours pour cette opération.

Tableau 5.
*Proportion d'acides gras hydrolysés pendant la résorption intestinale, chez des rats ayant reçu
 de l'élaïdine et de l'acide D-palmitique ou D-laurique.*

	Gruppe de deux rats	P ^a ₁	P ^a ₂	P ^a ₃	P ^b ₆	P ^b ₇	P ^b ₈	P ^b ₉	L ^c ₁	L ^c ₂
Grasises intestinales										
Proportion molaire des acides libres ingérés		32,4	21,9%	21,9%	20%	20%	30%	30%	25,1%	25,1%
Graisse quantité totale (mg)	103	114	89	361	292	237	267	152	152	121
Indice d'iode des acides gras.	49	54	51,5	43	44	42	40	61	53	
Concentr. en ac. élaïdique *	29,8%	34,7%	31,7%	24,2%	25,1%	25%	21,7%	39%	31,6%	
Atomes D %	0,56	0,27	0,29	0,26	0,29	0,50	0,40	0,50	0,41	
Concentr. en D des acides ingérés	0,80	0,37	0,44	0,49	0,52	1,79	0,72	0,59	0,60	
Concentr. en ac. gras des glycérides ingérés	56,5%	62,2%	60,3%	46%	48%	48,6%	41,3%	74,3%	60,2%	
% Hydrolyse	27,5%	11,5%	14,4%	25,5%	29%	31,7%	33,5%	18,4%	18,4%	

a = ac. D-Palmitique à 4,5 at. % D

b = ac. D-Palmitique à 3,6 at. % D

c = ac. D-Laurique à 4,8 at. % D

* = Elaidine administrée : 52,5% d'ac. élaïdique.

Tableau 6.

Répartition des graisses, chez le Rat, dans l'intestin grêle sectionné arbitrairement en 3 parties égales A, B, C, après ingestion d'un mélange composé d'acide D-palmitique et d'élaïdine.

	P ₆ *	P ₇ *	P ₈ **	P ₉ **
Graisse (mg) dans intestin	A 150	134	187	136
	B 163	110	97	88
	C ← 97 →		← 86 →	
Indice d'iode	A 53	54	51	48
	B 57	58	51	48
	C ← 19 →		← 23 →	
Concentration en ac. élaïdique	A 36,3%	37 %	37,2%	33 %
	B 33,6%	35,6%	33,1%	27,4%
	C ← 2,8% →		← 4,6% →	
Atomes D %	A 0,49	0,51	0,80	0,64
	B 0,17	0,23	0,45	0,30
	C ← 0,13 →		← 0,25 →	

* = 3 rats d'un poids moyen de 290 g ont reçu chacun 0,5 g du mélange composé de 20% ac. D-palmitique à 3,6 at. D. % et 80% élaïdine.

** = 3 rats d'un poids moyen de 300 g ont reçu chacun 0,5 g d'un mélange composé de 30% ac. D-palmitique à 3,6 at. D % et 70% élaïdine.

Discussion.

Les hypothèses émises pour expliquer le mode de résorption des acides gras ne sont basées que sur des expériences *in vitro*, ou dans lesquelles les animaux sont dans des conditions très peu normales. Or, il devient de plus en plus certain que le mécanisme dominant varie en fonction du pH intestinal (distance à partir du pylore), du régime, de l'espèce animale, et surtout des conditions physiologiques ou pathologiques. Nous avons cherché à donner une mesure du degré d'hydrolyse chez des animaux qui résorbaient des graisses ingérées librement. Pour un des singes, il a fallu utiliser une sonde, et les résultats obtenus pour cet animal sont nettement inférieurs à ceux de ses deux congénères.

Les chiffres que nous donnons en ce qui concerne l'incorporation du glycérol dans les graisses de la paroi intestinale n'ont pas une signification véritablement quantitative. Un fait pourtant ne peut plus être nié, c'est que le glycérol n'est pas libéré en quantité importante pendant la résorption des graisses. La concentration du glycérol libre marqué dans la paroi intestinale dans les différentes régions de l'intestin de singe, montre que cette substance traverse la paroi intestinale en même temps que les graisses. Si ces dernières sont scindées pour leur plus grande partie en glycérol libre et en acides gras, il n'y a aucune raison qu'elles ne soient pas resynthétisées à partir du glycérol marqué. Le glycérol a pu être dilué par le glycérol libéré des graisses

ou par du glycérol néoformé dans les cellules épithéliales. Si l'on tient compte de la quantité de glycérol marqué administré, on peut facilement calculer que l'intestin devrait synthétiser des quantités considérables de glycérol ordinaire pour diluer le D-glycérol dans une mesure compatible avec les résultats obtenus. Supposons une hydrolyse totale des graisses chez un singe ayant reçu 500 mg de glycérol marqué. La présence de 5 % de glycérol marqué dans les graisses resynthétisées correspondrait à l'élaboration de 20 fois 500 mg de glycérol ordinaire, ce qui n'est guère admissible. On n'a en effet jamais pu isoler de glycérol en quantité notable pendant la digestion des graisses. Néanmoins, on doit admettre qu'une certaine erreur peut découler de cette possibilité. *Friedman & Freemann*¹⁾ ont constaté que lorsque des acides gras libres sont administrés à des chiens, on retrouve des graisses dans la lymphe. Il s'agit ici vraisemblablement d'un phénomène de détoxication qui n'a pas de raison d'être en présence d'un excès de glycérol.

L'incorporation du glycérol marqué aux graisses neutres — c'est ce qu'on pourrait nous objecter — pourrait se produire d'une façon indépendante de la resynthèse physiologique et par les seules manipulations chimiques. Nous avons contrôlé que du glycérol lourd ajouté au moment de la première extraction ne se retrouve pas dans les graisses.

Les graisses du contenu intestinal ne renferment pratiquement pas de glycérol lourd. On peut donc exclure la possibilité d'une resynthèse intraluminaire des triglycérides qui serait indépendante de toute résorption.

Nous avons également mesuré la concentration en deutéro-glycérol dans les graisses du sang. Elle y est généralement plus élevée que dans la paroi intestinale. Dans cette détermination, il faut tenir plus largement compte du cholestérol qui dilue les graisses et qu'on ne peut éliminer avant la combustion. Pour deux séries de rats, nous obtenons dans le sérum 5 à 7 % de graisses contenant du glycérol lourd. Pour les singes 1, 2 et 3, nous avons respectivement 7,5; 8 et 2 %. Il n'est pas étonnant que ces chiffres dépassent ceux de la paroi intestinale, car au moment du prélèvement, la resynthèse des graisses dans les cellules épithéliales se poursuit encore, alors que dans le sang elle doit être terminée. Il est bien évident que les valeurs trouvées ne correspondent qu'à la composition du milieu à un moment déterminé de la digestion. On peut admettre qu'elle est représentative de tout le processus, sauf peut-être au début et à la fin de la digestion.

Il résulte de ces essais que 90 % des graisses au minimum sont résorbées sous forme de triglycérides ou de glycérides partiels chez le Rat et le Singe, dans les conditions de nos expériences.

¹⁾ *S. Freeman & T. Friedman, J. Biol. Chem.* **108**, 471 (1935).

Les essais de la dernière partie de ce travail constituent une tentative en vue de déterminer dans quelle mesure les acides gras, et non pas le glycérol, sont libérés. Plusieurs inconnues interdisent de tirer des conclusions définitives, mais les résultats permettent néanmoins de fixer un maximum à cette hydrolyse. Si tous les acides gras administrés à l'état libre se transforment pendant la digestion en triglycérides (grâce à la synthèse de la quantité correspondante de glycérol dans les cellules épithéliales), les acides gras des graisses nouvellement ingérées de la muqueuse auront la même composition que les acides gras totaux administrés. Ce sera le cas également si l'hydrolyse intraluminaire est totale, et si la resynthèse s'effectue uniquement à partir du glycérol et des acides gras. Les valeurs que nous obtenons montrent que les acides gras administrés à l'état libre ne se retrouvent pas tous comme glycérides dans la paroi intestinale. Si l'on admet, dans un premier calcul, que seul le glycérol des glycérides ingérés est à disposition pour la resynthèse, on obtient les chiffres du tableau 5. Si, en revanche, on suppose que les acides D-palmitique et D-laurique se sont fixés sur du glycérol néoformé, il faut admettre en même temps que l'hydrolyse intraluminaire est moins avancée encore.

Nous avons établi que la résorption des acides gras administrés à l'état libre est plus importante dans le haut de l'intestin que dans le bas. Cherchons à évaluer l'erreur qui en résulte. On constate que l'acide élaïdique de l'élaïdine a disparu presque totalement avant de parvenir dans le tiers inférieur de l'intestin, et que la moitié de cet acide est résorbé dans le premier tiers. La moitié de l'acide palmitique (libre) est également résorbée dans le premier tiers, mais sa répartition est à peu près homogène dans les deux tronçons inférieurs. Il ne nous paraît donc pas que notre évaluation du maximum d'hydrolyse puisse subir de ce fait une modification fondamentale. Si l'on admet, pour fixer les idées, que le quart de l'acide palmitique a disparu avant l'hydrolyse, et qu'il échappe à la resynthèse, l'erreur par défaut sur le degré d'hydrolyse serait relativement importante pour les cas où l'hydrolyse est forte (env. 20%), mais moins marquée lorsque l'hydrolyse est restreinte.

Nous constatons donc qu'une proportion assez variable d'acides gras quittent la molécule de triglycérides sous l'influence de la lipase pancréatique. Les maxima admissibles, dans les conditions de nos expériences, sont de 12 à 45%.

Ce résultat est en accord avec la théorie de *Frazer* selon laquelle l'hydrolyse totale des graisses n'est pas indispensable à leur résorption, mais il n'appuie pas pour autant l'idée d'une résorption particulière de graisse intacte.

RÉSUMÉ.

Un mélange de deutéro-glycérone et de triglycéride (élaïdine) est administré à des rats. L'incorporation du glycérol marqué aux

graisses de l'intestin et du sang permet d'estimer que chez le Rat, une quantité de glycérol de l'ordre de 5 % est libérée pendant l'hydrolyse intestinale. Les résultats sont peu différents si on remplace l'élaïdine par du lard.

Chez le Singe, l'hydrolyse est un peu plus forte.

D'une manière analogue, nous avons pu évaluer à un maximum d'environ 45 %, le degré d'hydrolyse des fonctions esters des matières grasses ingérées et résorbées. L'hydrolyse totale des graisses n'est donc pas indispensable à leur résorption.

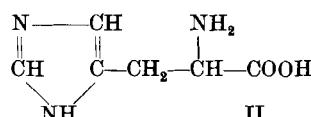
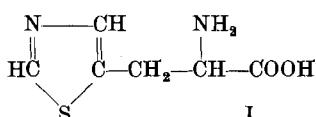
Institut de Chimie physiologique et Laboratoire de Chimie pharmaceutique de l'Université de Genève.

196. Zur Kenntnis des β -(5-Thiazolyl)-alanins

von Frances C. Brown¹), H. Erlenmeyer und E. Sorkin.

(25. VI. 51.)

Im Zusammenhang mit strukturreichen Untersuchungen haben wir β -(5-Thiazolyl)-alanin (I) synthetisiert.



Die Verbindung besitzt insofern Interesse, als sie möglicherweise erlauben wird, durch vergleichende Versuche festzustellen, ob das β -(5-Thiazolyl)-alanin oder das bereits bekannte β -(4-Thiazolyl)-alanin²) mit Histidin (II) strukturanaalog ist.

Das β -[4-Methylthiazolyl-(5)]-alanin wurde bereits von *Buchman & Richardson*³), sowie von *Harington & Moggridge*⁴), ausgehend von 4-Methylthiazol-5-aldehyd, mittels der *E. Erlenmeyer*'schen Azlactonsynthese hergestellt. Eine analoge Synthese des β -(5-Thiazolyl)-alanins wird im folgenden beschrieben.

Als Ausgangsmaterial wurde Thiazol-5-aldehyd⁵) durch Kondensation von α -Chlor- α -formyl-essigsäuremethylester und Thioformamid und anschliessende Überführung des gebildeten Thiazol-5-carbonsäuremethylesters in den Aldehyd III nach *Stephens-McFadyen* hergestellt.

¹⁾ Duke University, Durham, N. C., USA.

²⁾ R. G. Jones, E. C. Kornfeld & K. C. McLaughlin, Am. Soc. **72**, 4526 (1950), mit Hilfe des Acetaminomalonesters hergestellt.

³⁾ E. R. Buchman & E. M. Richardson, Am. Soc. **61**, 891 (1939).

⁴⁾ C. R. Harington & R. C. C. Moggridge, Soc. 1939, 443.

⁵⁾ M. Erne, F. Ramirez & A. Burger, Helv. **34**, 143 (1951).