N° 11

CONTRIBUTION A L'ÉTUDE

DE

L'ACIDE HIPPURIQUE

ET SA SYNTHÈSE

DANS L'ORGANISME ANIMAL

CHEZ L'HOMME NORMAL ET MALADE

THÈSE

Présentée et publiquement soutenue à la Faculté de Médecine de Montpellier

Le 20 Juillet 1904

PAR

Paul ATHANASSOFF

Né à Wratza (Bulgarie), le 25 juin 1875

Pour obtenir le grade de Docteur d'Université

(MENTION MÉDECINE)

MONTPELLIER

IMPRIMERIE GUSTAVE FIRMIN, MONTANE ET SICARDI

Rue Ferdinand-Fabre et quai du Verdanson

1904

PERSONNEL DE LA FACULTÉ

MM. MAIRET (✻) . . . . . DOYEN
TRUC . . . . . ASSESSEUR

Professeurs

Clinique médicale	MM. GRASSET (✻).
Clinique chirurgicale	TEDENAT.
Clinique obstétric. et gynécol	GRYNFELTT.
— — ch. du cours, M. VALLOIS.	
Thérapeutique et matière médicale. . . .	HAMELIN (✻)
Clinique médicale	CARRIEU.
Clinique des maladies mentales et nerv.	MAIRET (✻).
Physique médicale.	IMBERT
Botanique et hist. nat. méd.	GRANEL.
Clinique chirurgicale.	FORGUE.
Clinique ophtalmologique.	TRUC.
Chimie médicale et Pharmacie	VILLE.
Physiologie.	HEDON.
Histologie	VIALLETON.
Pathologie interne.	DUCAMP.
Anatomie.	GILIS.
Opérations et appareils	ESTOR.
Microbiologie	RODET.
Médecine légale et toxicologie	SARDA.
Clinique des maladies des enfants	BAUMEL.
Anatomie pathologique	BOSC
Hygiène.	BERTIN-SANS

Doyen honoraire : M. VIALLETON.

Professeurs honoraires :

MM. JAUMES, PAULET (O. ✻), E. BERTIN-SANS (✻)

M. H. GOT, *Secrétaire honoraire*

Chargés de Cours complémentaires

Accouchements.	MM. PUECH, agrégé.
Clinique ann. des mal. syphil. et cutanées	BROUSSE, agrégé
Clinique annexe des mal. des vieillards. .	VIRES, agrégé.
Pathologie externe	JEANBRAU, agrégé.
Pathologie générale	RAYMOND, agrégé.

Agrégés en exercice

MM. LECERCLE.	MM. PUECH	MM. VIRES
BROUSSE	VALLOIS	IMBERT
RAUZIER	MOURET	VEDEL
MOITESSIER	GALAVIELLE	JEANBRAU
DE ROUVILLE	RAYMOND	POUJOL

M. IZARD, *secrétaire.*

Examinateurs de la Thèse

MM. VILLE, *président.*	MM. MOITESSIER, *agrégé.*
HEDON, *professeur.*	VIRES, *agrégé.*

La Faculté de Médecine de Montpellier déclare que les opinions émises dans les Dissertations qui lui sont présentées doivent être considérées comme propres à leur auteur ; qu'elle n'entend leur donner ni approbation, ni improbation

AVANT-PROPOS

L'idée de ce travail m'a été inspirée par M. le professeur Ville. Pour rendre possible ma tâche, il fallait effectuer des expériences sur des malades ; expériences constituées par l'administration du benzoate de sodium aux malades et le dosage de l'acide hippurique et l'acide benzoïque, éliminés par les reins. Ces expériences m'ont été facilitées par MM. les professeurs Grasset, Carrieu et Estor.

Tout d'abord je dois exprimer ma gratitude profonde à ceux qui m'ont facilité les moyens de satisfaire mon esprit.

Je remercie sincèrement M. le professeur Ville, mon président de Jury, d'avoir bien voulu m'admettre au laboratoire de chimie biologique et de m'avoir donné toute liberté de travailler.

Je remercie de même MM. les professeurs Grasset, Carrieu et Estor qui ont mis leurs services à ma disposition pour arriver au bout de ma tâche.

Que mon modeste travail soit un faible témoignage de mon instruction reçue à la Faculté de Médecine de Montpellier !

Que cette ancienne Faculté, avec son passé glorieux, reste à jamais pour moi le meilleur souvenir !

CONTRIBUTION A L'ÉTUDE

DE

L'ACIDE HIPPURIQUE

ET SA SYNTHÈSE

DANS L'ORGANISME ANIMAL

CHEZ L'HOMME NORMAL ET MALADE

CHAPITRE PREMIER

INTRODUCTION

La synthèse de l'acide hippurique dans l'organisme animal a été la première dont la production dans l'organisme était constatée avec certitude. Cette découverte a donné un point d'appui pour de nombreuses recherches, tant pour approfondir les conditions biologiques, le mécanisme, etc... de la même synthèse, que pour donner une impulsion à la recherche et à la découverte d'autres synthèses pareilles dans l'organisme animal comme, par exemple, la formation des sulfo et glycuro-conjugués et celle du glycogène.

L'acide hippurique se forme dans l'organisme par union de l'acide benzoïque avec le glycocolle, avec élimination d'une molécule d'eau (déshydratation), de la même

manière qu'au laboratoire quand on produit sa synthèse artificielle, seulement avec cette différence que le mécanisme et les conditions ne sont pas les mêmes. Si, par exemple, pour faire la synthèse artificielle avec l'acide benzoïque et le glycocolle de l'acide hippurique, on recourt à la température élevée et à la haute pression, au contraire cette synthèse se produit dans l'économie sous une température d'environ 37 degrés et avec une pression à peu près normale.

Ces procédés synthétiques dans l'organisme animal ont, dans les derniers vingt ans, excité à un haut degré l'intérêt des physiologistes et des chimistes, et cela pour deux raisons : les faits sont, premièrement, en opposition directe avec la théorie de Liebig qui admettait un contraste absolu entre la nutrition des plantes et celle des animaux. (D'après Liebig, les plantes font les synthèses et les animaux l'analyse, par le processus de nutrition ; il n'y a ici qu'une question de degré). Et secondement, les synthèses animales restent encore pour les chimistes une énigme complète, quoique les rapides progrès de nos connaissances des synthèses organiques représentent le plus grand triomphe de la chimie moderne. Nous sommes actuellement en état de construire, atome par atome, en partant des éléments, toute une série de combinaisons organiques complexes, produites par la vie animale et végétale, et l'on ne peut douter que la préparation de toutes les autres combinaisons, même les plus complexes, ne soit qu'une question de temps. Mais toutes ces connaissances ne nous servent à rien dès qu'il s'agit d'expliquer la puissance de synthèse de la cellule vivante. Car on n'obtient les synthèses artificielles qu'à l'aide de forces et d'agents qui ne peuvent jouer un rôle dans le processus vital : haute pression, température élevée, cou-

rants galvaniques puissants, acides minéraux concentrés, chlore libre, etc..., facteurs qui, tous, détruisent instantanément la vie de la cellule. Ainsi on est arrivé à la synthèse artificielle de l'acide benzoïque et du glycocolle en chauffant ces deux substances séchées à 160° C et sous pression pendant douze heures. Pour la production de cette synthèse, il a donc fallu une haute pression, une haute température et l'absence d'eau. Dans l'organisme animal, on trouve les conditions exactement opposées : présence de l'eau (la vie cellulaire, les fonctionnements cellulaires ne sont pas possibles sans l'intervention de l'eau), pression et température ordinaire, car les animaux à sang froid produisent aussi de l'acide hippurique. La connaissance des moyens absolument différents, à l'aide desquels l'organisme arrive aux mêmes résultats que nous dans nos laboratoires, où nous disposons d'auxiliaires puissants, serait d'un haut intérêt, non seulement pour la chimie à qui elle procurerait ainsi de nouvelles méthodes de travail, mais aussi pour la physiologie, car de cette manière la lumière serait faite sur toute une série de procédés de nutrition les plus complexes et pour la clinique, car les connaissances scientifiques des synthèses dans l'organisme humain à l'état pathologique, peuvent avoir une valeur sémeiologique ou une valeur pronostique.

Après ce court aperçu général, je dois donner une revue générale de mon travail personnel. Mais je crois qu'il est indispensable de dire quelques mots seulement sur les théories qui visent la synthèse de l'acide hippurique dans l'organisme animal.

On est en présence de deux théories qui expliquent le lieu de formation de l'acide hippurique dans l'organisme.

1° Théorie rénale de Bunge et Schmiedeberg. (Confirmée par Hoffmann, Kochs, Minkowsky et Kronecker.)

2° Théorie réno-intestinale de Jaarsfeld et Stokwis.

1° La théorie rénale peut être exprimée comme suit : la synthèse de l'acide hippurique se produit dans les reins, sous l'influence d'une diastase de reconstitution. L'un des éléments de cette synthèse, l'acide benzoïque, vient ou de l'extérieur par les aliments, sous forme de combinaisons aromatiques dans la molécule desquelles il y a un noyau $C^6H^5C\equiv$ qui est capable de s'oxyder dans l'organisme et de se transformer en acide benzoïque ; ou de l'intérieur comme un élément de déchets venant de la destruction de la molécule albuminoïde, l'autre élément de la synthèse : Le glycocolle est toujours un élément de désassimilation des matières albuminoïdes. Chez les chiens, cette théorie est très nettement prouvée par les expériences classiques de Bunge et Schmiedeberg. En ce qui concerne les autres animaux, y compris l'homme, cette théorie est en partie applicable, c'est-à-dire que la synthèse prédomine dans le rein, tout en se produisant dans d'autres organes et glandes. Je me rattache à cette théorie.

2° La théorie réno-intestinale prend comme lieu de synthèse et surtout chez l'homme l'intestin et les reins. Je n'ai pas vu d'expériences bien nettes qui confirment qu'en réalité la synthèse de l'acide hippurique se produise dans les intestins (Jaarsfeld, Stokwis et Vanderveld).

En prenant comme un fait que le lieu principal de la synthèse de l'acide hippurique est le rein, chez l'homme, j'ai entrepris des recherches sur les malades rénaux.

Je n'ai pas eu de chance dans mes recherches, puisque les deux malades les plus intéressantes ont succombé au cours de mes expériences. Même une de ces malades, qui

avait de la dégénérescence amyloïde, prouvée après l'autopsie, a succombé après une seule prise d'urine. La première malade avait de l'albuminurie gravidique, la seconde malade avait de l'ostéïte tuberculeuse, suppurée depuis 10 ans, et par cette longue suppuration elle avait comme conséquence de la dégénérescence amyloïde. Le troisième malade avait de la coxalgie unilatérale qui suppurait depuis deux ans. La quatrième malade avait une pyélonéphrite (bacillose rénale?), suite de couches.

Tous mes malades vivants restent encore à l'hôpital suburbain. Mais pour me faire une idée bien claire et vraie sur le pouvoir synthétique de l'organisme humain, j'ai étudié la synthèse chez l'homme normal, et j'ai fait des recherches sur mes propres urines. Il faut dire que j'ai étudié le pouvoir synthétique de l'organisme chez l'homme normal et malade avant et après l'administration du benzoate de sodium.

J'ai étudié l'influence du travail musculaire sur la synthèse chez l'homme normal et j'ai constaté, pour la première fois, que le travail musculaire augmente l'élimination de l'acide hippurique dix fois de plus sans intervention de benzoate, et qu'après l'administration de benzoate la quantité d'acide hippurique est augmentée presque de deux fois. En outre, j'ai remarqué que, quand j'ai pris par la bouche en même temps du benzoate et du glycocolle, la quantité d'acide hippurique éliminé par les reins était supérieure à celle formée lorsque je prends la même quantité de benzoate seulement. Il faut remarquer ici que je n'ai jamais décelé de l'acide benzoïque dans mes urines.

Chez les malades ayant les cellules épithéliales du rein lésées, j'ai constaté, avant l'administration du benzoate de sodium, que les urines ne contenaient que de l'acide

hippurique sans même de traces de l'acide benzoïque ; mais après l'administration du benzoate, j'ai trouvé toujours dans ces urines de l'acide benzoïque. Il est à remarquer que chez le malade ayant la coxalgie unilatérale, suppurée depuis deux ans, je n'ai jamais rencontré d'acide benzoïque dans ses urines, ni avant l'administration du benzoate, ni après ; en outre, la synthèse de l'acide hippurique chez le même malade se faisait comme chez l'homme normal (après l'administration de benzoate). Par conséquent, je crois que j'ai le droit de conclure que dans ces conditions les reins de ce garçon n'étaient pas lésés.

Les auteurs n'ont pas fait attention à l'élimination d'acide benzoïque à l'état naturel par les reins ; ils ont toujours dosé l'acide hippurique dans les cas pathologiques. Moi, pour la première fois, je signale ce fait que l'acide benzoïque s'élimine en partie en état d'acide benzoïque dans les cas de lésion du rein. C'est un fait très important au point de vue sémiologique et du pronostic qui mérite d'être élucidé. Je n'ai pas eu le temps ni les moyens pour l'approfondir ; mes expériences sont insuffisantes pour poser des conclusions avec certitude ; mais, quoi qu'il en soit, c'est une question qui doit être mise au point.

Pour exposer mon travail j'adopte le plan suivant :

Chapitre premier. — Introduction.

Chapitre II. — Chimie de l'acide hippurique.

a. Découverte. Etat naturel.

b. Méthodes de recherches (y compris l'étude comparée des méthodes de dosage).

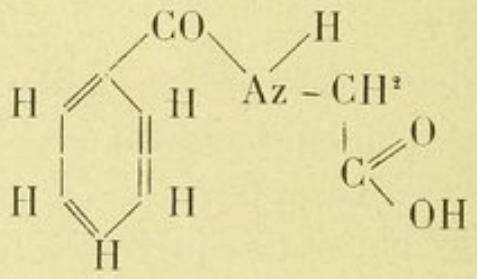
c. Synthèse artificielle de l'acide hippurique.

d. Propriétés.

e. Réactions caractéristiques.

CHAPITRE II

CHIMIE DE L'ACIDE HIPPURIQUE



A. — Découverte, état naturel

L'acide hippurique ou benzoylglycocolle a été découvert dans l'urine de vache et de chameau par Rouelle, vers la fin du XVIIIe siècle ; Fourcroy et Vauquelin confirmèrent que, par la simple addition d'acide chlorhydrique à ces urines, il se précipite, en effet, un acide qui ressemble à l'acide benzoïque, mais ce n'est qu'en 1829 que Liebig le retrouva dans l'urine des herbivores au repos ou qui ne font pas un travail trop grand ; il en donna la composition et l'appela acide hippurique parce qu'il l'avait trouvé la première fois dans l'urine de cheval, et décrivit certaines de ses propriétés. En 1844 le même auteur en démontra la présence dans l'urine humaine, où il existe en quantité à peu près aussi grande que l'acide urique.

Il existe plus spécialement dans les urines des herbivores où il remplace l'acide urique des carnivores. Si les urines des herbivores contiennent beaucoup plus d'acide hippurique que celles des carnivores, cela dépend directement de l'alimentation herbacée. Mais il existe aussi normalement dans les urines des carnivores, de même dans l'urine de l'homme, en plus faible quantité. La plus grande quantité se rencontre dans les urines de l'éléphant et du chameau. On l'a trouvé déjà dans l'urine du nouveau-né, dans les organes urinaires de Cardium et Pecten (Mollusques lamellibranches) [Gautier]. La sueur ne contient pas d'acide hippurique (A. Hoffmann) ; de même, l'acide hippurique fait défaut dans les capsules surrénales (A. Stadelmann).

B. — Méthode de recherches y compris l'étude comparée des méthodes de dosages

Les procédés d'extraction de l'urine des herbivores sont très nombreux. Je me borne à en citer un, servant à l'extraction des urines qui contiennent des grandes quantités d'acide hippurique. Puis, j'exposerai les meilleures méthodes de dosage de l'acide hippurique dans l'urine humaine et en général dans les urines ou autres liquides organiques qui contiennent peu d'acide hippurique.

1° Préparation en grand. — L'urine de cheval ou de vache est saturée par un excès de lait de chaux, porté à l'ébullition, puis filtrée ; le liquide clair, réduit par évaporation à 1/6 ou 1/8 de son volume est sursaturé après

refroidissement par l'acide chlorhydrique et abandonné au repos ; l'acide hippurique impur cristallise, fort coloré. On le sépare des eaux-mères, on le lave à l'eau froide, on le redissout dans un peu de lessive de soude ou même simplement dans l'eau bouillante et on traite la solution ainsi préparée pour la décolorer, soit par un peu de permanganate de potassium (Gossemann) ou bien par le chlore (Curtius, Cazenave) ou bien par le chlorure de calcium (qui contient hypochlorite) (Liebig). On filtre ensuite le liquide froid dans une solution d'acide chlorhydrique qui précipite l'acide hippurique blanc.

2° Méthodes de dosage. — Les meilleures méthodes de dosage de l'acide hippurique dans les urines sont au nombre de trois :

1° *La méthode de Bunge et Schmiedeberg.* – C'est la plus ancienne ; on dose l'acide hippurique à l'état naturel.

2° *La méthode de Blumenthal et Salkowsky.* — C'est une méthode indirecte ; on détermine la quantité d'azote et de cette quantité on détermine la quantité d'acide hippurique.

3° *La méthode de Jaarsfeld et Stockwis.* — C'est une modification heureuse de la première ; on dose l'acide hippurique sous forme d'acide benzoïque (dédoublement).

Je vais essayer d'exposer ces 3 méthodes avec les petites modifications que j'ai faites.

1° *Méthode de Bunge et Schmiedeberg.* — On alcalinise l'urine avec du carbonate de sodium, si l'urine est acide. On filtre pour se débarrasser du précipité qui se dépose

(constitué par le phosphate de chaux, carbonate de chaux) et on lave le filtre à l'eau. Dans une capsule on évapore jusqu'à consistance d'extrait. Après, on évapore quatre ou cinq fois à froid avec l'alcool. Dans l'alcool se dissout l'A.H, l'A.B et la graisse s'il y en a, etc. On projette le résidu solide sur le filtre et on lave le filtre à l'alcool. On distille la solution alcoolique pour se débarrasser de l'alcool. Comme résidu de distillation il reste un liquide sirupeux fortement coloré en rouge-brun. On acidule à froid avec l'acide chlorhydrique ce résidu sirupeux pour décomposer l'hippurate et le benzoate de sodium et libérer les acides correspondants. On épuise six fois ce liquide acide avec l'éther acétique. Pour cela, on verse une quantité d'éther acétique à peu près de même volume que le liquide acide dans un entonnoir de séparation, puis, sur l'éther acétique, on verse le liquide acide et on agite plusieurs fois. On répète cette manipulation six fois ; après la sixième fois on lave l'entonnoir de séparation à l'éther acétique.

On réunit ces solutions d'acide hippurique, d'acide benzoïque et de graisse dans l'éther acétique s'il y en a dans l'urine, dans un ballon ; on alcalinise de nouveau avec du carbonate de sodium et on distille, pour se débarrasser de l'éther acétique. Il faut remarquer que la solution éther-acétique est colorée en rouge-orange foncé. Après la distillation dans le ballon, reste un liquide sirupeux rouge-brun, dans lequel, si les urines contenaient beaucoup d'acide hippurique, il se forme de beaux prismes longs d'hippurate, après le refroidissement. On acidule fortement ce résidu à froid avec de l'acide chlorhydrique, après quoi ce résidu sirupeux se trouble, par précipitation de l'acide benzoïque et hippurique, s'il y en avait beaucoup. On reépuise de nouveau six fois avec l'éther

acétique, de la même manière que la première fois ; on réunit ces solutions éther acétique rouge orangé dans l'entonnoir de séparation et on les lave trois ou quatre fois avec 100 centimètres cubes d'eau distillée, pour se débarrasser de l'acide chlorhydrique et du chlorure de sodium entraînés. Jusqu'ici, j'ai exposé le procédé classique, comme je l'appliquais. Plus loin, pour décolorer la préparation, on recommande d'évaporer l'éther acétique à température moyenne, et puis le résidu cristallin est bien lavé à l'éther de pétrole pour séparer la graisse et l'acide benzoïque de l'acide hippurique. Puis le résidu est dissous dans l'eau bouillante, décoloré par quelque grain de noir animal, filtré, évaporé de nouveau sous une température moyenne dans une capsule de verre tarée et pesée.

Me basant sur la solubilité très grande de l'hippurate de sodium dans l'eau, me basant sur ce fait que lorsqu'on décolore une solution aqueuse chaude d'acide hippurique avec le noir animal qui contient du carbonate de calcium, il est naturel qu'une partie plus ou moins grande d'acide hippurique soit transformée en hippurate de calcium, qui sera pesé comme l'acide hippurique pur ; ce qui amène une erreur. D'autre part, une autre perte viendra de ce qu'on emploie l'eau comme dissolvant de l'acide hippurique, ce qui est un mauvais dissolvant. Ces circonstances m'ont obligé d'agir comme suit : pour décolorer l'acide hippurique, qui sans décoloration est rouge brun, presque noir, après la première extraction avec l'éther acétique, j'alcalinise bien cette solution éther acétique d'acide hippurique et d'acide benzoïque, avec du carbonate de sodium ; je distille le dissolvant dans le ballon, il reste un résidu rouge brun aqueux qui présente un mélange des sels sodiques de l'acide hippurique et ben-

zoïque, un faible excès de carbonate de sodium et de chlorure de sodium. Je prends ce résidu, je le dissous dans une certaine quantité d'eau distillée et je verse une certaine quantité de poudre de noir animal et je laisse un certain temps au repos. Après, je filtre dans un matras à fond plat, dans lequel je mets une certaine quantité d'acide chlorhydrique. Je lave le filtre à l'eau distillée chaude. Le liquide filtré qui était, avant la décoloration, rouge foncé, est devenu jaune citrin pâle. De ce liquide acide, j'extrais six fois avec l'éther acétique, de la même manière que je l'ai déjà dit. Je lave cet extrait éther acétique à l'eau distillée (environ 100 centimètres cubes), jusqu'à ce que l'eau de lavage ne donne pas de précipité avec l'azotate d'argent, insoluble dans l'acide azotique. Après quoi, cet extrait éther-acétique ne renferme ni de l'acide chlorhydrique, ni de chlorure de sodium. Maintenant, l'extrait éther-acétique est ordinairement incolore, transparent ; lorsqu'il est laissé à l'air pendant un certain temps, il devient un peu jaunâtre à cause des chromogènes qui s'oxydent.

Quelquefois, j'obtiens un extrait éther-acétique un peu plus coloré. Mais les traces des chromogènes, qui ne sont pas appréciables par nos moyens de pesées, on peut les négliger. Après, j'évapore l'éther acétique dans une capsule tarée à une température de 50-60° et je pèse le résidu cristallin, ce qui me donne ensemble le poids d'acide hippurique et benzoïque s'il y en a. Pour me débarrasser de l'acide benzoïque, j'épuise autant qu'il est nécessaire avec l'éther de pétrole, je sèche et je pèse. Ce poids représente le poids d'acide hippurique contenu dans l'urine d'essai. Il est facile de trouver la quantité d'acide benzoïque en retranchant le second chiffre du premier.

Avant MM. Bunge et Schmiedeberg, on employait

comme dissolvant d'extraction de l'acide hippurique, l'éther sulfurique. Mais après les essais nombreux des mêmes auteurs, il reste encore dans les eaux-mères environ 22,7 °/₀ d'acide hippurique, ce qui est une grande perte. Voici leurs essais :

1. — 0,2841 d'acide hippurique seront dissous dans 20 centimètres cubes d'eau avec du carbonate de sodium. La dissolution sera ensuite acidulée par l'acide chlorhydrique et agitée *trois* fois avec une quantité égale d'éther acétique. L'éther acétique décanté sera privé de l'acide chlorhydrique par un lavage à l'eau laissé au repos à une température modérée et, après la siccité complète, on le pèse. Il contient 0 gr. 2573 d'acide hippurique = 90,6 °/₀ de toute la quantité. Ensuite la dissolution aqueuse d'acide hippurique était agitée deux fois avec de l'éther acétique en volume toujours égal. Le résidu de la dissolution d'éther acétique pesé = 0 gr. 0193 = 6,8 °/₀ de toute la quantité de l'acide hippurique.

2. — 0 gr. 1875 d'acide hippurique seront dissous avec du carbonate de sodium dans 20 cent. cubes d'eau acidulée par l'acide chlorhydrique et agités *trois fois* avec une dissolution aqueuse d'éther sulfurique à volume égal. Le résidu de la dissolution pesait 0 gr. 1047, 55,8 °/₀ de toute la quantité. Le résidu qui restait après les deux agitations avec l'éther sulfurique pesait 0 gr. 0403 = 21,5 °/₀. Ensuite la dissolution était encore une fois agitée avec de l'éther acétique, cette fois à volume égal. Le résidu pesait 0 gr. 0350 = 18 °/₀.

On a donc les chiffres suivants :

1. *Avec l'éther acétique*		2. *Avec l'éther sulfurique*	
Après avoir agité 3 fois	90,6 °/₀	Trois fois.	55,8 °/₀
Après avoir agité encore deux fois	6,8 °/₀	Ensuite deux fois . . .	21,5 °/₀
La somme. . . .	97,4 °/₀		77,3 °/₀
Après l'avoir agité encore une fois avec l'éther acétique .			18,7 °/₀
			96 °/₀

Ainsi l'éther acétique avait retiré l'acide hippurique à l'eau d'une manière beaucoup plus complète que l'éther sulfurique, quoique la quantité d'acide hippurique pendant les essais avec l'éther acétique fût beaucoup plus grande.

De cela s'ensuit que la vieille méthode de Liebig, qui employait comme dissolvant d'extraction l'éther sulfurique, est loin d'être au moins relativement exacte.

En ce qui concerne la question, pourquoi les auteurs de cette méthode ont-ils choisi l'éther de pétrole pour la séparation de l'acide benzoïque et des graisses (excessivement rare) de l'acide hippurique ? Tout d'abord je dirai que l'élection de ce dissolvant de l'acide benzoïque entre tant d'autres, est la conséquence de longues expériences, de nombreux essais.

Un dissolvant permettant la séparation d'une combinaison d'un autre doit posséder la propriété dissolvante de premier corps, et il faut que le second corps soit absolument insoluble dans le même dissolvant. C'est la propriété de l'éther de pétrole, et ce qui le prouve ce sont les essais suivants :

1° 0 gr. 3374 d'acide hippurique et 0,3 d'acide benzoïque seront mélangés et traités par l'éther de pétrole. Le résidu non dissous sera séché et pesé ; il est équivalent à 0 gr. 3376.

Ce résidu sera chauffé au bain-marie à 100°, pendant longtemps le poids reste toujours le même, c'est donc la preuve qu'il était libre d'acide benzoïque.

Le résidu de la dissolution de l'éther pétrolique sera essayé sur l'azote ; il reparaît complètement libre d'azote, donc il ne contient pas d'acide hippurique.

2° 0 gr. 3517 d'acide hippurique, 0 gr. 3 d'acide benzoïque et 0 gr. 5 de graisse sont traités par l'éther de pétrole. Le résidu non dissous pèse 0,3506.

Un essai suivant fut arrangé de manière qu'une quantité d'acide benzoïque et d'acide hippurique furent dissous dans l'eau chaude et agitée par de l'éther pétrolique. Le résidu de l'éther décanté parut complètement libre d'azote. Ce qui signifie que l'éther pétrolique ne contient pas d'acide hippurique. Le résidu obtenu après l'épuisement par l'éther de pétrole contient de l'acide hippurique avec une petite quantité d'impuretés. Ce résidu sera dissous dans l'eau chaude, traité par un peu de noir animal et filtré. On enferme le liquide filtré (le filtratum) dans une capsule de verre à une température moyenne (50°-60°C) jusqu'à ce que commence la cristallisation de l'acide hippurique pendant le refroidissement.

Il faut ajouter ici que l'éther de pétrole avec lequel j'ai manipulé dissolvait un peu d'acide hippurique et il dissout difficilement l'acide benzoïque, ce que j'ai prouvé avec un essai exposé plus loin. Peut-être cela dépend de ce que l'éther de pétrole est un produit variable.

La méthode Bunge et Schmiedeberg est très bien élaborée par ses auteurs et elle est vérifiée par eux-mêmes dans ses derniers détails.

2° *Méthode de Jaarsfeld et Stokwis.* — L'urine légèrement alcalinisée par la potasse est évaporée à consistance

sirupeuse, refroidie, puis acidulée par l'acide chlorhydrique et abandonnée au repos pendant 24 heures. On épuise la masse entière par l'éther acétique de la même manière que pour la méthode de Bunge et Schmiedeberg; la solution acétique, évaporée à siccité, laisse un résidu cristallin noirâtre qu'on épuise par l'éther de pétrole de la même manière que pour la première méthode.

On obtient ainsi : 1° une solution;
2° une partie insoluble.

1° La solution pétroléique est évaporée. Le résidu est lavé à l'eau distillée froide, qui enlève de l'urée et du chlorure de sodium. Il est ensuite desséché et pesé. Le poids correspond à l'acide benzoïque.

2° La partie insoluble dans l'éther de pétrole est mise en ébullition prolongée (1 heure) avec de la soude concentrée pour le dédoublement de l'acide hippurique et épuisée par l'éther de pétrole après acidulation par l'acide chlorhydrique. Le liquide éther-pétrolique évaporé donne un résidu blanc cristallin qui, lavé à l'eau distillée, desséché et pesé, représente l'acide benzoïque résultant de l'acide hippurique et dont le poids, multiplié par 1,45, donne celui de ce dernier qui lui correspond.

Je dois remarquer que l'éther de pétrole avec lequel j'ai manipulé dissout très difficilement l'acide benzoïque, par conséquent l'extraction de l'acide des eaux-mères ne sera pas complète et il y aura des pertes considérables de substances. J'ai fait un essai comparatif pour déterminer le pouvoir dissolvant relatif de l'éther de pétrole. J'ai fait deux solutions saturées sous mêmes conditions (température et pression) ; une d'elles saturée dans l'éther sulfurique, l'autre dans l'éther de pétrole. Je prends 2 cc. de chaque et je les verse dans deux capsules tarées. Je les

laisse à l'évaporation spontanée, je sèche sous l'exsicateur et je pèse. Voilà les résultats :

1° 2 cc. de solution saturée d'acide benzoïque dans l'éther sulfurique = 0 gr. 1519.

2° 2 cc. de solution saturée d'acide benzoïque dans l'éther de pétrole = 0 gr. 0154.

La température de laboratoire était de 24° C.

Ainsi, comme on le voit d'après cet essai, l'éther sulfurique dissout l'acide benzoïque dix fois plus que l'éther de pétrole. Je crois qu'il n'y a rien de contre-indiqué à employer l'éther sulfurique pour l'extraction de l'acide benzoïque de dédoublement, puisque l'extraction sera plus complète.

Méthode de dosage de Blumenthal et Salkowski. — On prend 300 cc. d'urine humaine et on les alcalinise faiblement avec une dissolution de soude ; puis on évapore au bain-marie presque à sec. Le résidu est traité deux fois par 150 cc. d'alcool à 90° sur le bain-marie à chaud et filtré. Les liquides alcooliques filtrés rouges sont réunis et évaporés au bain-marie jusqu'à consistance sirupeuse. Le résidu sirupeux est dissous dans 50 cc. d'eau distillée qui contient 10 cc. de l'acide chlorhydrique à 20-25 p. 100.

Ensuite ce liquide est traité et violemment agité dans un entonnoir à séparation par 150 cc. avec l'éther sulfurique qui contient 15 cc. d'alcool à 90°. Dans cet extrait éthéré passe un peu d'urée ; pour s'en débarrasser, on lave cet extrait avec environ 75 cc. d'eau distillée une fois. Puis on se débarrasse de l'éther par distillation avec grande précaution. Le résidu rouge foncé est traité quatre fois avec l'éther, l'extrait éthéré séparé chaque fois, lavé avec 75 cc. d'eau distillée.

On se débarrasse de l'éther de nouveau par distillation. Le résidu de la distillation est dissous dans 20 centimè-

tres cubes d'eau distillée et versé par un entonnoir dans un matras de kjeldahal, s'il contenait peu de matières colorantes ; si le résidu contient beaucoup de matières colorantes, on le verse de nouveau dans l'entonnoir de séparation en l'agitant avec 15 centimètres cubes de chloroforme pur qui enlève les matières colorantes. Après la séparation du chloroforme on verse ce liquide aqueux dans un matras de kjeldahal, en ajoutant 15 centimètres cubes d'acide sulfurique concentré avec précaution, on agite bien et on ajoute un peu de sulfate de cuivre, comme adjuvant oxydant ; après on chauffe jusqu'à décoloration complète. Les autres manipulations de dosage et d'azote sont ordinaires. On se sert de 25 centimètres cubes de $\frac{N}{10}$ d'acide sulfurique et on multiplie le nombre de centimètres cubes de l'acide sulfurique employé pour neutraliser l'ammoniaque dégagé par 17,9. Le produit obtenu représente en milligrammes l'acide hippurique contenu dans 300 centimètres cubes d'urine. (Pathologies des Harns 1903. Blumenthal.)

Pour doser l'azote de l'acide hippurique extrait par la méthode de Blumenthal, voilà comment j'ai manipulé :

Le résidu de distillation est mélangé avec 20 centimètres cubes d'eau distillée, agité avec 15 centimètres cubes d'acide sulfurique concentré ; il faut bien mélanger l'acide sulfurique avec le reste. Dans ce mélange, j'ai ajouté, comme adjuvant réducteur 15 centimètres cubes d'oxalate neutre de soude à 30 0/0 et je chauffe dans le matras de kjeldahal. Au début du chauffage, il se dégage des vapeurs d'eau ; après il commence de se dégager des vapeurs blanches (mélange de SO^2 et SO^3), à ce moment je mets dans la gorge du matras un entonnoir taillé en biseau, comme réfrigérant. Après un chauffage d'environ 1 heure 1/2, le liquide noir est devenu un peu

jaune ambre, à ce moment j'arrête le chauffage puisque la réaction est finie et tout l'azote de l'acide hippurique est transformé en ammoniaque, puis en sulfate d'ammonium. Après refroidissement, je dilue par 45 centimètres cubes d'eau distillée avec précaution et je mets 2 ou 3 gouttes de phénol-phtaléïne comme indicateur. Après je neutralise exactement et complètement avec de la soude à 23 0/0, la coloration devient rougeâtre, je la fais disparaître par quelques gouttes d'acide sulfurique étendu. Maintenant la liqueur est toute prête pour doser l'azote. On peut appliquer à la fois les deux méthodes :

1· L'ancienne méthode par la distillation ;

2· La nouvelle méthode titrimétrique de G. Denigès.

Pour cela on peut se servir du même appareil distillatoire, à savoir :

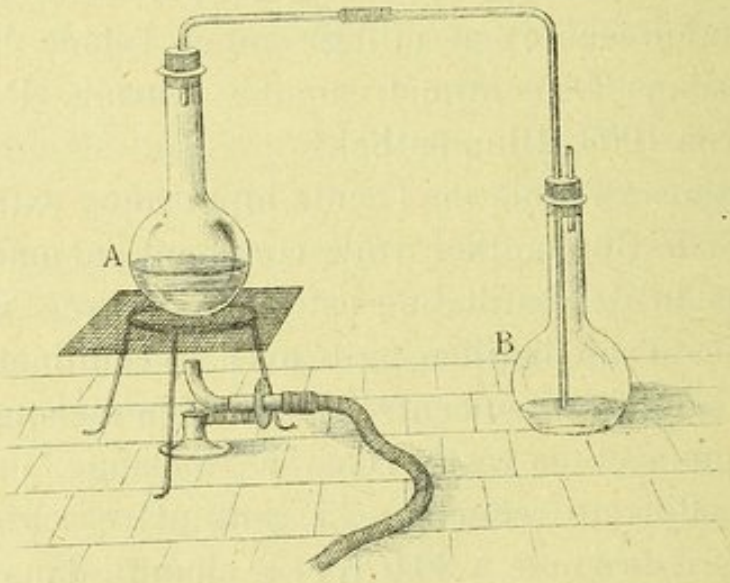


Fig. 1. — Appareil de dosage d'azote total (J. Ville).

Dans le ballon A je verse ma liqueur préparée avec l'eau de lavage du matras de Kjeldahal. Je verse de plus 50 centimètres cubes de soude $\frac{N}{10}$ dont une partie va servir pour la décomposition du sulfate d'ammonium. Dans

le matras à fond plat je verse 25 centimètres cubes d'acide sulfurique $\frac{N}{10}$ et comme indicateur 2 ou 3 gouttes de phénol-phtaléïne. Après je chauffe le ballon A pendant une heure au moins. Dans le ballon A il se produit la réaction à savoir :

$$SO^4 (AzH^4)^2 + 2\ NaOH = SO^4Na^2 + 2AzH^3 + 2H^2O$$

L'ammoniaque du ballon A hermétiquement fermé est chassé par le tube dans liqueur titrée du matras B.

Dans le matras à fond plat se produit la réaction suivante :

$$SO^4H^2 + 2\ AzH^4\ (OH) = SO^4\ (AzH^4)^2 + 2\ H^2O$$

Méthode de Denigès. — Après refroidissement du liquide dans le ballon A (comme indicateur j'emploie le phénol-phtaléïne), je détermine par titrimétrie d'une liqueur titrée $\frac{N}{10}$ de l'acide sulfurique, l'excès de la soude qui n'est pas employé pour la décomposition du sulfate d'ammonium, soit N centimètres cubes d'où $50 - N = N_1$ centimètres cubes correspond à la quantité de soude de liqueur $\frac{N}{10}$ employé, d'où $N_1 \times 17,9 =$ quantité d'acide hippurique dans 300 centimètres cubes d'urine.

Méthode de dosage d'azote par la distillation. — Je détermine par une liqueur titrée $\frac{N}{10}$ de soude l'excès de l'acide sulfurique $\frac{N}{10}$, d'où je peux connaître la quantité d'acide sulfurique saturée par l'ammoniaque dégagé. Supposons que la quantité de l'excès d'acide sulfurique $\frac{N}{10}$ soit égal à M centimètres cubes, d'où $25 - M = M_1$, d'où $M_1 \times 17,9 =$ la quantité en milligramme d'acide hippurique dans 300 centimètres cubes d'urine.

Toutes ces trois méthodes sont longues, coûteuses et difficiles à manier, ce qui n'est pas un avantage. La plus rapide, c'est la méthode Blumenthal ; mais elle est en même temps la moins exacte.

D'après Soetbeer (Zeit phys., t. 35, p. 536-539), Blumenthal n'a apporté aucune expérience de contrôle démontrant que cet azote, que l'on dose, provient uniquement de l'acide hippurique. Or, le même auteur, Soetbeer établit que 31 à 43 pour 100 seulement de cet azote sont fournis par de l'acide hippurique ; le reste provient de matières azotées dont les unes abandonnent l'ammoniaque par l'ébullition avec l'oxyde de manganèse et dont les autres sont précipitables par le nitrate mercurique ; deux caractères qui font défaut à l'acide hippurique. M. Blumenthal a répondu à cette objection en disant que si l'on a besoin de laver chaque extrait éthéré de 200 centimètres cubes avec 75 centimètres cubes d'eau distillée, dans ce cas cet extrait éthéré ne retiendra pas l'urée.

Il faut savoir que l'azote de dosage peut provenir non seulement de l'urée, mais d'une autre combinaison azotée, comme par exemple l'acide phénacéturique :

$$C^6H^5.CH^2.CO\ AzH.CH^2.COOH$$

C'est exceptionnel, mais cela peut arriver, puisque j'ai eu un cas où les urines d'un malade (pyélonéphrite) contenaient de cet acide, constaté par la méthode de Bunge et Schmiedeberg Dans cette urine j'ai dosé l'azote de l'acide hippurique, dans lequel il y avait en même temps une partie de l'azote de l'acide phénacéturique, qui est bien soluble dans l'alcool moins dans l'éther, mais peu dans l'eau froide. En pareil cas la méthode de Blumenthal est en faute. De même par la méthode de Bunge et Schmiedeberg on ne

peut pas doser l'acide hippurique, si dans cette urine il y a l'acide phénacéturique ; mais au moins avec cette méthode on sait très bien à quoi on a affaire. En pareils cas, qui sont très rares, on ne peut doser l'acide hippurique qu'avec la méthode de Jaarsfeld et Stowis, ce qui est un avantage de cette méthode.

En outre, M. Blumenthal reconnaît que d'une manière générale sa méthode de dosage donne par rapport à celle de Bunge et Schmiedeberg une perte de 15 °/₀ environ ; mais comme il reste le seul applicable à des urines pauvres, on peut l'accepter comme suffisante pour des recherches comparatives. D'après Blumenthal et Salkowiski la méthode de dosage de Bunge et Schmiedeberg le plus souvent n'est pas applicable pour les urines de l'homme. J'ai fait mes dosages le plus souvent avec cette méthode et elle m'a donné toujours des résultats satisfaisants.

C. — Synthèse artificielle de l'acide hippurique

Cette synthèse a été réalisée par divers procédés :

1° Par la réaction de chlorure de benzoyle sur le glycocolle argentique (Dessaignes) :

$$C^6H^5CO.Cl + \begin{array}{c} CH^2.AzH^2 \\ | \\ COOAg \end{array} = AgCl + \begin{array}{c} CH^2.AzH^2 \\ | \\ CO-O \quad CO.C^6H^5 \end{array}$$

mais la monobasicité de l'acide hippurique montre qu'il doit contenir un carboxyle $\left(-C\begin{matrix}\diagup O \\ \diagdown OH\end{matrix}\right)$ qui ne peut exis-

ter que par une transposition intramoléculaire du benzoyle ($C^6H^5.C{<}^{O}$) au lieu et place d'un hydrogène (H) de l'amidogène, de telle sorte que l'acide hippurique doit être envisagé comme benzoylglycocolle : $\begin{array}{l} CH^2.AzH.CO.C^6H^5 \\ | \\ COOH. \end{array}$

Cette constitution est démontrée nettement par le procédé de synthèse suivant :

2° Par réaction de l'acide monochloracétique sur le benzamide (Jazakowitch).

$$\begin{array}{l} CH^2Cl \\ | \\ | \\ C{=}O \\ \quad\diagdown OH \end{array} + HHAz.CO.C^6H^5 = HCl + \begin{array}{l} CH^2.AzH.CO.C^6H^5 \\ | \\ | \\ C{=}O \\ \quad\diagdown OH \end{array}$$

Ce qui en fait l'acide benzoylamidoacétique.

3° En maintenant à 160°C (12 heures) et sous pression, un mélange d'acide benzoïque et de glycocolle :

$$C^6H^5.C{<}^{O}_{OH} + HHAzCH^2.C{<}^{O}_{OH} = H^2O + C^6H^5COAzHCH^2COOH$$

La synthèse se fait par élimination d'une molécule d'eau.

D. — Propriétés.

L'acide hippurique cristallise en gros ou petits prismes orthorhombiques brillants, isolés ou agglomérés en rosette, étoile, croix, etc. Les prismes se terminent ordinairement en deux facettes. Ils se rencontrent aussi en petites aiguilles (pyramides) agglomérés de la même manière, en

paillettes. La forme des cristaux varie avec les conditions de cristallisations (dissolvant, température, etc.).

J'ai réussi à le préparer en état amorphe de la manière suivante : Je mets une goutte d'eau sur une lame de verre; je mets dans cette goutte d'eau une quantité considérable d'acide hippurique extrait de l'urine humaine pendant mes recherches, je recouvre le tout avec une lamelle dont je ferme hermétiquement les bords avec du baume de Canada. Après je chauffe doucement sur une petite flamme de bec de Bunsen, jusqu'à ce que presque tous les cristaux soient dissous. Après cela, la lame de verre encore chaude, je donne des petits chocs successifs à la lame, pour mettre en vibration les molécules de solution saturée à chaud.

Après cela, on ne voit pas à l'œil nu des cristaux après plusieurs jours. Sous le microscope, on voit des granulations sphériques brillantes, à reflets verdâtres ; en outre de ces petites sphères, il se rencontre des petits corpuscules irréguliers. C'est de l'acide hippurique à l'état amorphe. Le point de fusion de l'acide hippurique est 187°5 d'après les uns (Vogel, Neubauer, Behal, etc.), 130° d'après les autres (Gautier, G. Denigès, etc.). Cette différence dépend de la différence de pureté de l'acide hippurique.

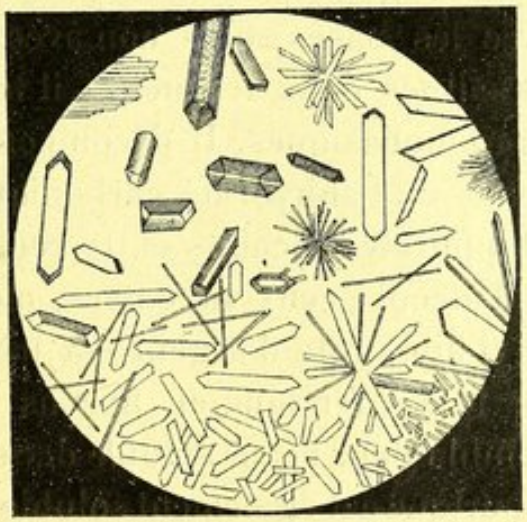


Fig. 2. — Cristaux d'acide hippurique (Vogel et Neubauer)

Il se décompose à 250° en acide cyanhydrique, eau, benzonitrile C^6H^5-C≡Az. et acide benzoïque. Il se dissout dans 600 parties d'eau à 0°, beaucoup plus dans l'eau bouillante, de cette solution, la majeure partie se cristallise à 60° (Curtius). Il est très soluble dans l'alcool (surtout chaud), difficilement dans l'éther sulfurique, plus facilement dans l'éther acétique, insoluble dans le chloroforme (très peu), sulfure de carbone, benzol et l'éther de pétrole (trop peu).

1. 1 gramme d'acide hippurique à la température de 18° se dissout dans 77 cc. d'acide acétique.

2. 1 gramme d'acide hippurique à la température de 18° se dissout dans 165 cc. d'eau.

3. 1 gramme d'acide hippurique à la température de 18° se dissout dans 400 cc. d'éther sulfurique.

4. 1 gramme d'acide hippurique à la température de 18° se dissout dans 1.000 cc. de chloroforme.

5. 1 gramme d'acide hippurique à la température de 18° se dissout dans 100 lit. de benzol froid.

6. 1 gramme d'acide hippurique à la température de 18° se dissout dans 10 lit. de benzol chaud.

(Gonnerman).

Les solutions rougissent fortement le tournesol.

Il forme avec les bases, mais non avec les acides, des combinaisons salines dans lesquelles il fonctionne comme les acides monobasiques. Il décompose les carbonates en dégageant de l'anhydride carbonique (en effervescence). Les hippurates alcalins et terreux sont solubles dans l'eau et l'alcool ; ceux de cuivre, plomb, argent, le sont très peu (l'hippurate d'argent est très soluble dans l'eau chaude); le sel ferrique en flocons de couleur isabelle, est insoluble dans l'eau, soluble dans l'alcool chaud.

L'acide hippurique est également soluble, comme l'acide

urique, dans les solutions de phosphates alcalins; PO^4Na^2H en dissout une molécule, PO^4Na^3 en dissout deux (Donath).

L'acide azoteux le transforme en acide benzoylglycolique

$$C^6H^5.CO.AzH.CH^2COOH + AzO.OH = \begin{array}{l} CH(OH).CO.C^6H^5 \\ | \\ COOH \end{array} + Az + H^2O$$

en dégageant un atome d'azote.

Le mélange d'acide azotique et d'acide sulfurique le convertit en acide nitrohippurique, prismes brillants, incolores, fusibles à 150° et peu solubles dans l'eau. Il n'est pas décomposé par les hypobromites alcalins et ne perd pas d'azote (Knop, Hüfner, Esbach), mais à chaud il donne un précipité rouge kermès, produit d'un dérivé bromé de benzamide (G. Denigès). L'acide hippurique en solution aqueuse n'est pas décomposé par le chlore, même à l'ébullition (Curtius), tandis qu'en solution alcaline il est rapidement transformé en acide benzoylglycolique ;

$$2C^6H^5.CO.AzH.CH^2.COOH + 2H^2O + 3Cl^2 = \begin{array}{l} CH(OH).CO.C^6H^5 \\ | \\ COOH \end{array} + 8HCl + Az$$

L'acide hippurique est hydraté et dédoublé en glycocolle et acide benzoïque dans les circonstances suivantes:

1° Par simple contact de l'eau à 170°-180°;

2° Par ébullition avec les alcalis (plus difficilement avec le lait de chaux) ;

3° Par ébullition avec les acides minéraux (Dessaignes) ;

4° Enfin sous l'influence des microbes urophages de la

fermentation ammoniacale de l'urine (Van Tieghem, Boussingault).

La formule suivante traduit le dédoublement :

$$C^6H^5.CO.AzH.CH^2.COOH + H^2O = \begin{array}{l} CH^2AzH^2 \\ | \\ COOH + C^6H^5.COOH \end{array}$$

E. — Réactions caractéristiques

1° Examen microscopique des cristaux ;

2° Solubilité dans l'alcool et l'eau chaude ;

3° Si on agit sur l'acide hippurique avec une solution de carbonate alcalin, il se dégage du gaz carbonique et il se forme en même temps d'hippurate alcalin. Si la solution d'hippurate est suffisamment concentrée, cette solution donne avec un acide quelconque fort un précipité blanc, cristallin (d'acide hippurique), qui est soluble dans l'alcool et dans l'eau chaude ;

4° Chauffé dans un tube à essai, il fond en un liquide huileux qui se colore en rouge, dégage une odeur de foin, donne un sublimé d'acide benzoïque et dégage de l'acide cyanhydrique, reconnaissable à son odeur ;

5° Chauffé et évaporé à sec, avec l'acide azotique concentré, puis calciné, l'acide hippurique dégage une odeur manifeste de nitrobenzine $C^6H^5.AzO^2$ (Lucke) ;

6° Si l'on agit sur une solution d'hippurate alcalin avec le chlorure ferrique, il se produit un précipité floconneux, de couleur isabelle d'hippurate ferrique insoluble dans l'eau, soluble dans l'alcool chaud ;

7° Calciné avec de la chaux, il dégage de l'ammoniaque,

donne un sublimé d'acide benzoïque et dégage des vapeurs de benzol, inflammables ;

8° Bouilli au moins pendant une demi-minute dans un tube avec un excès d'hypobromite de soude, l'acide hippurique donne un précipité rouge kermès, formé par un dérivé bromé de la benzamide, produit primaire de l'action du réactif (G. Denigès) ;

9° Par son point de fusion (187° 5).

CHAPITRE III

PHYSIOLOGIE CHIMIQUE DE L'ACIDE HIPPURIQUE

A. — Origine et mode de formation

La quantité d'acide hippurique excrétée par les reins chez l'homme est très variable et oscille entre 0 gr. 1 et 1 gramme (Huppert) ou entre 0 gr. 1 et 0 gr. 30 (Lewin) pour l'urine de 24 heures ; même, d'après Sirecci, lorsque le régime est constant, ce que l'on peut expliquer, du moins dans une certaine mesure, par ce fait que la putréfaction intestinale, variable d'un jour à l'autre, fournit une fraction différente du générateur aromatique de l'acide hippurique.

D'après MM. Weyl et Von Anrep, l'urine de chien nourri de viande et de lard renferme par jour 0 gr. 025 à 0 gr. 048, et, d'après M. Salkowsky, chez le chien à jeun ou nourri de viande, 0 gr. 53 à 0 gr. 204.

Chez les herbivores (ruminants), la quantité d'acide hippurique contenue dans les urines est beaucoup plus considérable, car l'alimentation fournit en abondance la copule aromatique d'acide hippurique et le pouvoir de synthèse de l'organisme est très étendu. Chez le cheval, M. Salkowsky a trouvé 15 gr. 595 d'acide hippurique (confondu avec l'acide phénacéturique) pour 65 gr. 35

d'azote total en 24 heures. L'urine de vache en renferme jusqu'à 27 grammes par litre (Behal). De ce court exposé qui vient d'être fait, on voit que la quantité d'excrétion d'acide hippurique par 24 heures varie entre des limites très considérables. Il est tout naturel de se demander d'où viennent ces variations considérables d'excrétions d'acide hippurique. Pourquoi cette différence quantitative énorme entre l'excrétion de l'acide hippurique chez les herbivores (ruminants) et celle des carnivores, l'homme inclus ? Ce qui frappe notre conscience, ce qui frappe nos sens, c'est la différence de la nature des aliments des animaux herbivores de celle des carnivores. Je crois que c'est la chose principale qui puisse expliquer cette différence quantitative ; mais à cela s'ajoute encore le pouvoir synthétique de l'organisme, qui est beaucoup plus grand chez les herbivores que chez les carnivores. Cette différence de pouvoir synthétique est comme la conséquence de l'adoption d'un mode de nutrition différent (herbacé chez les herbivores). (Il y a une autre différence quantitative qui dépend directement de la différence des méthodes de dosage).

On admet deux sources bien nettement démontrées, mais d'inégale importance pour l'acide hippurique, qui est excrété par les urines : d'une part, origine alimentaire qui a pour point de départ la découverte de Wœhler, en 1824, de la transformation que subit l'acide benzoïque dans l'économie, et, d'autre part, l'oxydation et les dédoublements des matières albuminoïdes qui donne naissance à des petites quantités d'acide benzoïque et même de benzaldéhyde. Par conséquent, les matières albuminoïdes qui constituent les tissus de l'organisme animal ou qui viennent de l'extérieur comme aliments, donnent exclusivement l'un des éléments de la synthèse : le glycocolle, et l'autre élément l'acide benzoïque en faible proportion ; la

principale partie vient de l'extérieur par les aliments non albuminoïdes.

L'origine albuminoïde paraît démontrée d'abord par la présence de dérivés benzoïques dans les produits de décomposition de la molécule albuminoïde (acide phényl-propionique comme produit de fermentation pancréatique des matières albuminoïdes (Salkowski), puis par les faits physiologiques suivants : on trouve constamment de l'acide hippurique dans l'urine de chiens nourris exclusivement de viande ou, au contraire, inanitiés (Salskowski), dans celles de l'homme inanitié depuis 14 jours (Schultzen); dans celle de malades nourris au lait et au bouillon (Weismann). Ce dernier est arrivé à la même conclusion en se soumettant lui-même à un régime animalisé exclusif, quinze œufs et 500 grammes de viande par jour. Je peux y ajouter encore deux démonstrations nouvelles : l'une, à savoir, que les iodoalbumines s'éliminent en traversant l'organisme chez les lapins à l'état d'acide iodohippurique, (Mossé et C. Neuberg, *Zeitschrift für Physiol. chimie*, t. 38, p. 427-441, 1903), l'autre, qui est personnelle, à savoir que le travail musculaire augmente la quantité de l'acide hippurique chez l'homme normal.

Mais la majeure partie de l'acide hippurique dérive des substances alimentaires non albuminoïdes, surtout chez les herbivores. Wœhler, le premier, a montré, en 1824, que l'acide benzoïque ingéré est éliminé par les reins à l'état de l'acide hippurique.

Maintenant, il est bien établi que l'ingestion de l'acide benzoïque est suivie d'une excrétion correspondante de l'acide hippurique, aussi bien chez les herbivores que chez l'homme et les carnivores. Agissent de la même façon toutes les substances qui contiennent de l'acide benzoïque ou qui lui donnent naissance par décomposition ou oxy-

dation (acide cinnamique ($C^6H^5.CH:CH.COOH$), aldéhyde benzoïque), et plus généralement celles qui contiennent un radical oxydable.

Toutes ces combinaisons se transforment en acide benzoïque, par l'oxydation dans l'organisme. Par réduction se transforme en acide benzoïque l'acide quinique ($C^6H^7(OH)^4COOH$) dans l'organisme.

Les acides phénylacétique ($C^6H^5CH^2COOH$) et phénylglycolique ($C^6H^5CH(OH)COOH$), au contraire ne se transforment pas en acide beuzoïque en passant par l'organisme, puisque les groupements $>CH^2$ et $>CH(OH)$ étant, sans doute, protégés contre l'oxydation par le voisinage du phényle et du carboxyle, tandis que dans l'acide phénylpropionique ($C^6H^5CH^2CH^2COOH$), où la chaîne latérale est plus longue, l'attaque paraît plus facile.

L'acide phénylacétique fait la synthèse avec le glycocolle, rarement dans l'organisme chez l'homme, le plus souvent chez les herbivores, et s'élimine par les reins en acide phénacéturique. Parallèlement, on constate que les trois isomères (o. m. p.) de nitrobenzaldéhydes sont éliminés à l'état d'acide nitrohippurique correspondant, m-amidobenzoïque ($C^6H^4(AzH^2)COOH$ (1) à l'état de m-amidohippurique, l'acide m-fluobenzoïque à l'état d'acide m-fluohippurique, le p-bromotoluol à l'état du p bromohippurique (N. Sieberet A. Smirnoff, Mon f. chem. 8,88. Cohn-Zeit. Physil. Chem. 17,274 et 18,133. E. Salkowski-Zeit, phys. chem. 7,93, F. Cappoler, Gaz, chim. ital, 13,521 ; C. Preusse, Zeit. ph. ch., 5, 57). Ce qui prouve (ces synthèses d'isomère correspondant) que le processus synthétique se produit *in anima vili*.

Jusqu'ici j'ai exposé l'influence sur la synthèse des combinaisons simples. Maintenant il me reste à exposer l'influence de différents groupes d'aliments sur la même synthèse.

Je commence par les aliments d'origine végétale. Chez l'homme, l'acide hippurique augmente par le régime végétal, plus spécialement par l'emploi de prunes, de baies de myrtille, des asperges, des mûres, etc. C'est parce que ces produits alimentaires contiennent des composés aromatiques aptes à se transformer dans l'organisme en acide benzoïque. On peut dire la même chose pour le régime herbacé des herbivores. Les prunes renferment de l'acide quinique qui, par réduction, se transforme en acide benzoïque, l'extrait de foin contient le même acide (Loew). Cependant le résidu du fourrage, épuisé par les dissolvants et ne contenant plus que de la cellulose ligneuse et une substance cuticulaire, donne encore lieu à l'apparition de l'acide hippurique dans les urines (Schepard et Messner). D'après Schepard et Messner, c'est la cutine et la suberine contenues dans les membranes cellulaires du tissu de soutien qui contiennent des composés aromatiques aptes à se transformer dans l'organisme en acide hippurique. Quoi qu'il en soit, il est impossible de nier l'influence du régime végétal sur la formation de l'acide hippurique, qui est si abondant chez les herbivores et en quantité si faible chez l'homme et les carnivores; d'ailleurs chez le veau qui tette, l'acide hippurique manque dans les urines et n'y apparaît en quantité notable qu'à partir du moment où il est fourragé (Woehler). (Chose très intéressante, puisque le lait chez l'homme augmente la quantité de l'acide hippurique dans les urines). M. Stadelmann fait remarquer que l'acide quinique, qui ne produit pas l'acide hippurique chez les carnivores (Salomon) n'en fournit que fort peu (1/10 à 1/20 de la quantité calculée) chez les herbivores, et que son action ne se fait sentir que 24 à 48 heures après l'ingestion, sans doute parce qu'il n'agit

qu'après avoir été transformé par les fermentations post-digestives de l'extrémité inférieure du tube digestif.

Weiss a trouvé que l'administration de l'acide quinique fait augmenter l'excrétion de l'acide hippurique chez l'homme ; elle amène la diminution de l'acide urique dans les urines. Lewin, Levandowsky, de la Camp, Blumenthal et autres ont trouvé que en administrant 6 grammes d'acide quinique, on trouve 1 gramme à 1 gr. 7 d'acide hippurique dans les urines humaines.

Tapeiner a trouvé dans le contenu de la panse, chez le bœuf nourri de foin, de l'acide phénylpropionique (hydrocinnamique $C^6H^5.CH^2.CH^2.COOH$), lequel est producteur d'acide benzoïque, par conséquent d'acide hippurique dans l'organisme. Mais on ne sait pas si cet acide existe tout formé dans le foin ou s'il provient de quelque combinaison aromatique ou encore s'il résulte de la putréfaction des matières albuminoïdes. Cette dernière source doit, en effet, être indiquée. On sait par les travaux de H. et E. Salkowski que l'acide phénylpropionique est un produit constant de la putréfaction pancréatique de matières protéïques contenue dans les substances végétales et que cet acide ingéré s'élimine par les reins à l'état d'acide hippurique. D'autre part, Baumann a montré que le chien en inanition a continué à éliminer par les reins de l'acide hippurique jusqu'au moment où on lui administre un antiseptique intestinal, calomel par exemple, après quoi il disparaît complètement dans les urines de ce chien. (H. et E. Salkowsky, D. Chem. G, 12, 653, Baumann, Zeit. Physiol. Chem., 10, 123).

L'origine de ces petites quantités d'acide hippurique, contenues dans les urines chez les carnivores, même après une inanition, d'une manière constante, se trouve expliquée ; mais chez les herbivores d'autres facteurs

entrent en jeu certainement. M E. Salkowski a conclu, en effet, que si la *totalité* des 15 grammes d'acide hippurique excrété en vingt-quatre heures par un cheval *provenait* de la putréfaction des matières protéïques absorbées, il faudrait admettre que sur 400 grammes des albuminoïdes apportées par la ration, 350 au moins ont subi dans l'intestin la décomposition microbienne, ce qui est inadmissible (E. Salkowski, Zeit. Phys. Chem., 9, 229).

Peut-être faut-il invoquer ici un rôle des pentoses. MM. Gotze et Pfeiffer rapportent, en effet, que chez le mouton la production de l'acide hippurique paraît être en relations étroites avec l'injection des pentoses. De même Lewin, parallèlement avec les recherches de Gotze et Pfeïffer, Pfeïffer et Eber ont trouvé que chez le *cheval*, après l'ingestion de pentoses, l'élimination d'acide hippuque par les reins est augmentée.

L'influence de la copule grasse, comme origine de l'un des éléments de la synthèse (acide benzoïque) a été moins étudiée.

D'après les expériences de Lewin, le glucose ingéré augmente aussi la quantité d'acide hippurique dans l'urine : 100 grammes de glucose ajoutés à la ration donnent 0 gr. 9 d'acide hippurique en traversant l'organisme. Chose intéressante à savoir, les hydrates de carbone qui ne peuvent pas donner naissance *in vitro* ni au glycocolle, ni à l'acide hippurique, en traversant l'organisme animal, augmentent l'excrétion d'acide hippurique.

D'après les expériences du même auteur (Lewin), après l'ingestion du plasmon et du somatose il y a augmentation de l'acide hippurique, mais avec le gluton la quantité d'acide hippurique excrété pendant un jour est de 1 gr. 20. Cela s'explique par ce fait que la somatose

provoque la putréfaction intestinale et amène la diarrhée violente.

Weintraud et Lewin ont démontré que l'ingestion de thymus peut aussi provoquer une augmentation de l'excrétion d'acide hippurique. Ainsi dans un cas l'on a trouvé 0 gr. 10 - 0 gr. 30 cent. hausse à 1 gr. — 1 gr. 60 cent. d'acide hippurique après l'ingestion de 250 gr. de thymus et jusqu'à 2 gr. d'acide hippurique par 24 heures après l'emploi de 500 gr. de thymus. Mais les résultats n'étaient pas constants.

Comme l'acide nucléique des levures n'a pas provoqué de formation apparente d'acide hippurique, Lewin comme Weïntraud ont pensé que la nucléine n'est pas la source immédiate de la formation de cet acide ; mais qu'après ingestion de thymus la putréfaction dans le canal intestinal qui se produit forme une grande quantité des corps aromatiques aptes à se transformer dans l'organisme en acide benzoïque, puis en acide hippurique (une autre explication plausible est à savoir : la nucléine entre dans le courant sanguin comme matière nutritive et puis par la destruction de sa molécule donne comme un terme de déchet : le glycocolle, l'autre élément de synthèse). Jusqu'ici j'ai donné un court exposé de l'origine de l'un des éléments de la synthèse : l'acide benzoïque.

Maintenant on peut se demander quelle est l'origine de l'autre élément de la synthèse, d'où vient-il le glycocolle ? Sa formation dans l'économie est indéniable, puisque l'on ne peut expliquer sans lui la transformation de l'acide benzoïque et que, d'ailleurs, il se trouve normalement dans la bile, conjugué avec l'acide cholalique, pour former l'acide glycocollique. D'autre part, s'il s'est produit par l'action des ferments, des acides et des bases sur les matières gélatineuses, dérivés directs des albuminoïdes, on ne peut pas l'obtenir par la décomposition artificielle

de l'albumine et on ne l'a jamais trouvé en liberté nulle part dans l'organisme.

On sait que l'acide urique peut se dédoubler en glycocolle et urée sous l'influence de l'acide iodhydrique et que, inversement, on réalise la synthèse de l'acide urique au moyen de l'urée et des glycocolles (Frémy) ou par la synthèse de glycocolle et d'acide cyanhydrique (Horbaczewski).

De là à conclure que la synthèse de l'acide hippurique dans l'organisme s'effectue au moyen de l'acide benzoïque alimentaire et du glycocolle qui provient d'une transformation de l'acide urique, il n'y a qu'un pas, qu'ont franchi Ure et Keller, dont l'opinion a été combattue par Neubauer et Vogel. Cependant, cette hypothèse tire un certain degré de plausibilité de l'observation suivante d'Adoue : un goutteux dont l'urine contenait, par litre 22 gr. 50 d'urée et 0 gr. 73 d'acide urique sans acide hippurique appréciable, soumis pendant trois ans de suite à l'usage du benzoate de lithium, a donné ensuite une urine qui contenait au litre 13 gr. 8 d'urée, 0 gr. 095 d'acide urique et 0 gr. 21 d'acide hippurique avec des cristaux sédimentaires bien nets de ce dernier.

De même Wiener a démontré que l'acide urique pur introduit dans l'organisme se dédouble en donnant comme l'un des éléments de la composition, le glycocolle, qui en rencontrant de l'acide benzoïque, fait la synthèse de l'acide hippurique.

D'autre part Weiss pense que en administrant beaucoup de benzoate de sodium dans ce cas le glycocolle qui ferait la synthèse de l'acide urique, sera utilisé pour la synthèse de l'acide hippurique de façon que la quantité du premier diminuera dans l'organisme. Ces expériences qui viennent d'être exposées donnent un fort point d'appui pour

l'utilisation de la synthèse d'acide hippurique comme un moyen rationnel de traitement de la diathèse urique, à savoir que, si on ne donne que des alcalins (carbonates, etc.) aux malades diathésiques, comme on se contente de le faire, dans ce cas on ne diminue pas la formation d'acide urique, mais seulement on facilite son élimination; mais pour un traitement rationnel, il ne suffit pas de faciliter l'élimination, mais il faut sécher la source, il faut annihiler sa formation anormale dans l'organisme. Ce qui peut être réussi par l'administration de benzoate de sodium ou mieux de benzoate de lithium, lesquels avec leur sodium ou lithium rendent l'acide urique plus soluble et par cela plus éliminable, et avec son acide benzoïque annihile ou diminue la formation d'acide urique dans l'organisme.

Chez l'homme la provision de glycocolle dans l'organisme disponible pour la synthèse d'acide hippurique paraît être considérable, puisque par l'ingestion de 30 grammes de benzoate de sodium on peut pousser jusqu'à 39 grammes la quantité d'acide hippurique excrétée par les reins.

Chez le lapin, M. Wiener a montré que c'est pour un gramme de benzoate sodique ingéré que la quantité d'acide hippurique excrété par les reins d'animal est la plus considérable. Si on surpasse cette quantité d'un gramme et l'on administre 1 gr. 7, les lapins meurent par intoxication. Mais si l'on donne une quantité supérieure à 1 gramme par kilogramme d'animal et en même temps on injecte du glycocolle dans le sang, la quantité d'acide hippurique dans ces conditions augmente progressivement, sans que l'animal s'intoxique. Dans de pareilles conditions on peut rendre inoffensives des doses de 2 g. 3 d'acide benzoïque par kg. d'animal; expérience qui constitue un des rares exemples d'un contre-poison (antidote)

au vrai sens du mot, que l'on puisse citer en physiologie.

L'allatine et l'acide aspartique sont sans action sur la synthèse hippurique ; mais la leucine et l'acide urique se comportent comme le glycocolle (par le dédoublement). Des expériences ont montré que les amino-acide homologues du glycocolle, tels que la leucine, la sarcosine, ne fournissent pas dans l'organisme de l'acide hippurique homologue mais des acides ordinaires.

En général, MM. Lewin, Gôtze et Pfeïffer, Pfeïffer et Eber ont trouvé que les animaux excrètent d'autant plus d'acide hippurique que leur nourriture est moins riche en azote.

J'ai fini ce court exposé de l'origine de deux éléments de la synthèse hippurique.

Il faut ajouter que la quinine diminue l'excrétion hippurique par son action toxique sur l'épithélium rénal (Pohl).

En ce qui concerne le mode de production de l'acide hippurique, je dirai en deux mots, qu'il est toujours synthétique, c'est-à-dire les éléments de cette synthèse, l'acide benzoïque et le glycocolle, se rencontrent quelque part dans l'organisme et sous l'influence de conditions spéciales s'effectue la synthèse par déshydratation.

B. — Lieu de formation (*agents et conditions biologiques*)

Pour pouvoir étudier les relations et les conditions biologiques de formation de l'acide hippurique dans l'économie animale, il faut se demander tout d'abord : dans quel organe s'effectue la synthèse d'acide hippurique ? est-ce dans le foie comme beaucoup d'autres processus vitaux ? ou ailleurs ?

Pour résoudre cette question délicate, deux groupes d'expériences étaient faites avant celles de Bunge et Schmiedeberg :

1° Par Kühne et Hallwachs ;

2 Par Meissner et Shepard.

1° Kühne et Hallwachs aboutirent aux résultats suivants : la synthèse de l'acide hippurique se produit dans les vaisseaux hépatiques par union de l'acide benzoïque qui s'y trouve et le glycocolle provenant de la décomposition d'acide glycocolique.

2° Meissner et Shepard concluent de leurs essais que le lieu de formation d'acide hippurique est les reins ; ils y ajoutent eux-mêmes que les résultats de leurs essais peuvent être expliqués en d'autres sens. Donc la question du lieu de formation de l'acide hippurique dans l'économie, n'était aucunement résolue par les essais faits avant les expériences de Bunge et Schmiedeberg.

Après cela, Bunge et Schmiedeberg ont entrepris de nombreuses recherches pour résoudre la question. Voici ces expériences classiques exposées par Bunge lui-même et complétées des autres sources bibliographiques :

Avant de pouvoir passer à l'étude des conditions nécessaires à la production de la synthèse, les auteurs (Bunge et Schmiedeberg) ont dû rechercher dans quels organes, dans quels tissus cette opération s'accomplit. On pouvait, à première vue, être porté à songer au foie. Nous savons, en effet, qu'un autre acide conjugué le glycocolle, l'acide glycocolique, se forme dans cet organe, abstraction faite de plusieurs autres procédés synthétiques que l'on a localisés dans le foie. Si cette supposition était exacte, l'élimination du foie devait avoir pour effet de laisser intact l'acide benzoïque introduit dans le sang, de sorte qu'il fût éliminé tel quel par les reins. Cette expérience est impra-

ticable sur les mammifères, car après la ligature des vaisseaux hépatiques, la grande masse du sang s'accumule dans le système de la veine porte, et la circulation est arrêtée pour ainsi dire complètement dans les autres organes. Les chiens meurent de trente à cinquante minutes après l'opération. C'est pourquoi nous avons choisi des grenouilles pour ces recherches.

Les grenouilles supportent parfaitement l'extirpation du foie, à laquelle elles survivent trois ou quatre jours. Pendant ce temps, elles se meuvent presque comme des grenouilles normales. Si l'on injecte à des grenouilles privées de leur foie de l'acide benzoïque dans le sac lymphatique dorsal, elles produisent toujours de l'acide hippurique, surtout si avec l'acide benzoïque on injecte encore du glycocolle. Il est impossible de découvrir même une trace d'acide hippurique dans l'organisme et dans les sécrétions de la grenouille à laquelle on n'a pas fait une injection *préalable* d'acide benzoïque. Bunge et Schmiedeberg de ces expériences concluent que ce n'est pas dans le foie, du moins exclusivement, que se forme l'acide hippurique.

D'autre part, on a constaté qu'un foie fraîchement enlevé à un animal et injecté de sang contenant de l'acide benzoïque ne donne pas d'acide hippurique, non plus que la pulpe hépatique fraîche au contact du sang benzoïné.

Cette synthèse ne se produit-elle peut-être qu'à l'arrivée des composants dans les reins ? L'étude de cette question est possible sur des animaux à sang chaud. Les chiens supportent plusieurs heures la ligature des vaisseaux des deux reins sans que la circulation dans les autres organes soit sensiblement troublée. Après avoir lié les deux reins à deux chiens, Bunge et Schmiedeberg leur ont injecté de l'acide benzoïque et du glycocolle dans le sang, pour

les sacrifier trois ou quatre heures après par la section des carotides et rechercher l'acide hippurique aussi bien dans le sang que dans le foie et les muscles. Ils n'ont jamais réussi à en découvrir la moindre trace; ils n'ont trouvé partout que de l'acide benzoïque. Ainsi les organes ne sont pas en état d'opérer l'union de l'acide benzoïque et du glycocolle sans le concours des reins; c'est donc dans les reins que s'accomplirait la synthèse.

Mais cette conclusion pourrait ne pas satisfaire un critique sceptique. On pourrait objecter que la ligature des reins est une opération d'une gravité telle qu'elle peut jeter la perturbation, que l'on n'est pas en état d'apprécier. Il serait donc possible que ces troubles atteignissent aussi les tissus produisant l'acide hippurique. Il ne reste donc qu'un moyen de démontrer que cette fonction est localisée dans les reins : c'était de prouver que le rein extirpé, séparé des autres organes, peut encore sécréter de l'acide hippurique.

C'est pourquoi, après avoir saigné un chien, on enlève soigneusement les deux reins, afin d'établir dans l'un d'eux une circulation artificielle avec le sang défibriné auquel on a ajouté du glycocolle et de l'acide benzoïque, l'autre rein devant servir de témoin. Au bout de quelques heures, pendant lesquelles on avait soigneusement entretenu la circulation artificielle, Bunge et Schmiedebert ont régulièrement trouvé l'acide hippurique dans le sang défibriné, dans le rein et dans le liquide qui avait coulé de l'uretère. Dans le rein témoin, par contre, jamais ils n'ont trouvé des traces d'acide hippurique. Ainsi non seulement le rein extirpé, mais encore vivant, avait produit de l'acide hippurique. (Ces résultats ont trouvé leur confirmation dans les expériences minutieuses de W. Kochs entreprises dans le laboratoire de Pflüger.)

Si l'on n'ajoute que de l'acide benzoïque au sang défibriné, on n'obtient qu'une faible quantité d'acide hippurique ; mais il suffit d'ajouter du glycocolle pour qu'immédiatement sa production augmente considérablement. Les deux composants se sont, en effet, réunis pour former de l'acide hippurique et de l'eau. La température est sans effet sur la production de la synthèse ; l'acide hippurique se forme aussi bien si l'on entretient la circulation artificielle à la température du corps qu'à celle du laboratoire. Le rein extirpé conserve aussi très longtemps sa faculté de produire la synthèse. Les auteurs de ces recherches ont encore obtenu de l'acide hippurique d'un rein conservé pendant quarante-huit heures sous la glace.

Le tissu rénal vivant est-il donc indispensable à la production de la synthèse ? Les éléments histologiques jouent-ils un rôle dans ce procédé, ou n'a-t on affaire qu'à l'intervention de certains composants chimiques inconnus ?

Dans ce cas, il serait peut-être possible d'isoler ces substances et de produire la synthèse artificielle. Pour résoudre cette question, les auteurs de ces expérienees ont détruit le parenchyme rénal en le hachant et en le pilant jusqu'à ce qu'il fût réduit en une bouillie homogène. Ils y ont ajouté du sang avec du glycocolle et de l'acide benzoïque et ont laissé reposer le mélange en l'agitant de temps en temps. Bien qu'ils aient modifié l'expérience de différentes manières, qu'ils aient travaillé à différentes températures, ils n'ont jamais observé la présence même d'une trace d'acide hippurique.

Kochs a répété ces expériences sous la direction de Pflüger. S'il se contentait de hacher le rein, il trouvait une faible quantité d'acide hippurique ; mais qui disparaissait dès qu'il réduisait le rein en bouillie, ou qu'il le

soumettait avant l'expérience à une température de — 20° pour le dégeler ensuite à 40°.

D'après ces expériences on peut conclure que cette synthèse n'est due qu'aux cellules vivantes du rein et non à un corps chimique.

Les globules du sang sont-ils aussi indispensables pour la réussite de cette synthèse? Pour trancher la question Bunge et Schmiedeberg ont fait la circulation artificielle, avec du sérum auquel ils ont ajouté du glycocolle et de l'acide benzoïque, mais les expériences n'ont donné aucun résultat. Les globules du sang jouent donc aussi un rôle dans la synthèse. Quel peut bien être le rôle des globules dans ce procédé? Agissent-ils comme transporteurs d'oxygène? Ayant chassé l'oxygène du sang par l'oxyde de carbone MM. Schmiedeberg et A. Hoffmann purent constater que la production de l'acide hippurique était arrêtée. Les globules rouges sanguins agissent donc aussi comme transporteurs d'oxygène, mais on ne sait s'ils n'ont pas peut-être encore une autre fonction.

L'intégrité des globules rouges, contrairement à ce qu'avaient admis MM. Bunge et Schmiedeberg, n'est pas une condition indispensable. M. Münk a montré, en effet, que du sang laqué par addition de 2 volumes à 2 v. 5 d'eau entretient le phénomène aussi bien que du sang intact, sans doute parce que la dissociation de l'oxyhémoglobine dissoute suffit pour assurer au tissu la quantité d'oxygène nécessaire.

En ce qui concerne la preuve de M. A. Hoffmann au moyen de l'oxyde de carbone pour expliquer la nécessité de l'oxygène pour le tissu rénal, on peut expliquer cet arrêt de la synthèse, non plus parce que l'oxygène manque, mais parce que l'oxyde de carbone est un violent toxique pour l'épithélium rénal. Cette action toxique est

rendue probable par les expériences du même auteur, M. A. Hoffmann. Lorsque, après avoir fait passer pendant deux heures, à travers le rein, le courant de sang oxycarbonné, on revient au sang oxygéné, on constate que la quantité d'acide hippurique produite est considérablement diminuée. L'addition de chlorhydrate de quinine au sang employé produit le même effet. Or, on sait que la quinine est un toxique pour certaines cellules et qu'elle supprime notamment les mouvements amiboïdes des globules blancs. L'influence de ces toxiques se fait sentir aussi chez l'animal vivant. MM. Araki et Kastuyama (Japonais) ont montré que chez le lapin intoxiqué par l'oxyde de carbone, la synthèse de l'acide hippurique est considérablement entravée. De même l'ingestion de diamine (tétra et pentaméthylène-diamine, etc.) de quinine, diminue chez le lapin le pouvoir antitoxique du glycocolle vis-à-vis de l'acide benzoïque, c'est-à-dire arrête la synthèse de l'acide hippurique. On observe le même phénomène chez le lapin et chez le chien en état de fièvre, et dans beaucoup de maladies, notamment les maladies du rein.

En ce qui concerne l'agent de cette synthèse, MM. Bunge et Schmiedeberg, s'appuyant sur les expériences qu'on vient de rapporter, ont fait de cette réaction une fonction de la cellule rénale vivante (fonction vitale), et cette conclusion était en général, adoptée par les physiologistes. MM. Bunge et Schmiedeberg niaient l'intervention d'un corps chimique pour la production de la synthèse.

Mais depuis que l'on connaît des diastases de reconstitution (recomposition) sécrétées par les cellules, c'est-à-dire capables d'opérer des phénomènes de construction moléculaire, l'hypothèse de Bunge et Schmiedeberg a

paru insuffisante, et l'on s'est efforcé d'opérer la synthèse de l'acide hippurique avec des extraits d'organe (rein), c'est-à-dire en dehors de toute action cellulaire.

Cette nouvelle manière de voir a été confirmée par les expériences récentes de MM. Abelous et Ribaut.

Ces auteurs (E. Abelous et H. Ribaut) pour prouver l'existence d'une diastase de synthèse hippurique se sont placés pendant leurs expériences dans des conditions différentes de celles de MM. Bunge et Schmiedeberg.

Se basant sur le fait que les synthèses par déshydratation sont des réactions endothermiques, c'est-à-dire que pour s'accomplir elles absorbent de l'énergie au lieu d'en dégager ; se basant sur l'idée que pour déceler l'existence de diastase de synthèse, *in vitro*, il faut lui fournir la force vive nécessaire pour l'accomplissement de sa réaction endothermique, force vive qu'elle emprunterait dans l'organisme vivant aux réactions exothermiques concomitantes, MM. E. Abelous et H. Ribaut ont profité de la réaction exothermique de l'oxydation de benzylalcool ($C^6H^5.CH^2(OH)$) pour sa transformation en acide benzoïque.

Et en effet, dans ces expériences, au lieu de prendre directement l'acide benzoïque et le glycocolle pour faire, *in vitro*, la synthèse, ils ne prennent que du glycocolle et de l'alcool benzylique. Pour ces expériences, ces auteurs ont opéré avec des reins pulpés et, pour supprimer la vie cellulaire, les macérations étaient faites dans une solution de fluorure de sodium à 2 0/0. Ils ont choisi le rein du cheval et le rein du porc. Voici leurs expériences :

EXPÉRIENCES

1° On fait macérer pendant 18 heures deux lots de 525 grammes de reins de cheval pulpés dans un litre d'une solution de fluorure sodique à 2 0/0. .

a. Dans l'un des deux lots on ajoute 1 gr. 50 de glycocolle et 3 centimètres cubes d'alcool benzylique, plus 3 grammes de carbonate de sodium.

b. A l'autre lot on se contente d'ajouter 3 grammes de carbonate de sodium (essai de contrôle).

Les deux lots A et B sont laissés à l'étuve à 42° pendant 24 heures et traversés par un courant d'air. L'extraction de l'acide hippurique et son dosage par le procédé de Bunge et Schmiedeberg ont donné les résultats suivants :

a. (Avec glycoc et alcool benzyl.), 0,083 d'a. h.
b. (Sans glycoc. ni alcool benzyl.), 0,050 d'a. h } Augmentat. de 0 gr. 033 milligr.

2° Même expérience avec deux lots de 425 grammes chacun de pulpe rénale, mais additionnés de 500 centimètres cubes de sang de cheval fluoré à 2 0/0.

a. Lot avec glycocolle et alcool benzylique.

b. Lot simplement additionné de carbonate sodique.

Résultats :

a. (Avec glycoc. et alcool benzyl.), 0,109 d'a. h.
b. (Sans glycoc. ni alcool benzyl.), 0,068 d'a.h.) } Différ. : 0 gr. 041 milligr. d'a.h.

3° Rein du porc.

a. Lot 572 grammes de pulpe macérée dans un litre de fluorure de sodium à 2 0/0 ; on ajoute : glycocolle 1 gr. 50 ; alcool benzylique 3 centimètres cubes ; carbonate de sodium 3 grammes.

b. Lot 572 grammes de pulpe macérée dans un litre de fluorure de sodium à 2 0/0 ; la macération est bouillie. On ajoute après refroidissement les mêmes quantités de glycocolle, d'alcool benzylique et de carbonate de sodium que dans le lot A.

Résultats : { *a*. 0,055 milligrammes d'acide hippurique.
b. (Bouillie), pas d'acide hippurique.

Par conséquent pour la synthèse d'acide hippurique l'intégrité cellulaire n'est pas indispensable ; la vie cellulaire n'est indispensable que pour élaborer un ferment soluble, une diastase, qui est l'agent de la synthèse de cet acide.

Il convient d'ajouter enfin que le rein n'est pas chez tous les animaux le lieu unique de la formation synthétique de l'acide hippurique. MM. Bunge et Schmiedeberg ont montré, en effet, que la grenouille continue à produire de l'acide hippurique, même après l'extirpation des reins, et le lapin après l'extirpation des reins. M. Salomon a trouvé dans le sang, les muscles et le foie, des quantités considérables d'acide hippurique après l'ingestion d'acide benzoïque (Salomon, Zeit. phys. chim., 3, 365) chez les lapins néphrectomisés.

Pour être plus complet, je vais ajouter ici les expériences classiques de MM. Bunge et Schmiedeberg.

Première Expérience

On lie les vaisseaux hépatiques qui entrent ou qui sortent du foie à un petit chien chloroformisé. Ensuite on injecte 1 gr. 22 d'acide benzoïque sous forme de benzoate de sodium et une quantité équivalente (0,75 centigrammes) de glycocolle dans une veine de l'épaule. L'animal vit 55 minutes après l'injection. La dissection montre que la ligature des vaisseaux hépatiques avait complètement réussi. La vessie était contractée et vide ; la rate très tuméfiée et remplie de sang. Les gros troncs vasculaires seront coupés et, avec une éponge pure et sèche, on recueille 100 cc. de sang. Dans ce sang, il y aura sûrement une petite quantité d'acide hippurique.

Deuxième Expérience

On lie les vaisseaux du foie à un chien chloroformisé et on injecte dans la veine jugulaire 2 gr. 44 d'acide benzoïque sous forme de sel de soude et 1 gr. 50 de glycocolle. 50 minutes après on ouvre la carotide d'un côté du chien encore vivant ; il n'en coule environ que 46 cc. de sang. Les sections sont faites comme dans le cas précédent. La ligature a pleinement réussi. On ouvre les gros

troncs vasculaires et on retire avec une éponge encore environ 200 grammes de sang. Dans les deux portions de sang réunies, il n'apparaîtra probablement pas d'acide hippurique.

Les résultats de ces deux expériences correspondent pleinement à ceux des essais faits sur ce sujet par Meissner et Schepard. Nous serons conduit par ces résultats à conclure que la question du rôle du foie dans l'apparition de l'acide hippurique ne peut pas être résolue par des expériences faites sur des mammifères ; car chez ces animaux la suppression de la circulation du système porte et par cela la circulation dans certains organes est complètement arrêtée. Aussi les essais suivants sur les grenouilles, qui supportent très bien l'extirpation du foie, seront bien réussis. Mais lorsqu'on injecte aux grenouilles privées de foie une grande quantité (plus de 0,30 cgr.) d'acide benzoïque et de glycocolle, elles meurent subitement.

Troisième Expérience

Cette expérience devait servir à préciser le fait que la synthèse de l'acide hippurique se fait généralement dans l'organisme des grenouilles. On injecte 0gr.09 d'acide benzoïque sous forme de sel sodique et 0gr.06 de glycocolle dans le sac lymphatique dorsal d'une grenouille. La deuxième grenouille reçoit 0 gr. 06 d'acide benzoïque et 0gr.04 de glycocolle ; la troisième, 0gr.05 d'acide benzoïque et 0 gr. 03 de glycocolle. Dans les quinze heures, on tue toutes les trois grenouilles par l'éther, on les hache fine-

ment et on les étudie au point de vue de l'acide hippurique. La capsule de verre qui contenait les grenouilles pendant le temps d'essai est lavée, le liquide (comme on fera la même chose pour les essais suivants) mêlé avec la pâte de grenouille à étudier. Il montrera sûrement de l'acide hippurique sous forme de cristaux bien formés et microscopiques.

Quatrième Expérience

On injecte dans les sacs lymphatiques dorsaux de dix grenouilles, une dissolution de 0,52 centigrammes d'acide benzoïque sous forme de sel de soude sans glycocolle. Dans quarante heures, les animaux sont tués par l'éther, finement hachés, préparés par la même manière que les autres fois. L'acide hippurique parut.

Sans faire des injections préliminaires d'acide benzoïque dans l'organisme des grenouilles, nous ne pourrons jamais constater la présence de l'acide hippurique, quoique nous ayons pendant cinq fois fait des recherches sur l'acide hippurique au moyen des purées des dix grenouilles.

Cinquième Expérience

Au creux du ventre, incision faite à droite de la ligne blanche ; le foie est tiré au dehors, détaché et complètement extirpé. La plaie du ventre est aussitôt soigneusement suturée. Après cette opération, on ne peut remarquer chez les animaux aucun changement essentiel ; elles

sautent avec une force presque aussi grande qu'avant, ou bien sont à l'état de repos dans leur position habituelle et normale. Aussitôt après l'opération, on injecte aux neuf grenouilles en même temps, une dissolution de 0 gr. 46 d'acide benzoïque sous forme de sel de sodium et 0 gr. 30 de glycocolle dans les ganglions lymphatiques dorsaux. L'une des grenouilles meurt déjà dans deux heures, après six heures il en meurt trois autres, après vingt heures, il n'y en a plus qu'une de vivante. Ensuite elles sont toutes les neuf hachées, etc. Il apparaît une sensible quantité d'acide hippurique en beaux cristaux bien formés.

Il résulte de cet essai que le foie n'est pas le lieu déterminé où se forme l'acide hippurique. Cependant Kühn et Shepard ont désigné le foie comme étant le lieu de la synthèse d'acide hippurique, parce qu'il fournit le glycocolle pour former l'acide hippurique. Pour prouver la justesse de cette manière de voir, nous injectons aux grenouilles privées de foie, dans les essais suivants, seulement de l'acide benzoïque et pas de glycocolle.

Sixième Expérience

On extirpe le foie à neuf grenouilles et on leur injecte en même temps une dissolution de 0 gr. 50 d'acide benzoïque sous forme d'hippurate de sodium, sans injecter de glycocolle, dans les vaisseaux lymphatiques dorsaux. Les vingt heures après, il y en a encore huit de vivantes et quatre heures après seulement, six. Ensuite les dernières sont tuées avec de l'éther et toutes les neuf sont

hachées, etc. Il se forme des cristaux d'acide hippurique bien formés, mais leur quantité est de beaucoup plus petite que dans les essais précédents.

On ne fait pas de pesées, mais après une évaluation approximative, on voit que la masse contient des cristaux cinq fois plus dans les essais antérieurs que dans cet essai-ci, où on n'emploie pas de glycocolle. Les grenouilles privées de foie sont donc capables de transformer l'acide benzoïque en acide hippurique sans adjonction simultanée de glycocolle.

Cependant il est possible que les petites quantités de glycocolle unies avec l'acide benzoïque pour former de l'acide hippurique proviennent, quoi qu'il en soit, du foie. Il est probable que le glycocolle élaboré par le foie n'avait pas encore complètement disparu de l'organisme après l'extirpation du foie, avant l'injection de l'acide benzoïque. En conséquence, dans les essais suivants, nous avons laissé s'écouler un temps long entre l'extirpation du foie et l'injection de l'acide benzoïque.

Septième Expérience

Onze grenouilles privées de leur foie sont encore vivantes 20 heures après l'opération. Elles sont lavées à l'eau et après cela on injecte à chacune d'elles une dissolution de 0 gr. 01 centigramme d'acide benzoïque sous forme d'hippurate sodique dans 0,5 cc., dans les vaisseaux lymphatiques dorsaux. 10 heures après, toutes les onze sont encore vivantes; après 28 heures, il reste encore huit grenouilles vivantes. Ensuite toutes les onze sont

hachées et préparées pour l'extraction de l'acide hippurique. L'acide hippurique s'est formé. Le poids des cristaux lavés est de 0 gr. 014. Un essai où on chercha à faire vivre plus longtemps les grenouilles privées de foie, ne pouvait pas être possible ; après 2 fois 24 heures, il y avait sur douze grenouilles, environ la moitié de mortes, les autres bien mal ; après 3 fois 24 heures, elles étaient toutes mortes. Cependant on peut conclure de l'essai n° 7 que le glycocolle nécessaire à la formation de l'acide hippurique n'est pas fourni par le foie.

Huitième Expérience

Les deux reins avec les testicules sont extirpés à 14 grenouilles mâles après la ligature des gros vaisseaux qui y entrent ou en sortent ; la plaie est soigneusement suturée. Ensuite on leur injecte à chacune une dissolution de 0 gr. 12 centigrammes d'acide benzoïque sous forme de sel de soude et de 0 gr. 80 centigrammes de glycocolle dans les vaisseaux lymphatiques dorsaux. 24 heures après, il y en a encore 11 de vivantes. Elles sont toutes ensuite hâchées et ainsi de suite. Il se forme de l'acide hippurique.

Les cristaux lavés plusieurs fois à l'acide sulfurique étendu, bien formés microscopiquement, pèsent 0 gr. 252. Dans les eaux-mères il se forme aussi d'autres cristaux.

Dans l'organisme des grenouilles, les reins ne sont donc pas aussi le lieu « exclusif » de la formation de l'acide hippurique.

Neuvième Expérience

On ouvre le creux du ventre d'un chien (d'environ 4 kg.) chloroformisé par une incision suivant la ligne blanche et on lie les vaisseaux des deux reins ; la plaie du ventre est suturée, et on injecte 1 gr. 22 centigrammes d'acide benzoïque sous forme d'hippurate sodique et 0 gr. 75 centigrammes de glycocolle dans la veine jugulaire. Une heure et quart après, le chien, à qui on n'a apparemment causé aucun dommage, est tué par l'ouverture de la carotide.

Il s'écoule 270 grammes de sang. La dissection montre que la ligature a complètement réussi. Dans le sang il se trouve beaucoup d'acide benzoïque, mais pas de trace d'acide hippurique.

Dixième expérience

On lie à un chien moyen (environ 8 kg.) chloroformisé les vaisseaux des deux reins. On pénètre dans la cavité vertébrale, en suivant la marche ordinaire, en partant de la région des hanches et en ménageant le péritoine. Ensuite on injecte 2 gr. 44 d'acide benzoïque sous forme de sel de soude et 1 gr. 50 de glycocolle dans la jugulaire.

Deux heures et demie après l'ingestion, l'animal est tué par l'ouverture de la carotide. Il s'écoule 650 grammes de sang. La dissection montre que la ligature a complètement réussi. Outre le sang, on étudie encore au sujet de l'acide hippurique, le foie et la plus grande partie des muscles (environ 2/3 de tous les muscles). Il ne se forme pas même une trace d'acide hippurique ; partout on a trouvé seulement de l'acide benzoïque.

Onzième Expérience

On lie à un chien chloroformisé les deux uretères par deux ligatures. Ensuite on injecte dans la jugulaire 2 gr. d'acide benzoïque sous forme de sel de soude et 3 gr. de glycocolle. Deux heures et demie après, l'animal est tué par l'ouverture de la carotide. La dissection montre que la ligature avait complètement réussi. Le sang et les reins sont étudiés séparément pour l'acide hippurique. Dans les deux cas, il s'est formé une visible quantité d'acide hippurique à côté de l'acide benzoïque.

Douzième Expérience

On injecte 3 gr. 74 d'acide benzoïque sous forme de sel de soude et 2 gr. 30 de glycocolle dans la jugulaire à un gros chien. Une demi-heure après, l'animal est tué par ouverture de la carotide. L'urine excrétée pendant cette opération est recueillie. Dans le sang (environ 780 grammes) il

se forme à côté de l'acide benzoïque une très petite quantité d'acide hippurique, tandis que l'urine est riche en acide hippurique et ne contient pas d'acide benzoïque. Il s'ensuit de cet essai que le lieu de formation de l'acide hippurique dans l'organisme du chien est le rein. Dans le cas où d'autres organes autres que le rein produiraient de l'acide hippurique, cela pourrait être encore les glandes sudoripares qui conduisent leurs sécrétions en dehors de façon que l'acide hippurique formé en elles, après la ligature des reins, ne soit pas réabsorbé par l'organisme. Cette conclusion n'est pas tout à fait invraisemblable, car les glandes sudoripares présentent généralement une certaine analogie avec les reins et semblent pouvoir se substituer par leurs fonctions aux reins. Il n'est pas encore bien prouvé que l'acide hippurique soit contenu dans la sueur (Soksin, Meissner et Schepard ont pu démontrer l'existence de l'acide hippurique dans la sueur après l'absorption d'acide benzoïque). H. Meissner dit avoir trouvé de l'acide hippurique dans la sueur. Si l'idée de ces derniers chercheurs est prouvée, on fera la conclusion que, aussi chez les grenouilles chez qui, comme le montre l'essai 8°, l'acide hippurique se fait sans l'intervention des reins, cette formation se produit dans les glandes de la peau.

Comme preuves des idées de Meissner et Shepard, c'est que le sang normal ne renferme jamais d'acide hippurique. Nous aussi (Bunge et Schmiedeberg) dirons que dans le sang normal de bœuf, dont nous avons pris deux litres pour les recherches, nous n'avons pu trouver des traces d'acide hippurique.

E) Transformation et élimination de l'acide hippurique

L'acide hippurique doit être considéré comme un produit de déchet, arrivé à une forme définitive, puisque sa proportion dans les urines, après l'ingestion d'acide benzoïque, est en relation directe avec le poids de ce dernier. Il paraît exister un rapport inverse entre les quantités d'urée et d'acide hippurique éliminés par les urines (Henneberg et Stohmann, Meissner et Shepard, Adoue), il semblerait que la production de l'acide hippurique s'effectue aux dépens d'une substance qui sans cela donnerait de l'urée. Cette substance n'est-elle pas le glycocolle ?

L'acide hippurique ne paraît pas se dédoubler dans l'organisme ; cependant il est à remarquer que le rein, qui concourt si activement à sa production, renferme, chez les carnivores, mais non chez le bœuf et le lapin, un ferment, hystozyme, qui possède la propriété inverse de celle du tissu rénal de dédoubler l'acide hippurique en ses deux éléments constituants (Minkowski).

MM. Van der Velde et Stokwis ont attiré l'attention sur la facilité avec laquelle l'acide hippurique subit l'hydrolyse surtout dans l'urine alcaline et albumineuse, sous l'influence des ferments. Néanmoins MM. O Schmiedeberg et O. Minkowski soutiennent que l'on peut extraire du rein des divers animaux une diastase plus ou

moins active, capable d'hydrolyser l'acide hippurique avec mise en liberté d'acide benzoïque. Mais il est douteux que cette diastase, si elle existe, exerce son action pendant la vie. D'après M. Winger, elle ne prendrait naissance qu'au moment de la mort des tissus.

CHAPITRE V

VARIATIONS PHYSIOLOGIQUES ET PATHOLOGIQUES DE L'ACIDE HIPPURIQUE

De l'exposé précédent il s'ensuit que la variation physiologique dépend de trois facteurs :

1° Le plus important, c'est la nature elle-même des aliments : les aliments végétaux augmentent la synthèse de l'acide hippurique, puisque dans ces substances il y a des composés aromatiques avec une chaîne latérale oxydable dans l'économie et par cela aptes à se transformer en l'un des éléments de la synthèse, l'acide benzoïque; d'autre part, les aliments carnacés diminuent l'excrétion de l'acide hippurique, parce que les matières albuminoïdes procurent à l'organisme une quantité moindre des éléments de la synthèse. En outre, toutes les substances chimiques aptes à se transformer par l'oxydation ou par la réduction en acide benzoïque augmentent la quantité d'acide hippurique excrété par les reins. On sait qu'un même animal soumis successivement à un régime carné puis à une alimentation végétale excrète d'abord une plus grande quantité d'acide urique puis de l'acide hippurique, en même temps que les urines prennent les caractères généraux, dans le premier cas, de l'urine acide des carnivores, et, dans l'autre, de l'urine alcaline des herbivores.

2° La variation d'excrétion d'acide hippurique dépend de l'espèce animale : les herbivores (surtout ruminants) excrètent une quantité beaucoup plus grande que les carnivores, non seulement parce qu'ils sont au régime herbacé exclusif, mais encore parce que le pouvoir synthétique de leur organisme est supérieur à celui des carnivores.

3° La variation d'excrétion dépend aussi de l'état de santé de l'individu de l'organisme animal ou humain. Si par exemple l'organe, producteur de la synthèse, le rein, est troublé dans ses fonctions par une cause quelconque, si les cellules épithéliales sont lésées, dégénérées, dans un pareil cas la sécrétion de la diastase de recomposition sera annihilée ou diminuée et la synthèse ou ne se produira pas ou l'excrétion de l'acide hippurique diminuera, malgré que les deux premiers facteurs y existent. Ce qui est prouvé par les recherches et les observations de différents auteurs...

A l'état pathologique l'acide hippurique augmente notablement dans l'urine des fortes fièvres (peut-être, parce que l'oxydation est augmentée et par cela la quantité des générateurs est plus grande), qui lui doivent la plus grande partie de leur réaction acide (Lehmann, Blumenthal, Lewin) ; d'après d'autres, comme Weissmann, Weyl et Anrep, il y a une diminution d'excrétion dans les affections du foie, le diabète, la chorée, etc. D'après Lewin cette même excrétion est normale dans le diabète et le rhumatisme, dans la périty phlite, il y a une augmentation de la quantité d'acide hippurique dans les urines humaines. Lewin a constaté la présence de plus de 2 grammes d'acide hippurique dans la périty phlite, tandis que dans la convalescence il n'y avait que 0 gr. 22 centigrammes et dès que la convalescence a commencé, les gardes robes devenaient normales. Cela s'explique par ce

fait que dans la périthyphlite la fermentation intestinale est augmentée et par cela la formation de l'acide benzoïque, générateur d'acide hippurique.

Blumenthal a trouvé les plus grands chiffres dans l'érysipèle, soit 1 gr. 1 à 0 gr. 9.

Dans les maladies du rein, Lewin a trouvé un petit accroissement. Jaarsfeld et Stœwis ont trouvé dans la néphrite parenchymateuse une très grande diminution d'excrétion; dans les cas de reins amyloïdes, excrétion peu considérable et dans le cas de rein scléreux l'absence complète d'acide hippurique (néphrite interstitielle).

Chez les leucémiques, de la Camp a constaté 0,18, 0 gr. 60 centigrammes. La quantité augmente aussi dans les entérites, ou toutes les maladies générales accompagnées d'entérite, parce que les lésions intestinales augmentent la fermentation putride et par suite d'excrétion de l'acide hippurique.

Moi-même j'ai trouvé l'absence complète, avant l'administration de benzoate sodique dans un cas d'albuminurie gravidique grave; diminution après l'administration de benzoate (un seul dosage) dans un cas de pyélonéphrite.

J'ai entrepris des recherches sur des malades au point de vue de l'élimination de l'acide hippurique; mais pour me faire une idée plus juste, j'ai étudié le pouvoir synthétique chez l'homme normal; pour cela j'ai fait des expériences sur moi-même. En même temps, j'ai étudié l'influence du travail musculaire sur la synthèse de l'acide hippurique.

Je commence par exposer les expériences et les résultats chez l'homme normal, puis je ferai la même chose pour les quatre malades que j'ai étudiés.

I. — Expériences sur l'homme normal

A. — *Avant l'administration de benzoate de sodium*

Première Expérience

Urines de 24 heures : 1.332 centimètres cubes à réaction acide, jaune-orangé claire, pas d'albumine ni de glucose. Régime mixte.

Par la méthode de Bunge et Schmiedeberg, sur un essai de 1.000 centimètres cubes, j'ai constaté qu'il y a des traces visibles d'acide hippurique, pas de graisse ni d'acide benzoïque.

Deuxième Expérience

Urines de 24 heures : 1077 centimètres cubes, réaction nettement acide, caractères les mêmes que dans l'essai précédent. Régime carné.

Par la méthode de Bunge et Schmiedeberg sur un essai de 1.000 centimètres cubes j'ai déterminé 0 gr. 012 et 0 gr. 02 centigrammes par 24 heures d'acide hippurique ; il y avait un peu de chromogène insensible ; pas de graisse ni d'acide benzoïque.

Troisième Expérience

Influence du travail musculaire sur l'élimination de l'acide hippurique

Urines de 24 heures : 1.120 centimètres cubes à réaction nettement acide, rouge orangé, trouble, précipité blanc rosé (de phosphate tricalcique). 20 kilom. de bicyclette. Régime mixte.

Par la méthode de Bunge et Schmiedeberg la quantité d'acide hippurique dans l'essai de toutes les urines de 24 heures = 0 gr. 2.568. Pas d'acide benzoïque ni de graisse.

B. *Expériences après l'administration du benzoate de sodium*

Première Expérience

Urines de 24 heures : 1.000 centimètres cubes à réaction nettement acide, rouge-orangé, claires, transparentes, conservées par le chloroforme. Benzoate de sodium administré : 2 grammes. Régime mixte, fruits, peu de cerises.

Par la méthode de Bunge et Schmiedeberg la quantité d'acide hippurique de l'essai d'urine qui représentait toutes les urines de 24 heures, environ 1.000 centimètres cubes = 0 g. 4447 d'acide hippurique, sans la moindre

trace d'acide benzoïque et de graisse ; des traces insignifiantes de chromogènes.

Deuxième Expérience

Urines de 24 heures : 1.000 centimètres cubes ; urines à réaction nettement acide, jaune-orangé, claires, conservées par quelques gouttes de chloroforme. Benzoate administré : 4 grammes (2 à dîner et 2 à souper). Régime mixte, fruits, un peu de cerises.

Par la méthode de Bunge et Schmiedeberg, la quantité d'acide hippurique éliminée par 24 heures = 0 g. 9998 d'acide hippurique ; pas d'acide benzoïque ni de graisse.

Troisième Expérience

Urines de 24 heures : 1.135 centimètres cubes nettement acide, jaune-orangé pâle, claires et transparentes, conservées par le chloroforme. J'ai pris à la fois 2 grammes de benzoate de sodium et encore 2 grammes de glycocolle. Régime mixte, fruits, peu de cerises.

Par la méthode de Bunge et Schmiedeberg d'un essai de 1.000 centim. cubes, j'ai déterminé :

0 gr. 6858 d'acide hippurique dans l'essai (1000 cc.)
0 gr. 7784 — par 24 heures.

Quatrième Expérience

Urines de 24 heures : 800 centim. cubes à réaction acide, claires, rouge-orangé, conservées par le chloroforme. J'ai pris à l'intérieur 2 grammes de benzoate de sodium et j'ai fait 60 kilom. de bicyclette. Régime mixte : fruits, peu de cerises.

Le dosage est perdu ; mais l'expérience est intéressante au point de vue qualitatif. Je n'ai constaté que de l'acide hippurique ; pas même de trace d'acide benzoïque, ni de graisse.

Cinquième Expérience

Influence du travail musculaire sur l'excrétion de l'acide hippurique.

Urines de 24 heures : 800 centim. cubes, à réaction nettement acide, transparentes, jaunes-orangées foncées, conservées par le chloroforme. Benzoate de sodium administré = 4 grammes. Régime mixte ; fruits, peu de cerises et de fraises. 100 kilom. de bicyclette.

Par la méthode de Bunge et Schmiedeberg d'un essai de 500 centimètres cubes, la quantité d'acide hippurique excrété par les reins :

1 gr. 0796 dans 500 cc. d'essai.
1 gr. 727 par 24 heures.

II — Expériences sur les malades

A. — *Avant l'administration de benzoate de sodium*

Première Expérience

Première malade. — Femme âgée de 28 ans, entrée à l'hôpital (service de M. le professeur Grasset) pour se soigner d'une albuminurie gravidique, suite de couches, succombe au cours de sa maladie, au début de mes expériences. Je ne fais que des recherches qualitatives. La malade est au régime lacté. Urines jaunes pâles à réaction nettement acide, conservées par iodure mercurique ; elle urine mal. Les urines contiennent de l'albumine, pas de glucose.

Par la méthode de Vogel et Neubauer je n'ai pas pu arriver à constater d'acide hippurique, pas d'acide benzoïque ni de graisse.

B. — *Après l'administration de benzoate de sodium*

Deuxième Expérience

Urines de 24 heures, 1000 centimètres cubes à réaction acide, jaunes pâles, troubles, renfermant de l'albumine, conservées par l'iodure mercurique. Benzoate de sodium, 1 gramme par jour. Régime lacto-végétarien déchloruré,

plus un rein de cochon décortiqué par jour. Urine d'essai, 800 centimètres cubes.

Par la méthode d'extraction de l'acide hippurique des urines humaines (Vogel, Neubauer), j'ai constaté qu'il y a dans les urines de cette malade en même temps de l'acide hippurique et de l'acide benzoïque.

Troisième Expérience

Urines de vingt-quatre heures : 500 centimètres cubes, à réaction nettement acide, jaunes pâles troubles, contenant de l'albumine, conservées par l'iodure mercurique Benzoate de sodium administré : 1 gramme par vingt-quatre heures. Régime déchloruré : purée, œufs. Un rein de cochon décortiqué par jour.

Par la méthode de Bunge et Schmiedeberg, j'ai constaté, par le microscope, de l'acide hippurique et de l'acide benzoïque.

2e malade. — Fillette de 12 ans, service de M. le professeur Estor, avec de l'ostéite tuberculeuse de l'os coxal suppurée depuis dix ans. Elle a succombé au cours de sa maladie (cachexie). Je n'ai réussi qu'à prendre une seule fois de l'urine, avant l'administration du benzoate. Après l'autopsie, j'ai constaté la dégénérescence amyloïde des reins, de la rate et du foie.

Première Expérience

Avant l'administration de benzoate

Urines de 24 heures : 600 centimètres cubes, nettement acide, jaunes-orangées, foncées, contenant de l'albumine, conservées par le chloroforme.

Par la méthode de Bunge et Schmiedeberg, j'ai constaté de l'acide benzoïque, pas de trace d'acide hippurique.

3e malade. — Garçon âgé de 17 ans, avec une coxalgie unilatérale, suppurée depuis deux ans.

A. — *Avant l'administration du benzoate de sodium*

Première Expérience

Urines de 24 heures : 500 centimètres cubes, rouge orangé, très foncées, transparentes, à réaction nettement acide, conservées par le chloroforme. Elles ne contiennent pas d'albumine, ni de glucose. Régime mixte.

Par la méthode de Bunge et Schmiedeberg, la quantité de l'acide hippurique excrétée par 24 heures est : 0 gr. 10 d'acide hippurique. Pas d'acide benzoïque, ni de graisse.

Deuxième Expérience

Urines de 24 heures. — 500 cc., à réaction nettement acide, rouges orangées, transparentes, conservées par le chloroforme Régime mixte. Pas d'albumine, ni de glucose dans les urines.

Par la méthode de Bunge et Schmiedeberg, la quantité d'acide hippurique excrétée par 24 heures :

0 gr. 0564 d'acide hippurique

Pas d'acide benzoïque ni de graisse

B. — *Après l'administration du benzoate de sodium.*

Première Expérience

Urine de 24 heures. — 670 cc., à réaction nettement acide, rouges orangées, transparentes, pas d'albumine, ni de glucose, conservées par le chloroforme. Benzoate administré : 1 gramme par 24 heures. Régime mixte. Pas de fruits.

Par la méthode de Bunge et Schmiedeberg, j'ai déterminé la quantité d'acide hippurique dans l'urine d'essai de 600 cc.

0 gr. 10 par 600 cc. d'urine
0 gr. 1118 par 24 heures.

Deuxième Expérience

Urines de 24 heures. — 1.000 centimètres cubes, à réaction nettement acide, jaunes orangées, transparentes, conservées par le chloroforme. Pas d'albumine. Régime mixte. Benzoate administré : 2 gr. par 24 heures.

Par la méthode de Bunge et Schmiedeberg j'ai déterminé la quantité d'acide hippurique excrété par 24 heures : 0 gr. 545 d'acide hippurique.

Pas d'acide benzoïque, ni de graisse.

Troisième Expérience

Urines de 24 heures. — 1.300 centimètres cubes, à réaction nettement acide, jaunes, citrines, transparentes, ne contenant pas d'albumine, ni de glucose, conservées par le chloroforme. Le benzoate administré : 1 gr. par 24 heures. Régime mixte.

Par la méthode de dosage de Bunge et Schmiedeberg la quantité d'acide hippurique dans l'essai d'urine, 1.000 centimètres cubes, est : 0 gr. 024.

La quantité d'acide hippurique excrétée par 24 heures : 0 gr. 0312.

Quatrième Expérience

Sans l'administration de benzoate de sodium.

Urines de 24 heures. — 618 centimètres cubes, à réaction nettement acide, jaunes orangées, transparentes, ne contenant ni d'albumine, ni de glucose, conservées par le chloroforme. Régime mixte.

Par la méthode de dosage de Bunge et Schmiedeberg la quantité d'acide hippurique de l'essai d'urine, 500 centimètres cubes, est : 0 gr. 0345.

La quantité d'acide hippurique excrétée par 24 heures est de 0 gr. 0426, à peu près la même qu'avant l'administration de benzoate de sodium.

4e malade. — Femme âgée de 22 ans, après une couche, est entrée à l'hôpital, dans le service de M. le professeur Carrieu, pour soigner une pyélonéphrite. En outre, elle accusait une douleur vive du côté du péritoine. (On a pensé au début à une péritonite tuberculeuse et tuberculose rénale [?]).

A. — *Avant l'administration du benzoate de sodium*

Première Expérience

Urines de 24 heures. — 1.666 centimètres cubes, à réaction nettement acide, jaunes citrines, transparentes, conservées par le chloroforme. Régime mixte (lait, cervelle, etc.). Pas d'albumine, ni de glucose.

Par la méthode de Bunge et Schmiedeberg (urines d'essai 1.000 centimètres cubes), je ne pouvais pas déterminer la quantité d'acide hippurique parce que, au cours du dosage, il s'est produit une perte de substance ; mais quoi qu'il en soit, j'ai laissé cet essai comme qualitatif. Chose très intéressante, j'ai constaté par le microscope, dans le résidu cristallin, non seulement de l'acide hippurique, mais encore de l'acide phénacéturique (C^6H^5. CH^2. CO. AzH. CH^2. COOH.), qui, après l'administration de benzoate de sodium, a disparu des urines de cette malade. D'après Salkowski, l'acide phénacéturique est excessivement rare dans les urines humaines. Cet auteur ne l'a rencontré que peu de fois dans l'urine humaine.

Par la méthode de dosage de Blumenthal et Salkowski dans l'urine d'essai de 300 centimètres cubes de même prise, j'ai déterminé la quantité d'acide hippurique qui est :

$$P\ (300) = 17{,}9 \times 9 = 0\ \text{gr.}\ 161$$

La quantité excrétée en 24 heures sera :

$$P\ (24) = 0\ \text{gr.}\ 894$$

Il faut ajouter ici, que dans cet essai j'ai dosé sans savoir d'avance (par faute de méthode), non seulement de l'azote contenu dans la molécule de l'acide hippurique, mais encore l'azote contenu dans celle d'acide phénacéturique.

Voilà pourquoi la quantité de l'acide hippurique déterminée par cette méthode ne correspond pas à la quantité réelle, mais lui est supérieure.

B. — *Après l'administration du benzoate de sodium*

PREMIÈRE EXPÉRIENCE

Urines de 24 heures : 1.175 centimètres cubes, à réaction nettement acide, jaunes orangées, un peu troubles, conservées par le chloroforme. Ces urines contiennent des traces d'albumine. Benzoate de sodium administré : 2 grammes par 24 heures. Régime mixte.

Dans les 500 centimètres cubes d'urine d'essai par la méthode de Bunge et Schmiedeberg, j'ai constaté de l'acide hippurique et en même temps de l'acide benzoïque ; pas de graisse.

Par la méthode de Jaarsfeld et Stknwis dans un essai de 500 centimètres cubes de même urine j'ai déterminé :

0 gr. 0824 d'acide benzoïque dans l'essai de 500 cc., d'où 0 gr. 1938 d'acide benzoïque éliminé par 24 heures.

D'autre part la quantité d'acide hippurique contenu dans l'urine d'essai : 500 centimètres cubes : 0 gr. 2768 $\times$ 1,46 = 0 gr. 4035 d'acide hippurique, d'où 0,2768 est la quantité d'acide benzoïque provenu du dédoublement. D'où la quantité éliminée par 24 heures par les reins de cette malade sera : 0 gr. 9482 d'acide hippurique.

Il faut ajouter ici que la nature chimique des cristaux de dosage est prouvée non-seulement par le microscope, mais par tous les caractères chimiques de l'acide hippurique et l'acide benzoïque.

Après ce court résumé de mes recherches personnelles,

puis-je tirer des indications utiles ? Y a-t-il des faits bien établis desquels peut profiter la clinique ? Le dosage de l'acide hippurique éliminé par les urines des malades rénaux, pourrait-il avoir une valeur de diagnostic ou de pronostic ? Je ne le crois pas. Ce que je peux dire, c'est que mes recherches sont insuffisantes pour poser des conclusions avec certitude à ce point de vue. Il faut beaucoup de temps, beaucoup de malades rénaux de différentes gravités, et beaucoup de moyens pour arriver à l'état de certitude. Je ne disposais d'aucune de ces conditions. D'autres facteurs entrent en scène qui rendent la question encore plus compliquée. C'est qu'il n'est pas seulement prouvé que chez l'homme le rein est l'unique lieu de la synthèse hippurique; il est probable que d'autres tissus, d'autres organes ont la même propriété. Si son pouvoir synthétique n'est pas prédominant, il est au moins secondaire et cela suffit pour rendre la tâche plus complexe.

Ce que je peux dire, c'est que tous mes malades, excepté la première, excrétaient de l'acide hippurique avant l'administration de benzoate de sodium. Après l'administration de benzoate sodique, tous mes malades, sans exception, excrétaient plus ou moins de l'acide hippurique par les reins.

Il y a un fait établi par mes recherches, auxquelles je donne une importance assez considérable : c'est que la première et la quatrième de mes malades (avec lésion de rein établie par la clinique) après l'administration d'une quantité insignifiante de benzoate sodique excrétaient par les reins de l'acide benzoïque. Je suis persuadé aussi que la seconde petite malade (dégénérescence amyloïde) de qui j'ai pris une seule fois l'urine, puisqu'elle a succombé, aurait éliminé de l'acide benzoïque par les reins.

(après l'administration du benzoate). D'autre part, d'après Vogel et Neubauer, normalement l'acide benzoïque ne doit pas exister dans les urines (chez l'homme normal). Et, en effet, je n'ai pas trouvé d'acide benzoïque après l'administration de benzoate dans les urines de l'homme normal et chez le malade n° 3, à qui je suis persuadé que le rein n'est pas lésé (pas d'albumine dans ses urines).

L'acide benzoïque trouvé dans les urines de ces malades ne peut pas venir du dédoublement d'acide hippurique, parce que les urines des mêmes malades, avec les mêmes méthodes de recherches avant l'administration de benzoate de sodium, ne contenaient pas d'acide benzoïque; parce que le dédoublement est évité par les méthodes, si on les a bien effectuées, et parce que la réaction des urines était toujours acide; en même temps les urines étaient toujours conservées par un antiseptique.

En un mot, je peux dire que autant la quantité de benzoate de sodium est plus petite pour l'apparition de l'acide benzoïque dans les urines d'un rénal, autant la lésion du rein est plus étendue, autant le pronostic est plus sombre.

Mes expériences sont insuffisantes pour exprimer cette conclusion avec certitude. L'autre fait que j'ai établi avec certitude cette fois, c'est que le travail musculaire augmente l'excrétion d'acide hippurique chez l'homme normal et avant l'administration du benzoate, et après son administration ; deux de mes expériences le prouvent : De 0,02 centigrammes pour 24 heures avant l'administration du benzoate, la quantité est passée à 0,25 cgr., par conséquent 10 fois plus environ, après une course en bicyclette de 20 kilom. Cela ne pourrait pas s'expliquer par le régime, puisque le régime sans travail musculaire et avec celui-ci était le même toujours.

En finissant ce chapitre, je dois dire qu'il est excessivement intéressant d'étudier l'élimination du benzoate de sodium par les reins cancéreux.

J'ai cherché des malades avec des cancers du rein, mais je n'ai pas eu la chance d'en trouver.

CONCLUSIONS

Du court exposé qui vient d'être fait, je puis tirer les conclusions suivantes :

1° L'acide hippurique est un élément normal des urines des herbivores et des carnivores, l'homme inclus ; en plus faible quantité chez les derniers, en beaucoup plus grande chez les premiers, où il remplace l'acide urique des carnivores ;

2° L'acide hippurique résulte de la synthèse du glycocolle avec l'acide benzoïque dans l'organisme animal, le lieu de la formation prédomine dans les reins. La synthèse se produit sous l'influence d'une diastase de recomposition, sécrété par les cellules épithéliales du rein.

3° L'origine des éléments de cette synthèse peut être résumé comme suit : l'acide benzoïque provient de l'oxydation, dans l'économie, des composés aromatiques, apportés en plus grande quantité par les aliments végétaux dans la molécule desquels il y a un radical ($C^6H^5C\equiv$) oxydable ; ces composés ou peuvent être apportés et absorbés tout prêts par le tube digestif, ou ils résultent de la fermentation digestive des matières protéiques (en plus faible quantité). L'autre élément de la même synthèse, le glycocolle, est toujours un élément de déchet de désassimilation des matières albuminoïdes.

4° L'acide benzoïque ingéré augmente proportionnellement la quantité d'acide hippurique excrété ;

5° Le travail musculaire avant ou après l'administration du benzoate de sodium augmente l'excrétion de l'acide hippurique chez l'homme normal ;

6° Il existe un rapport inverse entre l'exercice de l'acide hippurique et l'excrétion de l'acide urique.

7° Si l'on administre beaucoup d'acide benzoïque, le glycocolle, destiné à la synthèse de l'acide urique, fera celle de l'acide hippurique ; ainsi la quantité d'acide urique excrétée sera diminuée (Weiss). D'où l'indication de l'administration du benzoate de soude pour le traitement rationnel de la diathèse urique.

8° D'après Jaarsfeld et Stocwis, dans le cas de néphrite interstitielle l'acide hippurique manque dans les urines. D'où, je crois que l'on peut tirer un moyen de diagnostic différentiel entre la néphrite parenchymateuse et la néphrite interstitielle, lorsque la lésion est assez avancée.

9° D'après mes recherches, qui sont insuffisantes pour faire une conclusion avec certitude, l'acide benzoïque est éliminé en état naturel par les reins lésés. Je pense que, autant la quantité de benzoate sodique administrée est moindre, pour l'apparition de l'acide benzoïque dans les urines d'un rénal, autant la lésion rénale est plus étendue, autant le pronostic est plus sombre.

BIBLIOGRAPHIE

1. Bunge et Schmiedeberg. — Arch. f. exper. Path. u. Pharm., t. 6, p. 233, 1866.
2. Bunge. — Cours de chimie biologique et pathologique, p. 274, 1891.
3. Armand Gautier. — Chimie appl. à la phys., à la path. et à l'hyg., t. II, 1874.
4. — Chimie biologique.
5. — Cours de chimie organique.
6. Armand Gautier et J. Albahary. — Cent vingt exercices de chimie pratique.
7. P. Schutzenberger. — Chimie app. à la phys. anim., à la path. et au diagnostic médical.
8 à 28. — Hoppe-Sayler. — Zeit. Zeitschriff. für Phys. Chemie, tomes I à XX.
29. Revue des sciences médicales en France et à l'étranger (1897-98).
30. A. Behal. — Chimie organique, t. I et II.
31. E. Gérard. — Traité des urines.
32. Auguste Létienne et Jules Masselin. — Précis d'urologie clinique.
33. E. Fichère. — Guide de préparation (en russe) chimique.
34. L. Hugounec. — Précis de chimie phys. et pathologique.
35. G. Neubauer et J. Vogel. — De l'urine et des sédiments urinaires, 1877.
36. Neubauer et M. Vogel. — Analyse des Harns, 1898.
37. Berthelot. — Chimie organique.
38. — Synthèse de chimie organique, I.
39. — — — , II.
40. Engel et Moitessier. — Chimie biologique.

41. W.-D. Halliburton. — Traité de chimie physiologique et pathol.
42. Mémoires de la Société de biologie (t. 1, p. 50, 1900).
43. Ch. Bouchard. — Traité de pathologie générale (t. V, p. 111, 287, 18).
44. Dr Ferdinand Blumenthal. — Pathologie des Harns, 1903.
45. A. Wurtz. — Dictionnaire de chimie, t. II (H — P).
46. — Supplément du dictionnaire. Deuxième partie (G-Z).
47. — Deuxième supplément au Dictionnaire de chimie pure et appl. (p. 133, 1903).
48. — Zeitch. Für Phys. Chemie (Hoppe-Sayler), t. 37 (p. 427-441, 1903).
49. Frémy. — Encyclopédie chimique (Physiologie chimique), t. I, 1882.
50. — Encyclopédie chimique (Physiologie chimique), t. II, 1892.
51. Denigès. — Chimie analytique, 1903.
52. G. Denigès. — Dosage de Az total sans appareil distillateur (Bulletin de la Société de Bordeaux, mars 1903).
53. Bulletin de la Société chimique de Paris, n° 5, mars 1903. p. 463-464 ; n° 23, 5 décembre 1903, p. 1287.

Vu et permis d'imprimer
Montpellier, le 12 juillet 1904
Le Recteur,
Ant. BENOIST.

Vu et approuvé:
Montpellier, le 13 juillet 1904.
Le Doyen,
MAIRET.

MONTPELLIER. — IMPRIMERIE GUSTAVE FIRMIN, MONTANE ET SICARDI — 2-1706

SERMENT

En présence des Maîtres de cette Ecole, de mes chers condisciples, et devant l'effigie d'Hippocrate, je promets et je jure, au nom de l'Être suprême, d'être fidèle aux lois de l'honneur et de la probité dans l'exercice de la Médecine. Je donnerai mes soins gratuits à l'indigent, et n'exigerai jamais un salaire au-dessus de mon travail. Admis dans l'intérieur des maisons, mes yeux ne verront pas ce qui s'y passe ; ma langue taira les secrets qui me seront confiés, et mon état ne servira pas à corrompre les mœurs ni à favoriser le crime. Respectueux et reconnaissant envers mes Maîtres, je rendrai à leurs enfants l'instruction que j'ai reçue de leurs pères.

Que les hommes m'accordent leur estime si je suis fidèle à mes promesses ! Que je sois couvert d'opprobre et méprisé de mes confrères si j'y manque !

DÉGÉNÉRESCENCE MALIGNE
DES NÆVI

PERSONNEL DE LA FACULTÉ

MM. MAIRET (✻)..... DOYEN
TRUC..... ASSESSEUR

PROFESSEURS

Clinique médicale.....	MM. GRASSET (✻).
Clinique chirurgicale.....	TEDENAT.
Clinique obstétricale et gynécologie.....	GRYNFELTT.
— — M. VALLOIS (ch. du cours).	
Thérapeutique et matière médicale.....	HAMELIN (✻).
Clinique médicale.....	CARRIEU.
Clinique des maladies mentales et nerveuses....	MAIRET (✻).
Physique médicale.....	IMBERT.
Botanique et histoire naturelle médicale.....	GRANEL.
Clinique chirurgicale.....	FORGUE.
Clinique ophtamologique.....	TRUC.
Chimie médicale et pharmacie.....	VILLE.
Physiologie.....	HEDON.
Histologie.....	VIALLETON.
Pathologie interne.....	DUCAMP.
Anatomie.....	GILIS.
Opérations et appareils.....	ESTOR.
Microbiologie.....	RODET.
Médecine légale et toxicologie.....	SARDA.
Clinique des maladies des enfants.....	BAUMEL.
Anatomie pathologique.....	BOSC.
Hygiène.....	H. BERTIN-SANS.

DOYEN HONORAIRE : M. VIALLETON.
PROFESSEURS HONORAIRES : MM. JAUMES, PAULET (O. ✻), E. BERTIN-SANS (✻
SECRÉTAIRE HONORAIRE : M. GOT.

CHARGÉS DE COURS COMPLÉMENTAIRES

Accouchements.....	MM. PUECH, agrégé.
Clinique ann. des mal. syphil. et cutanées.....	BROUSSE, agrégé.
Clinique annexe des maladies des vieillards...	VIRES, agrégé.
Pathologie externe.....	L. JEANBRAU, agrégé.
Pathologie générale.....	RAYMOND, agrégé.

AGRÉGÉS EN EXERCICE

MM. LECERCLE	MM. PUECH	MM. VIRES
BROUSSE	VALLOIS	L. IMBERT
RAUZIER	MOURET	VEDEL
MOITESSIER	GALAVIELLE	JEANBRAU
DE ROUVILLE	RAYMOND	POUJOL

M. IZARD, *secrétaire*.

EXAMINATEURS DE LA THÈSE
MM. FORGUE, *président*.
GILIS.
L. IMBERT.
JEANBRAU.

La Faculté de médecine de Montpellier déclare que les opinions émises dans les Dissertations qui lui sont présentées doivent être considérées comme propres à leur auteur ; qu'elle n'entend leur donner ni approbation ni improbation.