

de rechutes : après une longue période prépatente (5 à 7 jours), la parasitémie fut très faible et fugace. La résistance à une réimpaludation prouve là encore l'immunité.

Ces faits nous semblent d'autant plus remarquables que l'infection de la Souris blanche par *P. berghei* est toujours mortelle. Ce n'est que parfois après un traitement sulfamidé ou au cours d'un régime lacté prolongé, comme nous l'avons montré dans un travail antérieur (5'), que la Souris est capable d'élaborer une immunité spécifique contre *Plasmodium berghei*.

Conclusions. — Le traitement du paludisme de la Souris blanche par la méthyl-glucamine de la sulfadiazine montre, malgré une efficacité globale, une action assez diverse qui est fonction d'un facteur individuel, de la présence de la rate ou de la souche d'hématozoaires. Comme conséquence de ce traitement, la Souris peut élaborer une immunité qui lui permet de guérir d'une rechute ou de résister à une réinoculation.

(Laboratoire de Bactériologie de la Faculté de Médecine).

Activité antixérophtalmique des esters de l'astaxanthine.

par R. GRANGAUD et R. MASSONET.

Au cours de recherches sur les pigments caroténoïdes des Pénécidés (1) nous avons précisé le comportement chromatographique de l'astaxanthine et de ses esters : lorsqu'on filtre sur colonne d'alumine (2) de 20 cm de haut et de 2 cm de diamètre une solution étheropétrolique d'une huile d'hépatopancréas ou d'un extrait d'hypoderme d'*Aristeomorpha foliacea* qui renferment de l'astaxanthine libre et estérifiée en proportions variables (3), le pigment est adsorbé sur la partie supérieure de la colonne. Après développement par l'éther de pétrole, on obtient un chromatogramme présentant de haut en bas cinq zones : le pigment de la zone supérieure, rose, de 1 cm d'épaisseur, est de l'astaxanthine libre ainsi que l'indique son caractère hypophasique ; le pigment des quatre zones sous-jacentes est un mélange d'esters épiphasiques. Dans les extraits étudiés, nous n'avons jamais pu mettre en évidence ni la vitamine A ni les carotènes (4). Et nous avons d'ailleurs récemment vérifié que le comportement chromatographique de ces facteurs est entièrement différent de celui de

(5') G. Fabiani et J. Orfila, *C. R. Soc. Biol.*, 1954, t. 148, p. 1138.

(1) R. Grangaud, L'astaxanthine, nouveau facteur vitaminique A, *Actualités biochimiques*, 15^e série, Desoer édit., Liège, 1951.

(2) Alumine pour chromatographie « Prolabo ».

(3) En été, la forme estérifiée est plus abondante que la forme libre. En hiver, la proportion est inversée, la concentration totale en pigment étant notablement abaissée.

(4) R. Grangaud, C. Chéchan, R. Massonet et M. Odier, *Bull. Soc. Chim. biol.*, 1950, t. 32, p. 245.

L'astaxan
colonne
de la vi
carotène
trat. Ces
et coll. t
L'astaxan
et des e
phéto
les extra
étant, hy
tion éthé
passent

Nous :
solution
per os à
tion déci
invoquer
et des c
des extra

La sol
derme, c
crit (1),
ment, ré
qu'il élin
tion épip
s'est diss
anhydre
haut et c
200 cm³
pigmenté
agitation
L'éluat e
tionné d
phérol e
sous pre
huileuse
(libre ou
environ
80 mg p
carencés

Onze r
Les sign
(contre le

(5) R. C
p. 533.

(6) E. C
Chim. bi

(7) S. K

(8) T. C
Chapman
BIOLOGIE.

l'astaxanthine et de ses esters (5) : la vitamine A libre se situe sur la colonne d'alumine au-dessous des esters de l'astaxanthine, les esters de la vitamine A se fixent sur la partie inférieure de la colonne, les carotènes traversent lentement l'alumine et se retrouvent dans le filtrat. Ces résultats, en accord avec ceux de Lederer (6) et ceux de Kon et coll. (7), montrent que la seule chromatographie sur alumine sépare l'astaxanthine libre et estérifiée de la vitamine A libre, de ses esters et des carotènes si, en dépit de nos contrôles chimiques et spectrophotométriques, on admet (8) que ceux-ci peuvent être présents dans les extraits que nous avons étudiés. D'autre part, la vitamine A libre étant hypophysique comme l'astaxanthine libre, en agitant leur solution éthéro-pétrolique avec de l'éthanol à 85°, vitamine et astaxanthine passent dans la phase alcoolique.

Nous avons utilisé l'ensemble de ces propriétés pour préparer une solution huileuse d'esters d'astaxanthine que nous avons administrée *per os* à des rats carencés en vitamine A. La technique de préparation décrite ci-dessous est telle que l'on ne saurait, en toute objectivité, invoquer l'intervention possible de la vitamine A libre ou estérifiée et des carotènes pour rendre compte de l'activité antixérophtalmique des extraits étudiés.

La solution éthéro-pétrolique (200 cm³) du pigment de 1 g d'hypoderme, obtenue en suivant le mode opératoire antérieurement décrit (1), a été agitée avec un égal volume d'éthanol à 85°. Ce traitement, répété cinq fois, sépare l'astaxanthine libre (en même temps qu'il éliminerait la vitamine A libre si celle-ci était présente). La solution épiphase, séparée, est lavée à l'eau pour éliminer l'alcool qui s'est dissous dans l'éther de pétrole. On sèche sur sulfate de soude anhydre et on chromatographie sur colonne d'alumine de 20 cm de haut et de 2 cm de diamètre. On développe le chromatogramme avec 200 cm³ d'éther de pétrole et après avoir électivement séparé la zone pigmentée correspondant aux esters de l'astaxanthine, on élue par agitation avec de l'éther de pétrole additionné de 5 p. 100 de méthanol. L'éluat est lavé à l'eau, séché sur sulfate de soude anhydre puis additionné de 1 g d'huile végétale dévitaminée renfermant 28 mg d' α -tocophérol comme antioxydant. En chassant le solvant par distillation sous pression réduite et en atmosphère inerte, on obtient une solution huileuse d'esters d'astaxanthine qui ne peut renfermer ni vitamine A (libre ou estérifiée) ni carotènes. C'est cet extrait huileux renfermant environ 250 γ d'astaxanthine par gramme d'huile qui, à la dose de 80 mg par animal et par jour, a été administré à des rats blancs carencés en vitamine A.

Onze rats Wistar de notre élevage ont été carencés dès le sevrage. Les signes de carence se sont manifestés dans les délais normaux (entre le 40^e et le 45^e jour de carence) par la stabilisation du poids

(5) R. Grangaud, R. Massonet et A. Sansac, *C. R. Soc. Biol.*, 1954, t. 118, p. 533.

(6) E. Lederer, Tchien Pau Kiun, H. Penau et G. Hagemann, *Bull. Soc. Chim. biol. (Trav.)*, 1944, t. 26, p. 1032.

(7) S. K. Kon et coll. in S. K. Kon, *Bull. Soc. Chim. biol.*, 1954, t. 36, p. 209.

(8) T. W. Goodwin, *The Comparative Biochemistry of The Carotenoids*, Chapman et Hall edit. London, 1952, p. 173.

bientôt suivie par l'apparition de la xérophtalmie. La courbe de poids étant en plateau depuis 15 jours et la xérophtalmie étant nettement installée, les animaux ont été partagés en deux lots : sept d'entre eux (2 mâles, 5 femelles), ont reçu *pro die* en plus du régime carencé, 80 mg de solution huileuse d'esters d'astaxanthine ; les quatre autres, servant de témoins (3 mâles, 1 femelle), ont reçu le régime carencé et 80 mg d'huile végétale dévitaminée additionnée de 28 mg d'a-tocophérol par gramme.

Chez les témoins, l'évolution de la carence s'est manifestée par l'intensité croissante des lésions de xérophtalmie, une perte de poids et la mort entre le 68^e et le 87^e jour de carence. Dans le même temps, chez les animaux traités, les lésions oculaires régressaient, les cornées redevenaient parfaitement saines, la guérison étant obtenue entre le 12^e et le 15^e jour de traitement. Parallèlement, chez deux d'entre eux, la courbe de poids se maintenait en plateau ; chez un troisième, qui présentait un énorme abcès dans la région du cou, on enregistrait une perte de 8 g au 23^e jour. Enfin, chez les quatre autres, on assistait à une légère reprise de poids.

En résumé, chez le Rat blanc carencé en vitamine A, présentant une courbe de poids en plateau et une xérophtalmie en pleine évolution, l'administration d'une solution huileuse d'esters d'astaxanthine amène en quelques jours la guérison complète des lésions oculaires, la reprise de poids étant faible ou nulle. Ces résultats sont en accord avec ceux que nous avons publiés antérieurement (9). Le mode de préparation de l'extrait administré ne permet pas d'invoquer la participation de la vitamine A ou des carotènes pour rendre compte de l'activité vitaminique mise en évidence.

(Laboratoire de Chimie biologique, Faculté de Médecine et Pharmacie).

Discussion sur l'origine des réserves surrénales en amines hypertensives.

par J. MALMÉJAC, S. LISSITZKY, M. BIANCHI et G. NEVERRE.

Il est bien connu que dans des conditions physiologiques les excitations centrifuges prolongées du nerf grand splanchnique peuvent provoquer une sécrétion continue et soutenue d'adrénaline ; après 20 minutes d'une telle hypersécrétion des extraits aqueux de la glande se révèlent encore fortement hypertenseurs, au même titre que ceux d'une glande normale [A. Tournade, 1929 (1*)]. La médullosurrénale est donc bien capable, quand elle est sollicitée à sécréter, de reconstituer de l'adrénaline dans le temps même où elle en exerce.

Au cours d'expériences dont nous avons récemment donné le

(9) R. Grangaud et R. Massonet, *C. R. Acad. Sc.*, 1950, t. 230, p. 1319.

(1*) A. Tournade, *Bull. Acad. Royale Med. de Belgique*, 1929, p. 160.

schéma
artificiel
rouges (c
aussi, c
équival
Chien (3
voir hyp
nales ou
les extra
Burn et
L'activité
piné et c
selon la

Le fait
sollicitée
gation ne
l'adréna
glande e
mesure c
l'adréna
surtout le

1°) No
vait pas
plexe cor
lure non
nous avo
normales
moins pr

a) Les
opérer pa
des amin
rhydriqu
res, à lac
téines. N
tion chlō
longées j

(2*) J. M
lisons la t
et G. Nev

(3*) Dar
veux adré
réitérés de

vité-proton
(4*) J. I
t. 113, p.

(4*) J. I
p. 467.

(5*) Not

servent le
glande sur
égal à ceu
hydrolyse.