

ÉRTESÍTŐ

AZ ERDÉLYI MŰZEUM-EGYLET ORVOS-TERMÉSZETTUDOMÁNYI SZAKOSZTÁLYÁBÓL.

I. ORVOSI SZAK.

XXVII. kötet.

1905.

I—III. füzet.

KÖZLEMÉNY A BERLINI EGYETEM I. CHEMIAI INTÉZETÉBŐL.

Igazgató: FISCHER EMIL tnr.

A napraforgómag „edestin-“jének savhydroly- sise és mesterséges emésztése pankreasnedvvel.*

ABDERHALDEN EMIL intéz.-től és REINBOLD BÉLA dr.-tól.

A fehérjemolekula aminosavai, illetve ezek különböző csoportjai pankreas-fermentum irányában igen különböző módon viselkednek. Mig pl. a tyrosin, a hasnyál igen rövid ideig tartó behatására is lehasad a fehérje molekulából, addig α -pyrrolidin-carbonsavat és phenylalanint hetekig tartó pankreasemésztés után sem lehetett az emésztett keverékben kimutatni.¹

Nem érdektelen a kérdés, hogy vajjon azon többi aminosavak képződése tekintetéből, melyek a fehérje pankreasemésztése rendén kimutathatók, található-e bizonyos időbeli sorrend?

Ennek megállapítása céljából a következő terv szerint dolgoztunk: Ismert összetételű fehérjét bélnedv hozzáadása útján aktivált pankreasnedvvel² mesterséges emésztésnek vetettünk alá; az emésztési keverékből egyes részleteket különböző időben kivettünk és dialysáltunk. A dialysatumokból az összetettebb vegyületeket phosphorwolframsavval kiesaptuk és a szüredékben az egyes monoaminosavak mennyiségét meghatároztuk.

* Az E. M. E. orvos természettudományi szakosztályának 1905. évi május hó 19.-én tartott orvosi szakülésén bemutatta UDRÁNSZKY LÁSZLÓ tnr.

¹ FISCHER E. és ABDERHALDEN E. Zeitschr. f. physiol. Chem. XXXIX. K. 81. 1. és XL. K. 215. 1. 1903.

² A hasnyálat PAWLOW tnr. volt szíves rendelkezésünkre boesájtani, miért is neki e helyen is köszönetet mondunk.

Ilyen kísérletet egyelőre csak a tyrosinra vonatkozólag fejezhettünk be. Úgy találtuk, hogy a tyrosin a fehérje molekulából meglehetősen gyorsan és teljesen lehasad és csak kis része marad összetett dialysálható vegyületek alakjában, kötött állapotban. Az emésztett keverék nem dialysálható részében teljes savhydrolysis után sem lehetett számbavehető mennyiségű tyrosint kimutatni.

Szintén igen gyorsan és nagy mennyiségben szabadúl fel az edestin pankreas-emésztése rendén a glutaminsav.

Az emésztett keverékek nem dialysálható része annál kisebb volt, minél hosszabb ideig tartott az emésztés. Úgy látszott azonban, hogy az emésztés tartamának nincs befolyása a phosphorwolframsavval kicsapható termékek mennyiségére; ez ugyanis a különböző ideig tartó kísérletekben állandó maradt, illetve az emésztés tartamának növekvésével csak esekély esökénést mutatott.

Kísérleti rész.

Kísérleteinkhez napraforgómagból előállított „edestint“ használtunk. Minthogy készítményünknek összetétele még nem volt ismeretes, meghatároztuk a benne található monoaminosavak mennyiségét. Találtunk benne *glykokoll-t*, *alanin-t*, *amino-valeriánsav-at*, *α-prolin-t*,¹ *leucin-t*, *glutaminsav-at*, *asparaginsav-at*, *phenylalanin-t*, *tyrosin-t* és *serin-t*. Edestinünk összetétele mennyiségileg is hasonló volt az eddig ismert edestinekéhez.

I. A napraforgómag edestinjének savhydrolysis. 1000 gr. napraforgómag-edestint, mely 12·0% vizet és 0·3% hamualkatrészt tartalmazott, visszafolyó hűtőcső alkalmazása mellett 6 órán át főztünk 3 liter füstölő sósavval (fajs.: 1·19). A sötétbarna folyadékot körülbelül felényire bepároltuk és jég között lehűtöttük, mire bőséges mennyiségű glutaminsavchlorhydrát jegecedett ki. Ezt az anyalúgtól külön választván, tömény sósavval mostuk és forró vízben feloldottuk. Az oldatot esontszénnel szintelenítettük és hűtés közben sósavgázzal telítettük. A csaknem teljesen szintelen oldat jég között lehűtve, kristályos tömeggé merevedett. Ilyen módon 100 gr. tiszta glutaminsavchlorhydrátot

¹ α-pyrrolidincarbonsav.

nyertünk. A szabad sav előállítására ezéljából a chlorhydrát egy részletét sárga ólomoxyddal főztük, a feloldódott ólmot kénhydrogeniummal kicsaptuk és az ólomkénegről leszűrt folyadékot kezdődő kristályosodásig bepároltuk.

A termék elemzésekor

0.1725 gr.: 0.2574 gr. CO_2 -t és 0.0948 gr. H_2O -t adott.

Találtunk tehát 40.70% C-t és
6.06% H-t.

$\text{C}_5\text{H}_9\text{NO}_4$ tartalmaz 40.82% C-t és
6.12% H-t.

A glutaminsavchlorhydrát anyalúgiát alacsony nyomáson és hőmérséken bepároltuk, alkohollal és száraz sósavgázzal elesteresítettük, az estereket szénsavas káliummal szabadabbá tettük és FISCHER eljárása szerint részletenként lepároltuk. E közben a következő részleteket kaptuk:

| | | | |
|------|-----------------------------|----------------------|-----------|
| I. | 0—60° (vízfürdő hőfoka) | 13 mm. Hg. nyomáson: | 60.0 gr. |
| II. | 60—100° | 13 " " " | : 55.6 " |
| III. | 100—105° (olajfürdő hőfoka) | 0.5 " " " | : 197.0 " |
| IV. | 105—190° | 0.5 " " " | : 140.0 " |

110 gr.-nyi sötétbarna maradék nem volt lepárolható.

Az I. részletben sok alkohol volt. Kétszeres mennyiségű tömény sósavval keverve vízfürdön teljesen bepároltuk, a maradékot egyenlő súlyú absolutus alkoholban feloldottuk és az oldatot száraz sósavgázzal telítettük. Hosszantartó erős lehűtés után, mi közben a jegecedést egy glykokoll-aethylesterchlorhydrát-kristály hozzáadásával is segítettük, az egész folyadék kristályos tömeggé állt össze. Kaptunk 21.5 gr. szabad glykokollnak megfelelő mennyiségű glykokollesterchlorhydrátot.

Ennek 0.1904 gr.-ja elégetve 0.2412 gr. CO_2 -t és 0.1245 gr. H_2O -t adott.

Találtunk tehát 34.55% C-t és
7.27% H-t.

$\text{C}_4\text{H}_{10}\text{NO}_2\text{Cl}$ tartalmaz 34.41% C-t és
7.17% H-t.

Az olvadáspontot 144° C-on (jav.) találtuk.

A sósavas glykokollester anyalúgijából a sósavat ólom-oxyddal főzés útján eltávolítottuk, a feloldódott ólmot kénhydrogeniummal kicsaptuk és az ólomkénegről leszűrt folyadékot bepároltuk. 2·5 gr.-nyi maradékot kaptunk, mely 293° C-on (javítás nélkül) olvadt és sajátságaiából ítélve nagyobb részében alanin lehetett.

A II. részletet, valamint a következőt is, ötszörös mennyiségű vízzel 8 óráig főztük és ezzel az estereket elszappanosítottuk. Az elszappanosított folyadékot alacsony nyomáson teljesen bepároltuk és absolutus alkohollal kivontuk. Az alkoholos kivonatot — mely az α -prolint tartalmazta, egyesítettük a következő részlet hasonló módon nyert alkoholos kivonatával. Az alkoholban nem oldható maradék túlnyomó részben alaninból (22·0 gr.) továbbá aminovaleriansavból (5 gr.) és leucinből (3·5 gr.) állott; ezeket az aminosavakat első sorban átjegeczítés útján igyekeztünk egymástól elkülöníteni. Elég könnyen sikerült így a leucint különválasztani; sokkal nehezebb volt azonban az aminovaleriansav és alanin elkülönítése.

A réz-sók előállításával és ismételt részletenkénti átjegeczítés útján sikerült egyfelől olyan anyagokhoz jutni, melyek az alanint megközelítő elemi összetételt mutattak, másfelől olyanokhoz, melyeknek réz-sói egészen jól egyeztek az aminovaleriansavas rézzel. Hogy tiszta aminovaleriansavat különíthessünk el, a kristályos keverék egy részét autoklavban bariumhydroxyddal 150°-ra hevítve racemizáltuk.¹ Miután a bariumhydroxydot kénsavval pontosan eltávolítottuk, aránylag könnyű volt ismételt részletenkénti átkristályosítással tiszta aminovaleriansavat kapni.

Készítményünk 0·1502 gr.-ja 0·2811 gr. CO₂-t és 0·1298 gr. H₂ O-t adott.

Találtunk tehát 51·04% C-t és

9·6% H-t

C₆ H₁₁ NO₂ tartalmaz 51·28% C-t és

9·40% H-t.

¹FISCHER E. és ABDERHALDEN E. Ber. d. deutsch. chem. Ges. XXXVII. övf. 3071. l. 1904.

Az aminovaleriansav anyalúgjából alkohollal kicsapott alanin elemzésekor a következő számokat kaptuk.

A készítmény 0.1600 gr.-ja 0.2382 gr. CO_2 -t és 0.1144 gr. H_2O -t adott.

Találtunk tehát 40.6% C-t és
7.94% H-t.

Olvadáspont: 293 °C (jav. nélk.)

$\text{C}_3\text{H}_7\text{NO}_2$ tartalmaz 40.45% C-t és
7.87% H-t.

A különválasztott leucin összetétele a következő volt.
0.2379 gr. adott 0.4792 gr. CO_2 -t és 0.2117 gr. H_2O -t.

Találtunk tehát 54.93% C-t és
9.89% H-t

$\text{C}_6\text{H}_{13}\text{NO}_2$ tartalmaz 54.90% C-t és
9.92% H-t.

A III. részlet feldolgozása úgy történt, mint a II. részleté. A vízzel főzés útján elszappanosított aminosavkeveréket ebben az esetben is kivontuk absolutus alkohollal, a maradékot pedig vízben oldván, részletenként jegecízítettük. Ez a részlet túlnyomólag leucinből (110 gr.) állott.

Leucin készítményünk 0.1764 gr.-ja elégetve 0.3541 gr. CO_2 -t és 0.1573 gr. H_2O -t adott.

Találtunk tehát 54.75% C-t és
9.91% H-t.

$\text{C}_6\text{H}_{13}\text{NO}_2$ tartalmaz 54.96% C-t és
9.93% H-t.

A leucin anyalúgjából még 15.5 gr. alanint lehetett különválasztani; e mellett még kétségtelenül volt benne aminovaleriansav is, ezt azonban nem lehetett tisztán előállítani.

A készítmény 0.1822 gr.-ja 0.3536% CO_2 -t és 0.1597 gr. H_2O -t adott.

Találtunk tehát 52.9% C-t és
9.74% H-t.

$\text{C}_5\text{H}_{11}\text{NO}_2$ tartalmaz 51.28% C-t és
9.40% H-t.

A II. és III. részlet alkoholos kivonatait az α -prolin különválasztása céljából alacsony nyomáson szárazra bepároltuk. A maradék súlya 25·2 gr. volt. Hogy az optikailag aktív és a racemicus prolint egymástól elkülöníthessük, az egész maradékot fölös rézoxiddal főzés révén réz-sóvá alakítottuk át. A megszáritott réz-sókból víztelen alkohollal főzve kioldottuk az aktív prolin réz-sóját. Az alkoholban oldhatatlan rézsót vízben oldván lepárolás útján átkristályosítottuk és 120°-on megszáritottuk.

A száraz réz-só 0·1875 gr.-ja 0·2824 gr. CO₂-t és 0·0961 gr. H₂O-t adott.

Találtunk tehát 41·07% C-t és

5·69% H-t.

C₁₀H₁₆O₄N₂Cu tartalmaz 41·16% C-t és

5·49% H-t.

A IV. részletből, mely asparaginsavból, glutaminsavból, phenylalaninból és serinből állott, első sorban a phenylalanint távolítottuk el aetherrel. Az aetherben oldhatatlan estereket bariumhydroxyddal főzés útján elszappanosítottuk és a keverékből a glutaminsavat chlorhydrátja alakjában leválasztottuk. A glutaminsavchlorhydrát anyalúgijából ólomoxiddal az ismert módon eltávolítottuk a fölös sósavat és ezután igyekeztünk rendszeres átjegecztéssel különválasztani az asparaginsavat és a serint, mely utóbbi húskivonatra emlékeztető szagával árulta el jelenlétét. A különválasztás sok fáradsággal és veszteséggel járt. Végre sikerült 1·7 gr.-nyi tiszta serint nyerni. A phenylalanin 35·6 gr.-nyi, a glutaminsav 18·9 gr.-nyi, az asparaginsav 28·5 gr.-nyi mennyiségben volt különválasztható. Phenylalanin készítményünk 0·1644 gr.-ja 0·3928 gr. CO₂-t és 0·0966 gr. H₂O-t adott.

Találtunk tehát 65·16% C-t és

6·53% H-t.

C₉H₁₁NO₂ tartalmaz 65·45% C-t és

6·66% H-t.

Glutaminsav készítményünk 0·1802 gr.-ja 0·2676 gr. CO₂-t és 0·1020 gr. H₂O-t adott.

Találtunk tehát 41·0% C-t és
6·29% H-t

$C_5H_9NO_4$ tartalmaz 40·81% C-t és
6·12% H-t.

Asparaginsav készítményünk 0·2094 gr.-ja 0·2777 gr. CO_2 -t és 0·0992 gr. H_2O -t adott.

Találtunk tehát 36·17% C-t és
5·27% H-t

$C_4H_7NO_4$ tartalmaz 36·09% C-t és
5·26% H-t.

A maradékot, melyet az aminosavesterek lepárolásakor 190° C-on és 0·5 mm nyomással sem sikerült átpárolni, bőséges mennyiségű eczetaetherrel kivontuk. Az eczetaether elpárolása útján 1·2 gr.-nyi, híg sósavban oldhatatlan maradékot kaptunk, mely többi tulajdonságait illetőleg is a leucinimiddel egyezett. Az eczetaetherben oldhatatlan maradékot 10 órán át főztük $Ba(OH)_2$ -dal, ezután pedig a bariumphydroxydot kénsavval pontosan kicsaptuk. A bariumsulfátról leszűrt folyadék bepárolásakor először glutaminsav vált ki (10 gr.). Ennek anyalúgja a további bepároláskor szörpszerű péppé alakult, mely nyilván még szintén tartalmazott glutaminsavat. Ennek teljes eltávolítása ezéljából a pépes szörpöt szárazra bepároltuk, tömény sósavban feloldottuk és száraz sósavgázzal telítettük. Jég között lehűtésre még 6 gr. glutaminsavehlorhydrát csapódott ki belőle. Az anyalúgból ólomoxyddal eltávolítottuk a sósavat, a feloldódott ólmot kénhydrogeniummal kicsaptuk és az ólomkéneg szűredékét besűrítettük. A folyadéknak erős húskivonat szaga volt. Nem sikerült egységes készítményeket nyerni belőle. Egy része víztelen alkoholban oldható volt, oldatából aether hozzáadására fehér, pelyhes csapadék alakjában kiváltott, a levegőn hamar megbarnult és elfolyósodott. Réz-sók előállítása szintén nem vezetett eredményre. Az alkoholban oldhatatlan részből sem sikerült tiszta anyagokat előállítani. Kaptunk ugyan kristályos réz-sókat, ezek mennyisége azonban igen kicsiny volt, másfelől pedig a kristályok külső megjelenése nem nyújtott biztosítékot

arra nézve, hogy egységes anyaggal volt dolgunk. Erre vonatkozólag a kísérletet nagyobb méretben kellene ismételni.

A tyrosin mennyiségének meghatározása a szokásos módon, kénsavhydrolysis útján történt; 500 gr. edestin felhasználásával kaptunk 8·9 gr. tiszta tyrosint.

100 gr. hamu- és vízmentes edestinre számítva az aminosavak mennyiségi viszonyát, a következőnek találtuk:

| | |
|----------------------------|-------|
| glykokoll | 2·5% |
| alanin | 4·5% |
| aminovaleriansav | 0·6% |
| α -prolin | 2·8% |
| leucin | 12·9% |
| glutaminsav | 13·0% |
| asparaginsav | 3·2% |
| phenylalanin | 4·0% |
| tyrosin | 2·0% |
| serin | 0·2% |

II. Emésztési kísérlet.

500 gr. napraforgómag edestint, mely 12·0% vizet és 0·3% hamut tartalmazott, tehát 448 gr. víz- és hamumentes fehérjének felelt meg, 1904 dec. 22.-én 5 liter lepárolt vízzel kevertünk. A keveréket elegendő mennyiségű toluol és 80 cm³ bélnedvvel aktivált pankreasnedv hozzáadása közben költökemenczében testhőmérséken tartottuk és gyakran felráztuk. Az edestin már az első hét folyamán csaknem teljesen feloldódott, csupán aránylag csekély, laza, szürke üledék maradt oldatlanul. Ez az üledék később sem változott.

A keveréknek 14 nap elteltével (jan. 5) és 21 nap elteltével (jan. 16) kivettük egy-egy harmadát; 34 nap múltán (jan. 25) pedig az utolsó harmadát is feldolgozás alá vettük. Ezek a részletek tehát, melyeket A, B és C-vel fogunk jelölni, egyenként 149—149 gr. hamumentes száraz fehérje emésztési termékeit foglalták magukban. Feldolgozásuk azonos minta szerint történt, a mennyiben mindeniket lepárolt vízzel pergamment csövekben dialysáltuk. A dialysist a lepárolt víznek naponkénti — később 2 naponkénti — megújítása mellett addig

folytattuk, míg a dialysatum egy részlete bepárolásra nem hagyott számbavehető maradékot maga után.

A-nak dialysise jan. 6—13-ig, *B*-é jan. 17-től 25-ig, *C*-é jan. 26-tól febr. 8-ig tartott.

Mindhárom részlet dialysatuma biuret és MILLON-féle reakciót, phosphorwolframsavval pedig bő csapadékot adott. A halványsárga dialysatumot alacsony nyomáson és 40° C-t meg nem haladó hőmérséken kis térfogatra pároltuk be. E közben *A*-ból 3·1 gr-nyi, *B*-ből 2·3 gr-nyi fehér csapadék vált ki, mely a későbbi megvizsgálás rendén tyrosinnak bizonyult. *C*-ből csak igen kevés csapadék (0·1 gr.) vált ki; MILLON-féle reagenssel ez is igen élénken színeződött. A *B* részletben, különösen azonban a *C* részletben a tyrosin valamely ok folytán nyilván oldott állapotban maradt. Ezt a felvételt a folyadékok erős MILLON-féle reakciója is igazolta.

A tyrosinról leszűrt folyadékokat lepárolt vízzel 6—6 literre felhígítottuk és fölös phosphorwolframsavval kezeltük, mire igen bő csapadék vált ki. Ezt vízzel még egyszer kifőztük, lehűtés után szűrőre gyűjtöttük, az anyalúgtól víznyomású sajtóban teljesen megszabadítottuk és bariumphydroxyddal elbontottuk. A csapadék eltávolítása után a fölös bariumphydroxydot kénsavval pontosan kicsaptuk, a folyadékot újból megszürtük és alacsony nyomáson szárazra bepároltuk. A maradék kifejezett biuret-reakciót adott és MILLON-féle reagenssel gyenge, de határozottan észrevehető rózsaszínt vett fel. A maradék egész mennyiségét háromszor annyi tömény sósavval hydrolysáltuk. Esterekké alakítás útján az edestinben kimutatott aminosavak mindenikét feltaláltuk benne. Ezek valószínűleg phosphorwolframsavval kicsapódó összetettebb vegyületek alakjában jutottak a dialysatumba. Mennyiségük az emésztés tartamának növekvésével csökkent ugyan, de nem jelentékeny mértékben. Nem találtunk a phosphorwolframsavas csapadékban tyrosint és tryptophant.

A phosphorwolframsavval kicsapható anyagoktól megszabadított dialysatumokat fölös bariumphydroxyddal kezeltük, megszürtük, a szüredéket — kénsavval pontosan kicsapván belőle a bariumot — előbb alacsony hőmérséken és nyomáson besűri-

tettük, végül vízfürdön teljesen bepároltuk. Az *A* részlet maradáka 44·3 gr., a *B*-é 43·4 gr., a *C*-é 50·4 gr.-nyi volt. Mindhárom részlet sok glutaminsavat tartalmazott. *A* és *B* gyenge, *C* igen kifejezett MILLON-féle reakziót adott. — Ebben az utolsó részletben ugyanis a tyrosin nem vált ki a dialysatum első bepárolására, hanem ismeretlen okból oldásban maradt. A maradékból, ennek lehetőleg teljes megszáritása után, jég-cszettel kezelés útján tisztán elő lehetett állítani.

Az emésztett keverékek nem dialysálható részét vízfürdön bepároltuk. Az *A* részletből 30 gr., a *B*-ből 26 gr., a *C*-ből 15 gr.-nyi sötétbarna maradékot kaptunk. Ennek a maradéknak csak egy részét lehetett vízben megint feloldani. A vízben oldhatatlan rész könnyen oldódott híg lúgokban, közömbösítésre azonban pelyhes csapadék alakjában megint kiválott.

Annak megállapítására, hogy ezek a nem dialysálható maradékok tartalmaztak-e még tyrosint szabad állapotban, vagy összetettebb vegyületek alakjában, a száraz maradékokat vízzel kifőztük, a vizes kivonatokat bepároltuk és MILLON-féle reagenssel vizsgáltuk. *B*-ben és *C*-ben nem találtunk tyrosint, *A*-ban igen halvány vörös színeződés lépett fel.

A vizes kivonatok maradékát most egyesítettük a vízben oldhatatlan részekkel és 12 órán át 25%-os kénsavval főzve hydrolysáltuk. A kénsavat barium-hydroxyddal pontosan kicsaptuk, a szüredéket szárazra bepároltuk és a maradékot tyrosinra megvizsgáltuk. *A*-ban és *B*-ben igen gyenge MILLON-reakziót kaptunk, *C*-ben tyrosint nem lehetett kimutatni.

A kísérleteket valamivel nagyobb méretben folytatni szándékozunk.