

SUMMARY

Using a multistage extraction apparatus of a new type, crude Thevetin was separated into the two components Cerberoside (Thevetin B) and Thevetin A. The solvent consumption was low and there was no disturbing emulgation of the phases in each other. The separation efficiency corresponds with the approximate calculations based on distribution coefficients and ratio of flow rates.

Institut für allgemeine und spezielle organische Chemie
der Universität Bern.

175. Etude physico-chimique de sels complexes histamine-argent et histamine-thallium(I)¹⁾

par **Simone Hatem**

(28 II 59)

I. Sels argentiques. – L'histamine (Hi) en solution aqueuse forme, avec les sels d'argent, des complexes qui, dans certaines conditions, présentent des caractères de l'état colloïdal²⁾.

Ainsi, les mélanges ne dialysent pas alors que, pris isolément, les constituants dialysent parfaitement; l'expérience a été faite sur une membrane de cellophane pour des concentrations s'échelonnant de $m/12$ à $m/1000$.

A partir d'une certaine concentration, variant avec la nature du sel d'argent, les mélanges aqueux prennent la consistance d'un gel. Ces gels lyophiles sont complètement insolubles dans l'eau.

On observe sur ces gels une opalescence qui s'accroît avec la concentration des constituants, mais il existe cependant toute une zone où la lumière diffusée est négligeable, ce qui rendra possible l'étude de l'absorption dans l'UV.

D'autres caractères de l'état colloïdal (floculation, rigidité, thixotropie, etc.) seront encore étudiés au cours de cet exposé.

Si l'on met en contact des solutions d'histamine et de *nitrate d'argent* de concentration supérieure à $m/10$, un précipité blanc amorphe se forme où Hi et Ag sont dans les proportions 2Hi pour 3Ag, quelles que soient les proportions des deux solutions mises en contact.

Si les solutions de $AgNO_3$ et de Hi sont de titre inférieure à $m/10$, un gel se développe dans le mélange; ce gel blanc, épais, se clarifie pour devenir à peine opalescent, au fur et à mesure que les solutions mises en contact sont plus diluées. Lorsque cette dilution se situe aux environs de $m/80$, on obtient à l'instant zéro une solution où l'on décèle un léger trouble. Cette solution se prend en masse avec le temps. Aux plus fortes dilutions, les mélanges sont et restent clairs même examinés au diffusio-absorptiomètre de DOGNON.

A l'aide de la méthode des variations continues (méthode de JOB³⁾) nous avons étudié l'absorption lumineuse dans l'UV. de ces mélanges.

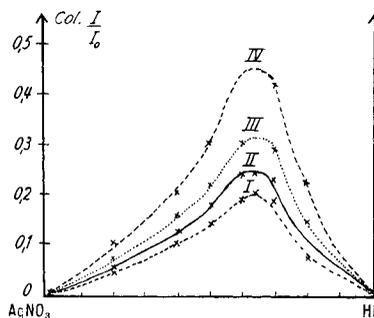
¹⁾ Communication présentée à l'assemblée générale de la Société suisse de chimie du 28 II 1959 à Berne, et publiée selon décision spéciale du Comité de rédaction.

²⁾ S. HATEM, C. r. hebd. Séances Acad. Sci. 241, 1392 (1955).

³⁾ P. JOB, Ann. Chim [10], 9, 113 (1928).

A partir de solutions de nitrate d'argent et d'histamine de même titre, on prépare des mélanges où chacune des 2 solutions entre en proportions variables, la somme des molécules de AgNO_3 et de Hi par unité de volume étant donc constante dans tous les mélanges d'une série; ces concentrations globales s'échelonnent de $M/100$ à $M/2000$ dans cette étude.

Les densités optiques des mélanges d'une série, prises à température constante, présentent un écart considérable à la loi d'additivité. Indépendamment de la longueur d'onde utilisée et de l'épaisseur traversée, la densité optique passe dans toutes les séries par un maximum net et unique dont la position correspond à 2 molécules d'histamine pour 1 molécule de nitrate d'argent, alors que les solutions de nitrate d'argent et d'histamine sont transparents dans la région étudiée (voir fig.).



Densité optique des mélanges de solutions $M/500$ de AgNO_3 et de Hi , prises en proportions variables (concentration moléculaire globale $[\text{AgNO}_3] + [\text{Hi}]$ constante).

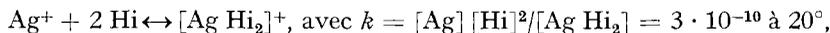
En ordonné: Colog I/I_0 .

En abscisse: proportions relatives des solutions de AgNO_3 et de Hi dans 10 ml de mélange.

Épaisseur de la cuve: 1 cm; température 25° .

Longueurs d'onde: I, $\lambda = 2650 \text{ \AA}$; II, $\lambda = 2600 \text{ \AA}$; III, $\lambda = 2550 \text{ \AA}$; IV, $\lambda = 2500 \text{ \AA}$.

Il se forme très probablement un cation complexe dihistamino-argentique selon l'équilibre



k ayant été déterminé par la méthode indiquée précédemment³⁾.

Il est intéressant de relever que l'on observe vers 3000 \AA une dissimulation de la bande des nitrates dans les conditions de dilution où elle apparaît généralement. Cette dissimulation, due partiellement à l'absorption considérable du complexe, semble également liée à la formation des agrégats.

L'étude analytique du gel obtenu aux plus fortes concentrations conduit au mélange correspondant approximativement à 1 Ag pour 2 Hi.

Ce gel présente une morphologie particulière; il se montre formé de filaments de calibre régulier, peu réfringents, terminés par des extrémités arrondies, qui s'allongent, se bifurquent parfois et finissent par constituer des pelotons complexes ressemblant à des paquets de vers. Le diamètre des filaments est de 3 à 4μ . Ils semblent toujours entourés d'un fond de gel plus transparent qu'eux. L'opalescence que présente ce gel semble due surtout aux effets de diffraction à la surface de ces filaments.

Le gel est fusible. Il se fait difficilement au-dessus de 25° et, une fois formé, fond de 50 à 55° . A ces températures, il reste des fragments de gel mais ils ne renferment plus de filaments. En refroidissant le liquide, on reforme le gel et l'on voit réapparaître des filaments sous forme de bâtonnets courts qui s'allongent et s'enchevêtrent.

Le gel est thixotrope. Il se reforme après sa destruction par secousse ultra-sonore pendant 5 min sous 12 W. L'action des ultrasons a été étudiée au Laboratoire de Physique Médicale.

Le gel subit avec le temps une évolution irréversible: il donne finalement un précipité où ne figurent plus que l'histamine et l'hydroxyde d'argent. La présence de l'ion NO_3 est décelée dans l'exsudat et son absence est vérifiée dans le précipité final où l'analyse reproduit des résultats voisins de ceux obtenus lorsqu'on met directement l'oxyde d'argent au contact de l'histamine (3 Ag pour 2 Hi).

Le *fluorure d'argent* donne avec l'histamine un complexe gélatineux qui s'apparente au précédent sur de nombreux points. Il s'en distingue cependant par une stabilité très grande (il n'évolue que très lentement) et une transparence qui se maintient même lorsqu'il est préparé à partir de solutions d'histamine et de fluorure d'argent dont la concentration atteint $\text{m}/12$. Aux concentrations de cet ordre, le gel a acquis une rigidité telle que l'on peut sans dommage retourner son récipient. La stabilité de ce gel permet de faire une étude physico-chimique plus poussée qu'avec le gel obtenu à partir du nitrate d'argent, car on peut l'observer pendant plusieurs jours.

L'étude optique de mélanges préparés à partir de solutions de fluorure d'argent et d'histamine de même titre, ce titre variant de $\text{m}/100$ à $\text{m}/10.000$, fait de nouveau apparaître un maximum d'absorption très net lorsqu'on a une molécule de fluorure d'argent pour deux molécules d'histamine, et la constante k déterminée par la même méthode redonne la valeur 3×10^{-10} à 20° , déjà trouvée pour le nitrate dihistamino-argentique, ce qui laisse entendre que le cation complexe est bien le même dans le fluorure dihistamino-argentique.

En raison de la transparence de ce gel, il paraît opportun de chercher une relation entre la consistance du gel et son absorption lumineuse.

L'étude suivante a été conduite à 21° et au temps zéro.

Si l'on fait des mélanges contenant 1 ml d'une solution de AgF pour 2 ml d'une solution de Hi de même titre, ces titres variant de $\text{m}/100$ à $\text{m}/48$, on obtient un fluide dont le temps d'écoulement passe de $1,33''$ pour $\text{m}/100$ à $3''$ pour $\text{m}/48$. Aux concentrations encore plus élevées, le gel devient de plus en plus consistant.

Dans un gel $\text{m}/48$, une bille d'acier de 0,1594 g descend sur une longueur de 6 cm en moins de 1 seconde.

Dans le gel $\text{m}/24$, la même bille parcourt 6 cm en 10 s.

Dans le gel $\text{m}/12$, même une bille de 0,3501 g ne pénètre pas. $\text{m}/12$ est la concentration maximale du gel qui paraît transparent au diffusio-absorptiomètre de DOGNON.

Comme la consistance du mélange, son absorption dans l'ultra-violet varie d'une façon continue en fonction de la concentration, et le coefficient d'extinction ϵ des mélanges préparés à partir de solutions de AgF et de Hi de concentration globale $\text{m}/12$, $\text{m}/15$, $\text{m}/18$, $\text{m}/24$, $\text{m}/27$, $\text{m}/30$, $\text{m}/36$, $\text{m}/48$, $\text{m}/60$, $\text{m}/100$ se situe sur une courbe d'aspect parabolique (v. tableau).

| | | | | |
|---|----------------|---------------|---------------|---------------|
| Concentration des solutions composantes | $\text{m}/100$ | $\text{m}/48$ | $\text{m}/24$ | $\text{m}/12$ |
| Coefficient ϵ | 40 | 47,5 | 54 | 66 |

La transparence du gel avait été vérifiée au diffusio-absorptiomètre de DOGNON avant chaque mesure d'absorption. Aussi, l'effet de diffusion de la lumière par le gel peut-il être négligé devant l'accroissement d'absorption observé.

Il est certain que la concentration du complexe varie avec celle des constituants. Ce complexe étant lui-même très absorbant dans l'ultra-violet, il paraît utile d'observer l'absorption lumineuse d'un même mélange parallèlement à sa rigidité en fonction du temps, à température constante, la concentration du complexe demeurant ainsi invariable.

Les mélanges M/48, M/100, M/200, M/400 sont observés pendant une heure.

Le mélange M/48, à l'instant zéro, paraît homogène et son débit est uniforme mais, après 1 heure, des fragments de gel apparaissent de part en part dans le mélange. Si l'on prélève la partie demeurée fluide de ce mélange, on trouve son coefficient d'extinction inchangé tandis que le gel apparu est nettement plus absorbant. Ainsi, pour 2750 Å, ϵ du gel passe de 47,5 à 62,4 et pour 2450 Å, ϵ passe de 398,4 à 480.

Il n'y a donc pas, comme on pourrait le craindre, une élimination d'eau susceptible de changer la concentration des mélanges précédemment titrés et chimiquement définis et de marquer le début d'une évolution chimique, mais bien un état plus consistant qui est lié à une absorption plus grande.

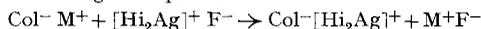
Le mélange M/100 reste un fluide homogène pendant l'observation, mais son temps d'écoulement mesuré au capillaire passe de 1,33" à 2" et parallèlement son coefficient d'extinction passe de 40 à 48.

Les mélanges M/200 et M/400 n'accusent aucune variation ni sur le coefficient d'extinction, ni sur le temps d'écoulement pendant le temps d'observation.

On peut admettre que le complexe monomère – stable dans des solutions M/400 et M/200 – subit, dans des solutions plus concentrées, une polymérisation progressive.

L'action des colorants précise ces quelques hypothèses sur la structure du gel.

Le gel ne fixe pas les colorants basiques mais adsorbe les colorants acides. La relation peut s'expliquer ici encore par l'échange ionique suivant:



Le fluor est caractérisé dans l'eau de lavage du gel, celui-ci une fois coloré.

On observe au microscope que le colorant est fixé à la périphérie et sur les parties saillantes du gel; les filaments sont très nets et très colorés.

Le gel résiste à l'action de la chaleur à 55°.

Il est thixotrope et, comme le gel de nitrate, il est irréversible: le fluor ne figure plus dans le résidu final, qui n'est autre que l'association d'histamine et d'oxyde d'argent signalée au début de cet exposé et renfermant environ 2 Hi pour 3 Ag.

L'acétate d'argent est très peu soluble, si bien que l'addition d'une solution de Hi à des solutions d'acétate d'argent ne produit pas de gel mais, si on place des grains d'acétate d'argent dans une solution aqueuse d'histamine, il se forme autour d'eux des masses gélatineuses opalescentes qui ont l'aspect de nostocs.

Si l'on étudie la formation de ce gel entre lame et lamelle, on voit se développer autour des grains une masse gélatineuse dans laquelle apparaissent immédiatement des filaments enchevêtrés, d'un diamètre un peu supérieur à ceux qu'on obtient avec le nitrate. Cette évolution qui n'est pas extrêmement rapide est très spectaculaire sous le microscope. La masse gélatineuse ainsi formée peut être détachée et lavée. Comme le gel de nitrate, elle évolue et, dans le terme final, on trouve l'histamine et l'oxyde d'argent.

Ce gel commence à fondre vers 55°.

Avec le sulfate, le lactate et le butyrate d'argent, le même ion complexe apparaît en solution aqueuse et le gel se forme, mais très fragile et instable.

Il est à noter que l'argent introduit dans les tissus a un certain pouvoir cancérogène *in situ*⁴⁾, ce qui est à rapprocher du fait que divers corps organiques cancérogènes dans les mêmes conditions se complexent sélectivement à l'histamine⁵⁾.

II. Sels thalleux. – Tout comme l'argent, le thallium se relève neutrotoxique⁶⁾ et cancérogène, et son comportement avec une amine facilement révélabale à l'extrémité

⁴⁾ B. S. OPPENHEIMER, R. OPPENHEIMER, I. DANISHEGSKY & A. P. STOUT, *Cancer Research* 16, 438 (1956).

⁵⁾ S. HATEM, *Chimia* 13, 158 (1959); C. CHAMPY & S. HATEM, *Chimia* 13, 160 (1959).

⁶⁾ F. PAOLO, *Biochimica Terapìa sperim.* 13, 27 (1926); H. R. OLIVIER, *C. r. Soc. biol.* 96, 164 (1927).

des terminaisons nerveuses pourrait apporter un éclaircissement chimique au phénomène biologique. Voilà pourquoi nous avons étudié les systèmes histamine-sels thalleux⁷⁾.

Lorsqu'on mélange des solutions aqueuses de nitrate ou d'acétate thalleux et d'histamine, la méthode de JOB appliquée à l'absorption lumineuse fait apparaître un écart à la loi d'additivité. Mais, la courbe revêt la forme d'un dôme aplati, ce qui ne permet pas de préciser la position du maximum.

Afin d'apporter plus de précision aux mesures, il a paru nécessaire d'observer des solutions à force ionique constante. Pour éviter d'introduire un nouveau métal dans le milieu, nous avons assuré aux mélanges Hi-TlNO_3 une force ionique constante à l'aide de nitrate d'histamine.

Il a été vérifié par ailleurs que TlNO_3 en présence de Hi, HNO_3 ne donne lieu à aucune particularité optique.

Le maximum cherché apparaît nettement alors par les deux méthodes précédemment indiquées, et même dans des conditions de dilution ($M/100$) où il n'apparaissait pas lorsque l'effet de la force ionique était négligée.

Ce maximum correspond à une molécule de TlNO_3 pour une molécule de Hi , soit à l'équilibre $\text{Tl}^+ + \text{Hi} \rightleftharpoons [\text{Tl Hi}]^+$.

La constante de dissociation du complexe calculée d'après la méthode indiquée⁸⁾ est de l'ordre de 10^{-3} . Le complexe est instable, comme l'indiquait déjà l'allure des courbes.

De récents travaux biologiques permettent de considérer que cette complexion est un processus initial de la cancérisation provoquée par une intoxication thallique suffisamment lente⁸⁾.

RÉSUMÉ

L'observation dans l'ultra-violet de solutions aqueuses d'histamine en présence de différents sels d'argent met en évidence l'existence de l'ion complexe $(\text{AgHi}_2)^+$.

Les sels de ce cation complexe obtenus avec les anions $\text{NO}_3, \text{F}, \text{CH}_3\text{CO}_2$, etc. existent à l'état de solution (constante de stabilité $3 \cdot 10^{-10}$), de gels et de cristaux.

Le thallium (Tl^+) donne, observé dans les mêmes conditions, l'ion complexe $(\text{TlHi})^+$. Les sels obtenus avec NO_3 et CH_3CO_2 sont solubles. Leur constante de stabilité est de l'ordre de 10^{-3} .

L'histamine, qui est un des facteurs de régulation de la croissance cellulaire, est facilement révélabile à l'extrémité des terminaisons nerveuses. Le caractère neurotoxique et cancérigène des deux métaux trouverait ainsi, dans la formation de ces complexes, une explication.

Laboratoires du Professeur JOB †, Faculté des Sciences,
et du Professeur CHAMPY, Faculté de Médecine, Paris

⁷⁾ S. HATEM, C. r. hebdomadaire des Séances Acad. Sci. 244, 1190 (1957).

⁸⁾ J. THARANNE, C. r. Soc. biol., 151, 542 (1957); C. CHAMPY, S. HATEM & J. THARANNE, *ibid.* 152, 906 (1958).