

ΧΗΜΙΚΑ ΧΡΟΝΙΚΑ

ΜΗΝΙΑΙΟΝ ΕΠΙΣΗΜΟΝ ΟΡΓΑΝΟΝ ΤΗΣ ΕΝΩΣΕΩΣ ΕΛΛΗΝΩΝ ΧΗΜΙΚΩΝ

Διοικούσα Ἐπιτροπή :

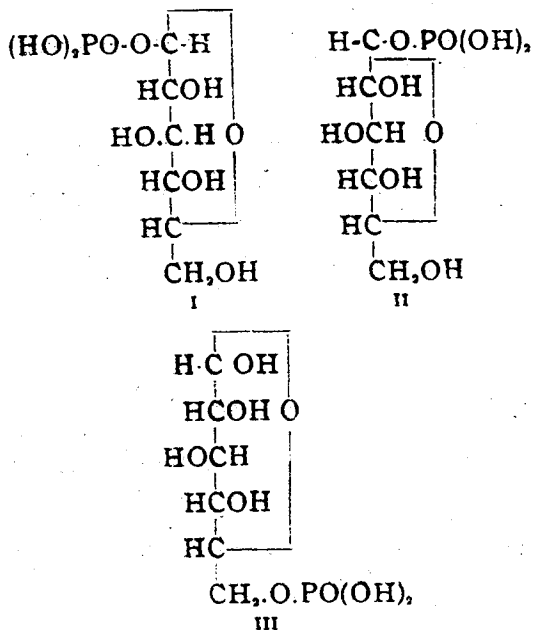
Λεωνίδας Ζέρβας, Γ. Μ. Δρίκος, Εύαγ. Μπόμπος, Μιχ. Δέφνερ, Χρ. Σταμίδης, Γ. Ἀθανασόπουλος, Α. Παπαδημητρίου

Φυραματική συμπεριφορά φωσφορογλυκοζιτών

Ὑπό ΛΕΩΝΙΔΑ Θ. ΖΕΡΒΑ καὶ ΚΙΜΩΝΟΣ Α. ΠΑΝΑΓΟΠΟΥΛΟΥ,

Ἐκ τοῦ Ἐργαστηρίου Ὄργανικῆς Χημείας τοῦ Πανεπιστημίου Ἀθηνῶν καὶ τοῦ Βιοχημικοῦ Ἐργαστηρίου «ΕΥΑΓΓΕΛΙΣΜΟΣ».

Πρὸ ὀλίγων ἐτῶν ἀνεκοινώσαμεν μίαν νέαν μέθοδον φωσφορυλίωσης ὀργανικῶν οὐσιῶν, ὡς πρώτην δὲ ἐφαρμογὴν ταύτης περιεγράψαμεν τὴν σύνθεσιν τῆς β-1-φωσφορογλυκόζης (1).



Ἡ συνθετικὴ παρασκευὴ μιᾶς τοιαύτης ἐνώσεως καὶ μάλιστα ἐντελῶς καθορισμένου συντακτικοῦ καὶ στερεοχημικοῦ τύπου ἔχει κατὰ τοῦτο ἐνδιαφέρον, καθ' ὅσον ἐστέρες τοῦ φωσφορικοῦ ὀξέος μὲ σάκχαρα παίζουν σπουδαῖον ρόλον ὡς ἐνδιάμεσα προϊόντα κατὰ τὰς βιολογικὰς μεταβολὰς τῶν σακχάρων. Ἰδιαιτέρως εἰς τὴν προκειμένην περίπτωσιν ἔχει ἐνδιαφέρον ἡ σύγκρισις τοῦ ἄνω ἐστέρος (I) μὲ τὸν ὀνομαζόμενον Cori-ἐστέρα (II) ὁ ὁποῖος διαφέρει ἀπὸ τὸν ὀφ' ἡμῶν συνθετικῶς παρασκευασθέντα μόνον ὡς πρὸς τὴν στερεοχημικὴν διάταξιν εἰς τὸ I-ἄτομον ἄνθρακος, εἶναι δηλαδὴ

α φωσφορογλυκοζίτης. Ὁ Cori ἐστὴρ (II) ἀποτελεῖ τὸ πρῶτον προϊόν τῆς μετατροπῆς τοῦ ἀμόλου καὶ τοῦ γλυκογόνου εἰς γαλακτικὸν ὀξύ, ὀφείλει δὲ τὸν σχηματισμὸν του εἰς εἰδικὸν ἐνζυμον τὴν φωσφορυλάσην (2). Ἀκολουθῶς ὁ Cori-ἐστὴρ μετατρέπεται εἰς δ-ἐστέρα τῆς γλυκόζης τὸν ὀνομαζόμενον Robinson-ἐστέρα (III) τῆς ἀντιδράσεως καταλυομένης ὑπὸ ἐτέρου εἰδικοῦ ἐνζύμου τῆς φωσφορογλυκομουτάσης (3). Ἡ περαιτέρω φυραματικὴ μετατροπὴ τοῦ ἐστέρος—Robinson εἰς γαλακτικὸν ὀξύ δὲν μᾶς ἐνδιαφέρει εἰς τὴν παρούσαν ἐργασίαν. Ἀφ' ἐτέρου ὄλου οἱ ἄνω ἐστέρες δύναται νὰ ὑδρολυθοῦν πρὸς γλυκόζην καὶ φωσφορικόην ὀξύ τῆς ἀντιδράσεως ταύτης καταλυομένης ὑπὸ εἰδικοῦ ἐνζύμου τῆς φωσφατάσης, ἡ ὁποία συνυπάρχει μετὰ τῶν ἄλλων ἐνζύμων εἰς τὰ κύτταρα (4).

Ἀποτέλεσμα τῶν ἡμετέρων φυραματικῶν ἐρευνῶν εἶναι ἡ διαπίστωσις, ὅτι ὁ ὀφ' ἡμῶν παρασκευασθεὶς ἐστὴρ (I) ἐν ἀντιδιαστολῇ πρὸς τὸν Cori-ἐστέρα (II) δὲν μεταβάλλεται ὑπὸ τὴν ἐπίδρασιν τοῦ ἐνζύμου φωσφορογλυκομουτάσης εἰς ἐστέρα Robinson οὔτε μετατρέπεται ὑπὸ τὴν ἐπίδρασιν τῆς φωσφορυλάσης εἰς πολυσακχαριτὴν, ἔχομεν δηλαδὴ πρὸ ἡμῶν ἕνα νέον παράδειγμα μιᾶς ἀπολύτου φυραματικῆς εἰδικεύσεως. Μὲ ἄλλους λόγους ὁ καταλύτης αὐτὸς δρᾷ, ὅταν τὸ ὑπόστρωμα ἔχει ὄχι μόνον ὠρισμένην σύνταξιν ἀλλὰ καὶ μίαν ἐντελῶς καθορισμένην στερεοχημικὴν διάταξιν καὶ δὴ τὴν α-γλυκοζιτικὴν διάταξιν εἰς τὸ I-ἄτομον ἄνθρακος. Ἐκ τῆς ἐν γένει φυραματικῆς συμπεριφορᾶς τοῦ ἡμετέρου ἐστέρος δυνάμεθα περαιτέρω νὰ συνάγωμεν, ὅτι ἡ ὑπαρξίς β-γλυκοζιτικοῦ δεσμοῦ εἰς τὸ ἄμυλον καὶ γλυκογόνον εἶναι πλέον τελείως ἀπίθανος.

1. Παραβαλ. L. Zervas Naturwissenschaften 27, 317.1939 ἐπίσης K. Παναγοπούλου Ὄργανικὸι Ἐστέρες τοῦ φωσφορικοῦ ὀξέος διδακτορικὴ διατριβὴ Ἀθῆναι 1940.

2. G. Cori, C. Cori, J. Biol. Chem. 135, 733.1940.
3. C. Cori, P. Colowick, G. Cori J. Biol. Chem. 124, 543.1938.

4. Ἡ συμπεριφορὰ τῶν φωσφορογλυκοζιτῶν ἀπέναντι φωσφατάσων εἶναι ἀντικείμενον ἰδιαιτέρας ἐρεύνης τοῦ ἐνὸς ἐξ ἡμῶν (Κ.Π.) Χημ. Χρονικά 7-17-1942.

Πειραματικόν μέρος

Α' Επίδρασις μυϊκού έκχυλίσματος

Είς τὰ πειράματα ταῦτα μετεχειρίσθημεν μυϊκὸν έκχύλισμα μετὰ τριῶρον αὐτόλυσιν εἰς 15°, τὸ ὁποῖον ὡς γνωστὸν περιλαμβάνει φωσφορυλάση, φωσφορογλυκομουτάση καὶ τὰ λοιπὰ ἔνζυμα τῆς γλυκογονόλυσεως. Πρὸς τοῦτο εἰς 5 κ.έ. ἑνὸς μίγματος ἀποτελουμένου ἐκ μυϊκοῦ έκχυλίσματος καὶ κανονιστικοῦ διαλύματος Βερονάλης $\text{PH}=7$ (2:1) προσετέθησαν 5 κ.έ. διαλύματος ὑποστρώματος μοριακῆς συγκεντρώσεως 0.015 Mol. Τὸ μίγμα τοῦτο περιέχει ἕν συνόλῳ 13,5 mg ἐξόζης καὶ 2,32 mg P. Ἐπώασις ἐπὶ 120' εἰς 25°. Τὸ σάκχαρον προσδιορίζεται κατὰ Willstätter-Schudel, τὰ ἀνόργανα φωσφορικά κατὰ Fiske Subbarow. Ὁ παραμένων ἀναλλοίωτος ἔσθῃ, ὑδρολύεται ἄκολούθως μετὰ H_2SO_4 ἐπὶ 10' εἰς 100°, ἀκολούθως δὲ προσδιορίζεται τὸ ἐλευθερούμενον σάκχαρον καὶ τὰ φωσφορικά.

500 κ.έ. μυϊκοῦ έκχυλίσματος ὑποβάλλονται εἰς διαπίδυσιν διὰ περγαμνηνοῦ χόρτου ἐπὶ 12 ὥρας καὶ εἰς θερμοκρασίαν 5° ἔναντι ἀπεσταγμένου ὕδατος. Κατὰ τὴν διαπύδυσιν παρατηρεῖται αἰσθητὴ πτώσις τῆς φυραματικῆς ἱκανότητος ἐνῶ ταυτόχροτως ἐμφανίζεται ἴζημα ἐκ γλοβουλίνης. Τοῦτο ἀπομακρύνεται διὰ φυγοκεντρήσεως.

Τὸ παραμένον ἐντὸς τοῦ διαπυδητήρος ὑγρὸν κατεργάζεται διὰ 200 κ.έ. αἰωρήματος Al(OH)₃ Cy, ἀφίεται ἐπὶ 30' καὶ φυγοκεντρεῖται. Τὸ ἴζημα πλύνεται μετὰ ὕδωρ καὶ ἐκλούεται διὰ 60 κ.έ. 0.3 Mol Na₂HPO₄, ἀκολούθως δὲ φυγοκεντρεῖται. Εἰς τὸ ὑπερκείμενον ὑγρὸν προστίθεται διάλυμα H₂PO₄ 25% μέχρις οὐδετέρας ἀντιδράσεως ἡλιοτροπίου. Εἰς τὸ μίγμα προστίθεται τριπλάσιος ὄγκου διαλύματος κεκορεσμένου (NH₄)₂SO₄ καὶ τίθεται εἰς ψυγεῖον. Καθιζάνει πρωτεϊνικὸν ἴζημα τὸ ὁποῖον φυγοκεντρεῖται. Ἀποχύνεται τὸ ὑπερκείμενον ὑγρὸν καὶ τὸ ἴζημα διαλύεται εἰς ὀλίγον ὕδωρ καὶ ἀ-

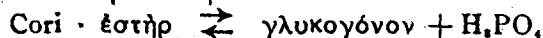
Πίναξ I

Ὑποστρώματα	Ἀναγωγή εἰς Σάκχαρον	Ἐλευθερωθέντα PO ₄ ''' εἰς mgP	Σχέσις C ₆ H ₁₂ O ₆ :P	Παραμένων Ἐσθῃ εἰς σάκχαρον mg
α—Ἐσθῃ	0.59	0.0677	1,5:1	2.83
β—Ἐσθῃ	0.897	0.149	1:1	10.73
α—γλυκερινοφωσφορικὸς ἔσθῃ	—	0.322	—	—

Ἐκ τῶν ἄνω ἀποτελεσμάτων, συνάγεται ὅτι ὁ ἡμέτερος ἔσθῃ ὑφίσταται μόνον τὴν ἐπίδρασιν τοῦ ὑδρολυτικοῦ ἐνζύμου φωσφατάσης καθότι ἡ σχέση τῶν ἐλευθερουμένου σακχάρου πρὸς τὰ φωσφορικὰ ὀξέα εἶναι 1:1. Ὁ Cori ἔσθῃ ἐπὶ πλεον, ἐκτὸς τῆς ὑδρολυτικῆς διασπάσεώς του, μετατρέπεται προφανῶς εἰς Robinson-ἔστέρα, ὁ ὁποῖος ὡς γνωστὸν ἐξακολουθεῖ νὰ ἔχη ἀναγωγικὰς ἰδιότητας ἐπίσης καὶ ὀργανικῶς συνδεδεμένον P, ὡς ἐκ τούτου δὲ δὲν ὑπάρχει ἀνολογία 1:1 μεταξὺ ἀναγωγικῆς ἱκανότητος καὶ ἐλευθερουμένου P.

Β'. Επίδρασις φωσφορυλάσης

Εἰς τὰ πειράματα ταῦτα μετεχειρίσθημεν διάλυμα φωσφορυλάσης, ἡ ὁποία ὡς γνωστὸν καταλύει τὴν ἀντίδρασιν.



Ὁ χωρισμὸς καθαρῆς φωσφορυλάσης ἀπὸ τοῦ φυραματικῶν μίγματος τοῦ μυϊκοῦ έκχυλίσματος ἐπετεύχθη διὰ συνδυασμοῦ τῶν μεθόδων Cori et al. (*) καὶ Kiessling (*).

νακαθιζάνεται μετὰ 0,5 ὄγκον (NH₄)₂SO₄. Ἀκολουθεῖ νέα φυγοκέντρησις μετὰ παραμονὴν εἰς ψυγεῖον ἐπὶ μίαν ὥραν. Τὸ ἴζημα διαλύεται εἰς 25 κ.έ. KCl 1% (Ἐκχύλισμα Β). Τὸ έκχύλισμα τοῦτο περιέχει μόνον φωσφορυλάση, δὲν περιέχει φωσφατάση οὔτε φωσφορογλυκομουτάση.

Εἰς 4 κ.έ. τοῦ διαλύματος τῆς φωσφορυλάσης προστίθενται 3 κ.έ. κανονιστικοῦ διαλύματος Βερονάλης $\text{PH}=7,5$, 1 mg ἀδενυλικὸν ὀξέ, 0.2 mg γλυκογόνον (*) 1 κ.έ. Mg Cl₂ M/30 ποικίλλουσαι ποσότητες ὑποστρωμάτων πυκνότητος πάντων 0,025 Mol τὸ ὄλον δὲ συμπληροῦνται μετὰ ὕδωρ 15 κ.έ. Ἐπώασις ἐπὶ 60' εἰς 37°.

Τὸ γλυκογόνον προσδιορίζεται κατὰ Good, Kramer, Somogyi (*).

Ἐκ τῶν ἀποτελεσμάτων τοῦ πίνακος τούτου συνάγεται ὅτι μόνον ὁ Cori ἔσθῃ μετατρέπεται εἰς γλυκογόνον (ἢ ἀντίστροφως) καὶ ὅτι τὸ φύραμα εἰς τὴν περίπτωσιν ταύτην εἶναι ἐλεύθερον φωσφορογλυκομουτάσης καὶ φωσφατάσης.

5. C. Cori, G. Cori, G. Schmidt, J. Biol. Chem. 129, 629, 1939.

6. W. Kiessling, Biochem. Zeit. 302.50.1939.

7. G. Cori, C. Cori J. Biol. Chem. 135.733.1940.

8. Good, Kramer Somogyi J. Biol. Chem. 100.485. 1933

Πίναξ 2

Υποστρώματα	Υπολογισθέν εις mg εξέζης		Μετά την επώασι εξέζη mg γλυκογόνον mg		
		Pmg			
Cori — έστήρ	1 κ.έ.	4.5	0.52	0.011	2.9
	2 »	9.0	0.96	0.013	6.07
	4 »	18.0	1.903	0.011	11.2
B — Έοτήρ	2 »	9.0	—	—	—
	4 »	18.0	0.007	0.002	—

Γ. Επίδρασις φωσφορογλυκομουτάσης

Εις τὰ πειράματα ἐλήφθησαν 20 κ.έ. τοῦ μετὰ τὴν φυγοκέντρησιν μίγματος ἐκχυλισματος + Al (OH)₃, λαμβανομένου ὑπερκειμένου ὑγροῦ (παράβαλε παρασκευὴν φωσφορυλάσης κλπ.) εἰς τὸ ὁποῖον προσετέθησαν 10 κ.έ. κανονιστικοῦ διαλύματος Βερονάλης ΡΗ=7.1 καὶ 5 κ.έ. MgCl₂ Μ/20.

Εἰς 5 κ.έ. τοῦ μίγματος τούτου προσετέθησαν 5 κ.έ. διαλύματος ὑποστρωμάτων μορ. συγκεντρώσεως 0,015. Ἐπώασις ἐπὶ 120' εἰς

37°. Τὰ 10 κ.έ. τοῦ μίγματος περιέχουν 13.5 mg σακχάρου καὶ 2,32 mg Ρ.

Ἐκ τῶν ἀποτελεσμάτων τοῦ πίνακος τοῦ τοῦ συνάγεται, ὅτι ὁ ἡμέτερος ἐστήρ ὑφίσταται ἀπλῶς τὴν ὑδρολυτικὴν ἐπίδρασιν τῆς φωσφατάσης, ἐξ οὗ ἡ ἀναλογία σακχάρου πρὸς Ρ εὐρέθη 1 : 1.

Τουναντίον ὁ Cori ἐστήρ μετατρέπεται εἰς μεγάλην κλίμακα εἰς 6-έστερα, ὁ ὁποῖος ἔχει ἀναγωγικὰς ἰδιότητες καὶ ὀργανικῶς συνδεδεμένον Ρ ἐκφεύγοντα ὁμῶς τοῦ προσδιορισμοῦ ὡς φωσφορικοῦ ὀξέος.

Πίναξ III

Υποστρώματα	Ἐλευθερωθέντα Pmg	Σάκχαρον mg	Σχέσις C ₆ H ₁₂ O ₆ :P	Παραμένων ἐστήρ εις mg C ₆ H ₁₂ O ₆
Cori ἐστήρ	0.086	2.05	4.5:1	9.56
B — ἐστήρ	0.115	0.66	1:1	12.92

Περί παραγωγῆς ὑπερφωσφορικῶν λιπασμάτων

Υπό ΑΝΤΩΝΙΟΥ ΓΕΩΡΓΙΟΥ, Χημικοῦ - Μηχανικοῦ.

Ἰνστιτούτον Χημείας καὶ Γεωργίας «ΝΙΚΟΛΑΟΣ ΚΑΝΕΛΛΟΠΟΥΛΟΣ»

Εἰσαγωγή.

Ἡ παραγωγή τοῦ ὑπερφωσφορικοῦ ἀσβεστίου καὶ ἡ χρησιμοποίησις τούτου ὡς λιπάσματος, ὀφείλεται εἰς ἐφευρέσιν τοῦ μεγάλου χημικοῦ Justus von Liebig καὶ ἐφημέροσθι ἀπὸ τῶν μέσων τοῦ 19ου αἰῶνος κατὰ πρῶτον ἐν Ἀγγλίᾳ καὶ ὀλίγον ἀργότερον ἐν Γερμανίᾳ, τῇ ὑποδειξίᾳ τοῦ ἰδίου ἐφευρέτου καὶ μαθητῶν αὐτοῦ.

Ὁ Liebig κατόπιν μελετῶν του διέγνωσε τὴν βασικὴν σημασίαν τοῦ φωσφόρου εἰς τὴν ἀνάπτυξιν τῶν φυτῶν, ἰδίᾳ διὰ τὴν κάρπισιν των καὶ ἔκαμε τὴν διαπίστωσιν ὅτι ἡ καλύτερα μορφή, ὑπὸ τὴν ὁποίαν ἀπορροφᾶται ὁ φωσφόρος εἶναι τὰ ἄλατα τοῦ φωσφορικοῦ ὀξέος, ἐκ τούτων δὲ καλύτερον ὄλων τὸ μονοβασικὸν φωσφορικὸν ἀσβέστιον, ἀποτελοῦν τὸ μᾶλλον ὕδατοδιαλυτὸν φωσφορικὸν ἄλας τοῦ ἀσβεστίου, Ca(H₂PO₄)₂. Τὸ ἄλας τοῦτο παρήγετο ἀρχικῶς δι' ἐπενεργείας τοῦ θειικοῦ ὀξέος ἐπὶ

ὀστεαλεύρου, ἀργότερα ὁμῶς ἤρχισαν ἀντὶ ὀστεαλεύρου χρησιμοποιούμενα τὰ διάφορα φυσικὰ κοιτάσματα φωσφοριτῶν. Κατὰ τὴν ἐπίδρασιν τοῦ θειικοῦ ὀξέος μέρος τοῦ ἀσβεστίου ἀπεσπάτο ἐκ τοῦ τριβασικοῦ φωσφορικοῦ ἀσβεστίου Ca₃(PO₄)₂, τῶν ὀστών ἢ τῶν φωσφοριτῶν, σχηματιζομένου θειικοῦ ἀσβεστίου καὶ ὀξίνου μονοβασικοῦ φωσφορικοῦ ἀσβεστίου Ca₂(PO₄)₂ + 2H₂SO₄ = Ca(H₂PO₄)₂ + 2CaSO₄(1). Ἐπειδὴ δὲ ἀμφότεραι αἱ δύο αὐταὶ οὐσίαι σχηματίζουν διὰ χημικῆς δεσμεύσεως μορίων ὕδατος κρυστάλλους, τὸ ἀρχικῶς ρευστὸν μίγμα θειικοῦ ὀξέος καὶ φωσφορούχου οὐσίας ἔστερεοποιεῖτο ὑπὸ ἐκλύσιν θερμότητος εἰς πορῶδη μάζαν, δυναμένην νὰ κονιοποιηθῇ καὶ συσκευασθῇ. Εἰς τὴν ἰδιότητα ταύτην ὀφείλεται, ὅτι καὶ σήμερον ἀκόμη τὸ φωσφοροῦχον τοῦτο λίπασμα ἀποτελεῖ τὸ ἀπλούστερον καὶ ταχύτερον παρασκευαζόμενον. Λόγω δὲ τοῦ ὅτι τὸ μονοβασικὸν φωσφορικὸν ἀσβέστιον περιέχει περισσότερον φωσφορικὸν ὀξὺ ἀφ' ὅτι εἰς τὸ οὐδέτερον τριβασι-