

Είναι γεγονός ότι εις την εξέλιξιν των Βιολογικών Έπιστημών, πρωταρχικόν ρόλον παίζει ή μελέτη τής χημικής συντάξεως και τής χημικής συμπεριφορᾶς τῶν συστατικῶν τοῦ ζῶντος κυττάρου. Τοῦτο ἐπηληθεύθη ἀκόμη και κατά τήν μελέτην τῶν πλέον ὀργανωμένων μορφῶν τής ζωῆς.

Εἰδικῶς ἡ ἐξακρίβωσις τής σχέσεως μεταξύ τής χημικής συντάξεως μιᾶς οὐσίας και τής δράσεώς της ἐπὶ τής λειτουργίας τῶν ζῶντων κυττάρων εἰλικυσε, ὡς μαγνήτης, τὸ ἐνδιαφέρον τῶν χημικῶν και τῶν βιολόγων. Τοῦτο διαπιστώνει κανεῖς ὅταν ἀνατρέξῃ εἰς τήν σχετικὴν βιβλιογραφίαν, ὅποτε και μένει κατάπληκτος ἀπὸ τήν ἀπέραντον ἐργασίαν, ἡ ὁποία συνετελέσθη εἰς τὸ παρελθόν και συντελεῖται ἀκόμη δι' ἓν τόσον, ὁμολογουμένως, δύσκολον θέμα.

Ἡδὴ κατὰ τήν διάρκειαν τοῦ 19ου αἰῶνος, ἡ Ὀργανικὴ Χημεία τῶν ζῶντων και φυτικῶν οὐσιῶν ἀπησχόλησε σοβαρῶς τήν προσοχὴν τῶν ἐπιστημῶν. Πολλοὶ σχετικαὶ ἐρευνᾶι ἐγιναν εἰς τὰ τότε ἐργαστήρια τής Φυσιολογίας, τής Φαρμακολογίας ἀλλὰ ἰδίως τής Ὀργανικῆς Χημείας. Τὸ τελευταῖον τοῦτο ἔχει ἰδιαίτεραν σημασίαν.

Εἰς τὰ ἐργαστήρια τής Ὀργανικῆς Χημείας ἐμελετήθη οὕτω ἀπὸ χημικοὺς - ἐρευνητὰς μία σειρά χημικῶν ἐνώσεων μεγάλου βιολογικοῦ ἐνδιαφέροντος ὅπως εἶναι αἱ πρωτεΐναι, οἱ ὕδατάνθρακες, αἱ βιταμῖναι κ. ἄ. Συντετέθησαν ἐπίσης και πολλοὶ ἀπὸ τῆς πολυπλόκου ἀκόμη ἐνώσεις αὐτῆς τής φύσεως. Κατόπιν τούτου, ἡ μελέτη τῶν προβλημάτων τής Βιολογίας ἔλαβε τήν φυσιολογικὴν τῆς πορείαν ἤτοι τήν μέσφ τής χρησιμοποίησεως τῶν γνώσεων και τής πείρας τής Ὀργανικῆς Χημείας και γενικώτερον τής Φυσικῆς και τής Χημείας. Μὲ ἄλλους λόγους τὰ διάφορα βιολογικὰ φαινόμενα εἰς τελευταίαν ἀνάλυσιν μελετῶνται πλέον ὡς ἀπλαῖ ἡ πολὺπλοκοὶ χημικαὶ ἀντιδράσεις. Εἶναι γνωστὸν ὅτι διὰ τὰ μελετηθῆν μία χημικὴ ἀντίδρασις, κατ' ἀρχὴν εἶναι ἀπαραίτητον ν' ἀπομονωθοῦν εἰς καθαρὰν κατάστασιν τὰ ἀντιδρώντα συστατικά. Μόνον κατ' αὐτὸν τὸν τρόπον ἡ μελέτη τῶν βιολογικῶν θεμάτων ἐξῆλθεν ἀπὸ τὸ ἐπιστημονικὸν ἀδιέξοδον, κατωρθώθη δὲ ἡ μεγάλη σημερινὴ εξέλιξις εἰς τὰ προβλήματα αὐτά. Πρωτοπόροι πρὸς τήν κατεῦθυνσιν ταύτην ὑπῆρξαν αἱ σχολαὶ τοῦ Emil Fischer, τοῦ Richard Willstätter, τοῦ Frederik Hopkins, τοῦ Heinrich Wieland κλπ.

Σήμερον, ἡ ἐπιστήμη δύναται νὰ δίδῃ με ἀρκετὴν βεβαιότητα ἀπαντήσεις εἰς πολλὰ προβλήματα τής Βιολογίας, ὅπως εἶναι, τὰ προβλήματα τὰ συνδεόμενα με τήν συμπεριφορὰν και τήν φύσιν ἐνζύμων, πρωτεϊνῶν, βιταμινῶν κλπ. Ἡδὴ ὑπάρχουν δυνατότητες νὰ θίγανται και σοβαρώτερα ἀκόμη προβλήματα ὅπως τὸ τοῦ βιογενετικοῦ ἐλέγχου ὡς και

τοῦ ρόλου τοῦ παίζου ἐπὶ αὐτὸν τὰ νουκλεϊνικὰ ὀξεῖα. Ὅμιλοῦμεν ἐπίσης σήμερον περὶ «μοριακῶν ἀσθενειῶν» κατὰ Linus Pauling, τῶν ὁποίων ἡ αἰτία ἀποδίδεται πλέον εἰς τήν διαφορὰν τής συντάξεως τοῦ μορίου τής αἰμοσφαιρίνης. Μὲ τήν βοήθειαν ἐξ ἄλλου τῶν ἰσοτόπων και τήν δυνατότητα νὰ ἐπισημαίνωνται ὀργανικαὶ ἐνώσεις κατωρθώθη νὰ ἐλέγχεται χημικῶς εἰς ἀρκετὸν βαθμὸν τὸ βασικὸν διὰ τήν ζωὴν φαινόμενον, ὅπως εἶναι ὁ φωτοσυνθετικὸς κύκλος τοῦ ἄνθρακος.

Τ' ἀνωτέρω ἀποτελοῦν μόνον ἐλάχιστον ἀριθμὸν παραδειγμάτων. Φυσικὰ ὑπάρχουν ἀκόμη ἄλυτα ἄπειρα προβλήματα αὐτῆς τής φύσεως. Ἐγινεν ὁμως φανερόν πλέον ὅτι, ἡ Φυσικὴ και ἡ Χημεία εἰδικώτερον ὁμως ἡ Ὀργανικὴ Χημεία θὰ παῖξῃ και πάλιν βασικὸν ρόλον πρὸς διαλεύκανσιν τῶν.

Εἶναι γνωστὸν εἰς ὅλους, ὅτι ἡ σχολὴ τοῦ Emil Fischer κατέχει μίαν ἀπὸ τὰς πλέον σπουδαίας θέσεις εἰς τὸ διεθνὲς ἐπιστημονικὸν πεδῖον.

Ὁ Emil Fischer (1852-1919), ὀργανικὸς χημικὸς, μαθητῆς τοῦ Adolf von Bayer εἶναι γνωστὸς, διότι τὸ ὄνομά του ἔμεινε συνδεδεμένον με τὰς πλέον σπουδαίας ἐργασίας ἐπὶ ἐνώσεων βιολογικῆς σημασίας, ὅπως εἶναι αἱ πρωτεΐναι, οἱ ὕδατάνθρακες, ἐπὶ θεμάτων στερεοχημείας κλπ.

Ἀπὸ τοὺς μαθητὰς του διεκρίθησαν οἱ Karl Freudenberg, καθηγητῆς και διευθυντῆς τοῦ Ἰνστιτούτου Χημείας εἰς τὸ Πανεπιστήμιον τής Heidelberg, ὁ Burkhardt Helferich, καθηγητῆς τοῦ Πανεπιστημίου τής Leipzig και τής Bonn, ὁ καθηγητῆς Max Bergmann (1886-1944).

Εἰς τήν μεγάλην αὐτὴν Σχολὴν δέον κατὰ τήν γνώμην μου νὰ τοποθετηθῆ και ὁ καθηγητῆς κ. Λ. Ζέρβας, ὁ ὁποῖος ὑπῆρξεν βοηθὸς και ἐν συνεχείᾳ Διευθυντῆς τοῦ Τμήματος Ὀργανικῆς Χημείας και ἀναπληρωτῆς τοῦ Γενικοῦ Διευθυντοῦ εἰς τὸ ἐν Δρέσδη Ἰνστιτούτον Kaiser Wilhelm Gesellschaft (ἤδη Max Plank Gesellschaft), τοῦ ὁποίου Γενικὸς Διευθυντῆς ὑπῆρξεν ὁ ἀείμνηστος Max Bergmann.

Ἡ συνεργασία τῶν Max Bergmann και Λεωνίδα Ζέρβα εἶχεν ὡς ἀποτέλεσμα τήν δημοσίευσιν μιᾶς μεγάλης σειρᾶς ἐργασιῶν εἰς τὰ διεθνή ἐπιστημονικὰ περιοδικά, μεταξύ τῶν ὁποίων ἐξέχουσιν θέσιν κατέχει ἡ καρβοβενζοξυ-μέθοδος* διὰ τήν σύνθεσιν πεπτιδίων.

Ἡ μέθοδος αὕτη με τήν ὁποίαν ἄλλος συνάδελφος θ' ἀσχοληθῆ εἰς τὸ παρὸν Ἐπιστημονικὸν Πανηγυρικὸν τεῦχος διεξοδικώτερον, ἔτυχε τόσον

* Πρὸς ἀπλοποίησιν παρίσταται αὕτη διεθνῶς ὡς Cbzo μέθοδος.

εύρείας εφαρμογής, ώστε είναι αδύνατον ν' ανατρέξει κανείς εις σχετικά συγγράμματα και περιοδικά και νά μή συναντήσει εις αυτά επανειλημμένως τήν χρήσιν της.

Δικαιολογημένως λοιπόν αυτή έθεωρήθη ότι ήνοιξε τόν δρόμον δι' έν πλήθος έρευνητικών έργασιών και δικαιολογημένως χρησιμοποιείται ως πολύτιμον βοήθημα εις τήν σύνθεσιν πεπτιδίων μέ μικρόν ή μέγαν αριθμόν οικοδομικών λίθων. Είναι έντελώς χαρακτηριστική ή φράσις του Vincent du Vigneaud, όταν άνεκοίνωσε δημοσίως (1953) τήν σύνθεσιν της Oxytocin (όρμόνη, οκταπεπτιδίου), ότι τοϋτο δέν θά κατορθούτο ύπ' αυτού και τών συνεργατών του* εάν δέν είχε προηγηθή ή Cbzο-μέθοδος τών Bergmann—Zervas.

Η συμπλήρωσις της εικοσιπενταετίας από της ανακαλύψεως της Cbzο-μεθόδου άποτελεί σταθμόν διά ν' ανατρέξει κανείς εις τήν βιβλιογραφίαν και νά δυνηθή νά εκτιμήση οϋτω τήν μεγάλην ώφέλειαν ή όποια προέκυψεν από τήν εφαρμογήν της.

Ο άείμνηστος Max Bergmann δέν ήτο τυχερός νά αισθανθή τήν μεγάλην συγκίνησιν, χαράν και ίκανοποίησιν εκ τών σοβαρών και πράγματι καταπληκτικών διαπιστώσεων αυτής της έρεύνης. Είναι γνωστόν, ότι πρό πολλού ή συνέχισις του τόσοσ σπουδαίου έργου των άπέμεινεν εις τόν καθηγητήν Λεωνίδα Ζέρβαν, όστις και έμελλε νά δεχθή επ' ευκαιρία του ταξειδίου του εις τήν έξωτερικόν, εκ του πλησίον τās θερμάς εκδηλώσεις τών ξένων συναδέλφων του διά τήν επέτειον αυτήν.

Μεταξύ αυτών συγκαταλέγονται φυσιογνωμιαί που κατέχουν σήμερον έξεχούσας θέσεις εις τή διεθνή πεδίου, ως ό Vincent du Vigneaud (Βραβείον Nobel 1955) καθηγητής της Βιοχημείας του Cornell University Medical College, ό Josef Fruton καθηγητής της Φυσιολογικής Χημείας του Yale University, ό Jesse Greenstein διευθυντής του εργαστηρίου Βιοχημείας του National Cancer Institute τών Η.Π.Α., κλπ., αι πρώται εργασίαι τών όποιων έξεπονήθησαν από κοινού μετά τών Bergmann και Ζέρβα έν Δρέσδη ή έν Ν. Ύόρκη

Ο καθηγητής Max Bergmann (1886-1944) επεράτωσε τās σπουδάς του ως χημικού εις τή Πανεπιστήμιον του Μονάχου. Αμέσως μετά τή διδακτορικόν του δίπλωμα (1911, Πανεπιστήμιον Βερολίνου) συμπεριελήφθη εις τή στενόν έπιστημονικόν περιβάλλον του Emil Fischer, εις τή όποιον και ταχέως άνεδείχθη εργαζόμενος έρευνητικός εις τās σάκχαρα και τās παράγωγά των ή εις τήν σύνθεσιν γλυκεριδίων. Τή 1920, μετά τόν θάνατον του Emil Fischer διωρίσθη διευθυντής του Kaiser-Wilhelm-Institut für Faserforschung του Βερολίνου και τή 1922 εκλήθη νά διευθύνη τή νεοίδρυθέν Kaiser-Wilhelm-Institut für Lederforschung της Δρέσδης όπου και παρέμεινε μέχρι του έτους 1933, όποτε και άνεχώρησε μετά της οικογενείας του κατ' άρχάς εις τήν Άγγλίαν και μετέπειτα εις Ηνωμέναις Πολιτείας.

* Βλ. σχετικόν άρθρον, παρόντος τεύχους σελ. 242.

Τή κύριον πεδίου έρεύνης του Max Bergmann υπήρξαν, σάκχαρα, λίπη, άμινοξέα, φυράματα, έπίσης δέ τεχνικά τινά προβλήματα κλπ. της κατεργασίας τών δερμάτων. Η μεγάλη όμως φήμη του Ίνστιτούτου της Δρέσδης ώφείλετο κυρίως εις έπιτεύγματα επί καθαράς Χημείας.

Μετά τή αναχώρησιν του Max Bergmann τή Ίνστιτούτον, επί έν έτος, διηυθύνετο υπό του καθηγητού Λεωνίδα Ζέρβα, ό όποιος προΐστατο ήδη του καθαράς έπιστημονικού τμήματος του έν λόγω Ίδρύματος και ό όποιος ήσχολήθη κατά τή διάστημα αυτό κυρίως μέ τήν συνέχισιν τών έν εξέλιξει εύρισκομένων έπιστημονικών έρευνών. Μετά τήν περάτωσιν αυτών ό καθηγητής Λεωνίδας Ζέρβας, παραιτηθείς, άπεχώρησε του Ίνστιτούτου και συνειργάσθη έπιστημονικώς και πάλιν μετά του Max Bergmann εις τή έν Νέα Ύόρκη Rockefeller Institute for Medical Research.

Συνεχίζων τή έρευνητικόν του έργον, τή όποιον σημασιώτεον είναι λίαν έπιπνον λόγω τών πολλών δυσχερειών, ό καθηγητής Λεωνίδας Ζέρβας ως άπ' ευθείας έπιστημονικός άπόγονος του Emil Fischer άσχολεΐται κυρίως μέ τήν έξεύρεσιν νέων, άλλα και μέ τήν τελειοποίησιν ή και επέκτασιν παλαιών μεθόδων πρός χρησιμοποίησιν των διά τήν λύσιν προβλημάτων υπό τή πρίσμα των νέων εξέλιξεων της βιολογικής έπιστήμης.

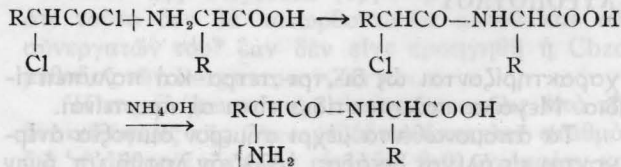
Απεδείχθη πράγματι, μετά τήν έπιτυχή εφαρμογήν της Cbzο-μεθόδου, ότι ή ένταξις όποιουδήποτε εκ των φυσικών άμινοξέων εις μία πεπτιδική άλυσον δέν άποτελεί πλέον, ως πρότερον, άκατόρθωτον έπιχείρημα. Έν τούτοις ή αύξουσα σημασία της συνθέσεως πολυπλόκων πολυπεπτιδίων μέ ειδικήν φυσιολογικήν δράσιν ή και τοιούτων άπαραιτήτων δι' ένζυμολογικάς μελέτας κατέστησεν άναγκαίαν τήν ανάπτυξιν και άλλων μεθόδων πεπτιδικής συνθέσεως προσηρμοσμένων όμως κατά δυνατόν περισσότερο εις τήν γνωστήν εύπάθειαν των άμινοξέων και τών προΐόντων πεπτιδίων. Οϋτω προσετέθησαν εις τή διεθνή βιβλιογραφίαν άλλαι δύο μέθοδοι πεπτιδικής συνθέσεως, αι όποιαι έξεπονήθησαν εις τή Έργαστήριον Όργανικής Χημείας και εκ των όποιων ιδίως ή λεγομένη «τριτυλομέθοδος» εύρίσκει ήδη σχετικήν εφαρμογήν.

Ένδιαφέρον παρουσιάζουν έπίσης και αι εργασίαι αι άφορώσαι εις φωσφορυλιώσεις όργανικών ένώσεων. Είναι δέ γνωστή ή αύξουσα, από βιολογικής πλευράς, σημασία των όργανικών φωσφορυλιωμένων παραγώγων. Ηδη ή πρωτοπόρος «βενζυλομέθοδος» κατέστη πλέον κλασσική χρησιμοποιουμένη εύρύτατα εις διεθνή κλίμακα διά τήν παρασκευήν φωσφορυλιωμένων παραγώγων σακχάρων, άμινοξέων κλπ. Έν συνεχεία ένδιαφέρον παρουσιάζουν αι έρευναι, αι άφορώσαι εις τās σάκχαρα και τās παράγωγά των, ιδίως της γλυκοζαμίνης, κλπ.

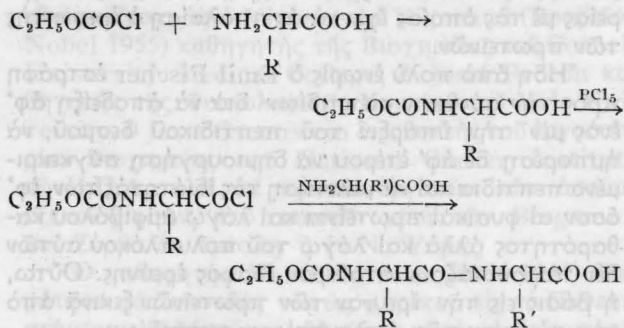
Απομένει εις ήμάς, τούς παλαιούς και νεωτέρους Έλληνας μαθητάς του καθηγητού Λεωνίδα Ζέρβα, είτε εργαζόμενους εις έρευνητικά εργαστήρια είτε εις τήν βιομηχανίαν είτε εύρισκομένους εις τήν

πεπτιδικήν άλυσον επί τη βάσει τῶν μεθόδων τοῦ E. Fischer. Ἀκόμη δὲ ὀλιγώτερον δυνατόν ἦτο νὰ ἐνταχθοῦν τ' ἀμινοξέα ἀποκλειστικῶς ὑπὸ τὴν μορφήν ὁμοιογενῶν ἐναντιομόρφων τῆς L-ἢ D-στερεοχημικῆς σειράς.

Ὡς γνωστὸν ἡ πλέον ἐπιτυχῆς μέθοδος τοῦ Fischer ἦτο ἐκείνη κατὰ τὴν ὁποίαν χλωρίδια α-άλογονωμένων ὀξέων συνεζευγνύοντο κατὰ Schotten-Baumann μὲ ἀμινοξέα ἢ πεπτιδία, ἀκολουθῶν δὲ δι' ἐπιδράσεως ὕδατικῆς ἀμμωνίας ἀντηλάσσετο τὸ ἀλογόνον εἰς α-θέσιν μὲ ἀμινομάδα.



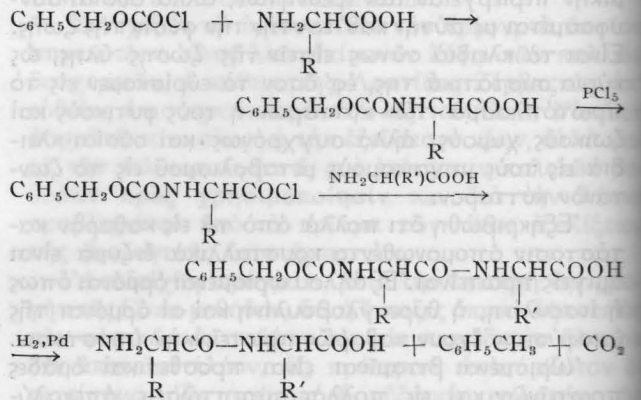
Δυσχέρεια παρασκευῆς τῶν ἀντιστοιχῶν πρὸς τὰ διάφορα πολυπλοκα ἀμινοξέα α-άλογονοπαραγῶγων καὶ μάλιστα εἰς ὀπτικῶς ἐνεργὸν μορφήν ὡς καὶ τὸ γεγονός τῆς κατὰ τὴν ἀμίνωσιν ἐπερχομένης μερικῆς ρακεμοποίησεως ἢ ἀναστροφῆς κατὰ Walden ἀπέτελεσαν ἀνυπέβλητα ἐμπόδια διὰ τὴν περαιτέρω ἐξέλιξιν τῆς μεθόδου ταύτης. Ἡ πρώτη ἀλλὰ πλέον ἀνεπιτυχῆς μέθοδος τοῦ E. Fischer εἶναι ἡ ἀπὸ κοινοῦ μετὰ τοῦ κατόπιν διασήμου Γάλλου χημικοῦ Fourneau «καρβοαιθοξυλική μέθοδος». Κατ' αὐτὴν ἡ ἀμινομάς τοῦ ἀμινοξέος ἐδεσμεύετο διὰ τῆς ἐπιδράσεως ἐπ' αὐτοῦ χλωρομυρμηκικοῦ αἰθυλεστέρος.



Τὸ ἀμινοξὺ ἀπωλέσαν τὰς βασικὰς αὐτοῦ ιδιότητας συμπεριεφέρετο ὡς ἀπλοῦν ὀξύ. Διὰ μετατροπῆς αὐτοῦ εἰς ἀντίστοιχον χλωρίδιον καὶ συζεύξεως μὲ ἕτερον ἀμινοξὺ προκύπτει N-καρβοαιθοξυλιωμένον πεπτιδίων. Ἐν τούτοις ἡ ἀπόσπασις τῆς προστατευτικῆς ὁμάδος εἰς τὴν περίπτωσιν αὐτὴν ἦτο δυνατὴ μόνον τῇ ἐπιδράσει ὀξέων ἢ ἀλκαλιῶν καὶ εἰς ἡψημένας θερμοκρασίας, ὁπότε ὁμοῦ μετὰ τῆς προστατευτικῆς ὁμάδος ὕδρoλύετο καὶ ὁ πεπτιδικὸς δεσμὸς ἢ ἐλάμβανον χώραν δευτερεύουσαι ἀντιδράσεις πρὸς διαφόρους κατευθύνσεις. Διὰ τὸν λόγον αὐτὸν ἡ μέθοδος αὕτη οὐδέποτε ἤγαγεν εἰς σύνηθεις ἐλευθέρων πεπτιδίων.

Τριάνα καὶ πλέον ἔτη ἀπὸ τότε ποῦ ὁ E. Fischer καὶ Fourneau προσεπάθησαν νὰ λύσουν, ματαίως, τὸ πρόβλημα διὰ χρησιμοποίησεως τῆς

καρβοαιθοξυ-ομάδος πρὸς παροδικὴν προστασίαν τῆς ἀμινικῆς ὁμάδος εἰσῆχθη ὑπὸ τῶν Bergmann-Zerba εἰς τὴν διεθνή βιβλιογραφίαν ἡ ὀνομαζομένη «καρβοβενζοξυ-μέθοδος» κατὰ τὴν ὁποίαν, διὰ τὴν παροδικὴν προστασίαν τῆς ἀμινομάδος, χρησιμοποιεῖται οὐχὶ χλωρομυρμηκικὸς αἰθυλεστήρ ἀλλὰ χλωρομυρμηκικὸς βενζυλεστήρ (καρβοβενζοξυχλωρίδιον). Ἡ φαινομενικῶς ἀπλή αὕτη ἀντικατάστασις μιᾶς ρίζης δι' ἄλλης, δηλαδὴ εἰς τὴν προκειμένην περίπτωσιν ἀλκυλίου διὰ βενζυλομάδος, ἀπέτελεσε τὴν τελειωτικὴν λύσιν τοῦ προβλήματος. Ἡ O-βενζυλομάς ὡς καὶ N-βενζυλομάς ἔχει τὴν ιδιότητα ν' ἀποσπᾶται δι' ἡπιωτάτων μεθόδων, ὡς εἶναι ἡ καταλυτικὴ ὕδρογόνωσις. Τὸ παροδικῶς σχηματιζόμενον καρβαμινικὸν ὀξύ εἶναι ἀσταθὲς καὶ ἀποδίδει ἀμέσως διοξειδιον τοῦ ἀνθρακος ὑπὸ σχηματισμὸν ἐλευθέρου πεπτιδίου.



Ἡ χρησιμοποίησις τοῦ βενζυλοπαραγῶγου δὲν ἦτο ἀποτέλεσμα τυχαίας ἐμπνεύσεως. Εἶχον ἤδη προηγηθῆ δημοσιεύσεις ἐργασιῶν ἐπὶ σακχάρων ὑπὸ τοῦ Freudenberg, Ζέρβα, Bergmann-Zέρβα, Carter κ. ἄ., εἰς τὰς ὁποίας ἡ ἀπομάκρυνσις βενζυλιδενο-καὶ O-βενζυλομάδων ἀπὸ ὠρισμένα παράγωγα τῶν σακχάρων διεξήγετο εἴτε δι' ὕδρογόνου ἐν τῷ γεννᾶσθαι εἴτε διὰ καταλυτικῆς ὕδρογόνωσης.

Ἡ καρβοβενζοξυ-μέθοδος ἀπέτελεσε τὸ περιεχόμενον διπλώματος εὐρεσιτεχνίας (D. R. P.), ἀπονεμηθὲν εἰς τὴν δυάδα Bergmann-Zέρβα καὶ τὸ ὁποῖον, ὡς μοι ἀνεκοίνωσε κάποτε ὁ καθηγητὴς κ. Ζέρβας, ἀπέφερον εἰς τοὺς κατόχους του, οἱ ὁποῖοι εὕρισκον τότε εἰς τὴν Ἀμερικὴν, (κατὰ τὰ τελευταῖα προπολεμικὰ ἔτη) τό... σημαντικὸν ποσὸν τῶν 200 μάρκων!!! Πάντως τὸ γεγονός τῆς εἰς ἀμφοτέρους ἀπονομῆς διπλώματος εὐρεσιτεχνίας ἀποτελεῖ καὶ μίαν, διὰ τοὺς μὴ εἰδήμονας, τυπικὴν ἀπόδειξιν τῆς συμβολῆς τοῦ καθηγητοῦ κ. Ζέρβα εἰς τὴν ὡς ἄνω μέθοδον. Κατὰ τὴν ἐποχὴν ἐκείνην ὁ καθηγητὴς Ζέρβας ἦτο ἤδη προϊστάμενος τοῦ τμήματος τῆς Ὀργανικῆς Χημείας τοῦ ὡς ἄνω Ἰνστιτούτου καὶ ἀναπληρωτῆς τοῦ Γενικοῦ Διευθυντοῦ, ὁ ὁποῖος ἦτο ὁ ἀείμνηστος καθηγητὴς Max Bergmann. Εἶναι γνωστὸν, ὅτι αἱ σχέσεις μεταξὺ τῶν δύο αὐτῶν ἐπιστημόνων δὲν ἦσαν μόνον σχέσεις διδασκάλου καὶ μαθητοῦ ἀλλὰ καὶ φίλου πρὸς φίλου.

λώς. 25 έτη μετά την πρώτη γνωστοποίησίν της ή Cbzo-μέθοδος εξακολουθεί ακόμη ν' άποτελή την κατ' έσοχήν μέθοδον πεπτιδικής συνθέσεως.

BIBΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

1. Bergmann M. und Zervas L. *Ber.*, **65**, 1192 1201 (1932).
2. Bergmann M., Zervas L., Schleich H. und Leinert F: *Zeitschr. Physiol. Chem*, **212**. 72 (1932).
3. Bergmann M., Zervas L. und Greestein J. P.: *Ber.*, **65**, 1692 (1932).
4. Bergman M., Zervas L., und Schleich H.: *Ber.*, **65**, 1747 (1932).
5. Bergmann M., Zervas L. und Salzmann L.: *Ber.*, **66**, 1288 (1933).
6. Bergmann M. und Zervas L.: *Zeitschr. Physiol. Chem.* **224**, 11 (1934).
7. Bergmann M., Zervas L., Salzmann L. und Schleich H.: *Zeitschr. Physiol. Chem.* **224**, 17 (1934).
8. Bergmann M., Zervas L., Rinke H. und Schleich H.: *Zeitschr. Physiol. Chem.* **224**, 26, 33 (1934).

9. Bergmann M., Zervas L. und Rinke H.: *Z. Phys. Chem.* **223**, 40 (1934).
10. Bergmann M. Zervas L. und Schleich H.: *Z. Phys. Chem.* **224**, 45 (1934).
11. Bergmann M., Zervas L., Fruton J. S., Schneider F. und Schleich H.: *J. Biol. Chem.*, **109**, 325 (1935).
12. Bergmann M., Zervas L. and Fruton J.: *J. Biol. Chem.* **111**, 225, (1935).
13. Bergmann M., Zervas L., and Ross W. F.: *J. Biol. Chem.* **111**, 245 (1935).
14. Bergmann M., Zervas L. and Fruton J.S.: *J. Biol. Chem.* **115**, 593 (1936).
15. Bergman M., Zervas L.: *J. Biol. Chem.* **113**, 341 (1936).
16. Zervas L., Winitz M. and Greenstein J.P.: *Archives of Bioch. and Bioph.* **65**, 573 (1956).
17. Zervas L., Winitz M. and Greenstein J. P.: *J. Organ. Chem.*, **22**, 1515 (1957).
18. Zervas L., Otani Th., Winitz M. and Greenstein J. P.: *Arch. of Bioch. and Bioph.* **75**, 290 (1958).
19. Zervas L., Otani Th., Winitz M., Greenstein J.P.: *J. Am. Chem. Soc. (in pres)*.
20. Zervas L., Benoiton L., Winitz M., Greenstein J.P.: *J. Am. Chem. Soc. (in press)*.

(Εισήχθη τη 16η 'Ιουλίου 1958)

Υδρολύσεις αμιδικού δεσμού δι' ιόντων μετάλλων.

Πρότυπα ένζυματικών αντιδράσεων.

Υπό ΙΦΙΓ. ΦΩΤΑΚΗ, S. FALLAB, H. ERLLENMEYER

Είς προηγουμένη δημοσίευσιν άνεκοινώσαμεν τήν επίτευξιν ύδρολύσεως αμιδικών δεσμών του νιτριλοτριοξεικου τριαμιδιου τη επίδρασει Cu²⁺. Η ύδρολύσις αποδίδεται είς τον σχηματισμόν χηλικού συμπλόκου μεταλλοϊόντος-τριαμιδιου και τον ένδομοριακόν μετασχηματισμόν αυτού πρός τό σταθερώτερον σύμπλοκον μετά του προϊόντος ύδρολύσεως (κομπλεξόνης).

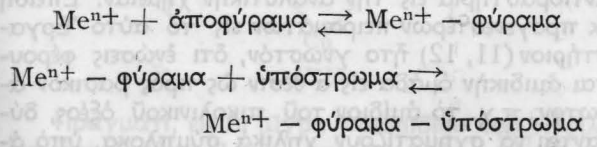
Είς τήν παρούσαν έργασίαν περιγράφονται λεπτομερώς αι έφαρμοσθεισαι μέθοδοι παρακολουθήσεως τής ύδρολύσεως. Επίσης παρουσιάζονται δια πρώτην φοράν τ' αποτελέσματα τής καταλυτικής δράσεως άλλων ιόντων μετάλλων ώς Ni²⁺, Co²⁺, Zn²⁺, Ce⁴⁺.

Έκτίθεται ό ύπολογισμός τής σταθεράς τής ταχύτητος αντιδράσεως k και μελετάται η επίδρασις τής συγκεντρώσεως των τελικών προϊόντων και τής παρουσίας χηλιούντων μέσων επ' αυτής.

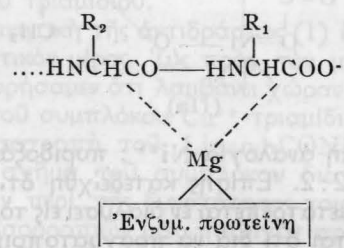
Περιγράφεται επίσης ό διαχωρισμός, δια χαρτοχρωματογραφίας, διαφόρων κομπλεξόνων από τινων αμιδιών των.

Θεωρητικόν μέρος

Ίόντα μετάλλων περιέχονται, ώς γνωστόν, είς πολλά φυράματα ώς ένεργόν συστατικόν. Ουσίαί ικαναί να δεσμεύουν συμπλόκως τά μεταλλοϊόντα π. χ. CN⁻ ή αιθυλενοδιαμινο-τετραοξεικόν όξύ (κομπλεξόνη) άδρανοποιούν τοιαύτα ένζυμα, όπως έδειξεν ό Otto Warburg (1) είς τά κλασσικά πειράματά του. Τελευταίως μάλιστα οι Vallee, Coombs και Williams (2) δια πειραμάτων επίδρασεως χηλιούντων μέσων επί ένζύμων περιεχόντων Zn²⁺ απέδειξαν, δια πρώτην φοράν, τον σχηματισμόν του μικτού συμπλόκου πρωτεΐνη - Zn²⁺ - χηλιούν μέσον. Τό σύμπλοκον τουτο είναι άνενεργόν φυραματικώς. Έξ άλλου πολλαί βιολογικώς δραστικαί ουσίαί έχουν σύνταξιν κατάλληληλην πρός δέσμευσιν των μεταλλικών ιόντων υπό σχηματισμόν συμπλόκων. Ός εκ τούτου έχει διατυπωθή η ύπόθεσις ότι, είς τήν περίπτωσιν φυραμάτων περιεχόντων μεταλλοϊόν, η επίδρασις του ένζύμου επί του ύποστρώματος και αι άκολουθούσαι μεταβολαί αυτού λαμβάνουν χώραν είς τήν σφαιραν του συμπλόκου του ιόντος μετάλλου (3) (Koordinationsphäre). Ητοι, η δράσις του ιόντος μετάλλου όφείλεται είς τήν ικανότητα αυτού πρός σχηματισμόν συμπλόκου μετά του ένζύμου και του ύποστρώματος (4):

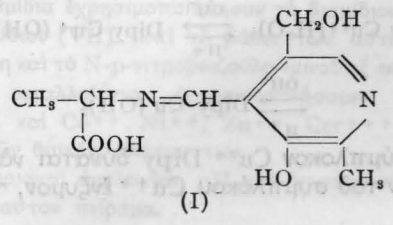


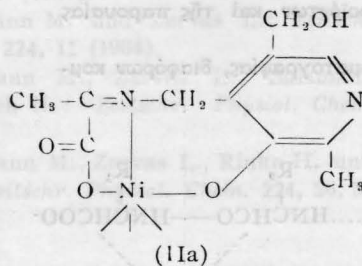
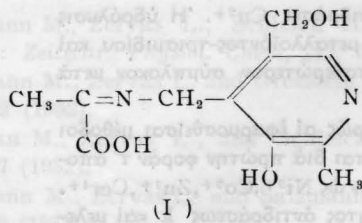
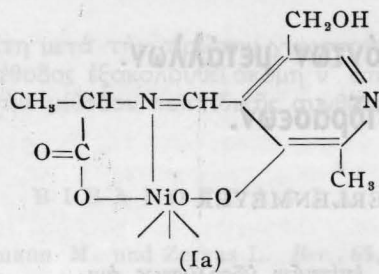
Είς μίαν καρβοξυπεπτιδάσην (5), π.χ., ήτις έχει άπομονωθή είς κρυσταλλικήν κατάστασιν, περιέχεται Mg, τό όποϊον φαίνεται ότι σχηματίζει σύμπλοκον φύραμα - Mg²⁺ - πεπτιδιον του τύπου:



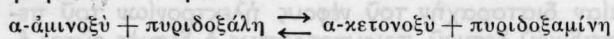
Η παρουσία των χηλικών δεσμών προκαλεί μίαν διαταραχήν του νέφους ηλεκτρονίων του πεπτιδικού δεσμού, τοιοτοτρόπως ό δεσμός ούτος έξασθενεί και έπέρχεται ύδρολύσις.

Είς αντιδράσεις in vitro καταλυομένας υπό ιόντων μετάλλων, αίτινες δύναται να θεωρηθουν ώς πρότυπα ένζυματικών αντιδράσεων, πειραματικά εύρήματα στηρίζουν τήν ύπόθεσιν τής δράσεως των ιόντων δια σχηματισμού χηλικών συμπλόκων. Είναι γνωστόν π. χ. ότι η άπαμίνωσις α-άμινοξέων πρός α-κετονοξέα καταλύεται υπό αλδευδών ιδίως πυριδοξάλης και μεταλλοϊόντων. Αντιστρόφως α-κετονοξέα μετατρέπονται είς α-άμινοξέα τη επίδρασει πυριδοξαμίνης και μεταλλοϊόντων. Μεταξύ άμινοξέων π. χ. αλανίνης και πυριδοξάλης η κετονοξέων π. χ. πυροσταφυλικού και πυριδοξαμίνης σχηματίζονται βάσει Schiff (τύποι I και II) μετά των όποϊων έννοϋται συμπλόκως τό μεταλλοϊόν. Δια τής φασματοφωτομετρικής ανάλυσεως κατεδείχθη η ύπαρξις έν διαλύματι συμπλόκων Cu²⁺ και Ni²⁺ (Ia και IIa) (6).



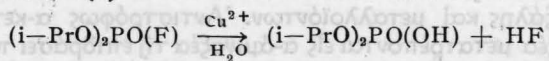


Ἡ μοριακὴ ἀναλογία Ni^{2+} : πυριδοξάλη : ἀλαμινὴ εἶναι 1 : 2 : 2. Ἐπίσης κατεδείχθη ὅτι, τὸ σύμπλοκον IIa μετατρέπεται ἐν διαλύσει εἰς τὸ σύμπλοκον Ia. Φαίνεται ὅτι διὰ τὰ νὰ πραγματοποιηθῇ ἡ ἀμφίδρομος ἀντίδρασις :

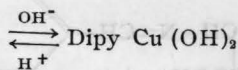
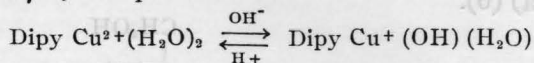


σχηματίζονται κατὰ πρῶτον, ἀναλόγως τῶν ἀρχικῶν οὐσιῶν βάσεις Schiff I ἢ II καὶ περαιτέρω λαμβάνει χώραν μετατροπὴ τῆς μιᾶς πρὸς τὴν ἄλλην καὶ ὑδρόλυσις.

Ὡς ἕτερον παράδειγμα καταλυτικῆς δράσεως τῶν ἰόντων μετάλλων ἀναφέρομεν τὴν ὑδρόλυσιν τοῦ διῖσοπροπυλοφθοριοφωσφορικοῦ ὀξέος (DFP) διὰ Cu^{2+} (7) :

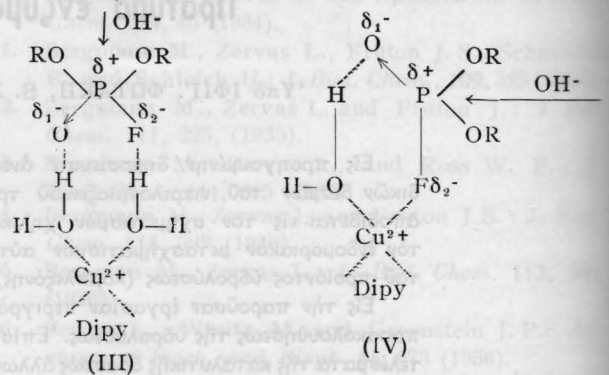


Εἰς $\text{pH} > 7$ ἡ ὑδρόλυσις ἐπιταχύνεται διὰ προσθήκης ἐπὶ πλέον ἀζωτούχων οὐσιῶν ἰκανῶν νὰ σχηματίζουσι σύμπλοκα μετὰ τοῦ Cu^{2+} . Τοιαῦτα ἐνώσεις εἶναι π.χ. τὰ χηλιούντα μέσα α,α'-διπυριδύλιον καὶ αἰθυλενοδιαμίνη. Τὸ διπυριδύλιον (Dipy) καὶ τὸ ἰὸν Cu^{2+} σχηματίζουσι διάφορα σύμπλοκα ἀναλόγως τοῦ pH :



Τὸ σύμπλοκον Cu^{2+} Dipy δύναται νὰ θεωρηθῇ ἀνάλογον τοῦ συμπλόκου Cu^{++} ἐνζυμον, τὸ ὁποῖον

περαιτέρω σχηματίζει μετὰ τοῦ ὑποστρώματος τὸ σύμπλοκον Cu^{++} -ἐνζυμον-ὑπόστρωμα. Διὰ τὸ τελευταῖον ἐπροτάθησαν τύποι ὡς οἱ III καὶ IV.



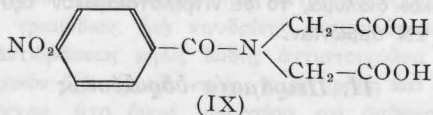
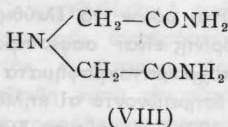
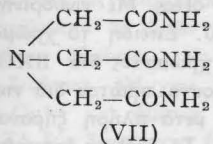
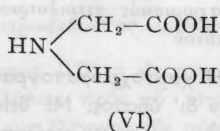
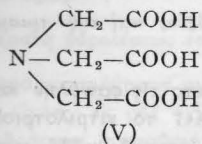
Εἰς τοιαύτας ἐνώσεις τὸ ἠλεκτρόφιλον ἰὸν Cu^{2+} αὐξάνει τὴν πόλωσιν τῶν δεσμῶν $P=O$ καὶ $P-F$ καὶ οὕτω διευκολύνει τὸ OH^- νὰ πλησιάσῃ τὸ ἄτομον τοῦ P , ὑπὸ ἀπομάκρυνσιν τοῦ ἀνιόντος φθορίου. Πάντως ἐπειδὴ τὰ ἰόντα Cu^{2+} καταλύουσι τὴν ὑδρόλυσιν τοῦ DFP καὶ ἀνευ ἐτέρας προσθήκης, δὲν ἀποκλείεται ἡ κυρία δρᾶσις τῶν χηλιούντων μέσων νὰ συνίσταται εἰς τὸ γεγονός ὅτι κρατοῦν τὸ μεταλλοῖον ἐν διαλύσει εἰς ὑψηλὸν pH , ὅπου κανονικῶς θὰ κατεβυθίζετο.

Ἡ ὑδρόλυσις ἐστέρων ἀμινοξέων διὰ τῆς καταλυτικῆς ἐπιδράσεως ἰόντων μετάλλων εἶναι ἐπίσης γνωστὴ (8).

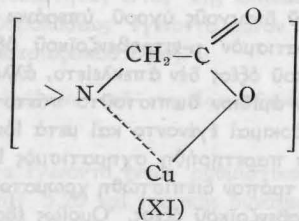
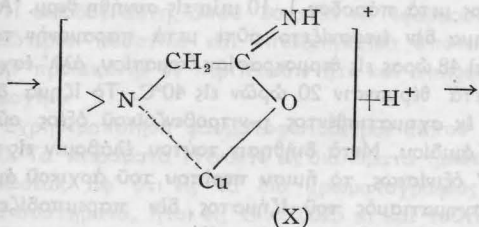
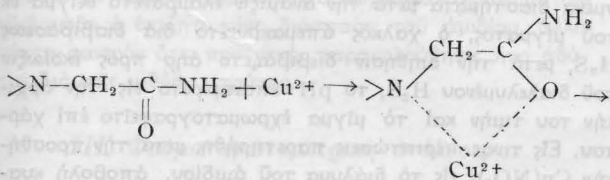
Καταλυτικὴ διὰ μεταλλοῖόντων ὑδρόλυσις ἀμιδικοῦ δεσμοῦ δὲν ἦτο γνωστὴ. Ἐπετύχαμεν τὴν ὑδρολυτικὴν διάσπασιν ἀμιδικοῦ δεσμοῦ ὑπὸ ἠπιωτάτας συνθήκας διὰ τῆς ἐπιδράσεως Cu^{2+} (9) ὡς καὶ ἄλλων μεταλλικῶν ἰόντων. Τ' ἀποτελέσματα ταῦτα περιγράφομεν εἰς τὸ πειραματικὸν μέρος. Ὡς γνωστὸν ἡ ὑδρόλυσις τῶν ἀμιδίων πραγματοποιεῖται ὑπὸ δραστικωτέρας συνθήκας ἀπὸ τὴν ὑδρόλυσιν τῶν ἀντιστοιχῶν ἐστέρων.

Ὡς ὑποστρώματα τῆς καταλυτικῆς δράσεως τῶν ἰόντων μετάλλων μᾶς ἐχρησίμευσαν ἀμίδια τῶν κομπλεξῶν. Αἱ κομπλεξῶναι εἶναι ἐνώσεις φέρουσαι καρβοξυλικὰς ομάδας εἰς α-θέσιν ὡς πρὸς βασικὸν ἄζωτον καὶ δεικνύουσιν μεγάλην τάσιν πρὸς σχηματισμὸν συμπλόκων μετὰ ἰόντων μετάλλων. Αὐταὶ εἶχον παρασκευασθῆ ἀπὸ τοῦ παρελθόντος αἰῶνος ἄλλ' ὁ Schwarzenbach (10) πρῶτος τὰς ἐχρησιμοποίησεν εἰς τὸν σχηματισμὸν χηλικῶν συμπλόκων μετὰ μετάλλων καὶ ἔκτοτε ἔγιναν ἀπαραίτητα ἀντιδραστήρια εἰς τὴν ἀναλυτικὴν χημείαν. Ἐπειδὴ ἐκ προγενεστέρων πειραμάτων εἰς τὸ αὐτὸ Ἔργαστήριον (11, 12) ἦτο γνωστὸν, ὅτι ἐνώσεις φέρουσαι ἀμιδικὴν ομάδα εἰς α-θέσιν ὡς πρὸς βασικὸν ἄζωτον, π.χ. τὸ ἀμίδιον τοῦ πικολινικοῦ ὀξέος, δύναται νὰ σχηματίζουσι χηλικά σύμπλοκα, ὑπὸ ἀπόδοσιν H^+ , ὑπεθέσαμεν ὅτι καὶ τὰ ἀμίδια τῶν κομπλεξῶν θὰ δεικνύουσιν αὐτὴν τὴν ἰκανότητα. Τῶ ὄντι Cu^{++} καὶ ἄλλα μεταλλοῖόντα εὕρισκόμενα, ὑπὸ ὠρισμένης συνθήκας, μετὰ τοῦ τριαμιδίου

τοῦ νιτριλοτριοξεικοῦ ὀξέος (VII) ἢ τοῦ διαμιδίου τοῦ ἱμινοδιοξεικοῦ ὀξέος (VIII) σχηματίζουν μετ' αὐτῶν σύμπλοκα.

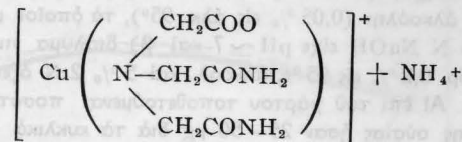
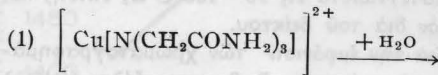


Ἐπειδὴ ὁμως αἱ κομπλεξοται-ὀξέα (V, VI) σχηματίζουν σταθερώτερα σύμπλοκα, ἐσκέφθημεν ὅτι τὰ μεταλλοῖοντα θὰ εὐνοοῦν τὸν σχηματισμὸν τῶν ἐλευθέρων κομπλεξῶν ἥτοι τὴν ὑδρόλυσιν τῶν ἀμιδίων τῶν (VII - IX). Διὰ τὸ ἀρχικῶς ἀναμενόμενον σύμπλοκον X ὑπῆρχεν ἡ δυνατότης μετασχηματισμοῦ εἰς τὸ σταθερώτερον σύμπλοκον XI διὰ διασπάσεως τοῦ ἀμιδικοῦ δεσμοῦ:



Πράγματι, εἰς ἓν μίγμα τριαμιδίου τοῦ νιτριλοτριοξεικοῦ ὀξέος (VII) μετὰ Cu^{2+} εἰς μοριακὴν ἀναλογίαν 1:1, pH 5,2 καὶ θερμοκρασίαν 40°C διεπιστώσαμεν ὑδρόλυσιν ἀμιδικῶν δεσμῶν. Ἡ ὑδρόλυσις ἀρχεται μετὰ 45 min ἀπὸ τῆς προσθήκης τῶν μεταλλοῖοντων καὶ ἐπιταχύνεται εἰς 60°C . Ἴσορρο-

πία ἐπέρχεται μετὰ πάροδον ca. 115 ὥρων. Ὑπὸ τὰς ἐφαρμοσθεῖσας συνθήκας δὲν συμβαίνει πλήρης ὑδρόλυσις καὶ τῶν τριῶν ἀμιδικῶν ὁμάδων. Εἰς τὸ πειραματικὸν μέρος ἐκτίθενται αἱ ἀποδείξεις τῆς πραγματοποιήσεως τῆς ὑδρόλύσεως. Ἐπροτείνουμεν τὸ σχῆμα τῆς ἐξισώσεως (I), διότι κατὰ τὸν ποσοτικὸν προσδιορισμὸν τῆς ἀπελευθερουμένης ἀμμωνίας φαίνεται ὅτι ὁ εἰς ἀμιδικὸς δεσμὸς διασπᾶται εὐκολώτερον τῶν ἐτέρων δύο.



Ἄλλὰ πιθανώτατα ἡ ἀντίδρασις δὲν εἶναι τόσο ἀπλῆ καὶ τελικῶς ἐπέρχεται ἰσορροπία μετὰ σύμπλοκων ἐκ Cu^{2+} καὶ προϊόντων μερικῆς ὑδρόλύσεως τοῦ τριαμιδίου.

Ἡ κινητικὴ τῆς ἀντιδράσεως (1) ἐκτίθεται εἰς τὸ πειραματικὸν μέρος. Ὡς πρὸς τὸν μηχανισμόν αὐτῆς ἐθεωρήσαμεν ὅτι λαμβάνει χώραν ἐνδομοριακῶς. Ἐντὸς τοῦ συμπλόκου Cu^{2+} -τριαμίδιον εἶναι δυνατὴ ἡ μετατροπὴ τοῦ Ligand-CONH₂ εἰς -COOH ἐνῶ τὸ σχῆμα τοῦ συμπλόκου διατηρεῖται. Μίαν ἀπόδειξιν περὶ τῆς δυνατότητος τοιούτων ἐνδομοριακῶν ἰσορροπιῶν μᾶς παρεῖχον προηγούμενα εὐρήματα τῶν Brintzinger, Fallab καὶ Erlennmeyer (13) ἐπὶ τῆς ρακεμοποίησης τοῦ συμπλόκου $[\text{Fe}(\text{Dipy})_2]^{2+}$ λαμβανούσης χώραν ἐνδομοριακῶς.

Καθ' ὃν χρόνον τὰ πρῶτα ἀποτελέσματα τῆς ἐργασίας μας εἶχον σταλῆ πρὸς δημοσίευσιν εἰς τὰ Helv. Chim. Acta (9) ὁ Bamann καὶ οἱ συνεργάται του (14) ἐπέτυχαν τὴν καταλυτικὴν διάσπασιν πεπτιδικοῦ δεσμοῦ δι' ἰόντων σπανίων γαιῶν. Οὗτως ἐπραγματοποίησαν τὴν ὑδρόλυσιν τῶν διπεπτιδίων γλυκύλ-γλυκίνη καὶ γλυκύλ-λευκίνη δι' ἰόντων (Ce^{3+} καὶ Ce^{4+}) εἰς ἀσθενῶς ἀλκαλικὸν περιβάλλον καὶ θερμοκρασίαν 37°C .

Πειραματικὸν μέρος

Χρησιμοποιηθεῖσαι οὐσίαι

Τὰ πειράματα διασπάσεως τοῦ ἀμιδικοῦ δεσμοῦ τῆ ἐπιδράσει ἰόντων μετάλλων ἐγένοντο εἰς ἀμίδια τῶν κομπλεξῶν νιτριλοτριοξεικοῦ (V) καὶ ἱμινοδιοξεικοῦ ὀξέος (VI).

Ὡς ἀμίδια ἐχρησιμοποιήθησαν τὸ διαμίδιον (VIII) καὶ τὸ τριαμίδιον (VII). Ἐπὶ τῆ βάσει τῶν αὐτῶν σκέψεων ἐδοκιμάσθη καὶ τὸ N-p-νιτροβενζοῦλο-ἱμινοδιοξεικοῦ ὀξύ (IX).

Ὡς μεταλλοῖοντα ἐχρησιμοποιήσαμεν Cu^{++} ὡς $\text{Cu}(\text{NO}_3)_2$ καὶ Co^{++} , Ni^{++} , Zn^{++} , Ce^{++++} , ὑπὸ τὴν μορφήν τῶν θεικῶν ἀλάτων των.

Αἱ μοριακαὶ ἀναλογίαι, pH καὶ θερμοκρασία σημειοῦνται δι' ἕκαστον πείραμα.

Μέθοδοι και ανάλυσις πειραμάτων

I. Χαρτοχρωματογραφία

Εφηρμόσθησαν η ανερχομένη μονοδιάστατος τεχνική ως και η κυκλική κατά Rutter (15) επί χάρτου Whatmann N° 1. Η πρώτη (διαστ. χάρτ. $17 \times 33 \text{ cm}^2$) εφηρμόζετο ως επιβεβαίωσις των εύρημάτων τής δευτέρας (διάμ. χάρτ. 13 cm), η οποία ητο προτιμωτέρα λόγω τής συντομείσεως του χρόνου αναπτύξεως του χρωματογραφήματος. Μετά ταυτα ο χάρτης έστεγνώνετο εις 90–100°C ως επίσης και μετά τον ραντισμόν διά του δείκτου.

Ός δείκται διά τήν εμφάνισιν των χρωματογραφήματων έχρησιμευαν: α) πράσινον τής βρωμοκρεζόλης (BKG) εις άλκοόλην (0,05% εις άлк. 95%), το όποιον με σταγόνας 0,5 N NaOH ειχε pH ~ 7 και β) διάλυμα νινυδρίνης (νινυδρ. 0,2% εις 95% άλκοόλ. και 5% 2 N όξεικόν όξύ).

Αί επί του χάρτου τοποθετούμεναι ποσότητες έξ εκάστης ούσιης ήσαν 25–50 μg διά τά κυκλικά και 50–100 μg διά τά μονοδιάστατα χρωματογραφήματα.

1. Διαχωρισμός ιμινοδιοξεικού, p-νιτροβενζοϊκού και N-p-νιτροβενζοϊλ-ιμινοδιοξεικού όξέος

Έκ πολλών δοκιμασθέντων μιγμάτων ως καταλληλότερον ύγρον αναπτύξεως εύρέθη το μίγμα άλκοόλη: πυκνή άμμωνία: ύδωρ (6:3:1) (16) ως δείκτης δέ BKG. Μετά τον ψεκασμόν διά του δείκτου αί κηλίδες διεγράφοντο καλύτερον εις το υπεριώδες φώς λάμπας ύδραργύρου. Το R_f των ούσιών έλαττούται κατά τήν σημειουμένην σειράν: p-νιτροβενζοϊκόν όξύ > άμίδιον IX* > ιμινοδιοξεικόν όξύ. Το ιμινοδιοξεικόν όξύ και το άμίδιον IX έχρησιμοποιήθησαν εις ύδατικά διαλύματα (pH = 3,5) το δέ p-νιτροβενζοϊκόν εις άλκοολικόν διάλυμα. Χαρτοχρωματογραφία εις μίγματα των άνωτέρω ούσιών τή προσθήκη Cu²⁺ δέν μετέβαλε τήν είκόνα του χρωματογραφήματος. Η παρουσία των ίόντων δημιουργεί μίαν μεγάλην κηλίδα, ήτις άρχεται εις τήν βασιικήν γραμμήν και περατούται εις τήν θέσιν τής κηλίδος του ιμινοδιοξεικού όξέος. Έντός τής κηλίδος ταύτης είναι και το σχηματιζόμενον σύμπλοκον ιμινοδιοξ. – Cu²⁺. Το άμίδιον IX και το p-νιτροβενζοϊκόν όξύ δέν έπηρεάζονται εκ τής παρουσίας των ίόντων. Έπίσης προσθήκη διπυριδυλίου, το όποιον προσετέθη εις έν πείραμα, δέν μετέβαλε το χρωματογράφημα.

2. Διαχωρισμός ιμινοδιοξεικού όξέος και του διαμιδίου αυτου

Έπετεύχθη διαχωρισμός εις φαινόλην κεκορεσμένην δι' ύδατος (17). Ός δείκτης έχρησιμευσε BKG (pH 7) διά του όποιου το ιμινοδιοξεικόν όξύ εμφανίζεται ως κιτρινη κηλίς, το δέ άμίδιον* ως πρασινοκυανή. Έπίσης νινυδρίνη διά τής όποιας το έλεύθερον όξύ δίδει ίώδη-κυανήν κηλίδα, το δέ διαμίδιον τοιαύτην άνοικτοτέρω χρώματος**.

* Έυχαριστοϋμεν τον Dr. H. Kühne διά τήν παρασκευήν και χορήγησιν των άμιδίων τούτων.

** Η αντίδρασις διά νινυδρίνης (18) δέν θά έπρεπε να δίδεται υπό δευτερογενούς άμινομάδος. Έν τούτοις και με το α-ιμινοξέν-προλήνη αντιδρα ή νινυδρίνη προς σχηματισμόν κιτρινον χρώματος. Έξ άλλου είναι γενικώς γνωστόν, ότι επί του χάρτου λαμβάνουν χώραν αντιδράσεις, αιτινες δέν επιτυγχάνονται έντός του δοκιμαστικού σωλήνος (19). Ακόμη πε-

Το διαμίδιον έτοποθετείτο επί των χρωματογραφήματων ως ύδατικόν διάλυμα και έδειξεν R_f μεγαλύτερον του έλεύθερου όξέος.

3. Διαχωρισμός νιτριλοτριοξεικού όξέος και του τριαμιδίου αυτου

Η χαρτοχρωματογραφία έγένετο εις φαινόλην κεκορεσμένην δι' ύδατος. Με δείκτην BKG το νιτριλοτριοξεικόν όξύ δίδει κιτρινον χρώμα ένω το τριαμίδιον*** κυανοϋ, είναι δέ R_f τριαμιδίου > R_f έλ. όξέος. Με νινυδρίνην σημειούται μόνον το έλεύθερον όξύ. Έπειδή το χρώμα διά νινυδρίνης είναι σαφέστερον του χρώματος διά BKG, τα χαρτοχρωματογραφήματα έψεκάζοντο πρώτον διά νινυδρίνην, έσημειώνοντο αί κηλίδες και μετά πλήρη ξήρασιν εις 90–100°C έψεκάζοντο διά BKG. Το άμίδιον έτοποθετείτο ως ύδατικόν διάλυμα, το δέ νιτριλοτριοξεικόν όξύ ως διάλυμα εις 2N άμμωνίαν.

II. Πειράματα ύδρολύσεως

1. Πειράματα ύδρολύσεως του N-p-νιτροβενζοϊλ-ιμινοδιοξεικού όξέος

Προκειμένου να έπιτευχθή η ύδρόλυσις του άμιδίου IX τή επιδράσει Cu²⁺ εις p-νιτροβενζοϊκόν όξύ και ιμινοδιοξεικόν όξύ (VI), το άμίδιον μετά του Cu⁺⁺ ανεμιγνύοντο εις ίσομοριακάς αναλογίας εις ύδατικά διαλύματα ώρισμένου pH. Ούτως έδοκιμάσθησαν συγκεντρώσεις 0,05 m και 0,005 m εις pH 3,5–6,2. Το μίγμα άφιετο εις συνήθη θερμοκρασίαν η έτίθετο έντός θερμοστάτου 40°C. Καθ' ώρισμένα διαστήματα μετά τήν ανάμειξιν έλαμβάνετο δείγμα εκ του μίγματος, ο χαλκός άπεμακρύνετο διά διαβιβάσεως H₂S, μετά τήν διήθησιν διεβιβάζετο άηρ προς εκδίωξιν του διαλελυμένου H₂S, το pH επανεφέρετο εις τήν αρχικήν του τιμήν και το μίγμα έχρωματογραφείτο επί χάρτου. Εις τινας περιπτώσεις παρετηρήθη, μετά τήν προσθήκην Cu(NO₃)₂ εις το διάλυμα του άμιδίου, άποβολή κυανου ίζήματος μετά πάροδον 1–10 min εις συνήθη θερμ. Άλλοτε το ίζημα δέν ένεφανίζετο ούτε μετά παραμονήν του μίγματος επί 48 ώρας εις θερμοκρασίαν δωματίου, άλλ' έσηματιζετο μετά θέρμανσιν 20 ώρων εις 40°C. Το ίζημα δέν άπετελείτο εκ σχηματισθέντος p-νιτροβενζοϊκού όξέος ούτε εξ άρχικου άμιδίου. Μετά διήθησιν τούτου, έλάβομεν εις το διήθημα δι' όξινίσεως, το ημισυ περίπου του άρχικου άμιδίου. Ο σχηματισμός του ίζήματος δέν παρεμποδίζετο ούτε διά προσθήκης διπυριδυλίου. Η χαρτοχρωματογραφική εξέτασις του διαυγοϋς ύγρου υπέρνω του ίζήματος δέν έδειξε σχηματισμόν p-νιτροβενζοϊκού όξέος. Σχηματισμός ιμινοδιοξεικού όξέος δέν άπεκλείετο, άλλά δέν ητο σαφής. Το άρχικόν άμίδιον διεπιστοϋετο πάντοτε σαφώς.

Ανάλογοι δοκιμαί έγέγοντο και μετά ίόντων Co²⁺ και Ni²⁺ όποτε δέν παρετηρήθη σχηματισμός ίζήματος. Ουτε κατ' αυτον τον τρόπον διεπιστώθη χρωματογραφικώς σχηματισμός p-νιτροβενζοϊκού όξέος. Όμοίως έδοκιμάσθη και η προσθήκη των χηλιούτων μέσων διπυριδυλίου και αιθυλενοδιαμίνης εις μοριακήν αναλογίαν 1:1:1, προς ένεργο-

ρηργότερον είναι το γεγονός ότι η νινυδρίνη δίδει κυανήν χροιάν και με το νιτριλοτριοξεικόν όξύ.

*** Έυχαριστοϋμεν τον Dr. G. Klein διά τήν παρασκευήν του τριαμιδίου.

ποίησιν τών μεταλλοϊόντων (βλ. Θεωρ. μέρος, ύδρόλυσις του DFP). Εἰς οὐδεμίαν περίπτωσιν διεπιστώθη χαρτοχρωματογραφικῶς σχηματισμὸς p-νιτροβενζοϊκοῦ ὀξέος ἢ ἱμινοβιοξεικοῦ ὀξέος.

2. Πειράματα ὑδρολύσεως τοῦ νιτριλοτριοξεικοῦ τριαμιδίου

Ἐχρησιμοποιήθησαν συγκεντρώσεις 0,05 m εἰς τριαμίδιον καὶ Cu^{2+} , εἰς pH 4,5. Παραλλήλως πρὸς τὸ μίγμα τῆς ἀντιδράσεως ἐτοποθετήθη διάλυμα ἐλέγχου τῆς αὐτῆς συγκεντρώσεως εἰς τριαμίδιον, ἄνευ Cu^{2+} εἰς τὸ αὐτὸ pH. Μετὰ παρέλευσιν 48 ὥρων εἰς 40°C κατεβυθίσθη ὁ χαλκὸς κατόπιν ὀξινίσεως, εἰς τὸ μίγμα τῆς ἀντιδράσεως. Εἰς τὸ διάλυμα ἐλέγχου προσετέθη ἡ ἀντιστοιχοῦσα ποσότης Cu^{2+} καὶ ἀμέσως κατεβυθίσθη κατὰ τὸν αὐτὸν τρόπον. Τὰ δύο διαλύματα ἐχρωματογραφήθησαν συγχρόνως ἐπὶ χάρτου παραλλήλως πρὸς νιτριλοτριοξεικὸν ὄξύ καὶ ἀρχικὸν τριαμίδιον. Διὰ νινδρίνης ἐσημειώθη εἰς τὸ μίγμα τῆς ἀντιδράσεως κηλὶς ἰώδης ἀντιστοιχοῦσα πρὸς νιτριλοτριοξεικὸν ὄξύ. Ὅμοια κηλὶς παρετηρήθη καὶ εἰς τὸ διάλυμα ἐλέγχου, ἦτο ὅμως μικροτέρα καὶ ἀσθενεστέρου χρώματος. Διὰ BKG διεγράφη τὸ ἀρχικὸν τριαμίδιον εἰς τὸ μίγμα ἀντιδράσεως καὶ ἐλέγχου ὡς καὶ ἄλλαι κηλίδες ὀφειλόμεναι εἰς τὰ διάφορα ἰόντα τοῦ μίγματος. Εἰς ἕτερον πείραμα κατεβυθίσθη ὁ χαλκὸς εἰς τὸ pH τῆς ἀντιδράσεως, ὁπότε μετὰ χαρτοχρωματογραφίαν, ὡς ἀνωτέρω, ἡ ὑπαρξὶς νιτριλοτριοξεικοῦ ὀξέος διεπιστώθη μόνον εἰς τὸ μίγμα τῆς ἀντιδράσεως. Εἰς ἓν πείραμα παρετηρήθησαν δύο ἰώδεις κηλίδες διὰ νινδρίνης ὀφειλόμεναι πιθανῶς εἰς προϊόντα διαφόρου βαθμοῦ ὑδρολύσεως τοῦ τριαμιδίου.

Οὕτω δι' ἐπανελημμένον χαρτοχρωματογραφήματων ἐπεβεβαιώθη ἡ ἐπιζητούμενη διάσπασις τοῦ ἀμιδίου, ἀλλὰ κατέστη φανερὸν ὅτι ποσοτικὴ παρακολούθησις ἦτο ἀδύνατος διὰ τῆς μεθόδου ταύτης.

III. Φασματοφωτομετρικὴ ἀνάλυσις

Ἡ μέθοδος αὕτη, ὅπου δύναται νὰ ἐφαρμοσθῇ, δίδει εὐκολώτερον ποσοτικὰ καὶ ἐπαναληπτικὰ ἀποτελέσματα, εἰς τὴν προκειμένην δὲ περίπτωσιν ἦτο καὶ ἀπλουστερά εἰς ἐφαρμογὴν.

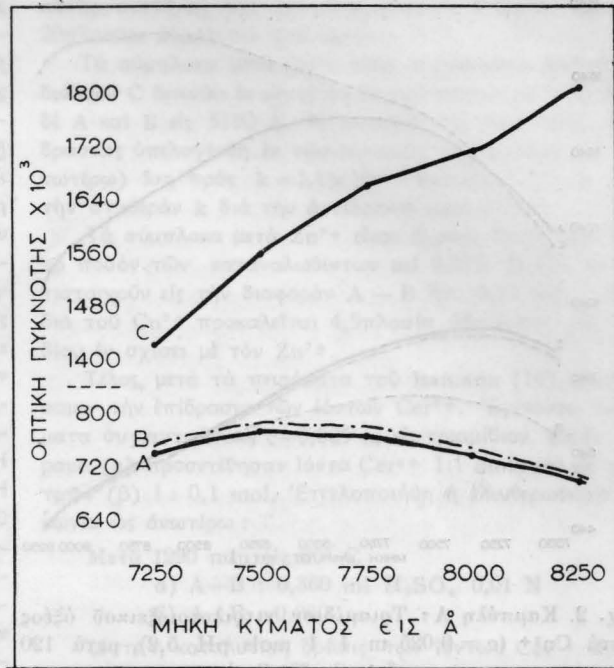
Ἐχρησιμοποιήθη φασματοφωτόμετρον τύπου Unicam S 500. Τὰ πειράματα ἐγένοντο εἰς διαλύματα ἡμισείας συγκεντρώσεως ἀφ' ὅτι εἰς τὰ διὰ χρωματογραφίας ἐρευνηθέντα συστήματα, ἦτοι εἰς $C = 0,025$ m καὶ τοῦτο διὰ νὰ ἔχωμεν ὀπτικὰς πυκνότητας ἐντὸς τῆς κλίμακος τοῦ ὄργανου. Αἱ δοκιμαὶ ὑδρολύσεως ἐγένοντο μόνον ἐπὶ τοῦ τριαμιδίου τοῦ νιτριλοτριοξεικοῦ ὀξέος.

1. Καταλυτικὴ ὑδρολύσις τοῦ νιτριλοτριοξεικοῦ τριαμιδίου διὰ Cu^{2+} .

Τὰ διαλύματα ἐγένοντο ἐντὸς ρυθμιστικοῦ διαλύματος ὀξεικοῦ νατρίου pH 5,20 καὶ ἰοντικῆς δυνάμεως $\mu = 1$. Περαιτέρω τὰ διαλύματα τῶν οὐσιῶν ἀναφέρονται ὡς ἑξῆς :

A. Τὸ διάλυμα τοῦ μίγματος τῆς ἀντιδράσεως. 235 mg νιτριλοτριοξεικοῦ τριαμιδίου (VII) καὶ 300mg $Cu(NO_3)_2 \cdot 3H_2O$ (1 : 1 mols) διελύοντο εἰς 50 ml ρυθμιστικοῦ διαλύματος. Ἐξηκριβώθη ὅτι τὸ pH διετηρεῖτο σταθερὸν τούλάχιστον ἐπὶ 15 ἡμέρας.

B. Διάλυμα ἐλέγχου, τὸ ὁποῖον περιεῖχε τὴν αὐτὴν



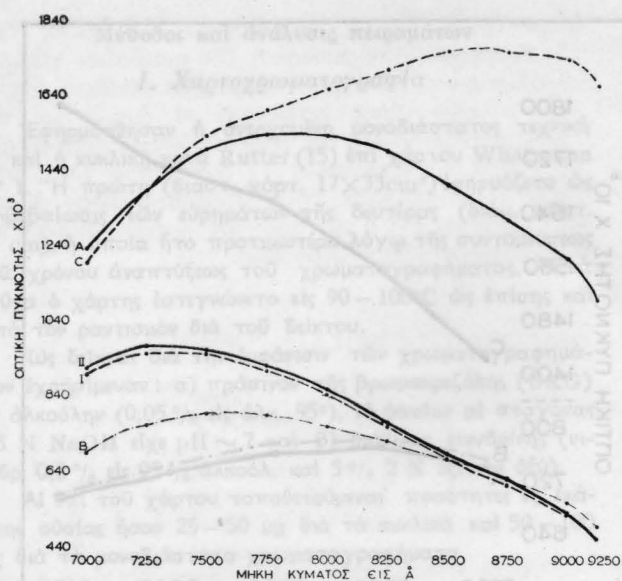
Σχ. 1. Καμπύλη A: Τριαμίδιον νιτριλοτριοξεικοῦ ὀξέος μετὰ Cu^{2+} ($c=0,025$ m 1:1 mols pH 5,2), κατὰ τὴν ἑναρξιν τῆς καταλυτικῆς ὑδρολύσεως
 Καμπύλη B: Τριαμίδιον νιτριλοτριοξεικοῦ ὀξέος ὡς εἰς τὴν A ἀλλ' ἄνευ Cu^{2+} . Ἀμέσως πρὸ τῶν μετρήσεων προσθήκη 1 mol Cu^{2+}
 Καμπύλη C: Νιτριλοτριοξεικὸν ὄξύ μετὰ Cu^{2+} ($c=0,025$ m 1:1 mols pH 5,07) κατὰ τὴν ἑναρξιν τῆς καταλυτικῆς ὑδρολύσεως τοῦ τριαμιδίου

ποσότητα τριαμιδίου διαλελυμένην εἰς τὸ ρυθμιστικὸν διάλυμα, ἄνευ Cu^{2+} .

C. Διάλυμα συγκρίσεως, τὸ ὁποῖον περιεῖχε 239 mg νιτριλοτριοξεικοῦ ὀξέος καὶ 300 mg $Cu(NO_3)_2$ (1 : 1 mols) διαλελυμένα εἰς τὸ ρυθμιστικὸν διάλυμα.

Τὸ pH καὶ τῶν τριῶν διαλυμάτων ἦτο καθ' ὅλην τὴν διάρκειαν τῶν πειραμάτων $5,2 \pm 0,2$. Τὰ διαλύματα A, B, C, ἐτίθεντο συγχρόνως εἰς θερμοστάτην 60° C καὶ ἀπεύροντο καθ' ὄρισμένα διαστήματα πρὸς φωτομέτρησην. Μετὰ τὴν ἀπόκτησιν, βραδέως (30'), τῆς θερμοκρασίας τοῦ ἐργαστηρίου ἐγένετο ἡ φωτομέτρηση εἰς μέρος τῶν διαλυμάτων τῇ προσθήκῃ ἑνὸς mol Cu^{2+} εἰς τὸ διάλυμα B. Πρὸς τοῦτο ἐντὸς φιαλίδιου ζυγίσεως, ἐζυγίζοντο ταχέως καὶ ἀκριβῶς 30 mg $Cu(NO_3)_2 \cdot 3H_2O$, προσετίθεντο 5 mol τοῦ διαλύματος B καὶ τὸ μίγμα ἀνεδεύετο διὰ μαγνητικοῦ ἀναδευτήρος. Μετὰ ἀπόροdon ≈ 8 min ἐμετρεῖτο ἡ ὀπτικὴ πυκνότης τῶν τριῶν διαλυμάτων εἰς τὸ φασματοφωτόμετρον ἔναντι ὕδατος.

Ἐξ ἀρχῆς τὰ διαλύματα A καὶ C ἦσαν κεχρωσμένα κυανᾶ, ἀλλ' ἐδείκνυον διάφορα φάσματα ἀπορροφῆσεως (σχ. 1). Τὰ φάσματα ταῦτα διαφέρουν τοῦ φάσματος τοῦ $Cu(NO_3)_2$, ὅπερ ἀποδεικνύει τὸν σχηματισμὸν συμπλόκων (σχ. 2). Ἡ βασικὴ σκέψις μας ἦτο ὅτι μετὰ τὸ πέρασ τῆς ἀντιδράσεως, τὰ φάσματα ἀπορροφῆσεως τῶν διαλυμάτων A καὶ C θὰ συνέπιπτον. Διὰ τοῦ διαλύματος B ἠλέγχετο



Σχ. 2. Καμπύλη A: Τριαμίδιον νιτριλοτριοξεικού οξέος μετά Cu^{2+} ($c = 0,025 \text{ m}$ 1:1 mols pH 5,2), μετά 120 ώρ. εις 60°C

Καμπύλη B: Τριαμίδιον νιτριλοτριοξεικού οξέος ως εις την A άλλ' άνευ Cu^{2+} . Άμέσως πρὸ τῶν μετρήσεων προσθήκη 1 mol Cu^{2+}

Καμπύλη C: Νιτριλοτριοξεικόν ὄξύ μετά Cu^{2+} ($c = 0,025 \text{ m}$ 1:1 mols, pH 5,04) μετά 120 ώρ. εις 60°C .

Καμπύλη I: Cu^{2+} (ἐκ $\text{Cu}(\text{NO}_3)_2$ $c = 0,025 \text{ m}$, pH 4,96), μετά 17 ώρας εις θερμοκρασίαν δωματίου.

Καμπύλη II: Cu^{2+} ($c = 0,025 \text{ m}$) + NH_4^+ (1:3 mols pH 5,12) μετά 17 ώρας εις θερμοκρασίαν δωματίου

τυχόν ὑδρόλυσις τοῦ τριαμίδιου λαμβάνουσα χώραν εις τὰς συνθήκας pH καὶ θερμοκρασίας τοῦ πειράματος. Τὸ μέγιστον ἀπορροφήσεως τοῦ διαλύματος C εὐρέθη εις τὰ 8500–8750 Å, τοῦ δὲ διαλύματος A εις τὰ 7500–7750 Å. Εἰς ἐκάστην μέτρησιν ἔμετρούντο αἱ ὀπτικάι πυκνότητες μεταξύ 7000 καὶ 9500 Å κατ' ἀποστάσεις 250 Å.

Μετά πάροδον μόλις 45 min εις 60°C παρατηρήθη αὐξήσις τῆς ἐντάσεως τοῦ κυανοῦ χρώματος τοῦ διαλύματος A καὶ ἀντιστοίχως αὐξήσις τῶν ὀπτικῶν πυκνοτήτων εις τὰ διάφορα μήκη κύματος τοῦ φάσματος ἀπορροφήσεως. Εἰς τὸν πίνακα I σημειοῦνται αἱ ὀπτικάι πυκνότητες τῶν διαλυμάτων A, B, C, ὡς καὶ αἱ διαφοραὶ A–B κατὰ τὴν ἔ-

ΠΙΝΑΞ I. Ὀπτικάι πυκνότητες εις 8000 Å μετά ἐπίδρασιν Cu^{2+} εις 60°C /pH 5,2 ± 0,2

Χρόν. εἰς min.	C	A	B	A-B	A διορθ.
0	1,740	0,730	0,780	0,050	0,760
45	1,765	0,790	0,765	0,025	0,820
135	1,760	0,870	0,770	0,100	0,900
227	1,725	0,910	0,735	0,175	0,940
909	1,742	1,143	0,790	0,353	1,173
1329	1,780	1,232	0,760	0,472	1,252
2226	1,760	1,350	0,780	0,570	1,380
6934	1,720	1,517	0,760	0,757	1,547
9800	1,750	1,567	0,810	0,757	—

ναρξιν τοῦ προσδιορισμοῦ καὶ μετά πάροδον 45'–115 ὥρῶν. Ἡ διαφορά A–B δὲν μετεβλήθη περαιτέρω. Τὸ μήκος κύματος τοῦ μεγίστου τοῦ φάσματος ἀπορροφήσεως τῶν διαλυμάτων A, B καὶ C δὲν μετεβλήθη κατὰ τὴν διάρκειαν τοῦ πειράματος. Εἰς αὐτὸ τὸ διάστημα τὰ φάσματα ἀπορροφήσεως τῶν διαλυμάτων B καὶ C παρέμεινον σταθερὰ ἐντὸς τῶν σφαλμάτων μετρήσεως. Ἐκ τῆς τοιαύτης φασματοφωτομετρικῆς παρακολουθήσεως κατέστη φανερόν, ὅτι ὀπωσδήποτε ἐπῆλθε μία μεταβολὴ εἰς τὸ διάλυμα A (σχ. 1 καὶ 2), ἀλλὰ τὸ τελικόν σύστημα δὲν ἀπετελεῖτο ἐκ τοῦ μετὰ Cu^{2+} συμπλόκου τοῦ προϊόντος τῆς πλήρους ὑδρολύσεως τοῦ τριαμίδιου, ἤτοι τοῦ νιτριλοτριοξεικού οξέος. Ἡ ὑδρόλυσις τοῦ ἀμιδικοῦ δεσμοῦ ἀπεδείχθη διὰ διαφόρων τρόπων:

α) Ἐγενήθη τὸ ἐρώτημα μήπως ἡ παρατηρηθεῖσα μεταβολὴ τοῦ φάσματος ἀπορροφήσεως τοῦ διαλύματος A ὀφείλετο ἀπλῶς εἰς βραδύτατον σχηματισμὸν ἐνὸς ἰδιόζοντος συμπλόκου τριαμίδιου- Cu^{2+} . Πρὸς τοῦτο εἰς τὸ διάλυμα A μετά παραμονὴν ἐπὶ 259 ὥρας εις 60°C καὶ δύο ἡμέρας εις θερμοκρασίαν τοῦ ἐργαστηρίου (pH 5,3) διεβίβασαμεν H_2S ἐπὶ 10' εις τοὺς 20°C . Ὁ καταβυθισθεὶς χαλκὸς ἀπεμακρύνθη διὰ διηθήσεως, ἡ περίσσεια τοῦ H_2S διὰ διοχετεύσεως ἀέρος καὶ τὸ μίγμα ἐφυγοκεντρήθη. Εἰς 5 ml τοῦ διαυγοῦς ὑγροῦ προσετέθησαν ἐκ νέου 30 mg $\text{Cu}(\text{NO}_3)_2 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ δηλαδὴ ποσότης ἴση πρὸς τὴν ἀρχικὴν, ὁπότε παρατηρήθη ἀμέσως σχηματισμὸς ἐντόνου κυανοῦ χρώματος (διάλυμα A'). Ἐμετρήθησαν αἱ ὀπτικάι πυκνότητες τῶν διαλυμάτων A καὶ A' μεταξύ τῶν μηκῶν κύματος 7000–9000 Å καὶ δὲν ἔδειξαν διαφορὰς πέραν τῶν σφαλμάτων μετρήσεως. Οὕτως εἰχομεν τὴν ἀποδείξιν, ὅτι ἡ παρατηρηθεῖσα μεταβολὴ τοῦ φάσματος ἀπορροφήσεως ὀφείλετο πράγματι εἰς νέον σύμπλοκον προκύπτον ἐκ τοῦ Cu^{2+} καὶ τοῦ ἢ τῶν προϊόντων ὑδρολύσεως τοῦ τριαμίδιου.

β) Διὰ ν' ἀποκλείσωμεν τὴν μεταβολὴν τοῦ φάσματος ἀπορροφήσεως λόγω σχηματισμοῦ συμπλόκου Cu^{2+} μετ' ἀμμωνίας, εἰς διάλυμα $\text{Cu}(\text{NO}_3)_2$ τῆς αὐτῆς συγκεντρώσεως καὶ pH προσεθέσαμεν 1, 2 καὶ 3 mols ἀμμωνίας καὶ μετά θέρμανσιν εις 60°C ἔμετρήσαμεν τὰς ὀπτικάς πυκνότητας. Τὰ φάσματα ἀπορροφήσεως συνέπεσαν μετ' τὸ φάσμα διαλύματος $\text{Cu}(\text{NO}_3)_2$ άνευ ἐτέρας προσθήκης (σχ. 2 καμπύλαι I, II). Ἐκ τούτου κατέστη φανερόν ὅτι εἰς τὸ pH τῆς ἀντιδράσεως ὁ Cu^{2+} δὲν σχηματίζει τετραμινουσύνπλοκον.

γ) Διάλυμα περιέχον νιτριλοτριοξεικόν ὄξύ, $\text{Cu}(\text{NO}_3)_2$ καὶ ἀμμωνίαν (1:1:3) $c = 0,025 \text{ m}$ εις τριαμίδιον, pH = 5,3 ἔδειξαν τὴν αὐτὴν καμπύλην μετ' τὸ διάλυμα C καὶ μετά θέρμανσιν εις 60°C .

δ) Ἐξ ἄλλου ἀπεδείξαμεν τὸν σχηματισμὸν ἀμμωνίας εἰς τὸ διάλυμα A. Μὲ μίαν σταγόνα ἀντιδραστηρίου Nessler τὸ μὲν διάλυμα A (μετὰ ἀπομάκρυνσιν τῶν ἰόντων Cu^{2+} δι' H_2S κλπ.) ἐχρώσθη ἀμέσως κίτρινον-καστανόχρουν ἐντὸς τοῦ διαλύματος B μόνον ἀνοικτῶς κίτρινον.

ε) Ἐγένετο καὶ ποσοτικὸς προσδιορισμὸς τῆς ἀπελευθερουμένης ἀμμωνίας διὰ τῆς μικρομεθόδου διαχύσεως Conway.

IV. Ποσοτικὸς προσδιορισμὸς ἀμμωνίας κατὰ Conway

Ἡ μέθοδος αὕτη χρησιμοποιοῖται εὐρέως εις τὴν κλιμακωτὴν χημείαν πρὸς προσδιορισμὸν τῆς οὐρίας κατόπιν ἐπιδράσεως οὐρεάσης (20). Ἡ κάψα Conway ὑαλίνη ἢ ἐκ πο-

$D_A = D_B = 0,760$. Εἰς τὴν τελευταίαν στήλην τοῦ πίνακος I παραθέτομεν τὰς διορθωμένας τιμὰς τῶν D_A . Ἡ ἔνδειξις 0,760 ὀφείλεται εἰς τὸ σύμπλοκον (Amid. Cu). Κατὰ τὸ πέρασ τῆς ἀντιδράσεως ἡ D_A εἶναι 1,547 ἢ ἔνδειξις αὐτὴ ὀφείλεται εἰς τὸ σύμπλοκον CuX (ὑπὸ τὴν προϋπόθεσιν ὅτι ἐπειδὴ τὸ σύμπλοκον CuX εἶναι σταθερώτερον, ἢ ἰσορροπία πρακτικῶς κεῖται πλήρως πρὸς τὰ δεξιὰ). Ἐκ τοῦ νόμου τῶν Lambert-Beer ἔχομεν :

$$0,760 = \epsilon_1 \times 0,025 \times 1 \quad \text{καὶ } \epsilon_1 = 30,4$$

$$1,547 = \epsilon_2 \times 0,025 \times 1 \quad \text{καὶ } \epsilon_2 = 61,8$$

ϵ_1 καὶ ϵ_2 εἶναι οἱ συντελεσταὶ ἀποσβέσεως τῶν συμπλόκων (Amid. Cu) καὶ CuX καὶ l τὸ πάχος τῆς κυφελίδος τοῦ φασματοφωτομέτρου. Εἰς τινὰ ἐνδιάμεσον χρόνον t ἢ ὀπτική πυκνότης θὰ εἶναι τὸ ἄθροισμα τῶν δύο :

$$D_{At} = D_1 + D_2 = \epsilon_1 \times [\text{Amid. Cu}]_t + \epsilon_2 \times [\text{CuX}]_t$$

Ἐκ τῆς (2) ἔχομεν ὅτι τὸ ἄθροισμα τῶν δύο συγκεντρώσεων ἰσοῦται μὲ τὴν ἀρχικὴν συγκέντρωσιν $c = 0,025 \text{ m}$

$$[\text{Amid. Cu}] + [\text{CuX}] = 0,025$$

ἔκ ταύτης

$$[\text{Amid. Cu}] = 0,025 - [\text{CuX}]$$

καὶ $D_{At} = \epsilon_1 \times 0,025 - \epsilon_1 \times [\text{CuX}] + \epsilon_2 \times [\text{CuX}]$

Οὕτως ἔχομεν διὰ $t = 45 \text{ min}$

$$[\text{CuX}] = 0,00191$$

καὶ ἔκ τῆς (3) $k = 1,7 \times 10^{-3} \text{ min}^{-1}$

Διὰ παρομοίων ὑπολογισμῶν εὔρομεν ὅτι ἕαν κατὰ τὴν διάρκειαν τῶν 115 ὥρων τῆς καταλυτικῆς ὑδρολύσεως λαμβάνει χώραν καὶ κάποια ὑδρόλυσις ἄνευ Cu^{2+} ἐκδηλουμένη π. χ. διὰ τῆς αὐξήσεως τῆς D_B ἀπὸ 0,760 εἰς 0,790, αὐτὴ θὰ ἔχη $k = 4 \times 10^{-6}$.

Παράγοντες ἐπιδρῶντες ἐπὶ τῆς ταχύτητος τῆς ἀντιδράσεως

α) Ἡ ὑδρόλυσις ἐπανελήφθη ὑπὸ τὰς αὐτὰς μοριακὰς ἀναλογίας ἄλλ' εἰς $c = 0,0125 \text{ m}$ ἀντὶ 0,025 m. Ἡ ταχύτης τῆς ἀντιδράσεως ἦτο μικροτέρα καὶ ὑπελογίσθη $k = 0,70 \times 10^{-3} \text{ min}^{-1}$ (μετὰ 265 min). Εἰς συγκέντρωσιν $c = 0,025 \text{ m}$ εἰς τριαμίδιον καὶ μοριακὴν ἀναλογίαν ὡς πρὸς τὸν $\text{Cu}^{2+} 1 : 0,5 \text{ mol}$ καὶ $1 : 0,1 \text{ mol}$ παρατηροῦμεν ἔκ τοῦ πίνακος II ἐλάττωσιν τῆς ἀπελευθερουμένης ἀμμωνίας, ἥτοι ἐλάττωσιν τῆς ταχύτητος ἀντιδράσεως. β) Ἐμελετήθη ἡ ἐπίδρασις τῶν τελικῶν προϊόντων ἐπὶ τῆς ταχύτητος ἀντιδράσεως εἰς συγκέντρωσιν $c = 0,0125 \text{ m}$, διὰ τῆς προσθήκης νιτριλοτριοξεικοῦ ὀξέος εἰς τὰ διαλύματα Α καὶ Β εἰς μοριακὰς ἀναλογίας $1 : 1 : 0,5$ (ἀμίδιον : Cu^{2+} : νιτριλοτριοξεικόν). Εἰς τὴν ἀρχὴν τῆς ἀντιδράσεως ἡ ὀπτικὴ πυκνότης τοῦ διαλύματος τούτου Α' ἰσοῦται μὲ τὸ ἡμιἄθροισμα $\frac{D_C + D_A}{2}$ ὅπου D_C ἡ ὀπτικὴ πυκνότης διαλύματος C συγκεντρώσεως 0,0125 m μετὰ Cu^{2+} εἰς μοριακὴν ἀναλογίαν $1 : 1$ καὶ D_A ἡ ὀπτικὴ πυκνότης διαλύματος Α συγκεντρώσεως 0,0125 m μετὰ Cu^{2+} εἰς μοριακὴν ἀναλογίαν $1 : 1$. Μετὰ 265 min ὑπελογίσθη ἡ $k = 0,60 \times 10^{-3} \text{ min}^{-1}$.

γ) Τέλος ἐγένοντο πειράματα ἐνεργοποιήσεως τοῦ Cu^{2+} διὰ προσθήκης οὐσιῶν ἱκανῶν νὰ σχηματίζουσι σύμπλοκα μετ' αὐτοῦ (βλ. θεωρητικὸν ὑδρόλυσις τοῦ διισοπροπυλοφθοριοφωσφορικοῦ ὀξέος). ὡς συμπλοκοσηματισταὶ (Komplexbildner) ἐχρησιμοποιήθησαν 6-μεθυλοπικολινικὸν ὄξύ, αἰθυλενοδιαμίνην, διπυριδύλιον, γλυκίνη καὶ γλυκύλ-γλυκίνη. Ἄπαντα τὰ πειράματα ταῦτα ἐγένοντο εἰς $c = 0,025 \text{ m}$ καὶ pH $5,2 \pm 0,2$. Αἱ ἀναλογίαι εἰς μίαν

ΠΙΝΑΞ II. Ἐπίδρασις χηλιούτων μέσων ἐπὶ τῆς καταλυτικῆς δράσεως τοῦ Cu^{2+}

Συμπλοκοσηματισταὶ	Χρόνος εἰς min	Κατανάλωσις εἰς ml
Σύμπλοκον ἐκ τριαμ. (0,025m), συμπλ]στοῦ καὶ $\text{Cu}^{2+} 1 : 1 : 2$	Ἐπίδρ. εἰς pH $5,2 \pm 0,2$ καὶ 60°C	H_2SO_4 0,01 N
6-μεθυλοπικολινικὸν ὄξύ	1220	0,450
»	2625	0,485
Αἰθυλενοδιαμίνην	1220	0,375
»	2625	0,510
Ἄνευ συμπλ]στοῦ	1220	0,385
»	2625	0,490
<i>Μορ. ἀναλ. 1 : 1 : 1</i>		
6-μεθυλοπικολινικὸν ὄξύ	1100	0,210
Διπυριδύλιον	1100	0,015
Γλυκίνη	1080	0,230
Γλυκύλ-γλυκίνη	1080	0,240
Ἄνευ συμπλ]στοῦ	1080	0,310
Ἄνευ συμπλ]στοῦ τριαμ.: Cu^{2+}		
1 : 0,5	1375	0,216
1 : 0,01	1375	0,076

σειρὰν ἦσαν τριαμίδιον : συμπλοκοσηματιστῆς : Cu^{2+} 1 : 1 : 2 καὶ εἰς ἕτεραν 1 : 1 : 1. Ὅλα τὰ διαλύματα ἐθερμάνθησαν ἐπὶ ὠρισμένον χρόνον εἰς 60°C καὶ μετὰ ταῦτα ἔγινε προσδιορισμὸς τῆς ἀμμωνίας κατὰ Conway. Ἐκ τοῦ πίνακος II παρατηροῦμεν διὰ τὴν πρώτην σειρὰν, ὅτι οὐδεμία ἐνεργοποίησις ἔλαβε χώραν. Αἱ σημειωθείσαι διαφοραὶ κεῖνται ἐντὸς τῶν σφαλμάτων. Διὰ τὴν δευτέραν σειρὰν παρατηροῦμεν, ὅτι τὸ ποσὸν τοῦ ὑδρολυθέντος ἀμίδιου εἶναι περίπου τὸ ἡμισι, τῇ προσθήκῃ 6-μεθυλοπικολινικοῦ ὀξέος. Τῇ προσθήκῃ διπυριδυλίου οὐδεμία ὑδρόλυσις ἔλαβε χώραν. Τὸ διπυριδύλιον ὡς ἰσχυρὸς συμπλοκοσηματιστῆς ἐδέσμευσεν ὅλα τὰ Cu^{2+} ὑπὸ τὴν μορφήν συμπλόκου $[\text{Cu}(\text{Dipy})]^{2+}$. Ἐπίσης καὶ διὰ τῆς γλυκίνης καὶ γλυκύλ-γλυκίνης παρατηρήθη ἐλάττωσις τῆς ὑδρολύσεως.

Εἰς δύο τῶν περιπτώσεων (προσθήκη γλυκίνης καὶ γλυκύλ-γλυκίνης) ὁ Cu^{2+} κατεβύθη κατὰ τὰ ἐκτεθέντα καὶ ἐγένετο προσδιορισμὸς ἀμμωνίας εἰς τὰ διαλύματα Α πρὸ καὶ μετὰ τὴν καταβύθισιν τοῦ Cu^{2+} · τὰ καταναλωθέντα ml H_2SO_4 0,01 N ἦσαν τὰ αὐτὰ καὶ διὰ τὰ δύο διαλύματα.

Ἐπίδρασις τοῦ Ligand ἐπὶ τοῦ χρώματος τοῦ μετὰ Cu^{2+} συμπλόκου

ὡς γνωστὸν (21) τὰ σύμπλοκα εἰς τὰ ὁποῖα ὑπάρχει δεσμὸς τοῦ μεταλλικοῦ ἰόντος μὲ N τοῦ Ligand εἶναι βαθύτερον κεχρωσμένα τῶν ἀντιστοιχῶν O-σμπλόκων. Ἐσχηματίσαμεν τὰ μετὰ Cu^{2+} σύμπλοκα τριαιθυλαμίνης, 6-μεθυλοπικολινικοῦ ὀξέος καὶ πικολινικοῦ ἀμίδιου καὶ ἔμετρήσαμεν τὰ φάσματα ἀπορροφῆσεως αὐτῶν παραλλήλως πρὸς διάλυμα Cu^{2+} τῆς αὐτῆς συγκεντρώσεως ($c = 0,05 \text{ m}$). Ἐκ τοῦ σχ. 2 προκύπτει ὅτι τὸ χρῶμα τοῦ συμπλόκου Cu^{2+} -τριαμίδιον νιτριλοτριοξεικοῦ ὀξέος, εἶναι ἀσθενέστερον κωμῶν τοῦ συμπλόκου Cu^{2+} — H_2O . Ἀντιθέτως τὰ χρώματα τῶν συμπλόκων ὡς ἀνωτέρω ἐπιβεβαιοῦν τὸν κανόνα, δηλαδὴ εἶναι βαθύτερον κωμῶν.

Συμπέρασμα

Ἐπετεύχθη διὰ πρώτην φοράν ὑδρόλυσις ἀμιδικοῦ δεσμοῦ ὑπὸ ἠπιωτάτας συνθήκας (pH 5, 2, θερμ. 40–60° C) διὰ τῆς καταλυτικῆς ἐπιδράσεως μεταλλοίωντων Cu^{2+} , Ni^{2+} , Co^{2+} , Zn^{2+} , Ce^{4+} . Ἡ ταχύτης τῆς ὑδρολύσεως εἶναι μεγαλύτερα διὰ τῶν Cu^{2+} καὶ Ce^{4+} , ἔλαττοῦται δὲ ca. 4, 5 φορές διὰ τῶν Zn^{2+} , ca. 15 φορές διὰ τῶν Co^{2+} καὶ ca. 20 φορές διὰ τῶν Ni^{2+} .

Ἡ ὑδρόλυσις λαμβάνει χώραν ἐντὸς τῆς σφαίρας τοῦ χηλικοῦ συμπλόκου ἀμιδίου- Me^{n+} . Προσθήκη ἐτέρων χηλιούτων μέσων ἐπιβραδύνει ἢ ἀναστέλλει τὴν ἀντίδρασιν λόγῳ δεσμεύσεως τῶν Me^{n+} .

(Ἡ παροῦσα ἐργασία ἀφιεροῦται εἰς τὸν Καθηγητὴν κ. Λεωνίδαν Ζέρβαν διὰ τὰ 25 χρόνια τῆς καρβοβενζοξυμεθόδου)

ZUSAMMENFASSUNG

Hydrolyse einer Amidbindung durch Metallionen. Modelle von Enzymreaktionen.

VON IPHIGENIA PHOTAKI, S. FALLAB & H. ERLÉNMEYER

Professor Dr. L. Zervas zum 25. Jahrestag der Carbobenzoxymethode gewidmet

In einer früheren Mitteilung haben wir über die Katalyse der Verseifung des Nitrilotriessigsäuretriamids durch Cu^{2+} berichtet. In der vorliegenden Arbeit werden Einzelheiten dieser Spaltungsversuche beschrieben. Weiterhin sind die Ergebnisse von Versuchen mit anderen Metallionen, Co^{2+} , Ni^{2+} , Zn^{2+} und Ce^{4+} , zusammengestellt.

Substrat war bei diesen Versuchen einmal das Diamid der Iminodiessigsäure (VIII), die N-p-Nitrobenzoyl-iminodiessigsäure (IX) und sodann auch das Triamid der Nitrilotriessigsäure (VII). In ersten Versuchen wurde die Spaltung papierchromatographisch verfolgt. Es zeigte sich, dass für die Trennung von Iminodiessigsäure, p-Nitrobenzoesäure und N-p-Nitrobenzoyl-iminodiessigsäure Alkohol, Konz. Ammoniak, Wasser (6:3:1) und für die Trennung der Iminodiessigsäure von ihrem Diamid, sowie der Nitrilotriessigsäure von ihrem Triamid mit Wasser gesättigtes Phenol als Lösungsmittel geeignet sind. Als Indikatoren haben wir Bromkresolgrün (BKG) (0,05% in 95-proz. Alkohol mit 0,5 n. NaOH auf pH 7 gebracht) und Ninhydrin verwendet. Mit BKG geben die Säuren und Amide gelbe bzw. blaue Flecken. Iminodiessigsäureamid, Iminodiessigsäure und Nitrilotriessigsäure geben mit Ninhydrin blau-violette Flecken.

In Lösungen von N-p-Nitrobenzoyl-iminodiessigsäure mit Cu^{2+} (Mol-Verhältnis 1:1, $c=0,05$ m oder $0,005$ m, pH 3,5–6,2 bei 40°C) scheidet sich oft ein Niederschlag aus, der nicht aus dem Ausgangsmaterial oder den Spaltprodukten besteht. In solchen Lösungen haben wir papierchromatographisch keine Spaltung des Amids

feststellen können. Negative Resultate gaben auch Versuche mit Co^{2+} und Ni^{2+} , bei welchen keine Niederschlagsbildung auftrat.

In einer Cu^{2+} haltigen Lösung von Nitrilotriessigsäuretriamid (Mol-Verhältnis 1:1, $c=0,05$ m, pH 4,5) wurde, nach 48 stünd. Stehen bei 40° und nach Entfernung der Cu^{2+} durch Schwefelwasserstoff, papierchromatographisch Nitrilotriessigsäure als Spaltprodukt nachgewiesen. Die gleiche Reaktion (bei 60°C) wurde auch spektrophotometrisch quantitativ verfolgt. Optisch ausgewertet wurde eine Cu^{2+} haltige Lösung des Triamids ($c=0,025$ m, Mol-Verhältnis 1:1, in Acetatpuffer, pH $5,2 \pm 0,2$), parallel dazu eine Kontroll-Lösung gleicher Konzentration ohne Cu^{2+} Zusatz und eine Vergleichslösung mit Nitrilotriessigsäure und Cu^{2+} , vergl. Bild 1 und 2 sowie Tabelle 1. Einige Angaben über diese Versuche sind in einer Vorveröffentlichung bereits publiziert (9).

Der Verlauf der Reaktion wurde auch durch Bestimmung des sich bildenden Ammoniaks nach der Methode von Conway verfolgt.

Die gleiche Amidspaltung wurde auch mit anderen Metallionen durchgeführt. Es wurde ermittelt, dass die katalytische Wirkung von Ni^{2+} ca. 20 mal, von Co^{2+} ca. 15 mal, von Zn^{2+} 4,5 mal geringer ist als diejenige von Cu^{2+} .

Ce^{4+} , mit dem Bamann bereits andere Verseifungsversuche durchgeführt hat, erwies sich in unseren Versuchen gleich stark wirksam wie Cu^{2+} .

Die Reaktionskonstante liess sich wie bereits berichtet aus den Versuchsdaten berechnen.

In Anlehnung an die Arbeiten von Wagner-Jauregg, der die Spaltung des Di-isopropyl-fluorophosphorsäureesters mit Cu^{2+} Ionen durch Zusatz von Dipyridyl aktivieren konnte, haben wir entsprechende Versuche durchgeführt. Für die Aktivierung verwendeten wir Dipyridyl, Aethyldiamin, 6 Methyl-Picolinsäure, Glycin und Glycyl-Glycin. Bei den Versuchen zeigte es sich, dass Dipyridyl unsere Amidspaltung vollständig hemmt. Die anderen Komplexbildner ergaben eine Verlangsamung der Reaktion beim Mol-Verhältnis Substrat: Cu^{2+} : Aktivator 1:1:1. Bei Versuchen mit dem Verhältnis 1:1:2 zeigte sich nur eine geringfügige Beeinflussung.

(Anstalt für Anorganische Chemie der Universität, Basel).

BIBΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

1. Warburg O.: «Schwermetalle als Wirkungsgruppen von Fermenten» Berlin 1946.
2. Vallee B., Coombs Th., Williams R.: *J. Am. Chem. Soc.* **80**, 397 (1958).
3. Smith E. L.: Davis N. C., Adams E., Spackman D. H.: «A symposium on the mechanism of enzyme action», Baltimore 1954, p. 291.

4. Fallab S., Erlenmeyer H.: *Helv. Chim. Acta*, **40**, 363 (1957).
5. Baldwin E.: «*Dynamic aspects of biochemistry*». Cambridge 1952, p. 85.
6. Eichhorn G. L., Dawes J. W.: *J. Am. Chem. Soc.* **76**, 5663 (1954).
7. Wagner — Jauregg T., Hackley B. E. jun., Lies T. A., Onens O. O., Proper R.: *J. Am. Chem. Soc.* **77**, 922 (1955).
8. Kroll H.: *J. Am. Chem. Soc.* **74**, 2036 (1952).
9. Φωτάκη Ήφ., Fallab S., Erlenmeyer H.: *Helv. Chim. Acta* **39**, 1484 (1956).
10. Schwarzenbach G.: *Helv. Chim. Acta*, **28**, 828 (1945).
11. Weiss A., Fallab S., Erlenmeyer H.: *Helv. Chim. Acta*, **38**, 263 (1955).
12. Luz W. D., Fallab S., Erlenmeyer H.: *Helv. Chim. Acta*, **38**, 114 (1955).
13. Brintzinger H., Fallab S., Erlenmeyer H.: *Helv. Chim. Acta*, **38**, 557 (1955).
14. Bamann E., Rother, Trapmann: *Naturwissenschaften*, **43**, 326 (1956).
15. Rutter L.: *Nature* (London), **161**, 435 (1948).
16. Kuffner F., Faderl N.: *Monatsheft der Chem.*, **86**, 1000 (1956).
17. Cramer F.: «*Papierchromatographie*», 1953, σ. 28.
18. Moore S., Stein W. H.: *J. Biol. Chem.* **176**, 367 (1948).
19. Tavel P. V.: *Chimia* **5**, 256 (1951).
20. Conway E. J., O'Malley E.: *Biochem. J.* **36**, 655-61 (1942).
21. Irwing H., Williams R.: *J. Chem. Soc.* 3192 (1953).

(Έκ του Ίνστιτούτου Άνοργάνου Χημείας του Πανεπιστημίου της Βασιλείας).

(Εισήχθη τῆ 4 Ἰουνίου 1958)

Συμβολή εἰς τὴν ἑρμηνείαν τῆς παρατηρουμένης διαφορᾶς τιμῶν ἐπὶ διπλοῦ προσδιορισμοῦ τοῦ λευκωματικοῦ πηλίκου χημικῶς καὶ ἠλεκτροφορητικῶς

Ἑπὶ Β. ΜΑΛΑΜΟΥ, Σ. ΓΑΡΖΩΝΗ, Α. ΕΥΑΓΓΕΛΟΠΟΥΛΟΥ καὶ Κ. ΝΙΚΟΛΑΪΔΗ

Τὸ λευκωματικὸν πηλίκον 60 παθολογικῶν περιπτώσεων, ὑπολογισθὲν βάσει τοῦ χημικοῦ προσδιορισμοῦ τῆς λευκωματίνης καὶ τῶν σφαιρινῶν, ἀνευρέθη σταθερῶς καὶ σηματοκτικῶς ἠὺξημένον ἔναντι τοῦ ἠλεκτροφορητικῶς ὑπολογισθέντος.

Ἐκ τῆς ἐπεξεργασίας τῶν ἀποτελεσμάτων ἀπεδείχθησαν τόσον τὸ στατιστικὸν κριτήριον ὅσον καὶ ὁ συντελεστὴς ὁμοσχέσεως οὐχὶ σημαντικὰ διὰ τὰς τιμὰς τῶν λευκωματινῶν καὶ συνεπῶς, κατ' ἀνάγκην, διὰ τὰς τοιαύτας τῶν τόσον στενῶς συνδεμένων μετ' αὐτῶν, τιμῶν τῶν σφαιρινῶν καὶ τοῦ λευκωματικοῦ πηλίκου.

Ἡ παρατηρουμένη διαφορὰ τιμῶν ἐπὶ διπλοῦ προσδιορισμοῦ τοῦ λευκωματικοῦ πηλίκου εἶναι ὅθεν κατ' εὐθὺν λόγον ἀνάλογος τῶν παρατηρουμένων διαφορῶν τῶν λευκωματινῶν.

Ἡ σημειωθεῖσα σταθερὰ αὐξήσις τῶν τιμῶν τῆς χημικῶς προσδιορισθείσης λευκωματίνης ἀποδίδεται εἰς τὸ γεγονός ὅτι, κατὰ μὲν τὸν χημικὸν προσδιορισμὸν συγκατακρημνίζεται μετὰ τῆς λευκωματίνης καὶ ἡ α₁-σφαιρίνη κατὰ δὲ τὴν ἠλεκτροφόρῃσιν ἐπὶ χάρτου σημειοῦται ἐνδεχομένως ἀπώλεια τμήματός τινος τῆς λευκωματίνης.

Βάσει τῶν ἀνωτέρω σκέψεων τὸ λευκωματικὸν πηλίκον ἐξαχθὲν ἠλεκτροφορητικῶς ἐκ τοῦ τύπου $\frac{\lambda + \alpha_1 - \text{σφαιρίνη}}{\alpha_2 + \beta + \gamma - \text{σφαιρ.}}$ ἀντὶ $\frac{\lambda}{\alpha_1 + \alpha_2 + \beta + \gamma - \text{σφαιρίνας}}$, πλησιάζει περισσότερο πρὸς τὸ χημικῶς προσδιορισθὲν λευκωματικὸν πηλίκον.

Ἡ νέα ἐπεξεργασία τῶν ἀποτελεσμάτων ἀπεδείχθη ἐγγίζουσα τὰ ὅρια τοῦ στατιστικῶς σημαντικοῦ.

Ἐν συμπεράσματι ἡ ὑπάρχουσα διαφορὰ ἑρμηνεύεται ἐκ τῆς συγκατακρημνίσεως τῆς α₁-σφαιρίνης μετὰ τῆς λευκωματίνης κατὰ τὸν χημικὸν προσδιορισμὸν καὶ τῆς πιθανῆς ἀπώλειας τμήματος τῆς λευκωματίνης κατὰ τὴν ἠλεκτροφόρῃσιν.

Προσδιορισμὸς τοῦ λευκωματικοῦ πηλίκου εἶναι ὡς γνωστὸν ἡ ἀνεύρεσις τοῦ λόγου τοῦ κλάσματος τῆς λευκωματίνης πρὸς τὸ σύνολον τῶν σφαιρινῶν τοῦ πλάσματος τοῦ αἵματος.

Μικρὰ διαφορὰ τῆς ἑκατοστιαίας ἀναλογίας τῶν κλασμάτων προσδιοριζομένων διὰ δύο διαφορετικῶν μεθόδων, ἀλλοιοῦσα τὸν ἀριθμητὴν ἢ τὸν παρονομαστὴν τοῦ κλάσματος δίδει, ὡς εἰκός, σημαν-

τικὴν διαφορὰν τιμῶν τοῦ λευκωματικοῦ πηλίκου. Ὁ διαχωρισμὸς τῶν ἀπαρτιζόντων τὸ πλάσμα τοῦ αἵματος διαφόρων λευκωματικῶν κλασμάτων ἐπετεύχθη διὰ περισσοτέρων τῆς μιᾶς μεθόδου, ἐκ τῶν ὁποίων ἄλλαι μὲν εἶναι ταχεῖαι καὶ ἀπλάϊ, ὡς ἡ κατακρήμνισις τῶν κλασμάτων διὰ θεικῶν, θειωδῶν ἢ φωσφορικῶν ἀλάτων (1, 2, 3, 4), αἰθυλικῆς ἢ μεθυλικῆς ἀλκοόλης (5), ἄλλαι δὲ ἀπαιτοῦν τὴν χρῆ-

σαν κατά τὸ μᾶλλον ἢ ἦττον πολυπλόκων τεχνικῶν καὶ εἰδικῶν μηχανημάτων ὡς ἡ ὑπερφυγοκέντρησης, ἡ συνεχῆς ἠλεκτροφόρησης ἢ ἡ ἐπὶ χάρτου τοιαύτη (6,7).

Αἱ προκύπτουσαι ἀναλογίαι τῶν διαφόρων λευκωματικῶν κλάσμάτων τοῦ πλάσματος τοῦ αἵματος δὲν συμπίπτουν κατὰ τὰς διαφόρους ἀναφερθείσας τεχνικὰς καὶ ἡ προκύπτουσα διαφορά τοῦ λευκωματικοῦ πηλίκου εἶναι σημαντικὴ ἀπὸ τεχνικῆς εἰς τεχνικὴν. Μεταξὺ τῆς ἠλεκτροφορητικῆς συμπεριφορᾶς καὶ τῆς δι' αὐξανούσης πυκνότητος θειικοῦ νατρίου μεθόδου, φαίνεται ὅτι ὑπάρχει σχετικὸς παραλληλισμὸς. Διάλυμα πυκνότητος 15% τοῦ ἄλατος τούτου κατακρημνίζει τὸ κλάσμα ἐκεῖνο τὸ ὁποῖον ἠλεκτροφορητικῶς ἀντιστοιχεῖ εἰς τὴν γ-σφαιρίνην, διάλυμα 19% κατακρημνίζει τὸ ἄθροισμα τῶν β- καὶ γ-σφαιρινῶν, τέλος δὲ διάλυμα 26% θειικοῦ νατρίου κατακρημνίζει τὸ σύνολον τῶν σφαιρινῶν καταλείπουσα εἰς τὸ διήθημα μόνον τὰς λευκωματίνης (8). Ὑπεστηρίχθη ὑπὸ τινων (1,2,3) ὅτι διαλύματα θειικοῦ νατρίου 22% ἔχουσιν ὡσαύτως τὴν ιδιότητα νὰ κατακρημνίζουσι τὸ σύνολον τῶν σφαιρινῶν. Παρὰ τὰς ὁμολογουμένης ἀτελείας, τὰς ὁποίας παρουσιάζει ἡ τεχνικὴ τῆς διὰ τῶν ἀλάτων κατακρημνίσεως τῶν σφαιρινῶν διὰ τὸν προσδιορισμὸν τοῦ λευκωματικοῦ πηλίκου, ἐφαρμόζεται ὑπὸ πλείστων συγχρόνων ἐρευνητῶν καὶ συγγραφέων, πιθανώτατα λόγῳ τοῦ ἀπλοῦ τῆς μεθόδου (9). Μέρημα τῆς παρούσης ἐργασίας εἶναι ἡ ἐρμηνεῖα τῆς παρατηρουμένης διαφορᾶς τῶν δύο ἐν χρήσει διαφορετικῶν μεθόδων, τῆς χημικῆς ἀφ' ἑνὸς καὶ τῆς ἐπὶ χάρτου ἠλεκτροφορήσεως ἀφ' ἑτέρου.

Πρὸς τὸν σκοπὸν αὐτὸν προσδιωρίσθησαν ταυτοχρόνως τὰ κλάσματα τῶν λευκωμάτων τοῦ ὄρου τοῦ αἵματος 60 ἐν συνόλῳ ἀσθενῶν νοσηλευθέντων ἐν τῇ θεραπευτικῇ κλινικῇ τοῦ Πανεπιστημίου Ἀθηνῶν τόσον χημικῶς διὰ τῆς μεθόδου τοῦ Greenberg (2,3) ὅσον καὶ ἠλεκτροφορητικῶς διὰ τῆς τεχνικῆς τῆς ἐπὶ χάρτου ἠλεκτροφορήσεως (6,7). Συνεκρίθησαν τέλος μεταξὺ τῶν τὰ ἀποτελέσματα τοῦ προσδιορισμοῦ ἀφ' ἑνὸς τῶν λευκωματινῶν, ἀφ' ἑτέρου τῶν σφαιρινῶν καὶ τοῦ λευκωματικοῦ πηλίκου δι' ἀμφοτέρων τῶν μεθόδων.

Πειραματικὸν μέρος

Ὁ χημικὸς προσδιορισμὸς ἐγένετο διὰ τῆς ἀρχικῶς ὑπὸ τοῦ Howe (1) ἐπινοηθείσης μεθόδου, ὡς αὕτη ἐτροποποιήθη ὑπὸ τοῦ Greenberg (2,3). Προσδιωρίσθησαν χρωματομετρικῶς κατόπιν προσθήκης τοῦ ἀντιδραστηρίου φαινολῶν τοῦ Folin-Ciocalteu ἀφ' ἑνὸς τὸ ὀλικὸν λεύκωμα προσφάτως ληφθέντος ὄρου νήστεων ἀσθενῶν ἀφ' ἑτέρου δὲ ἡ λευκωματίνη ἀπομονωθείσα κατόπιν κατακρημνίσεως τῶν σφαιρινῶν διὰ διαλύματος 22,2% θειικοῦ νατρίου. Τὸ ποσοῦν τῶν σφαιρινῶν ὑπολογίζεται δι' ἀφαιρέσεως ἐκ τοῦ ὀλικοῦ ποσοῦ τῶν λευκωμάτων τοῦ ἀνευρεθέντος ποσοῦ τῆς λευκωματίνης.

Ἡ φωτομέτρησης ἐγένετο εἰς φασματοφωτόμετρον Coleman Junior εἰς μῆκος κύματος 650 mμ. Τὰ ἀποτελέ-

σματα ἐξεφράσθησαν εἰς γραμμάρια λευκώματος ἐπὶ ἑκατὸν κυβικῶν ὄρου αἵματος.

Ἡ ἐπὶ χάρτου ἠλεκτροφόρησης τῶν λευκωμάτων ἐγένετο διὰ συσκευῆς Elphor. Τὸ χρησιμοποιηθὲν κανονιστικὸν διάλυμα ἀπετελεῖτο ἐκ μίγματος διαιθυλοβαρβιτουρικοῦ νατρίου (10,3 g/λίτρον) καὶ διαιθυλοβαρβιτουρικοῦ ὀξέος (1,84 g/λίτρον), pH=8,6 καὶ ἰοντικῆς ἰσχύος 0,05.

Διὰ τὰς ἠλεκτροφορήσεις τῶν λευκωμάτων τοῦ ὄρου τοῦ αἵματος, ἐγένετο χρῆσις χάρτου Whatmann No 1, μήκους 30 cm καὶ πλάτους 4 cm. Τὸ ἐναποτιθέμενον δὲ ποσοῦν ὄρου εἰς ἐκάστην ταινίαν ἦτο 0,01 κ. ἔ.

Ἡ τάσις τοῦ ρεύματος ἦτο 125–150 volts καὶ ἡ ἐντάσις 3 mA ἢ τοι 4 volts κατὰ ἑκατοστὸν ταινίας χάρτου. Ὁ ἐκάστοτε χρόνος ἠλεκτροφορήσεως ἐκυμάνθη ἀναλόγως τῆς θερμοκρασίας τοῦ περιβάλλοντος χώρου ἀπὸ 7–10 ὥρας.

Μετὰ τὴν ἐπὶ 20 λεπτά παραμονὴν τῶν ταινιῶν εἰς ξηρὸν κλίβανον 125° C ἐγχερόνυντο ἐπὶ 16 ὥρας διὰ τῆς χρωστικῆς τοῦ κυανοῦ τῆς βρωμοφαινόλης (μέθοδος Caspary καὶ Magistratti) (7).

Ὁ ἀποχρωματισμὸς αὐτῶν ἐγένετο διὰ τριῶν διαδοχικῶν λουτρῶν, εἰς διάλυμα 2% ὀξεικοῦ ὀξέος, διαρκείας 5–10 λεπτῶν.

Ἡ φωτομέτρησης τῶν ταινιῶν καὶ ἡ πλανημέτρησης τῶν προκύπτουσῶν καμπυλῶν ἐγένετο συμφώνως πρὸς τὰς διεθνῶς ἀνεγνωριστέας καὶ τυποποιητέας μεθόδους.

Κατὰ τὴν στατιστικὴν ἐπεξεργασίαν τῆς συγκρίσεως τῶν ἀποτελεσμάτων τοῦ προσδιορισμοῦ τῆς λευκωματίνης ἀφ' ἑνὸς καὶ τῶν σφαιρινῶν ἀφ' ἑτέρου, κατόπιν προηγουμένης αὐτῶν μετατροπῆς εἰς γραμμάρια ἐπὶ τοῖς ἑκατὸν, ἐξήχθη ἐκτὸς τῆς μέσης τιμῆς :

α) Ἡ σταθερὰ ἀπόκλισις (σ).

β) Τὸ στατιστικὸν κριτήριον βάσει τοῦ τύπου :

$$\frac{\delta}{\sigma\delta} = \frac{\mu' - \mu''}{\sqrt{\frac{\sigma'^2 + \sigma''^2}{N}}}$$

Ἐνθα μ' καὶ μ'' εἶναι αἱ μέσαι τιμαί, σ' καὶ σ'' εἶναι αἱ σταθεραὶ ἀποκλίσεις καὶ N ὁ ἀριθμὸς τῶν περιπτώσεων.

γ) Ὁ συντελεστὴς ὁμοσχετίσεως, βάσει τοῦ τύπου τῶν Bravais καὶ Pearson :

$$r = \frac{\Sigma\chi\psi - \frac{T\chi \cdot T\psi}{N}}{\sqrt{\left(\Sigma\chi^2 - \frac{T\chi^2}{N}\right) \left(\Sigma\psi^2 - \frac{T\psi^2}{N}\right)}}$$

Ἐνθα χ καὶ ψ εἶναι αἱ ἐπὶ μέρους τιμαί χημικῶς καὶ ἠλεκτροφορητικῶς, Tχ καὶ Tψ τὸ σύνολον τῶν ἐπὶ μέρους τιμῶν καὶ N ὁ ἀριθμὸς τῶν περιπτώσεων.

δ) Ὁ συντελεστὴς σφάλματος τῆς χημικῆς μεθόδου ἔναντι τῆς ἠλεκτροφορήσεως, τῆς τελευταίας ταύτης χρησιμεύουσης ὡς δείκτου, ἐγένετο βάσει τοῦ τύπου :

$$z = \sigma\psi \sqrt{1 - r^2}$$

Τὰ ἀποτελέσματα τῆς στατιστικῆς ἐπεξεργασίας ἐμφαίνονται εἰς τὸν πίνακα I, ἐν συνεχείᾳ τῶν μέσων τιμῶν καὶ τῶν σταθερῶν ἀποκλίσεων.

ΠΙΝΑΞ Ι. Έμφαίνων τήν σύγκρισιν τῆς λευκοματίνης πρὸς τὰς σφαιρίνας διὰ τοῦ χημικοῦ καὶ ἠλεκτροφορητικοῦ προσδιορισμοῦ

Αἰθ. ἀριθ.	*Ολικόν λευκομ.	Λευκοματίνη			Σ φ α ι ρ ῖ ν α ι						Λευκομ. πηλίκον			Λευκοματίνη + α ₁ σφαιρίνη	Διαφορὰ %	Νέον λευκ. πηλίκον	Νέα διαφορὰ %	
		Χημικῶς	Ἡλεκτροφ.	Διαφορὰ %	α ₁	α ₂	β	γ	Ἡλεκτροφ.	Χημικῶς	Διαφορὰ %	Χημικῶς	Ἡλεκτροφ.					Διαφορὰ %
1	9,4	3,60	2,30	57	0,80	0,80	1,00	4,50	7,10	5,80	18	0,60	0,32	88	3,10	16	0,49	22
2	8,6	2,40	2,08	15	0,50	0,78	0,73	4,51	6,52	6,20	5	0,39	0,32	22	2,58	-7	0,43	-9
3	8,4	4,10	3,90	5	0,40	0,70	1,00	2,40	4,50	4,30	4	0,95	0,87	9	4,30	-5	1,05	-10
4	8,4	4,30	2,90	48	0,70	1,70	1,20	1,90	5,50	4,10	25	1,05	0,53	98	3,60	19	0,75	40
5	8,4	4,90	3,70	32	0,40	1,20	1,00	2,10	4,70	3,50	25	1,40	0,72	95	4,10	19	0,95	47
6	8,3	3,80	2,80	36	0,30	0,50	0,90	3,80	5,50	4,80	18	0,80	0,51	57	3,10	23	0,60	33
7	8,3	5,10	5,50	—	0,20	0,40	0,70	1,50	2,80	3,20	14	1,60	1,89	-15	5,70	-11	2,18	-27
8	8,2	5,10	3,60	42	0,50	1,10	1,00	2,00	4,60	3,10	33	1,70	0,78	118	4,10	24	1,00	70
9	8,2	3,90	1,93	102	0,53	0,99	0,58	4,17	6,27	4,30	32	0,90	0,31	190	2,46	58	0,43	109
10	8,1	5,20	3,78	38	0,18	1,31	1,22	1,61	4,32	2,80	33	1,90	0,87	118	3,96	31	0,96	98
11	7,9	4,70	2,20	113	0,70	2,00	1,40	1,60	5,70	3,20	44	1,50	0,39	280	2,90	62	0,58	157
12	7,9	2,70	1,64	65	0,06	0,37	0,89	4,94	6,26	5,20	17	0,50	0,26	92	1,70	59	0,27	85
13	7,9	4,15	1,90	118	0,70	1,20	1,40	2,70	6,00	3,70	38	1,10	0,32	244	2,60	59	0,49	124
14	7,8	4,30	3,70	16	0,30	1,20	1,20	1,40	4,10	3,50	15	1,20	0,90	33	4,00	8	1,05	14
15	7,8	3,90	2,80	39	0,40	1,00	1,20	2,40	5,00	3,90	22	1,00	0,56	79	3,20	22	0,69	45
16	7,7	4,40	4,40	0	0,60	1,20	0,50	1,00	3,30	3,30	0	1,30	1,30	0	5,00	-12	1,86	-31
17	7,6	3,40	2,20	55	0,70	1,30	1,70	1,70	5,40	4,20	22	0,80	0,41	95	2,90	17	0,62	29
18	7,6	4,80	3,40	41	0,40	1,50	1,10	1,20	4,20	2,80	33	1,70	0,81	98	3,80	26	1,00	70
19	7,6	3,00	2,20	36	0,20	0,40	0,60	4,20	5,40	4,60	15	0,65	0,41	59	2,40	25	0,46	41
20	7,6	4,40	2,40	83	0,60	1,40	1,20	2,00	5,20	3,20	38	1,40	0,46	204	3,00	47	0,65	115
21	7,6	4,80	3,10	55	0,40	1,00	1,40	1,70	4,50	2,80	38	1,70	0,69	144	3,50	37	0,85	100
22	7,6	3,70	2,47	50	0,28	1,66	1,02	2,17	5,13	3,90	24	0,95	0,48	98	2,75	34	0,57	67
23	7,4	3,70	3,50	6	0,50	0,50	0,50	2,40	3,90	3,70	5	1,00	0,90	12	4,00	-8	1,18	-15
24	7,4	3,90	2,06	89	0,46	1,34	1,45	4,09	5,34	3,50	33	1,10	0,39	182	2,52	55	0,52	111
25	7,4	5,10	2,73	87	0,40	0,93	0,94	2,40	4,67	2,30	51	2,20	0,58	280	3,13	63	0,73	201
26	7,3	4,60	2,70	70	0,60	1,20	1,00	1,80	4,60	2,70	41	1,70	0,59	186	3,30	39	0,82	107
27	7,3	4,60	3,40	35	0,30	0,90	0,80	1,90	3,90	2,70	31	1,70	0,87	95	3,70	24	1,02	65
28	7,2	3,30	2,50	32	0,30	0,80	1,40	2,20	4,70	3,90	17	0,80	0,53	51	2,80	18	0,64	55
29	7,2	4,90	3,74	31	0,42	0,79	0,71	1,54	3,46	2,30	34	2,10	1,08	94	4,16	18	1,37	53
30	7,2	5,80	2,99	94	0,53	0,84	1,10	1,74	4,21	1,60	66	3,60	0,71	420	3,52	65	0,96	275
31	7,0	4,80	2,46	95	0,41	0,83	0,85	2,45	4,54	2,20	52	2,20	0,54	308	2,87	67	0,69	218
32	7,0	4,60	3,30	39	0,30	0,80	1,00	1,60	3,70	2,40	35	1,90	0,89	113	3,60	28	1,06	73
33	7,0	4,40	2,60	69	0,40	0,50	0,60	2,90	4,40	2,60	41	1,70	0,59	188	3,00	47	0,75	135
34	7,0	4,20	3,40	24	0,30	0,80	1,00	1,50	3,60	2,80	22	1,50	0,94	59	3,70	14	1,12	36
35	7,0	3,00	2,20	36	0,50	1,00	1,00	2,30	4,80	4,00	17	0,75	0,46	43	2,70	11	0,63	19
36	7,0	3,90	1,50	160	0,90	1,10	1,20	2,30	5,50	3,10	44	1,30	0,27	382	2,40	62	0,52	153
37	6,9	4,60	4,50	2	0,20	0,30	0,70	1,20	2,40	2,30	4	2,00	1,87	7	4,70	-2	2,14	-7
38	6,9	4,00	3,30	21	0,50	0,80	0,60	1,70	3,60	2,90	19	1,40	0,92	52	3,80	5	1,22	15
39	6,9	3,50	2,49	41	0,43	0,48	0,71	2,79	4,41	3,40	23	1,05	0,56	88	2,92	20	0,73	44
40	6,8	4,20	3,10	35	0,40	0,90	0,50	1,60	3,70	2,60	30	1,60	0,84	90	3,50	20	1,06	55
41	6,8	3,60	3,10	16	0,80	0,80	0,90	1,20	3,70	3,20	14	1,10	0,84	31	3,90	-8	1,34	-18
42	6,8	3,80	2,70	41	0,60	1,00	1,10	1,40	4,10	3,00	27	1,30	0,66	97	3,30	15	0,94	47
43	6,8	3,60	2,90	24	0,40	1,10	1,00	1,40	3,90	3,20	18	1,10	0,74	49	3,30	9	0,94	17
44	6,8	3,30	2,10	57	0,70	1,20	1,20	1,60	4,70	3,50	26	0,95	0,45	111	2,80	18	0,70	33
45	6,8	3,90	2,80	39	0,30	1,20	1,20	1,30	4,00	2,90	27	1,30	0,70	86	3,10	26	0,84	35
46	6,7	3,60	2,70	33	0,50	0,50	0,80	2,20	4,00	3,10	22	1,20	0,67	80	3,20	12	0,91	22
47	6,7	3,60	2,70	33	0,50	1,30	1,10	1,10	4,00	3,10	22	1,20	0,68	76	3,20	12	0,91	22
48	6,6	3,80	1,80	111	0,50	1,40	1,10	1,80	4,80	2,80	42	1,40	0,38	268	2,30	65	0,54	118
49	6,4	4,70	2,66	77	0,43	1,17	1,02	1,12	3,74	1,70	55	2,80	0,71	294	3,09	52	0,93	200
50	6,4	4,30	2,88	49	0,38	0,96	0,93	1,25	3,52	2,10	40	2,00	0,82	144	3,26	32	1,04	30
51	6,2	3,40	2,30	48	0,70	0,90	1,30	1,00	3,90	2,80	28	1,20	0,59	103	3,00	13	0,95	33
52	6,2	3,10	2,48	25	0,21	1,10	0,80	1,61	3,72	3,10	17	1,00	0,67	49	2,69	15	0,77	33
53	6,1	4,70	2,20	113	0,50	0,90	1,00	1,50	3,90	1,40	64	3,30	0,56	490	2,70	74	0,79	233
54	5,9	4,10	2,67	54	0,36	0,95	0,86	1,06	3,23	1,80	44	2,30	0,83	176	3,03	35	1,06	121
55	5,8	4,20	2,60	62	0,50	1,00	0,90	0,80	3,20	1,60	50	2,60	0,81	221	3,10	36	1,15	121
56	5,8	4,00	2,33	72	0,22	0,78	0,86	1,61	3,47	1,80	48	2,20	0,67	228	2,55	57	0,79	121
57	5,4	3,80	2,58	47	0,26	0,59	0,72	1,25	2,82	1,60	43	2,40	0,92	161	2,84	34	1,11	121
58	5,3	4,00	2,04	96	0,19	1,00	0,77	1,30	3,26	1,30	60	3,10	0,63	392	2,23	80	0,73	121
59	5,1	3,20	2,40	33	0,50	0,50	1,10	0,60	2,70	1,90	30	1,70	0,89	91	2,90	10	1,32	121
60	4,6	1,90	1,07	78	0,21	0,75	1,70	0,81	3,53	2,70	24	0,70	0,30	133	1,28	48	0,39	121
Σ		242,35	166,38						261,73	185,05		88,98	41,04		192,84		53,24	
μ		4,04	2,77						4,35	3,08		1,48	0,68		3,21		0,89	
σ		0,71	0,78						1,04	1,03		0,69	0,32		0,76		0,36	
r		9,07							6,68			8,42			6,20		5,90	
z		0,39							0,71			0,36			0,46		0,66	
		0,72							0,33			0,30			0,67		0,27	

Ανάλυσις εύρημάτων

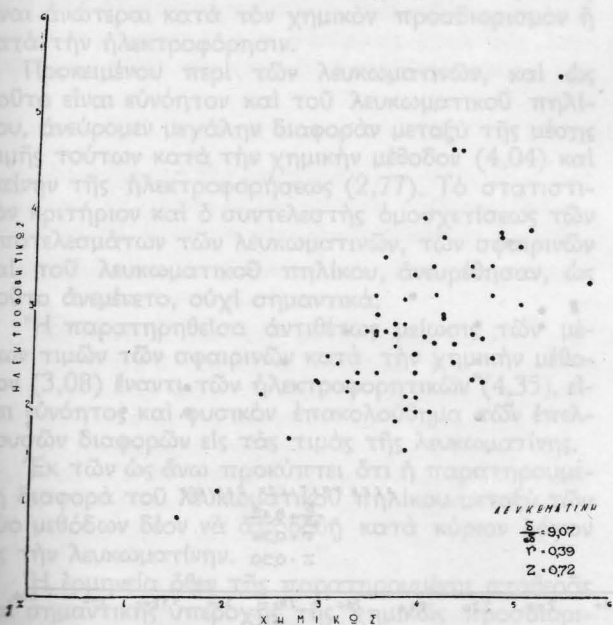
Έκ τῆς συγκριτικῆς μελέτης τοῦ πίνακος I ἐμφαίνεται ὅτι:

Ιον. Τὸ ποσὸν τῆς λευκωματίνης εὐρέθῃ ηῤυξημένον κατὰ τὸν χημικὸν ἔναντι τοῦ ἠλεκτροφορητικοῦ προσδιορισμοῦ ἐπὶ τοῦ συνόλου τῶν περιπτώσεων, πλὴν τῶν περιπτώσεων 7 καὶ 16 ὅπου εὐρέθῃ ἀντιστοίχως ἠλαττωμένον ἢ ἴσον.

Ἡ ἑκατοστιαία ἀναλογία τῆς αὐξήσεως ταύτης ἐκυμάνθη ὡς ἀκολούθως:

- Ἀπὸ 0—20 % εἰς τὰς ἐξῆς 6 περιπτώσεις: 2, 3, 14, 23, 37, 41
- » 21— 40 % εἰς τὰς ἐξῆς 19 περιπτώσεις: 5, 6, 10, 15, 19, 27, 28, 29, 32, 34, 35, 38, 40, 43, 45, 46, 47, 52, 59
- » 41— 60 % εἰς τὰς ἐξῆς 14 περιπτώσεις: 1, 4, 8, 17, 18, 21, 22, 39, 42, 44, 50, 51, 54, 57
- » 61— 80 % εἰς τὰς ἐξῆς 7 περιπτώσεις: 12, 26, 33, 49, 55, 56, 60
- » 81—100 % εἰς τὰς ἐξῆς 6 περιπτώσεις: 20, 24, 25, 30, 31, 58
- » 101—120 % εἰς τὰς ἐξῆς 5 περιπτώσεις: 9, 11, 13, 48, 53
- » 121 % καὶ ἄνω εἰς τὴν περιπτώσιν: 36

Ἐξ ἄλλου ἢ μέση τιμὴ τῆς λευκωματίνης διὰ τῆς χημικῆς μεθόδου εὐρέθῃ σημαντικῶς ηῤυξημένη (4,04) ἔναντι τῆς τοιαύτης διὰ τῆς ἠλεκτροφορήσεως (2,77) μετὰ ἀντιστοίχων σταθερῶν ἀποκλίσεων 0,71 καὶ 0,78. Τὸ στατιστικὸν κριτήριον εὐρέθῃ οὐχὶ στατιστικῶς σημαντικὸν (9,07). Ὁ συντελεστὴς ὁμοσχετίσεως ($r = 0,39$) ὡς ἐμφαίνεται καὶ ἐκ τοῦ διαγράμματος διασπορᾶς τῶν τιμῶν τῆς λευκωματίνης εἶναι χαμηλός. Ὁ συντελεστὴς σφάλματος εὐρέθῃ $z = 0,72$ (σχ. 1).



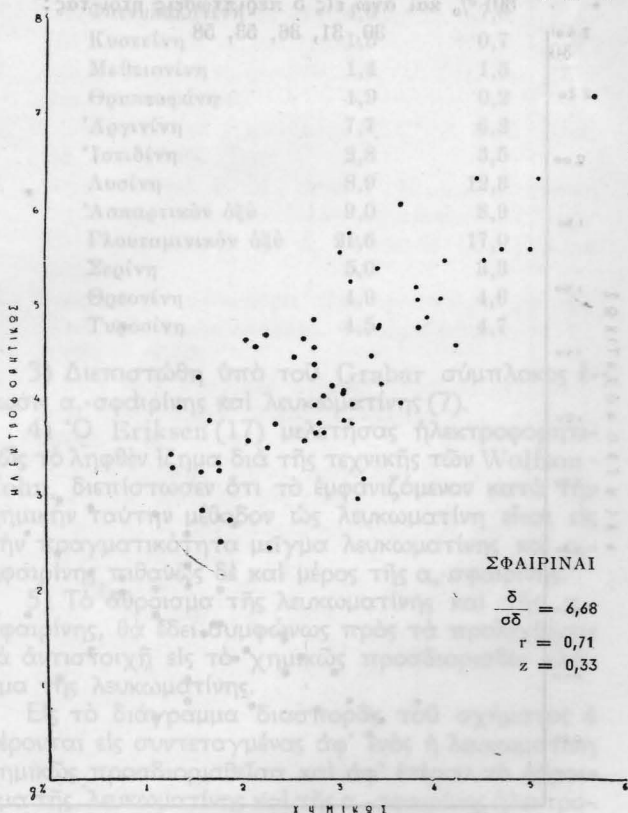
Σχ. 1. Ἐμφαίνον τὴν ὁμοσχετίσιν τῶν τιμῶν τῆς λευκωματίνης χημικῶς καὶ ἠλεκτροφορητικῶς προσδιορισθείσας

2ον. Τὸ ποσὸν τῶν σφαιρινῶν εὐρέθῃ ἠλαττωμένον κατὰ τὸν χημικὸν ἔναντι τοῦ ἠλεκτροφορητικοῦ προσδιορισμοῦ ἐπὶ τοῦ συνόλου τῶν περιπτώσεων πλὴν τῶν περιπτώσεων 7 καὶ 16 ὅπου εὐρέθῃ ἀντιστοίχως ηῤυξημένον καὶ ἴσον. Αἱ ἑκατοστιαία ἀναλογίαι τῆς μειώσεως ταύτης ἐκυμάνθησαν ὡς ἀκολούθως:

- Ἀπὸ 0—20 % εἰς τὰς ἐξῆς 15 περιπτώσεις: 1, 2, 3, 6, 12, 14, 19, 23, 28, 35, 37, 38, 41, 43, 52
- » 21—40 % εἰς τὰς ἐξῆς 28 περιπτώσεις: 4, 5, 8, 9, 10, 13, 15, 17, 18, 20, 21, 22, 24, 27, 29, 32, 34, 39, 40, 42, 44, 45, 46, 47, 50, 51, 59, 60
- » 41—60 % εἰς τὰς ἐξῆς 13 περιπτώσεις: 11, 25, 26, 31, 33, 36, 48, 49, 54, 55, 56, 57, 58
- » 61—80 % εἰς τὰς ἐξῆς 2 περιπτώσεις: 30, 53

Ἐξ ἄλλου ἢ μέση τιμὴ τῶν σφαιρινῶν διὰ τῆς χημικῆς μεθόδου (3,08 μετὰ $\sigma = 1,03$) εὐρέθῃ ἀπέχουσα ἐκ τῆς τοιαύτης διὰ τῆς ἠλεκτροφορητικῆς μεθόδου (4,35 μετὰ $\sigma = 1,04$).

Τὸ στατιστικὸν κριτήριον τῆς συγκρίσεως τῶν σφαιρινῶν διὰ τὰς 2 μεθόδους εὐρέθῃ 6,68, δηλαδὴ οὐχὶ στατιστικῶς σημαντικὸν, ἐνῶ ὁ συντελεστὴς ὁμοσχετίσεως εὐρέθῃ $r = 0,71$ με συντελεστὴν σφάλματος 0,33 ὡς τοῦτο ἐμφαίνεται ἐκ τοῦ διαγράμματος διασπορᾶς τῶν τιμῶν τῶν σφαιρινῶν (σχ. 2).



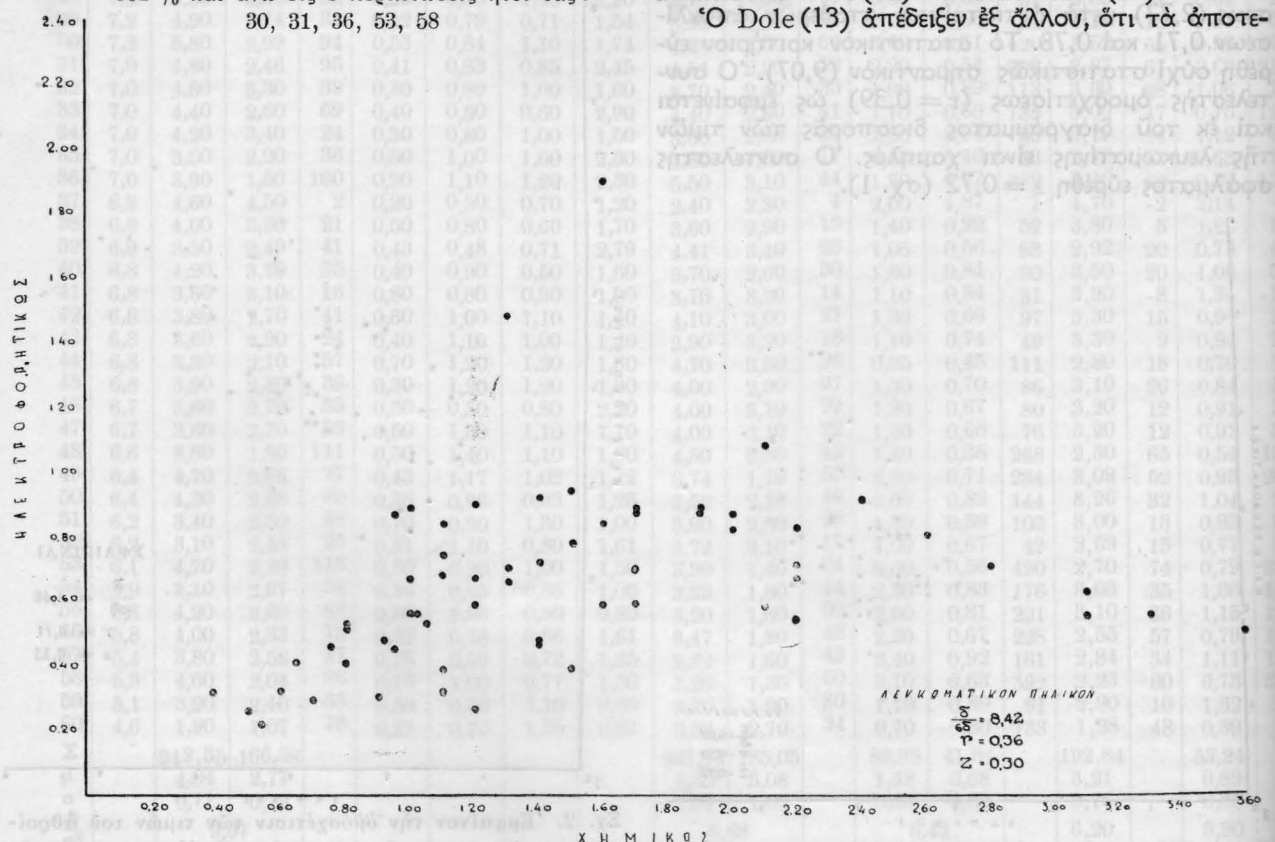
Σχ. 2. Ἐμφαίνον τὴν ὁμοσχετίσιν τῶν τιμῶν τοῦ ἀθροίσματος τῶν σφαιρινῶν, χημικῶς καὶ ἠλεκτροφορητικῶς προσδιορισθεισῶν

3ον. Το δλικόν λεύκωμα έκυμαίνετο μεταξύ 9,4 g % και 4,6 g %, αναλυτικώτερον :

- Από 8,1—10 g % εις 10 περιπτώσεις ήτοι των περιπτώσεων 1 έως 10
 - » 6,1— 8 g % εις 43 περιπτώσεις ήτοι των περιπτώσεων 11 έως 53
 - » 4,6— 6 g % εις 7 περιπτώσεις ήτοι των περιπτώσεων 54 έως 60

4ον. Το λευκωματικόν πηλίκον εύρέθη μεγαλύτερον κατά τον χημικόν προσδιορισμόν έναντι του ήλεκτροφορητικού τοιούτου εις όλας τας περιπτώσεις πλην των 7 και 16. Η εκατοστιαία αναλογία διαφορᾶς μεταξύ των δύο πηλίκων ήτο σημαντικώτατη ως εμφαίνεται εκ των κάτωθι :

- Από 0— 20 % εις 3 περιπτώσεις ήτοι τᾶς : 3, 23, 37
 - » 21— 40 % » 3 » » » : 2, 14, 41
 - » 41— 60 % » 8 » » » : 6, 19, 28, 34, 35, 38, 43, 52
 - » 61— 80 % » 3 περιπτώσεις ήτοι τᾶς : 15, 46, 47
 - » 81—100 % » 14 » » » : 1, 4, 5, 12, 17, 18, 22, 27, 29, 39, 40, 42, 45, 59
 - » 101—150 % εις 8 περιπτώσεις ήτοι τᾶς : 8, 10, 21, 32, 44, 50, 51, 60
 - » 151—200 % εις 6 περιπτώσεις ήτοι τᾶς : 9, 24, 26, 33, 54, 57
 - » 201—250 % εις 4 περιπτώσεις ήτοι τᾶς : 13, 20, 55, 56
 - » 251—300 % » 4 » » » : 11, 25, 48, 49
 - » 301 % και ἄνω εις 5 περιπτώσεις ήτοι τᾶς : 30, 31, 36, 53, 58



Σχ. 3. Εμφαίνον την ὁμοσχέτισην των τιμών του λευκωματικού πηλίκου, ὑπολογισθέντος χημικῶς και ήλεκτροφορητικῶς

Η διαφορὰ μεταξύ των μέσων τιμών ήτο ἐπίσης σημαντική. Ἐνῶ ήτο 1,48 κατά τον χημικόν προσδιορισμόν αὐτή εύρέθη κατά τον ήλεκτροφορητικόν τοιούτον μόνον 0,68.

Το στατιστικόν κριτήριον εύρέθη οὐχι στατιστικῶς σημαντικόν (8,42), συμφωνῶν ἐξ ἄλλου και μετά του λίαν χαμηλοῦ συντελεστοῦ ὁμοσχέτισεως ($r = 0,36$) μετά συντελεστοῦ σφάλματος $z = 0,30$.

Συζήτηση

Η ἀπόκλιση των ἀποτελεσμάτων του προσδιορισμοῦ του κλάσματος τῆς λευκωματίνης του ὁροῦ του αίματος διὰ τῆς χημικῆς μεθόδου ἐκ των τῆς ήλεκτροφορητικῆς, ὑπῆρξεν, ως τοῦτο συνάγεται ἐκ τῆς μελέτης των ἀποτελεσμάτων, ἀφ' ἐνός μὲν σταθερά, ἀφ' ἑτέρου δὲ σημαντική.

Παρατηρήθη ὡσαύτως διαφορὰ μεταξύ των κλασμάτων των σφαιρινῶν ως τοῦτο εμφαίνεται ἐκ του στατιστικῶ κριτηρίου (6,68). Ὁ συντελεστής ὁμοσχέτισεως εύρέθη 0,71.

Το λευκωματικόν πηλίκον εἶχεν, ως ἀνεμένετο, την αὐτήν τύχην με τας λευκωματίνας και τὸ μὲν στατιστικόν κριτήριον ήτο 8,42, ὁ δὲ συντελεστής ὁμοσχέτισεως 0,36.

Τὰ ἡμέτερα εύρήματα, συμφωνοῦσι ἀπολύτως μετ' ἐκείνων των Butler και Montgomery (10), Buttler και συν. (11) και Luetscher (12).

Ὁ Dole (13) ἀπέδειξεν ἐξ ἄλλου, ὅτι τὰ ἀποτε-

λέσματα τής τεχνικής τής κατακρημνίσεως δι' άλλων δέν συμβαδίζουσι μεθ' εκείνων τής έλευθέρας ήλεκτροφορήσεως.

Ένώ τὸ λευκωματικὸν πηλίκον, φυσιολογικῶν ἀτόμων κατὰ τεκμήριον, διὰ τής τεχνικής τής ήλεκτροφορήσεως κατὰ τοὺς Dole (1944) (13), Pillemer καὶ Hutchinson (1945) (5) καὶ Ranson, Sunderman (1948), ἀναβιβάζεται εἰς 1,5, οἱ Amstrong, Budka καὶ Marrison (1947) καθορίζουν τοῦτο εἰς 1,2 καὶ ὁ Guttman (1946) ὑπολογίζει τοῦτο εἰς 2.

Ἀνάλογοι διαφοραὶ ἀποτελεσμάτων ἀπὸ συγγραφέως εἰς συγγραφέα σημειοῦνται καὶ προκειμένου περὶ τοῦ χημικοῦ προσδιορισμοῦ τῶν κλασμάτων τῶν λευκωμάτων. Ἡ μέση τιμὴ τοῦ λευκωματικοῦ πηλίκου καθορίζεται κατὰ μὲν τὸν Salvesen εἰς 1,72 διὰ τοὺς ἄρρενας καὶ 1,62 διὰ τὰς θήλεις ἐνῶ ὁ Gutmann προτείνει τὸν ἀριθμὸν 2,6 ἀσχέτως φύλου.

Αἱ σημαντικαὶ αὗται διαφοραὶ τιμῶν ἐξηγοῦνται ἀφ' ἑνὸς μὲν ἐκ τής διαφορᾶς τῶν τεχνικῶν τῶν μεθόδων ἀφ' ἑτέρου δὲ ἐκ τοῦ γεγονότος ὅτι ἡ στάθμη τῶν λευκωμάτων μεταβάλλεται εἰς ἕν καὶ τὸ αὐτὸν ἄτομον, ἐπηρεαζομένη ὑπὸ ποικίλων παραγόντων (8).

Ἡ σύγκρισις τῶν ἀποτελεσμάτων τής ήλεκτροφορήσεως καὶ τής χημικῆς μεθόδου ἔδωσε λαβὴν εἰς τὴν βελτίωσιν τής τελευταίας διὰ χρησιμοποίησεως διαλυμάτων, άλλων διαφόρων πυκνοτήτων καὶ καταβάλλεται προσπάθεια ἵνα τὰ ἀποτελέσματα τῶν νεωτέρων τροποποιήσεων συμπλησιάσουν ἐκεῖνα τής ήλεκτροφορήσεως (14, 15, 16).

Γενικώτερον τὰ εὐρήματα τῶν περισσοτέρων ἐρευνητῶν, ὡς τοῦτο ἐξάγεται ἐκ τής διεθνοῦς βιβλιογραφίας, ὅσον καὶ τὰ ἡμέτερα τοιαῦτα, συμφωνοῦσι ἀπολύτως, ὅτι αἱ τιμαὶ τής λευκωματίνης (συνεπῶς καὶ ἐκεῖνα τοῦ λευκωματικοῦ πηλίκου) εἶναι ἀνώτεροι κατὰ τὸν χημικὸν προσδιορισμὸν ἢ κατὰ τὴν ήλεκτροφόρησιν.

Προκειμένου περὶ τῶν λευκωματινῶν, καὶ ὡς τοῦτο εἶναι εὐνόητον καὶ τοῦ λευκωματικοῦ πηλίκου, ἀνεύρομεν μεγάλην διαφορὰν μεταξύ τής μέσης τιμῆς τούτων κατὰ τὴν χημικὴν μέθοδον (4,04) καὶ ἐκείνην τής ήλεκτροφορήσεως (2,77). Τὸ στατιστικὸν κριτήριον καὶ ὁ συντελεστὴς ὁμοσχετίσεως τῶν ἀποτελεσμάτων τῶν λευκωματινῶν, τῶν σφαιρινῶν καὶ τοῦ λευκωματικοῦ πηλίκου, ἀνευρέθησαν, ὡς τοῦτο ἀνεμένετο, οὐχὶ σημαντικά.

Ἡ παρατηρηθεῖσα ἀντιθέτως μείωσις τῶν μέσων τιμῶν τῶν σφαιρινῶν κατὰ τὴν χημικὴν μέθοδον (3,08) ἔναντι τῶν ήλεκτροφορητικῶν (4,35), εἶναι εὐνόητος καὶ φυσικὸν ἐπακολούθημα τῶν ἐπελθουσῶν διαφορῶν εἰς τὰς τιμὰς τής λευκωματίνης.

Ἐκ τῶν ὡς ἄνω προκύπτει ὅτι ἡ παρατηρουμένη διαφορὰ τοῦ λευκωματικοῦ πηλίκου μεταξύ τῶν δύο μεθόδων δέον νὰ ἀποδοθῇ κατὰ κύριον λόγον εἰς τὴν λευκωματίνην.

Ἡ ἐρμηνεία ὅθεν τής παρατηρουμένης σταθερᾶς καὶ σημαντικῆς ὑπεροχῆς τής χημικῶς προσδιορισθείσης λευκωματίνης εἶναι δυνατὸν νὰ ἐπιτευχθῇ διὰ τής ἀποδοχῆς μιᾶς ἐκ τῶν δύο ἢ καὶ τῶν δύο

ὑποθέσεων :

α) Τής συγκατακρημνίσεως κατὰ τὴν χημικὴν μέθοδον, μετὰ τοῦ κλάσματος τής λευκωματίνης καὶ μέρος τῶν σφαιρινῶν ἢ

β) τής ἀδυναμίας τής ήλεκτροφορήσεως νὰ συγκεντρώσῃ εἰς τὸ κολούμενον κλάσμα τής λευκωματίνης ὀλόκληρον τὸ πραγματικὸν αὐτῆς ποσοῦν.

Ἡ πρώτη ἐκ τῶν δύο τούτων ὑποθέσεων βασιζέται ἐπὶ τοῦ γεγονότος ὅτι κατὰ τὴν χημικὴν μέθοδον δέν ἐπιτυγχάνεται εὐκόλως ὁ διαχωρισμὸς τής λευκωματίνης ἀπὸ τής α₁-σφαιρίνης καὶ ἀποδεικνύεται ἐκ τῶν κάτωθι :

1) Αἱ αὗται πυκνότητες θεικοῦ νατρίου κατακρημνίζουσι τόσον τὴν λευκωματίνην ὅσον καὶ τὴν α₁-σφαιρίνην (7).

2) Ἡ χημικὴ σύνθεσις τής α₁-σφαιρίνης, τής περιεχομένης κατὰ 94% εἰς τὸ κλάσμα IV-I κατὰ Coln, ὁμοιάζει κατὰ τὸν Edsall σημαντικῶς με ἐκείνην τής λευκωματίνης, ὡς τοῦτο ἐμφαίνεται καὶ κάτωθι ἐκ τής ἑκατοστιαίας ἀναλογίας τῶν περιεχομένων εἰς τὴν α₁-σφαιρίνην καὶ τὴν λευκωματίνην ἀμινοξέων (7) :

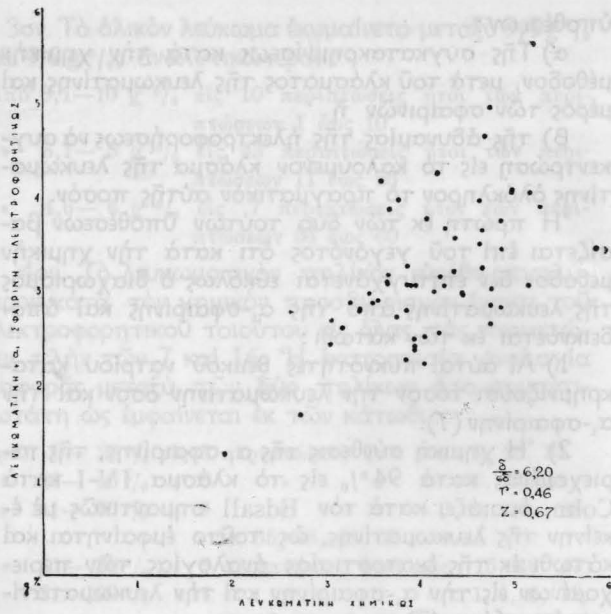
	α ₁ -Σφαιρίνη	Λευκωματίνη
Γλυκίνη	3,1	1,6
Βαλίνη	5,2	7,7
Λευκίνη	14,2	11,0
Ἴσολευκίνη	1,7	1,7
Προλίνη	4,7	5,1
Φαινυλαλανίνη	4,6	7,8
Κυστεΐνη	1,5	0,7
Μεθειονίνη	1,4	1,3
Θρουποφάνη	1,9	0,2
Ἀργινίνη	7,7	6,2
Ἴστιδίνη	2,8	3,5
Λυσίνη	8,9	12,3
Ἀσπαρτικὸν ὄξύ	9,0	8,9
Γλουταμινικὸν ὄξύ	21,6	17,0
Σερίνη	5,0	3,3
Θρεονίνη	4,9	4,6
Τυροσίνη	4,5	4,7

3) Διεπιστώθη ὑπὸ τοῦ Grabar σύμπλοκος ἔνωσης α₁-σφαιρίνης καὶ λευκωματίνης (7).

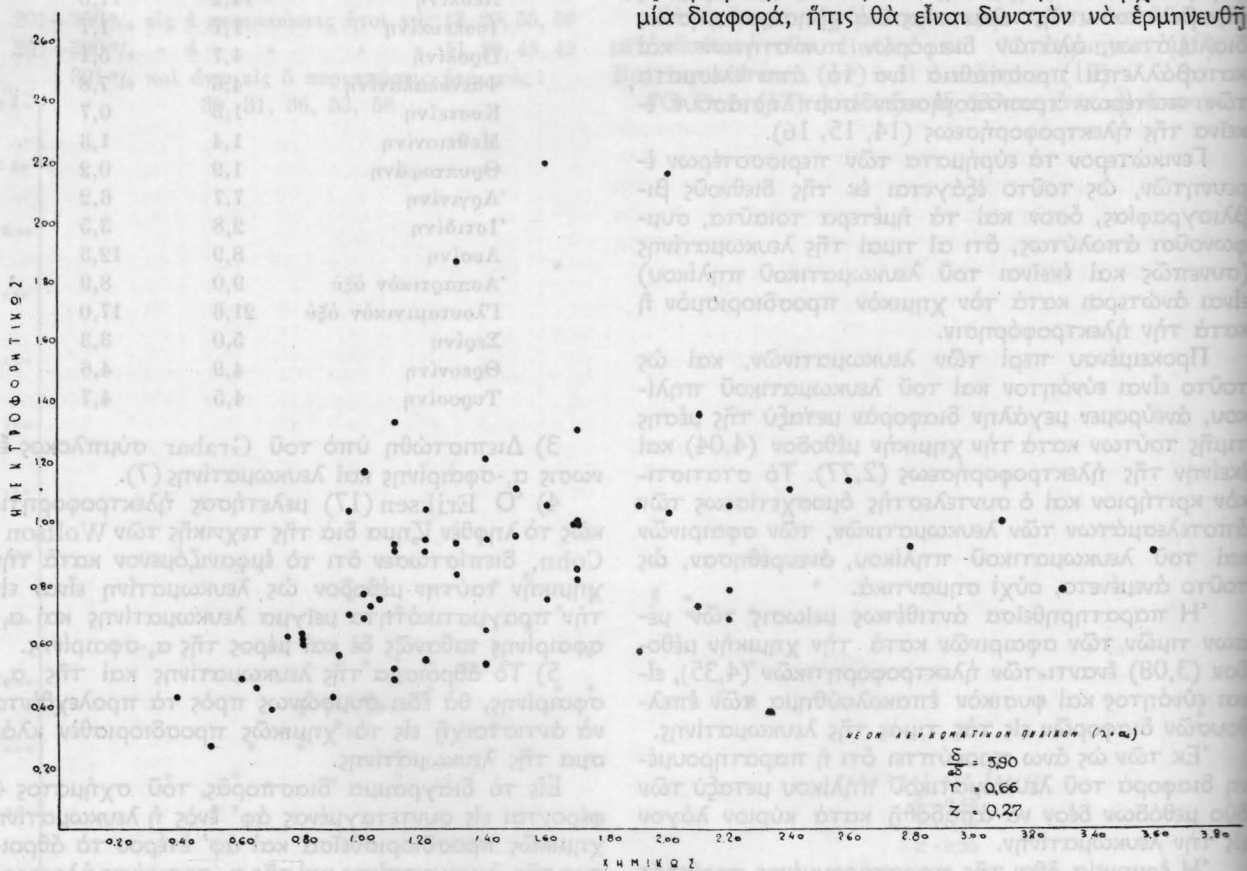
4) Ὁ Eriksen (17) μελετήσας ήλεκτροφορητικῶς τὸ ληφθὲν ἴζημα διὰ τής τεχνικῆς τῶν Wolfson - Coln, διεπίστωσεν ὅτι τὸ ἐμφανιζόμενον κατὰ τὴν χημικὴν ταύτην μέθοδον ὡς λευκωματίνην εἶναι εἰς τὴν πραγματικότητα μείγμα λευκωματίνης καὶ α₁-σφαιρίνης πιθανῶς δὲ καὶ μέρος τής α₂-σφαιρίνης.

5) Τὸ ἄθροισμα τής λευκωματίνης καὶ τής α₁-σφαιρίνης, θὰ ἔδει συμφώνως πρὸς τὰ προλεχθέντα νὰ ἀντιστοιχῇ εἰς τὸ χημικῶς προσδιορισθὲν κλάσμα τής λευκωματίνης.

Εἰς τὸ διάγραμμα διασπορᾶς τοῦ σχήματος 4 φέρονται εἰς συντεταγμένας ἀφ' ἑνὸς ἡ λευκωματίνην χημικῶς προσδιορισθεῖσα καὶ ἀφ' ἑτέρου τὸ ἄθροισμα τής λευκωματίνης καὶ τής α₁-σφαιρίνης ήλεκτροφορητικῶς προσδιορισθέντα, ὡς τοῦτο ἐμφαίνεται καὶ κατὰ τὴν 16ην κάθετον στήλην τοῦ πίνακος I. Τὸ νέον στατιστικὸν κριτήριον εἶναι 6,2 ἔναντι



Σχ. 4. Έμφαίνουν την όμοσχέτιση της χημικώς προσδιορισθείσης λευκοματινής προς το άθροισμα λευκοματινής και α₁-σφαιρίνης ηλεκτροφορητικώς προσδιορισθεισών



Σχ. 5. Έμφαίνουν την όμοσχέτιση του διά τής χημικῆς μεθόδου ὑπολογισθέντος λευκοματικοῦ πηλίκου πρὸς τὸ νέον τοιοῦτον ὑπολογισθὲν κατόπιν τῆς προσθήκης τῆς α₁-σφαιρίνης εἰς τὴν ἠλεκτροφορητικῶς προσδιορισθείσαν λευκοματινῆν

τοῦ παλαιοῦ 9,07. Ἡ καλύτερα κατανομή ἀποδεικνύεται ἐξ ἄλλου καὶ ἐκ τοῦ βελτιωμένου συντελεστοῦ διασπορᾶς $r = 0,46$ ἔναντι τοῦ παλαιοῦ $r = 0,39$.

6) Εἰς τὸ σχῆμα 5 φέρονται ὡς συντεταγμένα ἀφ' ἑνὸς τὸ χημικῶς εὐρεθὲν λευκοματικὸν πηλίκον καὶ ἀφ' ἑτέρου τὸ νέον πηλίκον τοῦ ἀθροίσματος τῆς λευκοματινῆς + α₁-σφαιρίνην, διὰ τοῦ ἀθροίσματος τῶν α₂ + β + γ-σφαιρινῶν, ἀπασῶν ἠλεκτροφορητικῶς προσδιορισθεισῶν. Τὸ νέον στατιστικὸν κριτήριον, 5,9 πλησιάζει πρὸς τὸ στατιστικῶς σημαντικὸν τοιοῦτον καὶ ὁ συντελεστῆς διασπορᾶς εἶναι 0,66 ἔναντι 0,36, τοῦτο σημαίνει ὅτι διὰ τῆς προσθήκης τῆς α₁-σφαιρίνης εἰς τὴν λευκοματινὴν ἐπιτυγχάνεται κλάσμα τὸ ὁποῖον ὁμοιάζει ἀρκούντως, ἀλλ' οὐχὶ ἀπολύτως, πρὸς ἐκεῖνο τῆς χημικῶς προσδιορισθείσης λευκοματινῆς.

Σαφῶς ἀποδεικνύεται ἐκ τῶν εὐρημάτων τούτων, ὅτι ἡ ἔρμηνεία τῆς παρατηρηθείσης διαφορᾶς τῆς λευκοματινῆς, κατὰ τὰς δύο χρησιμοποιηθείσας μεθόδους, δεόν νὰ ἀποδοθῆ κατὰ τὸ μεγαλύτερον μέρος εἰς τὴν συγκατακρήμισιν τῆς α₁-σφαιρίνης ὁμοῦ μετὰ τῆς λευκοματινῆς κατὰ τὸν χημικὸν προσδιορισμὸν.

Ἄλλὰ ἀκόμη καὶ μετὰ τὴν προσθήκην τῆς α₁-σφαιρίνης εἰς τὴν λευκοματινὴν ὑπάρχει εἰσέτι μία διαφορὰ, ἥτις θὰ εἶναι δυνατὸν νὰ ἐρμηνευθῆ

είτε διά τῆς συγκατακρημνίσεως μέρους τοῦ κλάσματος τῆς α₂-σφαιρίνης είτε καί ἐκ τοῦ γεγονότος ὅτι κατὰ τὴν ἐπὶ χάρτου ἠλεκτροφόρησιν δὲν συγκεντρῶνται εἰς τὸ κλάσμα τῆς λευκωματίνης τὸ πραγματικὸν αὐτῆς ποσὸν παρὰ τὴν καταβληθεῖσαν προσπάθειαν πρὸς ἀποφυγὴν τυχούσης ἀπωλείας μέρους τῆς λευκωματίνης κατὰ τὴν χρῶσιν, τὸν ἀποχρωματισμὸν, τὴν φωτομέτρησιν καὶ τὴν πλανημέτρησιν τῶν καμπύλων. Ἡ προσπάθεια αὕτη συνίσταται εἰς τὰ κάτωθι:

1) Ἡ μεγάλη δυσχέρεια τῆς ἀνίσου κατανομῆς τῆς χρωστικῆς μεταξὺ λευκωματινῶν καὶ σφαιρινῶν ὑπερεπιδηθῆθαι διὰ τῆς χρησιμοποιήσεως τῆς τεχνικῆς τῶν Caspani καὶ Magistratti, ἥτοι τὴν ἐπὶ 16 ὥρας ἐμβάπτισιν τῶν ταινιῶν εἰς λίαν ἀραιὸν ὕδατικὸν διάλυμα βρωμοφαινόλης. Διὰ τοῦ τρόπου τούτου ἀπεδείχθη ὅτι οὐδεὶς συντελεστῆς διορθώσεως ἀπαιτεῖται διότι δὲν ἐπιτελεῖται ἐντονωτέρα προσρόφησις χρωστικῆς ὑπὸ τῶν σφαιρινῶν ὡς ἡ σημειωθεῖσα κατὰ τὴν χρῶσιν διὰ πυκνῶν διαλυμάτων Amidoschwartz ἢ βρωμοφαινόλης (7).

2) Τὸ ἐνδεχόμενον τῆς μερικῆς ἀπωλείας τῆς χρωστικῆς τῆς λευκωματίνης κατὰ τὸν μερικὸν ἀποχρωματισμὸν ἀπεφεύχθη, διότι δὲν ἐφηρμόσθη ἡ συσταθεῖσα δίλεπτος ἐμβάπτισις τῶν ταινιῶν εἰς διάλυμα 10% ὀξεικοῦ ὀξέος καὶ 2% ὀξεικοῦ νατρίου, προτιμηθείσης τῆς ἐκθέσεως τῶν ταινιῶν εἰς ἀτμοῦς ἀμμωνίας διὰ τὴν μεταβολὴν τοῦ pH τούτων (Durrum), τέλος

3) Ἐχρησιμοποιήθησαν ἐκεῖνα μόνον αἱ ταινίαι τῶν ὁποίων τὰ κλάσματα ἀπεχωρίσθησαν πλήρως ἀλλήλων οὕτως ὥστε νὰ ἀποφεύγονται αἱ αὐθαίρεσσαι κατὰ τὴν πλανημέτρησιν τῶν καμπύλων.

Ἡ παρατηρουμένη ὅθεν ὑπεροχὴ τοῦ χημικῶς προσδιορισθέντος λευκωματικοῦ πηλίκου ὀφείλεται ἐνδεχομένως εἰς μερικὴν ἀπώλειαν τῆς λευκωματίνης κατὰ τὴν ἠλεκτροφόρησιν καὶ ἀναμφιβόλως εἰς τὴν συγκατακρήμνισιν τῆς α₁-σφαιρίνης μετὰ τῆς λευκωματίνης κατὰ τὸν χημικὸν προσδιορισμὸν.

S U M M A R Y

A contribution in the interpretation of the observed difference in values of the protein quotient determined by the chemical and electrophoretic method.

By B. MALAMOS, S. GARZONIS, A. EVANGELOPOULOS, and K. NIKOLAIDIS

The protein quotient of 60 cases, determined by Greenberg's chemical method, was found to be remarkably and constantly increased in contrast to the electrophoretic determination.

No remarkable statistical correlation was observed either for the albumins and globulins or for the protein quotient obtained by the two methods in use.

The mentioned difference is attributed to some alterations of the albumins that take place from the chemical to the electrophoretic method,

(Ἐκ τῆς Θεραπευτικῆς Κλινικῆς τοῦ Παν/μίου Ἀθηνῶν)

as well as to the fact that by the chemical determination the α₁-globulin fraction precipitates with the albumin fraction or to the partial loss of the albumin during the electrophoretic procedure.

The protein quotient expressed electrophoretically according to the modified formula

$$\frac{\text{albumin} + \alpha_1 - \text{globulin}}{\alpha_2 + \beta + \gamma - \text{globulins}}$$

instead of $\frac{\text{albumin}}{\alpha_1 + \alpha_2 + \beta + \gamma + \text{globulins}}$ approaches significantly to the chemically expressed protein quotient.

The results obtained therein were proved to be very near the limits of a perfect statistical correlation.

In conclusion, the difference observed in the protein quotient is explained by the fact that the α₁-globulin precipitates together with the albumin in the chemical procedure and by the probable partial loss of the albumin fraction during the procedure of electrophoresis.

(From the Therapeutics Clinic of the University of Athens)

B I B Λ Ι Ο Γ Ρ Α Φ Ι Α

1. Howe P. E. : *J. Biol. Chem.* **49**, 39 (1921).
2. Greenberg D. M. : *J. Biol. Chem.* **82**, 545 (1929).
3. Greenberg D. M. and Mirolubona T. N. : *J. Lab. and Clin. Med.* **21**, 431 (1936).
4. Aull J. C. and McCord M. W. : *J. Lab. and Clin. Med.* **46**, 476 (1955).
5. Pillemer L. and Hutchinson M. C. : *J. Biol. Chem.* **158**, 299 (1945).
6. Abdel-Wahab E. M., Rees V. H., and Laurence D. J. R. : *In Ciba Foundation Symposium on Paper Electrophoresis.* J. & A. Churchill Ltd. London (1956).
7. Enselme J. : *Sémiologie électrophorétique des protéines du plasma sanguin.* Camugli éditeur. Lyon (1955).
8. Varley H. : *Practical Clinical Biochemistry.* William Heinemann. Medical Books Ltd. London (1954).
9. Dietz B. J. and Budd Bethesda R. E. : *J. Lab. and Clin. Med.* **51**, 616 (1958).
10. Buttler A. M. and Montgomery H. : *J. Biol. Chem.* **99**, 173 (1932-33).
11. Buttler A. M., Blatt H. and Southgate H. : *J. Biol. Chem.* **109**, 755 (1935).
12. Luetscher J. A. Jr. : *J. Clin. Invest.* **19**, 313 (1940).
13. Dole V. P. : *J. Clin. Invest.* **23**, 708 (1944).
14. McClellan V. and Kabat E. A. : *J. Clin. Invest.* **20**, 765 (1941).
15. Milne J. : *J. Biol. Chem.* **169**, 595 (1947).
16. Majoor C. L. H. : *J. Biol. Chem.* **169**, 583 (1947).
17. Eriksen N., Ellerbrook L. D. and Lippincott S. W. : *Clin. Chemistry* **2**, 344 (1956).

(Ἐισήχθη τῇ 30ῇ Ἰουλίου 1958)

Paper Chromatography of Pyrazolones, Pyrazolidinedione on Buffered Paper

By ALICE ISSIDORIDES - DEFFNER and MICHAEL DEFFNER

The variation of the R_f with the pH of the buffered paper and the optimum conditions for separation have been investigated for antipyrine, aminopyrine, 1-phenyl-3-methyl-5-pyrazolone and phenylbutazone.

In a previous communication (1) the effect of the pH of the buffered paper on the R_f was discussed for certain belladonna, strychnos, and opium alkaloids. It was found that the R_f values vary with the pH as well as with the kind of the buffer used for the pretreatment of the paper. Thus the R_f values of the investigated alkaloids generally increased with increasing pH because of the existence of the undissociated base at the high pH levels, but even at a given pH they varied depending on the buffer used. The explanation offered was that these variations were due to differences in the water solubility of the solvent (2) or to an interaction between the anion of the buffer and the alkaloid. The explanation was supported by the fact that, in buffers of di- or poly-carboxylic acids, where different ionic forms of the buffer were possible, depending on the pH, the R_f values did not continuously increase by increasing the pH but showed minima at certain pH levels. In this paper the effect of the pH and the buffer used for the pretreatment of the paper is discussed for some analgesics and related compounds of the pyrazolone, pyrazolidinedione series.

The compounds investigated were: Antipyrine (Phenazone, 1,5-Dimethyl-2-phenyl-3-pyrazolone), Aminopyrine (Amidopyrine, Pyramidone, 4-Dimethylamino-1,5-dimethyl-2-phenyl-3-pyrazolone), 1-Phenyl-3-methyl-5-pyrazolone and Phenylbutazone (Butazolidine, 4-Butyl-1,2-diphenyl-3,5-pyrazolidinedione).

Experimental

Apparatus and Reagents: Beckman model G pH meter, n-butylalcohol reagent grade, citrate buffer 0.2M, acetate buffer 0.2M, lactate buffer 0.2M, tartrate buffer 0.2M, phosphate buffer 0.2M, carbonate buffer 0.2M, glycinate buffer 0.2M, borate buffer 0.2M.

In order to avoid the addition of other ions, since these also have an influence on the R_f values (1) the first six buffers were prepared from following 0.2M solutions: citric acid-sodium citrate, acetic acid-sodium acetate, lactic acid-sodium lactate, tartaric acid-sodium tartrate, sodium dihydrogen phosphate-sodium hydrogen phosphate, sodium bicarbonate-sodium carbonate. Glycinate and borate buffers were prepared

respectively from 0.2M glycine and 0.2M boric acid with the addition of sodium hydroxide.

Preparation of Papers: Strips of Whatman No 2 and Schleicher and Schüll No 2040 BM paper 4X30 cm* were immersed in the different buffer solutions, air-dried and sewn lengthwise with a white cotton thread in order of ascending pH and placed in the glass cylinders. For the «test tube» chromatography, strips 1.5X21 cm were used and each one was placed in a test tube.

Chromatography: Glass cylinders (13 cm diameter and 45 cm height) were used. A 10 mg/ml solution of the substance was applied each time with a micropipette. The ascending method was used with n-butylalcohol saturated with water as the developing solvent. The paper was left for equilibration several hours in the cylinder with a small beaker containing the water phase. It was developed afterwards for 4-5 hrs in the dark. For 1-phenyl-3-methyl-5-pyrazolone, which decomposed easily on the buffered paper during the equilibration period, the method of «test tube» chromatography was used. The pretreated paper strips were placed in a series of test tubes (2.3 cm diameter, 24 cm height) containing at the bottom 3 ml of the developing solvent, and they were left for one hour. The chromatograms were then air-dried and sprayed with the reagents. The R_f values were calculated from the point of application to the leading edge of the spot. The pH of the buffer solutions was measured before and after shaking with n-butylalcohol. As shown in table I the pH of the buffer solution increased slightly after shaking with n-butylalcohol for all buffers except for the acetate which showed a higher increase and the glycinate which decreased slightly.

The pH of the buffered paper differed also in some cases from the pH of the buffer solutions used for the pretreatment. The pH of the acetate buffered paper tested with different indicator solutions was, as expected, considerably higher than that of the buffer solution used. The pH of the glycinate buffered paper was considerably lower and that of the borate and phosphate somewhat lower than that of the buffer solutions used. The pH of the other buffered papers were the same as those of the buffer solutions used for the pre-

* Cut in the direction of the fibers (nach der Faserichtung).

TABLE I. pH OF THE BUFFER SOLUTIONS BEFORE AND AFTER SHAKING WITH n-BUTYLALCOHOL

<i>Citrate</i>						
pH initial	2.35	2.62	3.45	4.70	5.60	6.30
pH final	2.45	2.70	3.55	4.75	5.70	6.35
<i>Acetate</i>						
pH initial	3.50	3.85	4.42	5.00	5.85	6.55
pH final	3.70	4.10	4.70	5.20	6.20	6.78
<i>Lactate</i>						
pH initial	2.62	2.80	3.35	3.95	4.40	4.65
pH final	2.75	2.92	3.45	4.02	4.60	4.78
<i>Tartrate</i>						
pH initial	2.10	2.40	3.00	3.65	4.15	4.68
pH final	2.25	2.60	3.15	3.75	4.15	4.68
<i>Phosphate</i>						
pH initial	5.20	5.65	6.25	6.90	7.50	8.00
pH final	5.30	5.80	6.32	6.92	7.52	8.02
<i>Carbonate</i>						
pH initial	8.70	9.00	9.45	9.92	10.30	10.60
pH final	8.85	9.20	9.58	10.02	10.40	10.65
<i>Glycinate</i>						
pH initial	8.52	9.00	9.50	9.75	10.12	11.50
pH final	8.40	8.95	9.35	9.65	9.95	11.40
<i>Borate</i>						
pH initial	7.15	7.80	8.35	8.65	8.90	9.20
pH final	7.30	8.00	8.60	8.78	9.00	9.35

treatment of the paper. The pH values referred in this paper are those of the buffer solutions used for the pretreatment. A number of spraying reagents give colored reactions with the pyrazolones. Those are shown in Table II.

On buffered paper, the spraying reagents used were Ehrlich's (p-dimethylaminobenzaldehyde) for antipyrine and 1-phenyl-3-methyl-5-pyrazolone, Dragendorff's and 0.1 N AgNO₃ for aminopyrine and an alcoholic solution of dichlorophenolindophenol, or HNO₃ : H₂O (1 : 1) for phenylbutazone. Phenylbutazone gave with HNO₃ : H₂O yellow spots which on standing for several days became intense brown red. A vaseline (2.5% vaseline in ether) coated paper developed with chloroform or ethylacetate has also been used as well as paper pretreated with a saturated picric acid solution with n-butylalcohol saturated with saturated picric acid solution as the developing solvent. Both papers were sprayed with FeCl₃ solution followed by α, α'-dipyridyl whereby the different pyrazolones could be differentiated by the ease of reaction and the color of the spots.

Discussion

The investigated pyrazolones and pyrazolidinedione, when chromatographed on untreated paper with n-butylalcohol saturated with water,

TABLE II. SPRAYING REAGENTS GIVING COLORED REACTIONS WITH THE PYRAZOLONES

<i>Spraying Reagents</i>	<i>Phenylbutazone</i>	<i>Antipyrine</i>	<i>Aminopyrine</i>	<i>1-Phenyl-3-methyl-5-pyrazolone</i>
Ehrlich's (p-dimethylaminobenz.) heating for 5 min. to 100°	++ yellow long development period	+++ red	++ yellow long development period	+++ orange red
FeCl ₃ in alcohol freshly prepared	+ yellow long development period	++ red brown	+ light violet	++ red brown
FeCl ₃ followed by α, α'-dipyridyl	+ red short development period	++ brown	++ red violet	++ red
K ₃ Fe(CN) ₆ + FeCl ₃ freshly prepared	+ blue short development period	-	+++ blue	+++ blue
Dragendorff's	-	++	++	?
Dichlorophenolindophenol	++	+ yellow	-	++ yellow
Na-1, 4 naphthoquinone sulfonate	+ long development	-	+	+++ dark blue
HNO ₃ : H ₂ O (1 : 1)	++ yellow turning to brown	-	-	++ yellow
Xanthidrol	-	++ violet	-	++ brown
Iodine solution	++ decolorized	+	+	++
NaNO ₂ in glacial acetic	-	-	-	++ yellow
0.1 N AgNO ₃	-	-	+++ dark violet	-
0.1 N KMnO ₄	++ brown yellow	-	+ yellow	++ yellow

+++
++
+
↓
decreasing intensity in color

give spots with $R_f = 1.00$. The pyrazolones and pyrazolidinedione can be then differentiated only by their different color reactions with a variety of spraying reagents. The different pyrazolones however have been separated on paper by using n-butylalcohol-acetic acid-water (3) or light petroleum-methanol-benzene-water (4) as the developing solvent or on acid washed paper with aqueous n-butylalcohol (5).

On buffered paper the behavior of the pyrazolones and the pyrazolidinedione (phenylbutazone) is different.

Antipyrine is a weak base with a pK 1.5 (6), aminopyrine is a stronger base, whereas 1-phenyl-3-methyl-5-pyrazolone is soluble in both acids and alkalies and phenylbutazone gives salts like the sodium and calcium salt which are also used as antirheumatics. This difference in the basicity or acidity of those compounds is expressed in the variation of their R_f values with the pH of the buffer used. The R_f values of antipyrine increase by increasing pH up to a pH of 5.00. The R_f values above that pH become 1.00 because of the existence of the undissociated base above that pH. Fig. 1 shows this variation for lactate and tartrate buffers. On citrate buffered paper as well as on carbonate, phosphate and glycinate, antipyrine shows tailing.

Aminopyrine being a stronger base shows

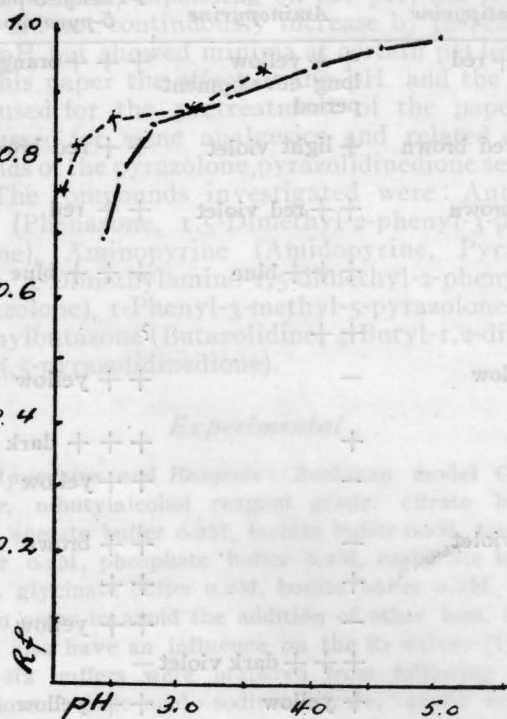


Fig. 1. R_f vs pH of antipyrine. •—• lactate buffer, x-----x tartrate buffer. Paper: Schleicher and Schüll 2040 b M.

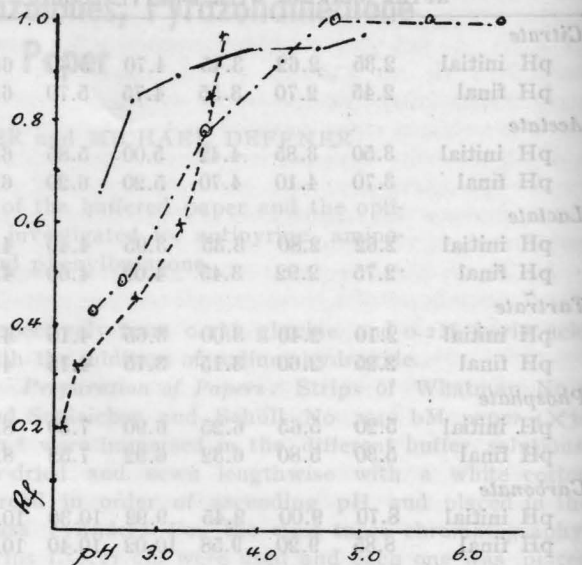


Fig 2. R_f vs pH of aminopyrine. •—• lactate buffer, x-----x tartrate buffer, o—o citrate buffer. Paper: Schleicher and Schüll 2040 b M.

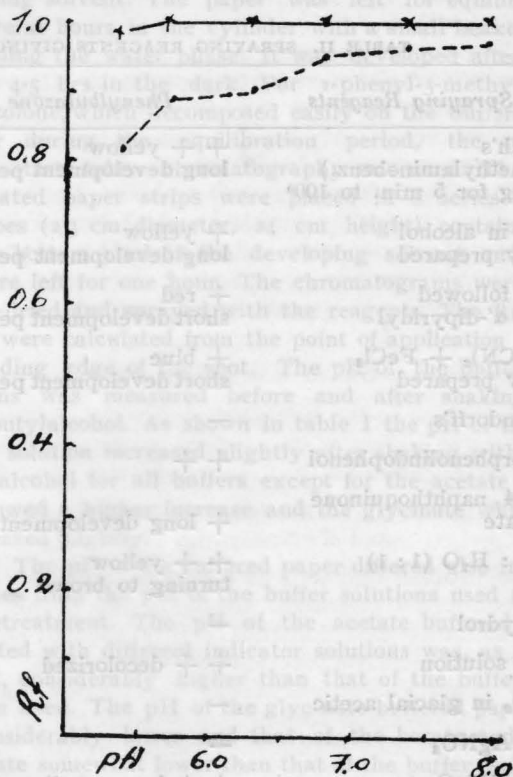


Fig 3. Dimensions of spots of aminopyrine at different pH's for phosphate buffer. x—x R_f of the leading edge of the spot, ••••• R_f of the rear edge of the spot. Paper: Schleicher and Schüll 2040 b M.

-Fig 2 - a larger variation of R_f with the pH for lactate, tartrate and citrate buffers. At pH values above 5.00 the R_f of the aminopyrine becomes 1.00 and on paper buffered with alkaline buffers (phosphate, glycinate, carbonate) it shows tailing up to a certain pH above which it gives small round spots with $R_f = 1.00$ (Fig. 3). 1-Phenyl-3-methyl-5-pyrazolone decomposes easily on buffered paper during the equilibration period and gives rise to comets stretching from the point of application to the solvent front. For 1-phenyl-3-methyl-5-pyrazolone therefore the method of «test tube» chromatography has been used. On papers with pH below 9.00, 1-phenyl-3-methyl-5-pyrazolone shows up at the solvent front. At higher pH's the R_f values become less than 1.00 and they decrease by increasing pH as shown in Fig. 4 for glycinate and borate buffers. Phenylbutazone, on the other hand, shows no variation of the R_f with the pH, the R_f being always approximately 1.00 for all pH's of all buffers used. In alkaline buffers, however, it shows some tailing. From Figures 1 and 2 it can be seen that the best separation of antipyrine, aminopyrine and phenylbutazone can be achieved on paper pretreated with tartrate buffer pH 2.00. The R_f values are respectively, 0.75, 0.22, 1.00. Separation of these compounds

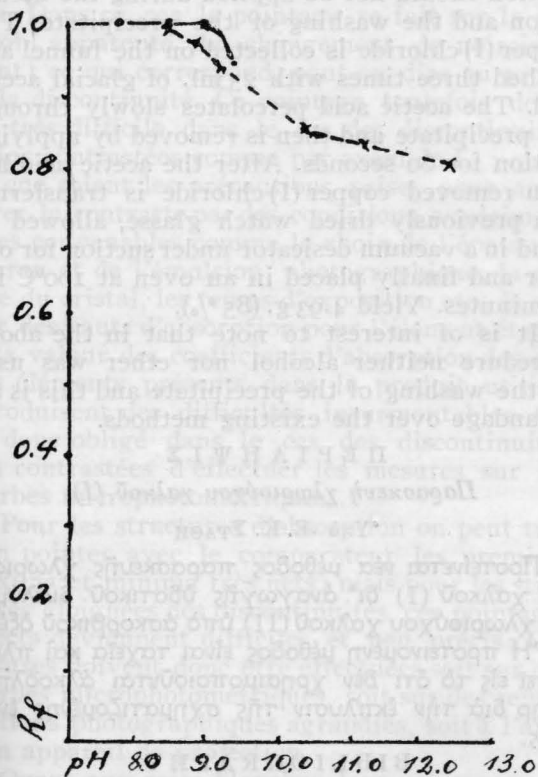


Fig. 4. R_f vs pH of 1-Phenyl-3-methyl-5-pyrazolone.
 • —••••• borate buffer. x-----x glycinate buffer.
 Paper: Schleicher and Schüll 2040 b M.

can also be accomplished on paper pretreated with a saturated picric acid solution and n-butyl-alcohol shaken with a saturated picric acid solution. R_f values are following: Antipyrine 0.71, aminopyrine 0.93, phenylbutazone 1.00. Paper coated with 2.5% vaseline in ether or 50% formamide in acetone with different developing solvents offers no advantage.

S U M M A R Y

The variation of R_f with the pH of the buffered paper is discussed for several pyrazolones and pyrazolidinedione. For antipyrine the R_f values increase with increasing pH. For the stronger base aminopyrine this variation is even more pronounced. 1-Phenyl-3-methyl-5-pyrazolone behaves like a weak acid with R_f values decreasing by increasing pH, whereas phenylbutazone, surprisingly enough, shows no variation of the R_f with the pH, the R_f being always equal to 1.0.

The best separation of antipyrine, aminopyrine and phenylbutazone can be achieved on paper pretreated with tartrate buffer pH 2.00. The use of different spraying reagents, as well as the use of paper coated with vaseline or formamide, or pretreated with picric acid solution is discussed.

Π Ε Ρ Ι Λ Η Ψ Ι Σ

Χαρτοχρωματογραφία πυραζολονών και πυραζολιδινοδιόνης επί χάρτιου προκατεργασθέντος διά ρυθμιστικών διαλυμάτων

Υπό ΑΔΙΚΗΣ ΓΕΩΡΓΙΟΥ, ΔΕΦΝΕΡ και ΜΙΧ. ΟΘ. ΔΕΦΝΕΡ

Εμελετήθη η μεταβολή του R_f συναρτήσει του pH ρυθμιστικών διαλυμάτων διά των οποίων προκατεργάζεται ο χάρτης προκειμένου περί χαρτοχρωματογραφίσεως διαφόρων πυραζολονών και πυραζολιδινοδιόνης (φαινυλοβουταζόνης). Διά την αντιπυρίνην το R_f αύξάνει αύξανόμενου του pH. Διά την αμινοπυρίνην η οποία είναι ισχυρότερα βάση η μεταβολή είναι ακόμη πλέον έντονος. Η 1-φαινυλο-3-μεθυλο-5-πυραζολόνη συμπεριφέρεται ως ένα ασθενές όξύ με τιμάς του R_f ελαττουμένας αύξανόμενου του pH. Το R_f τής φαινυλοβουταζόνης παραμένει παραδόξως πάντοτε ίσον προς 1.

Ο καλύτερος διαχωρισμός τής αντιπυρίνης, αμινοπυρίνης και φαινυλοβουταζόνης επιτυγχάνεται διά χάρτου προκατεργασθέντος διά τρυγικού ρυθμιστικού διαλύματος pH 2.00, όποτε τὰ αντίστοιχα R_f είναι 0.75, 0.22 και 1.00. Διαχωρισμός των αυτών ουσιών επιτυγχάνεται και διά κατεργασίας του χάρτου διά κεκορεσμένου ύδατικού διαλύματος πικρικού όξέος.

Εμελετήθη επίσης η χρήση διαφόρων υγρών

ψεκασμού διά την εμφάνισιν τῶν κηλίδων τοῦ χαρτοχρωματογραφήματος καθὼς καὶ ἡ χρῆσις χάρτου ἐπιστρωμένου μετὰ βαζελίνης ἢ φορμαμίδιου.

(Ἐκ τοῦ Ἐργαστηρίου Ἐλέγχου καὶ Ἐρευνῶν τῆς Vitarine Greece Co, Χολαργός, Κάτω Χαλάνδριον, Ἀθήναι)

REFERENCES

1. Deffner M., Issidorides-Deffner A.: *J. Am. Pharm. Assoc. Sci. Ed.* **47**, 343 (1958).

(Contribution from the, Research and Control Laboratory, Vitarine Greece Co, Cholargos, Kato-Chalandrion, Athens-Greece)

2. Mc Farren E.: *Anal. Chem.* **23**, 168 (1951).
3. Dihlmann W.: *Naturwissenschaften* **40**, 510 (1953). *Chem. Abst.* **48**, 8700 h (1954).
4. Jermstad A., Waaler T.: *Dansk. Tidskr. Pharm.* (1952) **26**, 205 *Brit. Abst. C.*, 174 [1107] (1953).
5. Wagner C.: *Arch. Pharm. Berlin* **289**, (1) 8 (1956) *Anal. Abstr.* **3**, 3179 (1956).
6. Elderfield R.: «*Heterocyclic Compounds*» Vol. 5, John Wiley and Son, Inc., New York, 1957.

(Received, 30 July 1958)

Preparation of Copper (I) Chloride

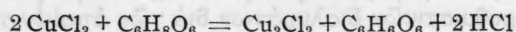
By E. C. STATHIS

A method is described for the preparation of copper (I) chloride by reduction of an aqueous solution of copper (II) chloride with ascorbic acid.

In the proposed procedure neither alcohol nor ether was used for the washing of the precipitate and this is an advantage over the existing methods.

Recently it has been shown that ammonium hydrogen sulphite may be replaced successfully by ascorbic acid in the determination of copper as cuprous thiocyanate (I). In the course of this investigation the question of the formation of copper (I) chloride arose, and attempts were therefore made to prepare this substance using ascorbic acid as reducing agent.

Copper (I) chloride is obtained from solutions of copper (II) chloride by reduction with a solution of sodium sulfite (2). Many reducing agents have been also used for this purpose. In a similar way, using an aqueous solution of ascorbic acid, the reduction of copper (II) chloride proceeds with the formation of a white precipitate of copper (I) chloride according to the equation:



The conclusions from the study of the conditions under which copper (I) chloride is formed, lead to the experimental procedure given below.

Ten grams of copper (II) chloride $\text{CuCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ is dissolved in 20 ml. of water in a 100 ml. beaker. To this, a solution of 8 g. of ascorbic acid in 30 ml. of water is added slowly at room temperature with constant stirring. The resulting mixture is stirred thoroughly until the white copper (I) chloride separates and the supernatant liquid is pale straw coloured. The precipitate and the supernatant liquid are poured into 400 ml. of water to which 0.5 g. of ascorbic acid and 1 ml. of conc. hydrochloric acid have been added, the mixture is shaken and allowed to stand until the copper (I) chloride has settled. The supernatant

(Department of Chemistry, The University of Athens, Greece).

liquid is decanted through a sintered-glass funnel (Büchner type, porosity No 2) and the precipitate is washed by decantation with 200 ml. of water to which 4-5 drops of conc. hydrochloric acid and 0.1 g. of ascorbic acid have been added. Suction should not be applied during the decantation and the washing of the precipitate. The copper (I) chloride is collected on the funnel and washed three times with 25 ml. of glacial acetic acid. The acetic acid percolates slowly through the precipitate and then is removed by applying suction for 60 seconds. After the acetic acid has been removed copper (I) chloride is transferred to a previously dried watch glasse, allowed to stand in a vacuum desicator under suction for one hour and finally placed in an oven at 100°C for 30 minutes. Yield 4.93 g. (85%).

It is of interest to note that in the above procedure neither alcohol nor ether was used for the washing of the precipitate and this is an advantage over the existing methods.

Π Ε Ρ Ι Λ Η Ψ Ι Σ

Παρασκευή χλωριούχου χαλκοῦ (I)

*Υπό Ε. Κ. ΣΤΑΘΗ

Προτείνεται νέα μέθοδος παρασκευῆς χλωριούχου χαλκοῦ (I) δι' ἀναγωγῆς ὑδατικού διαλύματος χλωριούχου χαλκοῦ (II) ὑπὸ ἀσκορβικού ὀξέος. Ἡ προτεινομένη μέθοδος εἶναι ταχεῖα καὶ πλεονεκτεῖ εἰς τὸ ὅτι δὲν χρησιμοποιοῦνται ἀλκοόλη ἢ αἰθέρ διὰ τὴν ἔκπλυσιν τῆς σχηματιζομένης ἐνώσεως.

BIBLIOGRAPHY

1. Stathis E. C.: *Anal. Chim. Acta*, **16**, 21 (1957).
2. Fernelius W. C.: *Inorganic Synthesis*, McGraw-Hill, p. 1 (1946).

(Εισήχθη τῇ 30ῇ Ἰουλίου 1958)

Étude systématique des mesures concernant les spectres d'absorption X et effectuées sur de courbes microphotométriques

Par PAUL SAKELLARIDIS

Dans cette étude sont données des remarques concernant les mesures précises effectuées sur les courbes microphotométriques des discontinuités d'absorption X. Ces remarques sont basées sur un grand nombre de résultats expérimentaux concernant les spectres d'absorption L de plusieurs éléments des terres rares pour lesquels les discontinuités L_{III} et L_{II} sont accompagnées de raies blanches vers les grandes fréquences, ce qui entraîne des difficultés supplémentaires sur la localisation exacte de la discontinuité d'absorption.

Introduction

Quand on utilise la méthode photographique à la spectroscopie X, les mesures concernant les longueurs d'onde des discontinuités d'absorption des raies blanches et des structures d'absorption peuvent être effectuées soit par pointage avec le comparateur sur les clichés originaux soit sur des courbes microphotométriques.

Le pointage avec le comparateur est très facile dans le cas des discontinuités très contrastées. Dans ce cas le pointage se fait sur la position apparente du changement de noircissement; ce qui correspond, peut-on dire au profil de la discontinuité. Ce pointage toutefois devient très difficile dans le cas des discontinuités moins contrastées comme par exemple L_I ; quelles que soient les précautions prises pour améliorer le contraste par des conditions expérimentales convenables comme le choix de l'épaisseur d'écran et de l'émulsion photographique, la nature du cristal, les temps d'exposition etc., la valeur des sauts d'absorption pour l'élément étudié et la valeur des coefficients d'absorption des autres éléments présents dans le produit utilisé, introduisent des difficultés insurmontables. On est donc obligé dans le cas des discontinuités non contrastées d'effectuer les mesures sur les courbes microphotométriques.

Pour les structures d'absorption on peut très bien pointer avec le comparateur les premiers maxima et minima très nets; mais pour les structures éloignées des discontinuités, ces pointages directs deviennent difficiles et peu précis; Ces mesures doivent donc être effectuées soit sur des courbes microphotométriques, soit sur des reproductions photographiques agrandies, soit à l'aide d'un appareil de projection.

Quant aux raies blanches, leur pointage avec le comparateur ne peut pas être précis à cause de la difficulté que l'on a à situer le maximum d'absorption. On pourrait pointer comme position de la raie blanche le milieu de la largeur

de celle-ci; mais l'étude des enregistrements microphotométriques montre que les raies blanches qui accompagnent les discontinuités d'absorption ne sont pas symétriques. Le minimum de la courbe microphotométrique correspondant au maximum de l'absorption n'est pas exactement localisé au milieu de la largeur de la raie blanche. La courbe est dissymétrique et montre un élargissement très net de la raie blanche vers les grandes fréquences. Donc pour donner comme longueur d'onde de la raie blanche la position du maximum d'absorption on doit effectuer ses mesures exclusivement sur les courbes microphotométriques.

Les mesures des discontinuités d'absorption sur les courbes microphotométriques posent plusieurs problèmes quant à la détermination précise de la longueur d'onde, surtout en ce qui concerne les discontinuités d'absorption accompagnées de raies blanches vers les grandes fréquences.

Dans cette étude on trouvera des remarques quant aux mesures précises effectuées sur les courbes microphotométriques. Ces remarques sont basées sur un grand nombre de résultats expérimentaux concernant les spectres d'absorption L de plusieurs éléments des terres rares.

Partie expérimentale et conclusions

Les spectres étudiés concernent les discontinuités d'absorption L_{III} , L_{II} et L_I des éléments suivants: Eu (63), Gd (64), Tb (65), Ho (67), Er (68), et Tm (69). Les produits utilisés étaient les trioxydes M_2O_3 . Pour l'obtention des spectres, je me suis servi d'un spectrographe à focalisation par transmission (1). Le cristal était une lame de mica courbée sous 40 cm de rayon. Dans les différents cas sont utilisées les réflexions 100, 201 et 402. Le choix des cristaux de mica dans ce travail ou je me suis surtout intéressé à mesurer avec une grande précision les discontinuités d'absorption, a été fait pour les raisons suivantes:

D'une part, les cristaux de mica qui sont des cristaux élastiques, par rapport aux cristaux plastiques comme les halogénures alcalins ou les monocristaux métalliques que je pouvais en principe utiliser, donnent des raies plus fines que ceux-ci. D'autre part, en comparaison avec d'autres cristaux élastiques comme le quartz, l'utilisation du mica présentait l'avantage, qu'un bon mica donne là aussi, par la même dispersion, des raies moins larges que celles données par le quartz. Les plans des faces naturelles du quartz donnent une luminosité plus grande, mais une dispersion plus petite que les plans utilisés du mica. Les plans (1340), utilisables par transmission dans les lames qui ont subi la taille de Curie, donnent une dispersion plus grande, mais des raies spectrales plus larges.

Les spectres ont été photographiés sur plaques spécialement préparées aux usines Kodak à Rochester (U. S. A); l'émulsion des films kodak dits «autoradiographic, no screen» a été coulée sur verre. Cette émulsion convient très bien pour le domaine spectral à analyser ici, comme l'a montré une étude comparative préliminaire de différents émulsions. Les grains n'en sont pas trop gros la sensibilité et le contraste sont bons.

J'ai effectué une étude microphotométrique de tous les clichés obtenus en utilisant le microphotomètre Chalonge. Cet appareil permet de faire des enregistrements à de forts agrandissements. Il serait illusoire d'augmenter le facteur d'agrandissement au delà d'une certaine limite; mais j'ai constaté qu'il y avait intérêt, vu la dispersion et la finesse des spectres originaux, à employer un grossissement de 50 au moins pour observer tous les détails compatibles avec le pouvoir de résolution du spectrographe. Ayant encadré la partie de la plaque à étudier par des raies de référence séparées de quelques dizaines d'unités X, il est possible de l'enregistrer avec un agrandissement de 50 ou 100; ce qui donne, pour les spectres pris en premier ordre respectivement une dispersion de 0,24 et 0,12 u.X./mm sur enregistrements. La plupart des mesures ont été faites sur de telles courbes microphotométriques. Mais les mesures sur ces courbes sont très délicates à faire et pour arriver à une grande précision, ce travail, dans plusieurs cas, s'est avéré très difficile.

Quand on étudie la variation du coefficient d'absorption μ en fonction de la longueur d'onde λ , la courbe présente une branche rapidement descendante au niveau de chaque discontinuité d'absorption de l'élément absorbant. La question est loin d'être résolue de savoir comment tirer parti d'une telle courbe pour en déduire le potentiel d'ionisation de la couche interne correspondante. La forme de la courbe $\mu=f(\lambda)$ et sa localisation dans l'échelle des fréquences dépendent de l'état physicochimique de l'élément. Selon les

représentations anciennes, l'absorption, dans le domaine des rayons X, se différencie de l'absorption optique des atomes par l'existence même des discontinuités d'absorption. Suivant les idées modernes, chaque discontinuité résulte de la composition des raies d'absorption correspondant chacune à une transition entre le niveau interne et un niveau d'excitation (Fig. 1). L'aspect du spectre d'absorption dépend de la distribution de ces niveaux d'excitation, ainsi que de leur largeur propre et des probabilités de transition. Dans un solide, on s'attend à une contribution au spectre de la distribution quasi-continue d'états inoccupés envisagés dans la théorie des bandes et de niveaux d'excitation relativement étroits liés aux atomes absorbants.

Le cas de l'absorption X correspondant à des raies d'absorption de «résonance» par transition vers des niveaux atomiques est celui que Parratt (2) a traité dans ses expériences sur l'argon. Le cas de l'absorption X correspondant à des transitions vers une distribution quasi-continue d'états inoccupés a été envisagé par Richtmyer, Barnes et Ramberg (3) et sert de base au dépouillement des spectres des métaux. L'étude faite par ces auteurs a partiellement justifié l'usage qui tendait à s'établir de pointer le point d'inflexion de la courbe $\mu=f(\nu)$ (ou le premier point d'inflexion vers les petites fréquences s'il y en a plusieurs) pour déterminer la fréquence d'absorption X. Richtmyer, Barnes et Ramberg ont montré que l'on a intérêt à ajuster une courbe en arc tangente à la courbe expérimentale en vue de situer les points d'inflexion. A ma connaissance, le cas de l'existence simultanée des distributions quasi-continues et d'états liés, qui devrait très probablement être envisagé pour les oxydes des terres rares, entre autres, n'a pas été étudié. En l'absence d'étude théorique a priori sur les états d'excitation en jeu dans les mécanismes d'absorption et sur la nature même de ces mécanismes, l'interprétation rationnelle des courbes $\mu=f(\nu)$ reste impossible; il faudrait, de plus, tenir compte des facteurs introduits par les conditions d'expérience pour comprendre clairement les courbes expérimentales (4). En outre, l'expérience ne donne pas directement la courbe $\mu=f(\nu)$, mais une courbe de variation soit de l'intensité transmise à travers un écran, soit plus souvent d'une grandeur fonction de cette intensité.

Le problème de la possibilité de mesurer directement la longueur d'onde d'une discontinuité d'absorption sur les courbes microphotométriques par l'abscisse du point d'inflexion de la courbe $\mu=f(\lambda)$, en prenant ce point comme correspondant à la position de la discontinuité, a été étudié par Melle Lemasson (5).

C'est de cette façon que, très souvent, on a mesuré les discontinuités d'absorption, en admettant, en général, que la longueur d'onde λ

qui correspond au point d'inflexion de la courbe $\mu=f(\lambda)$ est la même que la longueur d'onde λ' qui correspond au point d'inflexion de la courbe $R=f(\lambda)$ où R désigne la réponse donnée par le microphotomètre. D'après l'étude de Melle Lemasson, il semble qu'on puisse déterminer les longueurs d'onde des discontinuités d'absorption, ainsi définies, sur les courbes microphotométriques. Mais il faut prendre certaines précautions quant au noircissement de part et d'autre de la discontinuité. Si l'on se place sur la partie rectiligne de la caractéristique de la plaque (une étude photométrique de la plaque employée étant alors nécessaire) et si le microphotomètre utilisé donne directement les densités optiques, l'ab-

scisse du point d'inflexion de la courbe microphotométrique fournit directement la longueur d'onde de la discontinuité. Si le microphotomètre donne comme réponse i , l'intensité lumineuse traversant en un point donné la plaque impressionnée aux rayons X, il faut ajouter à la longueur λ obtenue la correction $\Delta\lambda$ calculable à partir de grandeurs mesurables sur la courbe microphotométrique. Dans le présent travail, on distingue deux cas: celui des discontinuités L_I qui ne présentent pas de raies blanches et celui des discontinuités L_{III} et L_{II} qui sont accompagnées de raies blanches.

Dans le cas des mesures pour L_I , on peut opérer sur le point d'inflexion. Le microphotomètre

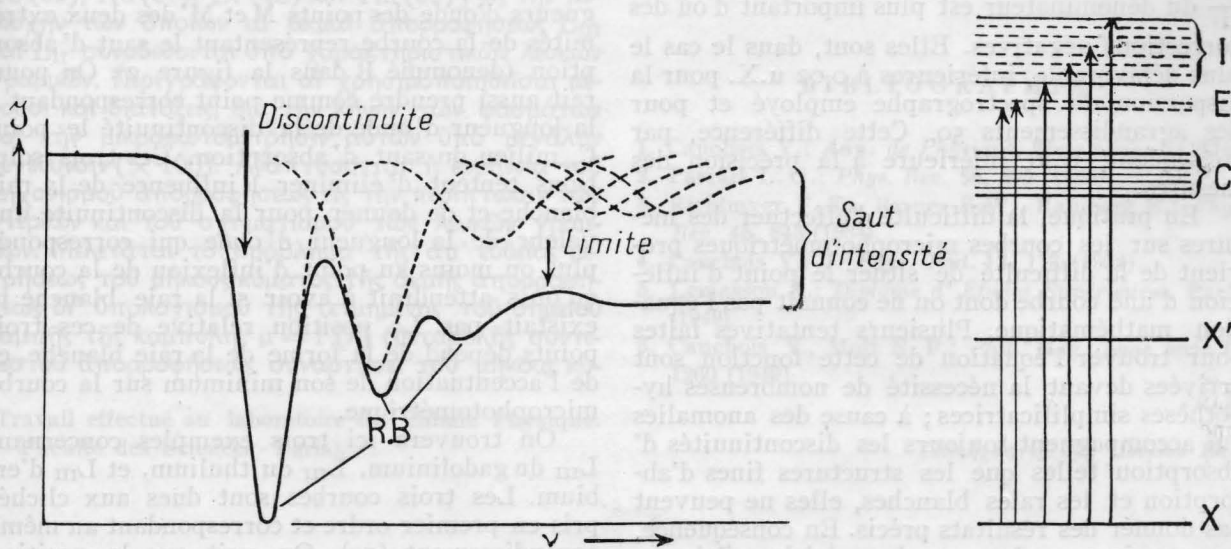


Fig. 1. Schéma du mécanisme d'absorption dans un solide. R.B.=raie blanche. I = bande inoccupée. E = niveaux d'excitation. C = bande de conductibilité. X, X' = niveaux X.

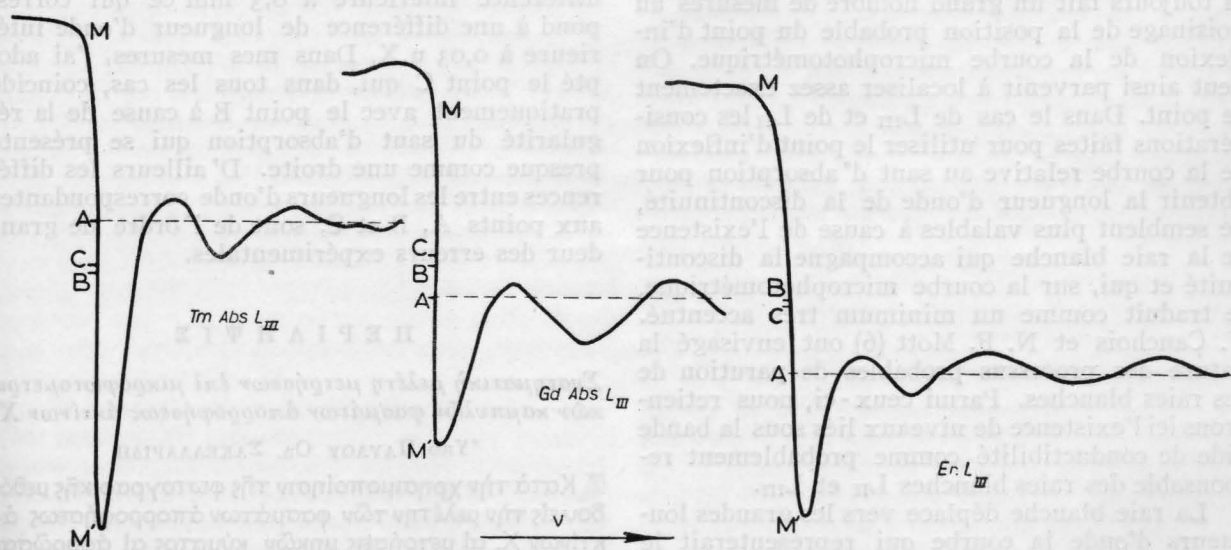


Fig. 2. Courbes microphotométriques: Gd L_{III} , Tm L_{III} et Er L_{III} .

Chalange donne comme réponse une déviation proportionnelle au noircissement de la plaque c'est-à-dire i . Il est donc nécessaire d'envisager des corrections. Les dérivées de i par rapport à λ étant i' , $i''=0$ et i''' , la valeur de $\Delta\lambda$ est donnée par la formule :

$$\Delta\lambda = \frac{\frac{i'}{i}}{\frac{2i'}{i} + \frac{i'''}{i}}$$

La courbe figurant le saut d'absorption présente une pente d'autant plus faible que l'agrandissement de l'enregistrement microphotométrique est plus fort. Dès lors le terme négatif $\frac{i'''}{i}$ du dénominateur est plus important d'où des corrections négatives. Elles sont, dans le cas le plus défavorable, inférieures à 0,02 u.X. pour la dispersion du spectrographe employé et pour des agrandissements 50. Cette différence, par conséquent, reste inférieure à la précision des mesures.

En pratique, la difficulté d'effectuer des mesures sur les courbes microphotométriques provient de la difficulté de situer le point d'inflexion d'une courbe dont on ne connaît pas l'équation mathématique. Plusieurs tentatives faites pour trouver l'équation de cette fonction sont arrivées devant la nécessité de nombreuses hypothèses simplificatrices ; à cause des anomalies qui accompagnent toujours les discontinuités d'absorption telles que les structures fines d'absorption et les raies blanches, elles ne peuvent pas donner des résultats précis. En conséquence, pour avoir une plus grande précision, j'ai toujours effectué mes mesures sur enregistrements pris sous des agrandissements 50 et, de plus j'ai toujours fait un grand nombre de mesures au voisinage de la position probable du point d'inflexion de la courbe microphotométrique. On peut ainsi parvenir à localiser assez exactement ce point. Dans le cas de L_{III} et de L_{II} les considérations faites pour utiliser le point d'inflexion de la courbe relative au saut d'absorption pour obtenir la longueur d'onde de la discontinuité, ne semblent plus valables à cause de l'existence de la raie blanche qui accompagne la discontinuité et qui, sur la courbe microphotométrique, se traduit comme un minimum très accentué. Y. Cauchois et N. F. Mott (6) ont envisagé la nature des processus probables de parution de ces raies blanches. Parmi ceux-ci, nous retiendrons ici l'existence de niveaux liés sous la bande vide de conductibilité comme probablement responsable des raies blanches L_{II} et L_{III} .

La raie blanche déplace vers les grandes longueurs d'onde la courbe qui représenterait le saut d'absorption pour le fond de la bande de conductibilité. Par conséquent, le point d'inflexion

correspond à une longueur d'onde plus grande que celle qu'il devrait avoir si la raie blanche n'existait pas. On voit donc que, pour mesurer les discontinuités d'absorption dans le cas de L_{III} et L_{II} sur les courbes microphotométriques, on ne peut pas opérer avec le point d'inflexion.

Pour arriver dans ce cas à des résultats systématiques les spécialistes ont adopté différentes solutions. Ainsi on a très souvent admis comme point correspondant à la longueur d'onde de la discontinuité le point A de la courbe situé au même niveau que le fond continu moyen du côté des grandes fréquences (fig. 2). Dans d'autres cas, on a aussi pris comme longueur d'onde de la discontinuité la valeur moyenne des longueurs d'onde des points M et M' des deux extrémités de la courbe représentant le saut d'absorption (dennommé B dans la figure 2). On pourrait aussi prendre comme point correspondant à la longueur d'onde de la discontinuité le point C, milieu du saut d'absorption. Ces trois solutions tentent d'éliminer l'influence de la raie blanche et de donner pour la discontinuité une valeur de la longueur d'onde qui corresponde plus ou moins au point d'inflexion de la courbe qu'on s'attendrait à avoir si la raie blanche n'existait pas. La position relative de ces trois points dépend de la forme de la raie blanche et de l'accentuation de son minimum sur la courbe microphotométrique.

On trouvera ici trois exemples concernant L_{III} du gadolinium, L_{III} du thulium, et L_{III} d'erbium. Les trois courbes sont dues aux clichés pris en premier ordre et correspondant au même agrandissement (50). On voit que la position des points A, B, C est différente sur les trois courbes, mais leurs abscisses présentent une différence inférieure à 0,3 mm ce qui correspond à une différence de longueur d'onde inférieure à 0,03 u.X. Dans mes mesures, j'ai adopté le point C qui, dans tous les cas, coïncide pratiquement avec le point B à cause de la régularité du saut d'absorption qui se présente presque comme une droite. D'ailleurs les différences entre les longueurs d'onde correspondantes aux points A, B et C, sont de 1^{er} ordre de grandeur des erreurs expérimentales.

Π Ε Ρ Ι Λ Η Ψ Ι Σ

Συστηματική μελέτη μετρήσεων επί μικροφωτομετρικών καμπυλών φασμάτων απορρόφησης ακτίνων X.

Υπό ΠΑΥΛΟΥ ΟΔ. ΣΑΚΕΛΛΑΡΙΔΗ

Κατά την χρησιμοποίησιν τῆς φωτογραφικῆς μεθόδου εἰς τὴν μελέτην τῶν φασμάτων ἀπορρόφησης ἀκτίνων X, αἱ μετρήσεις μηκῶν κύματος αἱ ἀφορῶσαι τὰς ἀκμὰς ἀπορρόφησης, τὰς λευκὰς γραμμὰς (raies blanches) καὶ τὴν λεπτὴν ὑφὴν τοῦ φάσματος, διὰ

νά είναι άκριβείς πρέπει εις τας περισσοτέρας τών περιπτώσεων νά πραγματοποιούνται επί μικροφωτομετρικών καμπυλών. Τò πρόβλημα τών μετρήσεων επί τοιούτων καμπυλών παρουσιάζει σημαντικές δυσχερείας ιδίως εις τόν καθορισμόν του σημείου τής μικροφωτομετρικής καμπύλης εις τò όποιον άντιστοιχεί τò άκριβές μήκος κύματος τής άκμής άπορροφήσεως· αι δυσχερείαι δέ αύται καθίστανται μεγαλύτεραι εις τας περιπτώσεις κατά τας όποιας ή άκμή άπορροφήσεως συνοδεύεται υπό λευκής γραμμής.

Εις τήν παρούσαν εργασία γίνεται συστηματική μελέτη μετρήσεων επί μικροφωτομετρικών καμπυλών φασμάτων άπορροφήσεως L πλείστων στοιχείων εκ τών σπανίων γαιών [Eu (63), Gd (64), Tb (65), Ho (67), Er (68) και Tm (69)] εις τήν περιοχήν τών όποιων αι άκμαι άπορροφήσεως L_{III} και L_{II} συνοδεύονται υπό χαρακτηριστικών λευκών γραμμών. Περιγράφονται αι χρησιμοποιηθείσαι μέθοδοι και διατάξεις, διὰ τήν λήψιν τών φασμάτων και τήν μικροφωτομέτρησιν αυτών υπό μεγάλην μεγέθυνσιν ($\times 100$). Αναπτύσσεται ή έρμηνεία του μηχανισμού άπορροφήσεως εις τήν περίπτωσιν τών στερεών και του σχηματισμού τών λευκών γραμμών. Μελετάται τò πρόβλημα τής απ' ευθείας μετρήσεως του μήκους κύματος τής άκμής άπορροφήσεως δι' ύπολογισμού τής τετμημένης του σημείου καμπής τής καμπύλης $m = f(\lambda)$ (μεταβολής συντελεστού άπορροφήσεως συναρτήσει του μήκους κύ-

ματος) χρησιμοποιουμένων τών καμπυλών $R = f(\lambda)$ (ένδειξις μικροφωτομέτρου συναρτήσει του μήκους κύματος) τών παρεχομένων υπό του μικροφωτομέτρου. Αναπτύσσεται τò πρόβλημα τών μετρήσεων τών άφωρων τήν άκμήν άπορροφήσεως εις τας περιπτώσεις κατά τας όποιας αύτη συνοδεύεται υπό λευκής γραμμής, γεγονός τò όποιον έχει ως άποτέλεσμα τήν μετατόπισιν προς μεγαλύτερα μήκη κύματος τής καμπύλης, ή όποια παριστᾶ τήν άκμήν άπορροφήσεως.

Η συστηματική αύτη μελέτη ώδήγησεν εις συμπεράσματα επί τών άπαραιτήτων προϋποθέσεων και του τρόπου διενεργείας τών μετρήσεων προς αύξησιν τής άκριβείας τών λαμβανομένων άποτελεσμάτων.

BIBLIOGRAPHIE

1. Cauchois Y.: *Ann. de Physique, 2ème serie*, I (1934).
2. Parratt L. G.: *Phys. Rev.* **56**, 295 (1939).
3. Richtmyer F. K., Barnes S.W., Ramberg E.: *Phys. Rev.* **46**, 843 (1934).
4. Cauchois Y.: *J. Phys. Pad.* **13**, 113 (1952).
5. Lemasson A.: *Diplôme d' Études Supérieures*, Paris, (1949).
6. Cauchois Y., Mott N. F.: *Phil. Mag. 7ème serie* **11**, 1260 (1949).

(Travail effectué au laboratoire de Chimie Physique. Faculté des Sciences - Paris).

(Εισήχθη τῆ 30ῆ Ἰουλίου 1958)

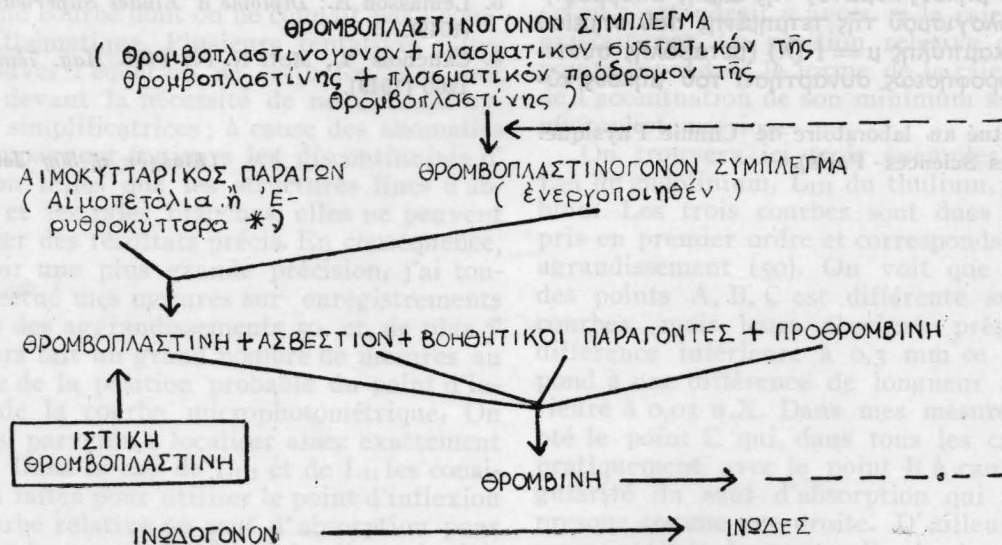
Τὸ φαινόμενον τῆς δυναμικῆς συνεργείας μεταξύ θρομβοπλαστινῶν διαφόρου προελεύσεως

ὑπὸ ἸΩΑΝΝΟΥ Γ. ΓΕΩΡΓΑΤΣΟΥ

Μία νέα ιδιότης τῶν θρομβοπλαστινῶν παρατηρήθη κατὰ τὴν διάρκειαν ἐρεύνης πρὸς μελέτην τοῦ θρομβοπλαστικοῦ δυναμικοῦ ἰστῶν διαφόρου προελεύσεως. Ἡ ιδιότης αὕτη εἶναι ἡ τῆς δυναμικῆς συνεργείας, ἔχουσα, κατὰ τὴν γνώμην μας, ὡς ἀποτέλεσμα τὴν δημιουργίαν μιᾶς νέας «πλήρους θρομβοπλαστίνης», ἥτις εἶναι καὶ ἰσχυροτέρα ἐξ ὧν ἔχουν μέχρι σήμερον ἀνακοινωθῆ εἰς τὴν βιβλιογραφίαν. Προτείνεται πιθανὸς μηχανισμὸς τῆς δημιουργίας τῆς νέας αὐτῆς θρομβοπλαστίνης.

Εἰς προγενέστερόν μου ἄρθρον ἀναφορικῶς μετὰ τὴν πήξιν τοῦ αἵματος (4) ὑπεγράμμισα ὅτι ὁ πλέον αἰνιγματικὸς παράγων τοῦ αἰμοστατικοῦ μηχανισμοῦ εἶναι ἡ θρομβοπλαστίνη. Ἡ δραματικὴ ἐπίδρασις τοῦ παράγοντος τούτου εἰς τὸν χρόνον

στίνης μετὰ ἀποτέλεσμα νὰ καθίσταται ἀδύνατος ἡ φυσιολογικὴ πήξις τοῦ αἰμοφιλικοῦ αἵματος (7). Τὸ ἀποτέλεσμα τῆς ἀνακαλύψεως αὐτῆς ἦτο νέα ἐπίτασις τῶν προσπαθειῶν διὰ τὴν ἐπίλυσιν τοῦ αἰνιγματος τῆς θρομβοπλαστίνης, συνεπιεία τῶν ὁποίων



* Εἰς τὴν περίπτωσιν καθ' ἣν εἰς τὴν ἀντίδρασιν λαμβάνει μέρος ἡ ἐρυθροκυττάρη τῶν ἐρυθρῶν αἰμοσφαιρίων καὶ οὐχὶ ὁ αἰμοπεταλικὸς παράγων δὲν εἶναι ἀναγκαῖα ἡ προγενεστέρα ἐνεργοποίησις τοῦ θρομβοπλαστινογόνου (6, 10).

Σχ. 1. Ὁ μηχανισμὸς τῆς πήξεως τοῦ αἵματος εἰς τὸν ἄνθρωπον

τῆς πήξεως τοῦ αἵματος, φυσικὸν ἦτο νὰ κινήσῃ τὴν περιέργειαν τῶν ἐπιστημόνων περὶ τῆς φύσεως αὐτοῦ καὶ οὕτω μελετᾶται ἐπὶ δεκαετηρίδας τώρα με ἔντασιν καὶ ὑπομονὴν ἀπὸ ἓνα μεγάλον ἀριθμὸν ἐρευνητῶν. Τὸ ἐνδιαφέρον ὄλων ἐκορυφώθη ὅταν τὸ 1947 ὁ Quick ἀνεκοίνωσεν ὅτι τὸ γενεσιουργὸν αἷτιον τῆς νόσου αἰμοφιλίας ἦτο μία βλάβη εἰς τὸν μηχανισμὸν παραγωγῆς πλασματικῆς θρομβοπλα-

στίνης μετὰ δεκαετίαν μεγαλυτέρα σύγχυσις εἰς τὰς γνώσεις μας διὰ τὴν προέλευσιν τῆς πλασματικῆς θρομβοπλαστίνης μετὰ τὴν ἀνακάλυψιν νέων παραγόντων τοῦ θρομβοπλαστινογόνου συμπλέγματος, καὶ οὐδεμία σχεδὸν πρόοδος εἰς τὸ ἐρώτημα τῆς φύσεως τῆς ἰστικῆς θρομβοπλαστίνης (σχ. 1).

Τοῦτο κατ' ἀρχὴν φαίνεται παράδοξον καὶ δημιουργεῖται ἡ εὐλογος ἀπορία πῶς κατώρθωσε ἡ

έπιστήμη να έπιλύση προβλήματα σοβαρώτερα του υπό συζήτηση, και να προσδιορίση την φύσιν ούσιων πλέον άφανών ή ή θρομβοπλαστική. "Άλλοι άποδίδουν τουτο εις το πολύπλοκον τής δομής του θρομβοπλαστικού μορίου. "Άλλοι εις την έλλειψιν καταλλήλου μεθόδου μελέτης τής δράσεως τής θρομβοπλαστικής, και άλλοι εις την άγνοίαν μας περι του πραγματικού φυσιολογικού ρόλου τής ούσιας αυτής.

Η γνώμη μου είναι ότι τόσο η δυσκολία όσον και η σύγχυσις όφείλονται εις το γεγονός ότι οι πλείστοι των έρευνητών δεν έχουν άντιληφθή ότι όταν όμιλούμεν περι θρομβοπλαστινών δεν πρέπει να άναφερώμεθα εις σώματα με όμοια δομικά χαρακτηριστικά, αλλά εις διαφόρους ούσιας με κοινή λειτουργική άποστολήν άνεξαρτήτως προελεύσεως, ιστογενέσεως ή χημικής δομής. Ούτως ή λέξις θρομβοπλαστική πρέπει να όρισθί ως μία οίαδήποτε έξωπλασματική ούσία, άσχετως προελεύσεως, δυναμένη τή συνεργασία ώρισμένων πλασματικών παραγόντων να έπιταχύνη ή να έπιφέρη την μετατροπήν τής προθρομβίνης εις θρομβίνην εν τώ φυσιολογικώ αυτής περιβάλλοντι, δηλαδή, το αίμα. Πολύ όρθώς δέ, ή εν τώ πλάσματι παραγομένη θρομβοπλαστική ούσία κατά την φυσιολογικήν πήξιν του αίματος καλείται από μέγα μέρος έρευνητών «πλασματική θρομβοπλαστική», δια να άντιδιασταλή από τας άνωτέρω όρισθείσας ούσιας. Και έδώ όμως πρέπει να τονισθί ότι ή κοινή όνομασία ύποδηλοϊ λειτουργική συγγένειαν και ούχι δομικήν τοιαύτην, χωρίς να θέλωμεν να άποκλείσωμεν την πιθανότητα ότι είναι δυνατόν να έχουν και παρεμφερή δομικά στοιχεία εις το μόριόν των. Ένα άλλο στοιχείον το όποιον πρέπει να έχωμεν πρό όφθαλμών όταν λήγη ή πειραματική έργασία και έρχεται ή έξαγωγή των συμπερασμάτων, είναι το γεγονός ότι δεν είμεθα βέβαιοι άκόμη δια τον τρόπον κατά τον όποιον μία θρομβοπλαστική ούσία μετατρέπει την προθρομβίνην εις θρομβίνην. Δεν γνωρίζομεν, δηλαδή το - modus operandi - των ούσιων αυτών τόσο - in vitro - πολύ όλιγώτερον δέ - in vivo -. Ο Chargaff και οι συνεργάται του επί παραδείγματι, οι όποιοι άπεμόνωσαν καθαράν θρομβοπλαστικήν εκ του πνεύμονος βοός (1), άνακοινούν, με άδιάσειστα πειραματικά δεδομένα, ότι ή δράσις τής θρομβοπλαστικής αυτής είναι ένζυματική, λαμβανομένου ύπ' όψιν ότι, άφοϋ έπέτρεψαν προθρομβίνην να μετατραπή εις θρομβίνην παρουσία τής πνευμονικής αυτής θρομβοπλαστικής, κατώρθωσαν να επανακτήσουν την τελευταίαν αυτήν ούσίαν μετά το πέρας τής άντιδράσεως άκραίαν τόσο ποιοτικώς όσον και ποσοτικώς (2).

Ο Seegers και ή Σχολή του, έξορμώμενοι εκ του γεγονότος ότι ή μετατροπή τής προθρομβίνης εις θρομβίνην, δύναται να λάβη χώραν βραδέως και άνευ τής παρουσίας θρομβοπλαστικής ή οϊουδήποτε άλλου πλασματικού παράγοντος, άρκει να θέσωμεν την προθρομβίνην εις διάλυμα 25 % κιτρικού νατρίου (14), πιστεύουν ότι τόσο η θρομβοπλαστική όσον και οι λοιποί αίμογενείς πηκτικοί πα-

ράγοντες παίζουν άπλώς τον ρόλον των έπιταχυντών (accelerators). Ο Quick άντιθέτως πειραματιζόμενος με έγκεφαλικήν θρομβοπλαστικήν κονίκλου έπέισθη ότι ή άντιδρασις μεταξύ προθρομβίνης και θρομβοπλαστικής είναι στοιχειομετρική κατά τον αυτόν τρόπον ως και ή μεταξύ άσβεστίου και προθρομβίνης (8). Μοϋ είναι πλέον δυνατόν να πιστέψω ότι και οι τρεις άνωτέρω δεδοκιμασμένοι έρευνηται έχουν δίκαιον παρά να παραδεχθώ ότι εις ή δύο εξ αυτών σφάλλουν. Δηλαδή είναι πολύ δυνατόν ότι ή πνευμονική θρομβοπλαστική του Chargaff εις το σύστημα όπου αυτή έδοκιμάσθη έδρασεν ένζυματικώς, ή έγκεφαλική θρομβοπλαστική του Quick εις το ιδικόν της σύστημα, διάφορον του προηγουμένου, έδρασεν στοιχειομετρικώς και ότι υπό τας συνθήκας υπό τας όποιάς ο Seegers μελετᾶ το ιδικόν του θρομβοπλαστικόν παρασκεύασμα, δρᾶ έπιταχυντικώς. Ός εκ τούτου βλέπομεν ότι πρέπει να παραδεχθώμεν όχι μόνον διάφορον χημικήν δομήν των διαφόρων θρομβοπλαστινών αλλά και διάφορον τρόπον χημικής ένεργείας, αναλόγως προελεύσεως κατεργασίας και περιβάλλοντος εις ο αυτάι έλέγχονται. Κατωτέρω παραθέτομεν πειραματικά δεδομένα έμφανίζοντα μίαν νέαν ιδιότητα των διαφόρων θρομβοπλαστικών ούσιων, την ιδιότητα τής δυναμικής συνεργείας. Εις το παρόν μου άρθρον μελετάται ή θεωρητική σημασία τής συνεργείας αυτής, εις μελλοντικόν δέ άρθρον θα μελετηθί ή πρακτική τοιαύτη, και δη ή επί παθολογικών πλασμάτων.

Υλικά και μέθοδοι

1. Όλοι οι κατωτέρω άναγραφόμενοι ιστοί των όποιων ήλέγχθη ή θρομβοπλαστική δράσις, έλήφθησαν άμέσως μετά τον θάνατον υγιών ζώων, εις δέ την περίπτωση του πλακούντος, άμέσως μετά τον τοκετόν. Άπαντα τα όργανα έξεπλήθησαν προσεκτικώς δια ρέοντος ύδατος. Οι έγκέφαλοι άφοϋ άπηλλάγησαν των μηνίγγων μετά των έπ' αυτών άγγείων κατετεμαχίσθησαν και έτέθησαν έντός όμοιοποιητού (homogenizer) ένθα όμοιοποιήθησαν επί 3 λεπτά τής ώρας μετά του τριπλασίου ποσοϋ φυσιολογικού όρου (βάρος / όγκον). Τα ούτα δημιουργηθέντα ιστικά εκχυλίσματα παρέμειναν έντός ψυγείου 4° C επί 24 ώρας τουλάχιστον πριν να έλεγχθούν. Εις ώρισμένας περιπτώσεις οι ιστοί άφυδατώθησαν δι' άκετόνης δια τής γνωστής πλέον μεθόδου του Quick (9).

2. Ο χρησιμοποιηθείς ισός φέρεται εις το εμπόριον υπό την όνομασίαν Styrven, προέρχεται δέ εκ του όφως Viperia Russelli. Έκ τούτου παρεσκευάσθη διάλυμα περιέχον έν μέρος κρυσταλλικού ισού προς 10 000 μέρος φυσιολογικού όρου.

3. Το εκχύλισμα των αίμοπεταλίων έγένετο κατά μίαν ήμετέραν μέθοδον ως άλλαχού έχει περιγραφεί (5), το δέ θρομβοπλαστινογόνον παρεσκευάσθη κατά την μέθοδον Quick, Daniels και Hussey (11).

4. Η θρομβοπλαστική ιδιότης άπασών των ως άνω ούσιων ήλέγχθη επί φυσιολογικού ανθρώπινου πλάσματος. Η αίμοληψία έγένετο δια βελόνης και σύριγγος, άμφο-

τέρων επηλειμμένων δια Σιλικόνης*. Το αίμα ετοποθετείτο πάραυτα εντός δοκιμαστικών σωλήνων, ομοίως επαλειφθέντων δια Σιλικόνης και εφυγοκεντρείτο εν ψυχρῷ (4°C) επί 5 λεπτά τῆς ὥρας και με ταχύτητα 3 000 στροφῶν. Ὑπ' αὐτὰς τὰς συνθήκας τὸ διαχωριζόμενον πλάσμα δύναται νὰ παραμείνη ρευστὸν ἄνω τῶν 24 ὥρῶν. Ἐν τούτοις ὁμοίως εἰς τὰ παρόντα πειράματα οὐδέποτε ἐχρησιμοποιήθη πλάσμα παλαιότερον τῶν 2 ὥρῶν ἀπὸ τῆς λήψεως. Ὁ ἔλεγχος τῆς θρομβοπλαστικῆς δυναμικότητος τῶν διαφόρων οὐσιῶν ἐγένετο δια προσθήκης 0,1 cc τῆς ὑπὸ ἔλεγχον θρομβοπλαστικῆς οὐσίας ἢ μίγματος οὐσιῶν εἰς 0,1 cc πλάσματος ἀναμειγμένου μετὰ 0,1 cc φυσιολογικοῦ ὁροῦ. Ὡς ἀρχὴ τῆς ἀντιδράσεως ἐλαμβάνετο ἡ στιγμή τῆς προσθήκης τῆς θρομβοπλαστικῆς οὐσίας εἰς τὸ πλάσμα, ὡς τέλος δὲ αὐτῆς ἡ ἐμφάνισις τῶν πρώτων ἰνῶν τοῦ θρόμβου. Ὁ χρόνος ἐπροσδιορίζετο δια χρονομέτρου ἀκριβείας 0,2 τοῦ δευτερολέπτου. Τὴν δοκιμασίαν αὐτὴν τὴν ὀνομάζομεν χρόνον θρομβοπλαστίνης.

Ἀποτελέσματα

Εἰς τὸν πίνακα I παραθέτομεν ἀποτελέσματα πειραμάτων ὅπου ἐλέγχομεν τὴν θρομβοπλαστικὴν

ΠΙΝΑΞ I. Τὸ θρομβοπλαστικὸν δυναμικὸν διαφόρων ἰσθῶν ὡς καὶ μιγμάτων ἰσθῶν ἐκχυλισθέντων δια φυσιολογικοῦ ὁροῦ ἐπὶ φυσιολογικοῦ ἀνθρώπινου πλάσματος

α/ἀ	Εἶδος ἰσθοῦ	Χρόνος θρομβοπλαστίνης εἰς δευτερόλεπτα
1	Ἡπαρ κοινίλου Φυσιολογικὸς ὁρὸς	46
2	Πλακοῦς γυναικὸς Φυσιολογικὸς ὁρὸς	11,5
3	Ἐγκεφάλος κοινίλου Φυσιολογικὸς ὁρὸς	18
4	Πνεύμων κοινίλου Φυσιολογικὸς ὁρὸς	11,5
5	Ἡπαρ κοινίλου Πλακοῦς γυναικὸς	15
6	Ἡπαρ κοινίλου Ἐγκεφάλος κοινίλου	24
7	Πλακοῦς γυναικὸς Ἐγκεφάλος κοινίλου	14
8	Πνεύμων κοινίλου Πλακοῦς γυναικὸς	10
9	Πνεύμων κοινίλου Ἡπαρ κοινίλου	15
10	Πνεύμων κοινίλου Ἐγκεφάλος κοινίλου	12,5

* Σιλικόναι (Silicone) εἶναι ὄργανικαὶ ὑψιμοριακαὶ ἐνώσεις, αἱ ὁποῖαι διὰν ἐπαλειφθοῦν ἐπὶ τῶν τοιχωμάτων ὑαλίνων δοχείων καθιστοῦν ταῦτα μὴ διαβροχόμενα ὑπὸ ὕδατος. Εἰς τὴν πῆξιν τοῦ αἵματος δροῦν ὡς ἑξῆς :

Ἡ θρομβίνη παρουσιάζει μίαν ἰσχυρὰν ἀγχοστειαν πρὸς διαβροχόμενην ἐπιφάνειαν καὶ δὴ ὑαλίνην καὶ οὕτω δύναται νὰ προσροφηθῇ ἐπὶ τιαυτῆς ἐπιφανείας δημιουργοῦσα μονομοριακὴν σιβάδα. Ὅταν ὅμως ἡ ἰδία ἐπιφάνεια ἐπαλειφθῇ μετὰ σιλικόνης ἢ θρομβίνης δὲν προσροφᾶται ἐπὶ τῶν τοιχωμάτων τῆς ὑάλου καὶ οὕτω ἡ πῆξις ἐπέρχεται πολὺ βραδύτερον.

δυναμικότητα μιγμάτων διαφόρων ἰσθῶν ποικίλης προελεύσεως. Εἰς τὰς περιπτώσεις ἐκείνας ὅπου ἐπιθυμοῦσαμεν νὰ ἐλέγξωμεν ἓνα μόνον ἰσθὸν προσεθέταμεν ἴσην ποσότητα φυσιολογικοῦ ὁροῦ (0,85% διάλυμα χλωριούχου νατρίου). Ὁ πίναξ I μᾶς δεικνύει ὅτι οἱ ἰσχυρότεροι θρομβοπλαστικοὶ ἰστοί, εἶναι ὁ πλακοῦς γυναικὸς καὶ ὁ πνεύμων κοινίλου. Ἀντιθέτως τὸ ἥπαρ κοινίλου παρουσιάζει παρατεταμένον χρόνον θρομβοπλαστίνης. Θὰ ἠδύνατο δὲ νὰ συμπεράνη τις ὅτι ὁ ἰσθὸς αὐτὸς ἦτο πτωχὸς εἰς θρομβοπλαστικὰς οὐσίας. Ἐν τούτοις ὁμοίως ὑπάρχουν καὶ ἄλλαι δύο πιθαναὶ ἐκδοχαὶ τοῦ φαινομένου τούτου. Ἡ πρώτη εἶναι ὅτι ἡ ἥπαρ, ἢ ὁποῖα ὑπάρχει ἄφθονος εἰς τὸ ἥπαρ, ἀναστέλλει τὴν ἐμφάνισιν τοῦ θρόμβου λόγω τῆς ἰσχυρᾶς τῆς ἀντιθρομβινικῆς δράσεως, καὶ ἡ δεύτερα ὅτι ὑπάρχει εἰς τὸ ἥπαρ εἰδικὸς ἀναστολεὺς (inhibitor), ὁ ὁποῖος δεσμεύει τὴν θρομβοπλαστίνην καὶ ἔτσι ἐπιβραδύνεται ἢ μετατροπῆ τῆς προθρομβίνης εἰς θρομβίνην. Εἶναι προφανὲς ἀπὸ τοὺς χρόνους ποὺ μᾶς δίδουν τὰ μίγματα ἥπατος-πλακοῦντος, ἥπατος-πνεύμονος καὶ ἥπατος-ἐγκεφάλου ὅτι ἐντὸς τοῦ ἥπατικοῦ ἰστοῦ ὑπάρχει μία οὐσία, εἴτε ἀντιθρομβίνη εἶναι αὐτὴ εἴτε ἀντιθρομβοπλαστίνη, ἢ ὁποῖα ἐπιβραδύνει ὄχι μόνον τὸν χρόνον θρομβοπλαστίνης αὐτοῦ τούτου τοῦ ἥπατος ἀλλὰ καὶ τὸν χρόνον ποὺ δίδουν οἱ ὑπόλοιποι ἰστοί. Διότι ἐὰν ἐπρόκειτο ἀπλῶς περὶ μειωμένης ποσότητος θρομβοπλαστικῆς οὐσίας εἰς τὸ ἥπαρ τὸ μίγμα ἥπατος-πλακοῦντος ἐπὶ παραδείγματι, δὲν θὰ ἔδιδε χρόνον 15 δευτερολέπτων ἀλλὰ τοῦλάχιστον 11,5 δευτερολέπτων, ὅσον δηλαδὴ καὶ τὸ μίγμα πλακοῦντος-φυσιολογικοῦ ὁροῦ. Ὁ ἠῦξημένος τοῦτος χρόνος, ἄρα, τεκμαίρει τὴν ὑπαρξιν ἐνὸς ἢ ἀμφοτέρων τῶν προαναφερθέντων ἀντιπηκτικῶν οὐσιῶν. Παρομοίαν ἀνασταλτικὴν ἐνέργειαν ἐπιδεικνύει καὶ ὁ ἐγκεφαλικὸς ἰσθὸς, μολονότι ὡς θὰ εἴδωμεν περαιτέρω ὅταν οὗτος ἐκχυλισθῇ δι' ἀκετόνης καὶ οὐχὶ δια φυσιολογικοῦ ὁροῦ, ὡς εἰς τὴν προκειμένην περίπτωσιν, ἀπόλλυται τῆς ιδιότητός του ταύτης. Πράγματι ὠρισμένοι ἐρευνηταὶ κατῶρθωσαν νὰ ἀπομονώσουν τοιαύτας ἀντιθρομβοπλαστικὰς οὐσίας, κυρίως λιποειδοῦς φύσεως, ἀπὸ διαφόρους ἰσθούς χωρὶς ὁμοίως νὰ δυνηθοῦν νὰ ἐξιχνιάσουν τὸν ἀκριβῆ τρόπον ἐνεργείας τῶν σωμάτων αὐτῶν (15). Τὸ σημαντικώτερον ὁμοίως σημεῖον τοῦ πίνακος I εἶναι ὅτι τὸ μίγμα πνεύμονος-πλακοῦντος δίδει χρόνον θρομβοπλαστίνης ὄχι 11,5 δευτερόλεπτα, ὡς θὰ ἀνέμενε κανεὶς, ἀλλὰ 10 δευτερόλεπτα. Δηλαδὴ τὸ μίγμα τῶν δύο τούτων ἰσθῶν παρουσιάζει ἰσχυροτέραν θρομβοπλαστικὴν δράσιν ἢ ἕκαστον τῶν συστατικῶν κεχωρισμένως. Ἐχομεν ὅθεν ἀνα χεῖρας μίαν περίπτωση συνεργείας καὶ δὴ δυναμικῆς δύο οὐσιῶν πρὸς ἐπιτέλεσιν τοῦ αὐτοῦ ἀποτελέσματος.

Χαρακτηριστικώτερα εἶναι ἡ ἐπιδεικνυομένη συνεργεία τῶν ἰσθῶν εἰς τὸν πίνακα II καὶ δὴ μετὰ τοῦ πλακοῦντος καὶ τοῦ ἐγκεφάλου. Εἰς τὴν περίπτωσιν ὁμοίως αὐτὴν ἡ ἐκχύλις ἀπάντων τῶν ἐγκεφαλικῶν ἰσθῶν ἐγένετο δι' ἀκετόνης, δι' ἧς προφανῶς κατεστρέψαμεν ἢ ἀπεμακρύνσαμεν τυχόν ἀν-

ΠΙΝΑΞ II. Τò θρομβοπλαστικόν δυναμικόν διαφόρων ιστών ως και μιγμάτων ιστών, τών έγκεφάλων εκχυλισθέντων δι' άκετόνης τών δέ υπολοίπων διά φυσιολογικού όρου.

α/ά	Είδος ιστού	Χρόνος θρομβοπλαστίνης εις δευτερόλεπτα
1	Ήπαρ κονίκλου	
2	Ήγκεφαλος κονίκλου	16,5
3	Πλακοϋς γυναικός	
4	Ήγκεφαλος κονίκλου	8,5
5	Ήγκεφαλος κονίκλου	
6	Φυσιολογικός όρος	11
7	Πλακοϋς γυναικός	
8	Φυσιολογικός όρος	11,5
9	Ήγκεφαλος άνθρώπου	
10	Φυσιολογικός όρος	15,5
11	Ήγκεφαλος άνθρώπου	
12	Πλακοϋς γυναικός	10,5
	Ήγκεφαλος ινδοχοίρου	
	Φυσιολογικός όρος	68
	Ήγκεφαλος ινδοχοίρου	
	Πλακοϋς γυναικός	11,5
	Ήγκεφαλος ικτίδος	
	Φυσιολογικός όρος	32
	Ήγκεφαλος ικτίδος	
	Πλακοϋς γυναικός	11
	Ήγκεφαλος μυός	
	Φυσιολογικός όρος	41
	Ήγκεφαλος μυός	
	Πλακοϋς γυναικός	10

τιθρομβοπλαστικα σώματα. Ή πλέον χαρακτηριστική περίπτωσης συνεργείας εις τὰ πειράματα του πίνακος II είναι ή του πλακοϋντος και του έγκεφάλου κονίκλου όπου ο χρόνος θρομβοπλαστίνης του πλακοϋντος είναι 11,5 δευτερόλεπτα του δέ έγκφάλου 11 δευτερόλεπτα ενϋ ό του μίγματος 8,5 δευτερόλεπτα. Τò συνεργικόν τουτο φαινόμενον είναι εμφανές και εις άλλα μίγματα ως αποδεικνύει μία κριτική εξέταση του πίνακος II, οϋχι όμως τόνσον χαρακτηριστικόν ως εις την προαναφερθείσαν περίπτωση του πλακοϋντος και έγκεφάλου κονίκλου.

Ή δραματικότερα όμως περίπτωσης του φαινομένου αυτού τής δυναμικής συνεργείας αποκαλύπτεται εις τον πίνακα III όπου παρουσιάζομεν τò θρομβοπλαστικόν δυναμικόν διαφόρων ιστών με ίον όφωος. Παρατηρούμεν δηλαδή ότι όταν επενεργήση μόνος του ο ίος επί του πλάσματος, τουτο πήζει εις 23 δευτερόλεπτα, όταν όμως ο ίος αναμιχθή με έγκεφαλικόν ιστόν, επί παραδείγματι, ή πήςξις επέρχεται εντός 6 δευτερολέπτων. Ή ταχυτάτη αυτή εμφάνισις του θρόμβου δημιουργεί αυτομάτως τò έρώτημα μήπως ο ίος ενέχει οϋχι θρομβοπλαστικήν τινα ουσίαν αλλά μίαν θρομβινικήν τοιαύτην, δυναμένην δηλαδή νά μετατρέψη τò ινωδογονον εις ινώδες άπ' ευθείας. Τοιούτον τι όμως είναι άπίθανον διότι αφαιρουμένου του άσβεστιου εκ του πλάσματος δέν επέρχεται πήξις παρ' όλην την προσθήκην του ίου. Καθώς επίσης δέν πήζει και διάλυμα καθαρού ινωδογονου. Ήπιπροσθέτως ή ένεργεια του ίου είναι βραδυτάτη επί πεπαλαιωμέ-

ΠΙΝΑΞ III. Ή θρομβοπλαστική συνεργεία ίου όφωος Viperus Russellii μετ' άλλων ιστών επί δύο διαφορετικών πλάσματος

α/ά	Προέλευσις θρομβοπλαστίνης	Χρόνος θρομβοπλαστίνης εις δευτερόλ.	
		Πλάσμα Α	Πλάσμα Β
1	Ίος όφωος		
2	Φυσιολογικός όρος	23	23
3	Ίος όφωος		
4	Πλακοϋς γυναικός*	11,5	10,5
5	Ήπαρ κονίκλου*	8,5	8
6	Ίος όφωος		
7	Ήγκεφαλος κονίκλου**	6	7
8	Ίος όφωος		
9	Πνεύμων κονίκλου*	7	8,5

* Ή εκχύλισις έγινετο με φυσιολογικόν όρόν.

** Ή εκχύλισις έγινετο με άκετόνην.

νου πλάσματος ενθα έχει έλαττωθή κατά πολύ ο άσταθής παράγων (Πίναξ IV).

Όθεν λοιπόν συμπεραίνομεν ότι ο υπό εξέτασιν ίος έμπεριέχει θρομβοπλαστίνην ως την ώρίσαμεν ανωτέρω. Περαιτέρω έρευναι κατέδειξαν ότι ή ισχυροτάτη αυτή συνεργική ένεργεια δέν περιορίζεται μόνον μεταξύ του ίου και τών ιστών αλλά ύφίσταται και όταν αναμιξώμεν τον ίον με εκχυλίσματα

ΠΙΝΑΞ IV. Ήνεργεια ίου όφωος Viperus Russellii επί διαφόρων υποστρωμάτων

α/ά	Είδος υποστρώματος	Χρόνος προθρομβίνης εις δευτερόλεπτα
1	Πλάσμα φυσιολογικόν	17
2	Πλάσμα άνευ άσβεστιου	∞
3	Πλάσμα πεπαλαιωμένον	40
4	Διάλυμα 0,5 % ινωδογονου* εντός φυσιολογικού όρου	∞

* Τò ινωδογονον παρσκευάσθη συμφώνως προς την μέθοδον των Ware, Guest & Seegers (16).

έρυθρων αίμασφαιρίων ως και αίμοπεταλίων (Πίναξ V). Τò ότι τὰ αίμοπετάλια παίζουσι ποιόν τινα ρόλον εις τον αίμοστατικόν μηχανισμόν κατεδείχθη πρό εβδομηκονταετίας περίπου, μολονότι μόλις πρό δεκαετίας ο Quick κατέδειξε τον αληθή των φυσιολογικόν ρόλον. Τò 1954 οί Γεωργάτσος, Hussey και Quick απέδειξαν την ύπαρξιν πηκτικού παράγοντος εντός τών έρυθρων αίμοσφαιρίων, όστις απέλευθερούται μόνον μετά την αίμόλυσιν (6). Ή συνεργεία όφείλεται εις τους πηκτικούς παράγοντας τών αίμοκυττάρων ή εις άλλας ανεξαρτήτους ουσίας τουτο δέν είναι γνωστόν.

ΠΙΝΑΞ V. 'Η θρομβοπλαστική συνεργειακή ενέργεια ιού ὄφως Viperus Russellii μετ' ἄλλων αιματογενῶν καὶ ιστογενῶν οὐσιῶν καταδεικνυομένη διὰ τοῦ χρόνου προθρομβίνης ἐπὶ φυσιολογικοῦ πλάσματος

α/ἀ	Εἶδος θρομβοπλαστίνης	Χρόνος προθρομβίνης εἰς δευτερόλεπτα*
1	Ἐγκέφαλος κονίκλου (ἐκχυλισθεὶς δι' ἀκετόνης)	12
2	Ἴος ὄφως	21,5
3	Ἐγκέφαλος κονίκλου Ἴος ὄφως 1 : 1	7
4	Ἐγκέφαλος κονίκλου αἰμολυθέντα ἐρυθροκύτταρα	13,2
5	Ἴος ὄφως αἰμολυθέντα ἐρυθροκύτταρα	9
6	Φυσιολογικὸς ὄρος	150
7	Ἐρυθροκύτταρα	75
8	Ἐκχύλισμα αἰμοπεταλίων	84
9	Ἐκχύλισμα αἰμοπεταλίων ἰος ὄφως	11
10	Θρομβοπλαστινογόνον	116
11	Θρομβοπλαστινογόνον ἰος ὄφως	26,5

* Ἡ δοκιμασία ἐγένετο διὰ τῆς προσθήκης 0,1cc τῆς ὑπὸ ἔρευνας οὐσίας εἰς μίγμα ἀποτελούμενον ἐκ 0,1cc ὀξαλόχου φυσιολογικοῦ ἀνθρωπίνου πλάσματος καὶ 0,1cc ἐκ 0,01M CaCl₂.

ΠΙΝΑΞ VI. 'Η θρομβοπλαστική ἐνέργεια φυγοκεντριθείσης ἐγκεφαλικῆς θρομβοπλαστίνης καὶ ιού ὄφως Viperus Russellii ὡς καὶ ἡ συνεργεια αὐτῶν ἐπὶ ἀνθρωπίνου φυσιολογικοῦ πλάσματος

α/ἀ	Θρομβοπλαστική οὐσία	Χρόνος θρομβοπλαστίνης εἰς δευτερόλεπτα
1	Ἐγκέφαλος κονίκλου (ἐκχυλισθεὶς δι' ἀκετόνης)	12
2	Ἐπερκείμενον κατόπιν φυγοκεντρήσεως ἐγκεφάλου	120
3	Ἴος ὄφως	24
4	Ἐπερκείμενον κατόπιν φυγοκεντρήσεως τοῦ ιού	24
5	Μίγμα ἐγκεφ. καὶ ιού ὄφως	6,5
6	Ἐπερκείμενον κατόπιν φυγοκεντρήσεως τοῦ μίγματος	9
7	Ἴζημα κατόπιν φυγοκεντρήσεως τοῦ μίγματος	11

* Ἡ φυγοκέντρησις ἐγένετο ἐν ψυχρῷ εἰς 12 000 r. p. m. ἐπὶ μίαν ὥραν.

Ὁ πίναξ VII δεικνύει τὰς τιμὰς τοῦ χρόνου προθρομβίνης τοῦ αὐτοῦ πλάσματος προσροφηθέντος μετὰ διαφόρων ποσοτήτων Ca₃(PO₄)₂ ἀλλὰ πηγυομένου τούτου μὲν μετὰ ἐγκεφαλικῆς θρομβοπλαστίνης κονίκλου, ὡς καὶ μετὰ μίγματος ιού ὄ-

φως καὶ ἐγκεφαλικῆς θρομβοπλαστίνης. Ὡς γνωστὸν τὸ Ca₃(PO₄)₂ ὅταν προστίθεται εἰς πλάσμα καὶ κατόπιν φυγοκεντρεῖται ἀφαιρεῖ διὰ προσροφήσεως τὴν τε προθρομβίνην καὶ τὸν σταθερὸν παράγοντα. Αἱ τιμαὶ δεικνύουν ὅτι διὰ τὴν αὐτὴν ποσότητα ὑπαρχούσης προθρομβίνης καὶ σταθεροῦ παράγοντος ὁ χρόνος προθρομβίνης μετὰ μίγματος ιού-ἐγκεφάλου εἶναι πλέον βραχύτερος ἢ ὁ χρόνος προθρομβίνης μετὰ ἀπλῆς ἐγκεφαλικῆς θρομβοπλαστίνης.

ΠΙΝΑΞ VII. Συγκριτικὴ μελέτη τοῦ θρομβοπλαστικοῦ δυναμικοῦ μεταξὺ ἐγκεφαλικῆς θρομβοπλαστίνης καὶ μίγματος ἐγκεφάλου καὶ ιού ὄφως

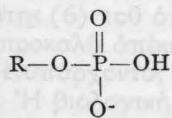
Μοριακὸν σθένος πλάσματος εἰς Ca ₃ (PO ₄) ₂	Χρόνος προθρομβίνης εἰς δευτερόλεπτα	
	Ἐγκέφαλος κονίκλου	Μίγμα ἐγκεφάλου - ιού
0	11,8	6,5
5 × 10 ⁻⁴	12	8,8
10 × 10 ⁻⁴	12,2	9,1
15 × 10 ⁻⁴	17	12,2
20 × 10 ⁻⁴	40,5	22,5
25 × 10 ⁻⁴	99	40,5
30 × 10 ⁻⁴	> 300	70
35 × 10 ⁻⁴	∞	117
40 × 10 ⁻⁴	∞	270
45 × 10 ⁻⁴	∞	∞
50 × 10 ⁻⁴	∞	∞

Συζήτησις καὶ συμπεράσματα

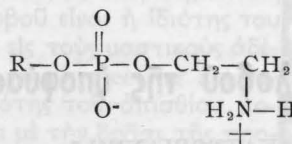
Εἰς τὸ προηγούμενον τμήμα τῆς παρουσίας μελέτης ἀναγράφονται πειραματικὰ δεδομένα καθιστῶντα καταφανῆ μίαν νέαν ιδιότητα τῶν διαφόρων θρομβοπλαστικῶν οὐσιῶν: τὴν τῆς συνεργείας. Συνεργείας ἔχομεν δύο εἰδῶν, τὴν ἀθροιστικὴν, ὅπου ἡ ἐνέργεια τοῦ μίγματος θὰ ἔξῃ μίαν τιμὴν κάπου μεταξὺ τῶν δύο συστατικῶν καὶ δὲν δύναται νὰ εἶναι μεγαλύτερα τοῦ ἰσχυροτέρου ἐκ τῶν δύο, καὶ τὴν δυναμικὴν ὅπου ἡ ἐνέργεια τοῦ μίγματος εἶναι ἰσχυρότερα ἢ ἡ ἐνέργεια οἰουδήποτε τῶν συστατικῶν κεχωρισμένως. Εἰς τὴν παρούσαν περίπτωσιν προφανῶς ἔχομεν ἀνὰ χεῖρας τὸ φαινόμενον τῆς δυναμικῆς συνεργείας διότι ἡ θρομβοπλαστικὴ ἐνέργεια τῶν μιγμάτων εἶναι καταφανῶς μεγαλύτερα ἢ ἡ ἐνέργεια ἑκάστης τῶν συστατικῶν τῶ μίγματος οὐσιῶν. Ἐπὶ παραδείγματι εἰς τὴν περίπτωσιν τοῦ μίγματος ιού ὄφως (χρόνος θρομβοπλαστίνης 23 δευτερόλεπτα) καὶ ἐγκεφάλου κονίκλου (χρόνος θρομβοπλαστίνης 12 δευτερόλεπτα), ἐὰν ἐπρόκειτο περὶ ἀθροιστικῆς συνεργείας ὁ χρόνος θρομβοπλαστίνης τοῦ μίγματος θὰ εἶχε μίαν τιμὴν μεταξὺ 12 καὶ 23 δευτερολέπτων, ἐν οὐδεμίᾳ δὲ περιπτώσει μικροτέραν τῶν 12 δευτερολέπτων. Ἐν τούτοις δὲ παρατηροῦμεν ὅτι τὸ μίγμα δίδει χρόνον 6 δευτερολέπτων ἐμφανίζον μίαν ἐνέργειαν πολὺ πλέον ἰσχυρὰν ἢ ἕκαστον συστατικὸν κεχωρισμέ-

νας. Η έρμηνεία του φαινομένου τούτου είναι δυσχερής και επιδέχεται θεωρητικά μόνον συμπεράσματα, των πειραματικών κριτηρίων έλλειπόντων, ακριβώς διότι δεν υπάρχει μία και μόνη ουσία με θρομβοπλαστικές ιδιότητες, ως έτονίσαμεν άνωτέρω, ή όποια να δύναται να χρησιμοποιηθή ως μέτρον συγκρίσεως. Παρ' όλα ταύτα ένα πειραματικόν στοιχείον, τó όποιον μάς ύποβοηθεί να δώσωμεν μίαν προσωρινήν εξήγησιν, είναι τó εξαγόμενον εκ του πίνακος VI. Δηλαδή βλέπομεν ότι όταν ένα διάλυμα έγκεφάλου εκχυλισθέντος δι' άκετόνης φυγοκεντρηθή εις πολλές στροφάς όλη ή θρομβοπλαστική ουσία καταπίπτει, ενώ αντίθétως παρομοία φυγοκέντρησις Ιού ούδεμίαν επίδρασιν έχει επί του θρομβοπλαστικού δυναμικού του ύπερκειμένου. Όταν όμως αί δύο αύται ουσίαι άναμιχθοϋν και φυγοκεντρηθή τó μίγμα τότε παρατηρούμεν ότι τó ύπερκειμενον έχει ισχυροτέραν θρομβοπλαστικήν ενέργειαν.

Τελευταίως ό Rousser και οι συνεργάται του (12, 13) μελετώντες τά ενεργά φωσφορολιποειδή συστατικά διαφόρων θρομβοπλαστικών ουσιών διεπίστωσαν ότι τά δύο πλέον ισχυρά φωσφατιδία είναι τó φωσφατιδικόν όξύ και ή φωσφατιδυλοαιθανολαμίνη



Φωσφατιδικόν όξύ



Φωσφατιδυλοαιθανολαμίνη

Οί ως άνω έρευνηταί παρετήρησαν τās εξής κοινάς ιδιότητας εις τά άνωτέρω δύο φωσφατιδία: 1) άμότερα ύφίστανται εις μίαν κατάστασιν κολλοειδή σχηματίζοντα λεπτότατα εναιωρήματα εις υδατικά διαλύματα, 2) έκαστον έχει έν άρνητικόν φορτίον επί τής φωσφορικής ρίζης και 3) μία από τās Ιονικās μορφάς εις pH 7,4 έχει μίαν ομάδα-δότην πρωτονίων (εις τήν περίπτωσην του φωσφατιδικού όξέος είναι τó όξινον ύδροξύλιον εις δέ τήν φωσφατιδυλοαιθανολαμίνην τó τεταρτοταγές άζωτον).

Εις τήν περίπτωσην λοιπόν τής ύφ' ήμων παρατηρηθείσης συνεργείας είναι προφανές ότι συμβαίνει έν εκ τών εξής δύο φαινομένων: "Η ό έγκεφαλος άποδίδει εις τόν Ιόν έν ισχυρότατον φωσφατιδιον, τó όποιον προσκολλάται (είτε με χημικās είτε με φυσικās δυνάμεις) επί τής Ιονικής θρομβοπλαστικής, ή τή επίδράσει συστατικών τινων του έγκεφάλου, επέρχεται μία άνακατάταξις εις τās ομάδας τών φωσφατιδίων του θρομβοπλαστικού μορίου του Ιού με άποτέλεσμα να τονισθοϋν μία ή περισσότεραι εκ τών προαναφερθεισών ιδιοτήτων τών φωσφατιδίων, αί όποιαι αύξάνουν τήν θρομβοπλαστικήν των ισχύν. Τó πλέον πιθανόν είναι τó δεύτερον διότι οι Cohen και Chargaff απέδειξαν ότι τουλάχιστον εις τήν πνευμονικήν θρομβοπλαστικήν τά λιποειδή είναι στενώτατα συνδεδεμένα με τó όλον θρομβοπλαστικόν μόριον μη δυνάμενα να άπο-

σπαθοϋν αύτου ούτε κατά τήν διάρκειαν ήλεκτροφόρσεως (3).

Τήν εκ τής συνεργείας προκύπτουσαν θρομβοπλαστικήν δυνάμεθα πλέον να τήν χαρακτηρίσωμεν ως «πλήρη θρομβοπλαστικήν» διότι είναι ή ισχυροτέρα εξ όσων αναφέρονται εις τήν βιβλιογραφίαν, ισχυροτέρα και αύτής τής αίμοτογενοϋς θρομβοπλαστικής, τήν όποίαν ή Άγγλική Σχολή των MacFarlane, Biggs, Douglas κλπ. θεωροϋν ως πλήρη. Διότι είναι πραγματικώς έκπληκτική ή δράσις μιās ουσίας, ή όποία έντός 6 δευτερολέπτων μόνον δύναται να επιφέρει τήν πήξιν του αίματος. Έάν μάλιστα από τά 6 αύτά δευτερόλεπτα αφαιρέσωμεν και τόν χρόνον δράσεως τής θρομβίνης επί του Ινωδογόνου, καθώς και τόν πολυμερισμόν αύτου εις Ινώδες, αντιδράσεις αί όποιαι χρειάζονται 3 περίπου δευτερόλεπτα, παρατηρούμεν πόσον κεραυνοβόλος είναι ή δράσις τής νέας αύτής θρομβοπλαστικής ουσίας, τήν όποίαν θα όνομάζομεν από τούδε θρομβοπλαστική Σ*. Η έξαιρετική αύτη ισχύς τής θρομβοπλαστικής Σ γίνεται καταφανής και εκ του πίνακος VII, ό όποίος μάς δεικνύει ότι πλάσματα με έλαχίστην ποσότητα προθρομβίνης [ή ύπόλοιπος άφηρέθη δια προσροφήσεως επί Ca₃(PO₄)₂] τά όποια άργούν να πήξουν ή ούδóλως πήξουν παρουσία έγκεφαλικής θρομβοπλαστικής, πήξουν έντός σχετικώς βραχείος χρονικού διαστήματος τή επίδράσει θρομβοπλαστικής Σ.

Εις τήν παρούσαν εργασία ή μελέτη τής θρομβοπλαστικής Σ έγινετο επί φυσιολογικού πλάσματος ανθρώπου. Εις μεταγενέστερον άρθρον θα δημοσιευθοϋν πειραματικά δεδομένα επί τής δράσεως τής θρομβοπλαστικής Σ επί παθολογικών πλάσμάτων όπου παρετηρήθησαν νέα ιδιότητες τής ουσίας αύτής και όπου γίνεται έμφανής ένας σοβαρώτατος κίνδυνος σφαλμάτων όταν τά εργαστήρια χρησιμοποιοϋν ως πηγήν θρομβοπλαστικής διάφορα σκεύασματα τά όποια είναι μίγματα δύο ή περισσότερων Ιστών.

(Μετά τήν ύποβολήν του παρόντος άρθρου προς δημοσίευσιν ό συγγραφεϋς επληροφόρηθη τήν δημοσίευσιν και έτέρου άρθρου του (17) επί τής συνεργεικής δράσεως του Ιού του όφεως Russellus Viperi και θρομβοπλαστικών εκχυλισμάτων Ιστών επί παθολογικών κυρίως πλάσμάτων).

S U M M A R Y

The phenomenon of dynamic synergism between thromboplastins from various sources

By JOHN. G. GEORGATSOS

The present communication deals with the phenomenon of synergism between thromboplastic preparations from various sources. The most pronounced effect is shown by a mixture consisting of Russell's Viper venom and acetone

* Τó Σ τó λαμβάνομεν εκ τής λέξεως Συνεργεία.

dehydrated rabbit brain. The explanation given is that, through the action of the brain preparation, new potent groups are formed on the venom thromboplastic moiety, the sort of groups that Rouser et al (12, 13) observed as being responsible for the action of the thromboplastic molecule.

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

1. Chargaff E., Moore D. H., Bendick A.: *J. Biol. Chem.* **145**, 593, (1942).
2. Chargaff E.: *J. Biol. Chem.* **173**, 253, (1948).
3. Cohen S. S., Chargaff E.: *Jour. Biol. Chem.* **136**, 243, (1940).
4. Γεωργιάτσος Ι. Γ.: *Χημικά Χρονικά* **21A**, 126 (1956).
5. Γεωργιάτσος Ι. Γ.: «Συμβολή εις την σπουδήν του χημισμού της πήξεως του αίματος. Αναζήσεις πηκτικού παράγοντος εντός των έρυθρών αιμοσφαιρίων». Διατριβή επί διδακτορία (1956).
6. Γεωργιάτσος Ι. Γ., Hussey C. V., Quick A. J.: *Am. J. Physiol.* **181**, 30, (1955).
7. Quick A. J.: *Am. J. Med. Sci.* **214**, 272, (1947).
8. Quick A. J.: «*The Physiology and Pathology of Hemostasis*». Leor and Fabiger, Philadelphia 1951, σελ. 34.
9. Quick A. J.: «*Hemorrhagic Diseases*» Leor and Febiger, Philadelphia 1957 σελ. 376.
10. Quick A. J., Γεωργιάτσος Ι. Γ., Hussey C. V.: *Am. J. Med. Sci.* **228**, 207, (1954).
11. Quick A. J., Daniels E. R., Hussey C. V.: *J. Lab. and Clin. Med.* **44**, 94, (1954).
12. Rouser G., Schloredt D.: *Biochim Biophys. Acta* **28**, 81, (1958).
13. Rouser G., White S. G., Schloredt D.: *Biochim. Biophys. Acta*, **28**, 71, (1958).
14. Seegers W. H., Mc Clanghry R. I., Fahey J. L.: *Blood*, **5**, 421, (1950).
15. Tocentins L. M.: «*The Coagulation of Blood*». Grune and Stratton, New York, 1956 σελ. 221.
16. Ware A. G., Guest M. M., Seegers W. H.: *Arch. Biochem.* **13**, 231, (1947).
17. Γεωργιάτσος Ι., Hussey C. V., Quick A. J.: *Proc. Soc. Exp. Biol. and Med.* **97**, 674 (1958).

(Εισήχθη τη 10η Ιουλίου 1958)

(Έκ του Έργαστηρίου Βιοχημείας του Πανεπιστημίου Marquette, Η. Π.)

Όρμόναι του όπισθίου λοβού της υποφύσεως

*Υπό ΠΑΝΑΓΙΩΤΟΥ Γ. ΚΑΤΣΟΓΙΑΝΝΗ *

Πριν από 25 χρόνια άρχισε μια νέα περίοδος δια την χημείαν των πεπτιδίων και των πρωτεϊνών, που είχε ως αποτέλεσμα την άλματώδη εξέλιξη του κλάδου αυτού της χημείας εις το σημερινόν επίπεδο. Δημιουργοί της περιόδου αυτής είναι οι Max Bergmann και Λεωνίδας Ζέρβας με την εισαγωγή της κλασσικής μεθόδου των δια την σύνθεσιν πεπτιδίων, της καρβοβενζοξυ-μεθόδου.

Θά χρειασθούν τόμοι δλόκληροι δια να περιγράψη κανείς την συμβολή της καρβοβενζοξυ-μεθόδου εις την χημείαν των πρωτεϊνών, των ενζύμων, των όρμονών και του εν γένει μεταβολισμού, πράγμα που δέν είναι ο σκοπός της παρούσης δημοσίευσεως. Ο συγγραφέας του παρόντος άρθρου θά περιορισθῆ να σκιαγραφήση μόνον μίαν φάσιν των έρευνών, εις την διεξαγωγήν των όποίων έλαβεν ο ίδιος ενεργόν μέρος, που έγιναν κατά τα έτη 1952 - 1957 εις το εργαστήριον Βιοχημείας της Ιατρικής Σχολής του Πανεπιστημίου Cornell της Νέας Υόρκης και η έπιτυχής έκβασις των όποίων όφείλεται εν μέρει εις την εφαρμογήν της καρβοβενζοξυ-μεθόδου.

Ο χώρος ενός άρθρου δέν είναι επαρκής δια να περιγράψωμεν λεπτομερώς τις έρευνητικές προσπάθειες μιās δλόκληρου πενταετίας. Θά περιορισθώμεν έδω μόνον να δώσωμεν, σε γενικές γραμμές, μίαν εικόνα των εργασιών αυτών ώστε να αποτελῆ εν δλοκληρωμένο σύνολον. Οι εργασίες μας αυτές άφεώρουν την άπομόνωσιν εις καθαράν κατάστασιν, την εύρεσιν της συντάξεως και τελικώς την συνθετικήν παρασκευήν των όρμονών του όπισθίου λοβού της υποφύσεως. Κατακλείς δε αυτών των εργασιών

ήτο η σύνθεσις ενώσεων παραπλησίου συντάξεως προς την των φυσικών όρμονών, «analog», με σκοπό να εύρωμεν αν ύπάρχη σχέσις και ποία, μεταξύ χημικής συντάξεως και βιολογικών ιδιοτήτων των ενώσεων αυτών.

Η υπόφυσις (pituitary gland) ως γνωστόν είναι ένας μικρός άδής, βάρους εις τον άνθρωπον περίπου 0,5 γρ., ο όποιος εύρίσκεται εις την κοιλότητα του τουρκικού έπιππίου εις την βάση του κρανίου. Μορφολογικώς διακρίνεται εις τρία μέρη η λοβούς: Τον πρόσθιον λοβόν η άδενούπόφυσιν, που είναι άδενικής κατασκευής και που έμβρυολογικώς προέρχεται από τον φαρυγγικόν θύλακα, τον

* Παρούσα διεύθυνσις: Biochemistry Dept., Pittsburgh University, U. S. A.

διάμεσον λοβόν ὁ ὁποῖος ἔχει τὴν αὐτὴν ἐμβρυολογικὴν προέλευσιν μὲ τὸν πρόσθιον λοβόν καὶ τέλος τὸν ὀπίσθιον λοβόν ἢ νευροϋπόφυσιν πού ἐμβρυολογικῶς προέρχεται ἀπὸ τὴν τρίτη κοιλία τοῦ ἐγκεφάλου καὶ ἀποτελεῖται ἀπὸ νευρίτες νευρικῶν κυττάρων κατασκευομένων εἰς τὸν ὑποθάλαμον, πού εἶναι δηλαδὴ προεκβολὴ τοῦ ὑποθαλάμου.

Πρὶν ἀπὸ 60 περίπου χρόνια οἱ Oliver καὶ Schafer (1) ἀνεκάλυψαν ὅτι ἐκχυλίσματα τῆς ὑποφύσεως ἔχουν τὴν ιδιότητα νὰ προκαλοῦν αὐξησιν τῆς πίεσεως τοῦ αἵματος, ἔχουν δηλαδὴ ἀγγειοτόνους ιδιότητας (pressor activity). Ὀλίγα χρόνια ἀργότερα ὁ Howell (2) ἔδειξε ὅτι ἡ ἀγγειοτόνος δρᾶσις ἦταν ιδιότης τοῦ ὀπισθίου λοβοῦ τῆς ὑποφύσεως. Ἐκτοτε δὲ ἕνας σημαντικὸς ἀριθμὸς βιολογικῶν ιδιοτήτων ἀνεκαλύφθησαν εἰς ἐκχυλίσματα τοῦ ὀπισθίου λοβοῦ. Ἔτσι ὁ Dale (3) παρατήρησε τὴν ὠκυτόκιον ιδιότητα (oxytocic activity), δηλαδὴ τὴν ιδιότητα τοῦ ὀπισθίου λοβοῦ νὰ προκαλῆ περιοδικὰ συστολὰς τῆς μήτρας μὲ ἀποτέλεσμα τὴν ἐπιτάχυνσιν τοῦ τοκετοῦ, οἱ Paton καὶ Watson (4) τὴν ταπείνωσιν τῆς πίεσεως τοῦ αἵματος εἰς τὰ πτηνὰ (avian depressor activity) ὅταν ἐχορηγεῖτο ἐνδοφλεβίως ἐκχύλισμα ὀπισθίου λοβοῦ, καὶ ὁ Von den Velden (5) τὴν ἀντιδιουρητικὴν ιδιότητα (antidiuretic activity). Ἄλλη σημαντικὴ ιδιότης (6) τοῦ ὀπισθίου λοβοῦ εἶναι ἡ ιδιότης του νὰ προκαλῆ ἀπέκκρισιν τοῦ εἰς τοὺς μαστικούς ἀδένες ἐνυπάρχοντος γάλακτος (milk ejecting activity). Ἡ βιολογικὴ αὕτη ιδιότης τοῦ ὀπισθίου λοβοῦ δὲν πρέπει νὰ συγχέεται μὲ τὴν δρᾶσι τῆς προλακτίνης, τῆς ὁρμόνης τοῦ προσθίου λοβοῦ τῆς ὑποφύσεως, ἡ ὁποία προκαλεῖ τὴν παραγωγὴ τοῦ γάλακτος.

Ἡ ὑπαρξις τόσων βιολογικῶν ιδιοτήτων εἰς ἕνα μικρὸ μέρος ἑνὸς ἀδένος, ὅπως ὁ ὀπίσθιος λοβὸς τῆς ὑποφύσεως, εἶχε ὡς φυσικὴ συνέπεια τὸ γεγονός ὅτι σημαντικὸς ἀριθμὸς ἐρευνητῶν ἠσχολήθη κατὰ καιροὺς μὲ τὴν ἀπομόνωσιν τῆς ὁρμόνης ἢ τῶν ὁρμονῶν τῶν ὑπευθύνων δι' αὐτὲς τὶς βιολογικὲς ιδιότητες. Ὁ πρῶτος ὁ ὁποῖος ἐπέτυχε ἕνα μερικὸ διαχωρισμὸ τῶν δραστικῶν συστατικῶν τοῦ ὀπισθίου λοβοῦ τῆς ὑποφύσεως καὶ μερικὴ καθαρά αὐτῶν ἦταν ὁ Kamm (7) καὶ οἱ συνεργάτες του εἰς τὰ ἐργαστήρια τῆς Parke Davis Co. Οἱ ἐρευνηταὶ αὐτοὶ δι' ἐκχυλίσεως τοῦ ὀπισθίου λοβοῦ μὲ ἀραιὸ ὀξικὸ ὄξύ, ἀκολουθουμένης διὰ κατακρημνίσεως μὲ $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ καὶ ἐν συνεχείᾳ ἐπαναδιαλύσεως τοῦ ληφθέντος ἰζήματος εἰς ὀξικὸ ὄξύ (glacial) καὶ κλασματικῆς καταβυθίσεως μὲ ἀκετόνη καὶ αἰθέρα, ἐπέτυχον νὰ λάβουν δύο παρασκευάσματα, ἕνα μὲ ἰσχυρὰν ὠκυτόκιον δρᾶσιν καὶ ἀσθενῆ ἀγγειοτόνον καὶ τὸ ἄλλο μὲ ἰσχυρὰν ἀγγειοτόνον δρᾶσιν καὶ ἀσθενῆ ὠκυτόκιον. Αὐτὸς ὁ μερικὸς διαχωρισμὸς τῶν βιολογικῶν ιδιοτήτων τοῦ ὀπισθίου λοβοῦ ἦταν καὶ ἡ πρώτη ἔνδειξις περὶ ὑπάρξεως δύο τουλάχιστον ὁρμονῶν εἰς αὐτόν, μιᾶς μὲ ὠκυτοκίους ιδιότητες καὶ ἑτέρας μὲ ἀγγειοτόνους. Τὸ παρασκεύασμα τοῦ Kamm μὲ τὴν ἰσχυρὰν ὠκυτόκιον δρᾶσιν φέρεται ὑπὸ τὸ ὄνομα pitocin καὶ ἡ εἰς αὐτὸ ἐνυ-

πάρχουσα ὁρμὴ oxytocin. (Ἡ ὀνομασία oxytocin προέρχεται ἀπὸ τὶς ἑλληνικὲς λέξεις *ὀκτός* καὶ *τόκος* δηλαδὴ ταχύς τοκετός καὶ ὡς ἐκ τούτου θὰ ἔπρεπε νὰ λέγεται ocytocin (ὠκυτοκίνη) καὶ ὄχι oxytocin, ἀλλὰ εἶναι τόση πολλὴ ἡ βιβλιογραφία μὲ τὴν λαθασμένη ὀνομασία πού ἡ ἀλλαγὴ τοῦ ὀνόματος θὰ φέρη μόνο σύγχυσι). Τὸ ἕτερον παρασκεύασμα μὲ τὴν ἰσχυρὰν ἀγγειοτόνον δρᾶσιν φέρεται ὑπὸ τὸ ὄνομα pitressin καὶ ἡ εἰς αὐτὸ ἐνυπάρχουσα ὁρμὴ vasopressin. Ἐκαστον τῶν παρασκευασμάτων αὐτῶν εἶχε εἰδικὴν δραστηριότητα (specific activity) (7α) 50 u/mg (units per mg.), ἐν συγκρίσει μὲ 1 u/mg πού εἶναι ἡ δραστηριότης αὐτοῦ τούτου τοῦ ὀπισθίου λοβοῦ. Μὲ ἄλλους λόγους ὁ Kamm ἐπέτυχε πεντηκονταπλασιασμὸν καθαρισμοῦ τῶν δύο ὁρμονῶν τοῦ ὀπισθίου λοβοῦ τῆς ὑποφύσεως.

Προκαταρτικὲς μελέτες τῆς διαλυτότητος καὶ ἠλεκτροφορητικῆς συμπεριφορᾶς ἔδειξαν, ὅτι οἱ δύο ὁρμόνες εἶναι πεπτιδικῆς φύσεως καὶ μάλιστα μικροῦ σχετικῶς μοριακοῦ βάρους καὶ ὅτι ἡ μὲν oxytocin εἶναι ἀσθενῶς βασικὴ οὐσία, ἐνῶ ἡ vasopressin εἶναι ἰσχυρῶς βασικὴ. Ἐχρησιμοποιήθη καὶ εἰς τὸ Πανεπιστήμιον Cornell, ὡς πρῶτο στάδιον καθαρισμοῦ τῶν ὁρμονῶν ἡ μέθοδος τοῦ Kamm, μὲ πρώτη ὕλη ὀπίσθιο λοβὸ ἀγελάδος πού εἶναι σχετικῶς ὀγκώδης. Εἰς τὸ σημεῖο αὐτὸ θὰ γίνῃ μία παρένθεσις διὰ νὰ δειχθῇ τὸ εἶδος τῶν προβλημάτων πού ἀντιμετωπίζει κανεὶς διὰ νὰ ἐπιτύχῃ ὕλικὸ πρὸς σπουδὴν αὐτῶν τῶν ὁρμονῶν: ἡ ὑπόφυσις τῆς ἀγελάδος εἶναι πενταπλασία εἰς βάρους ἀπὸ τὴν ἀνθρωπίνην καὶ ζυγίζει περίπου 2,4 γρ., ἐξ ὧν τὸ 1/6 εἶναι ὀπίσθιος λοβός. Κατὰ μίαν δὲ πρόχειρον προσέγγισιν χρειάζονται οἱ ὑποφύσεις 35 000 περίπου ἀγελάδων διὰ νὰ παραχθοῦν 400 mg καθαρᾶς ὁρμόνης.

Μετὰ τὸν διαχωρισμὸν κατὰ Kamm ἐφηρμόσθη ἡ τεχνικὴ καθαρισμοῦ τοῦ Craig, ἡ γνωστὴ ὡς Countercurrent Distribution. Ἐχρησιμοποιήθη αὐτόματος συσκευὴ ἐξ ὕαλου, τῶν 200 σωλῆνων, ἡ ὁποία ἐπέτρεπε, χωρὶς συνεχῆ παρακολούθησι, νὰ ἐπιτυγχάνωνται ἐντὸς μικροῦ σχετικῶς χρόνου ἀρκετὲς χιλιάδες διαδοχικῶν ἐκχυλίσεων (transfers). Διὰ μὲν τὴν oxytocin, ὡς διαλυτικὸ σύστημα ἐχρησιμοποιήθη τὸ σύστημα δευτεροταγοῦς βουτυλικῆς ἀλκοόλης—0,05% ὕδατικοῦ ὀξικοῦ ὀξέος. Ὡς τελικὸ προϊόν, αὐτοῦ τοῦ εἶδους τοῦ καθαρισμοῦ, ἐλήφθη οὐσία ἡ ὁποία ἠλεκτροφορητικῶς, ὑπερφυγοκεντρικῶς καὶ χρωματογραφικῶς ἐπὶ χάρτου καὶ ἐπὶ στηλῶν συμπεριεφέρετο ὡς τελείως καθαρὰ. Ἡ εἰδικὴ δραστηριότης τῆς οὐσίας αὐτῆς, πού χωρὶς ἀμφιβολία εἶναι ἀπολύτως καθαρὰ oxytocin (8), ἦταν 450 περίπου ὠκυτόκιες μονάδες κατὰ mg. Ὁ βιολογικὸς ἔλεγχος πρὸς προσδιορισμὸν τῆς δραστηριότητος εἰς ὠκυτόκιες μονάδες, ἐγένετο in vitro διὰ μετρήσεως τῶν συστολῶν λωρίδων μήτρας ποντικῶν (9).

Διὰ τὴν vasopressin τὰ πράγματα ἦσαν ὀλίγον πῖο δύσκολα ἐξ αἰτίας τοῦ ἰσχυρῶς βασικοῦ χαρακτῆρος τῆς. Καὶ εἰς αὐτὴν τὴν περίπτωσι ὁ καθα-

ρισμός κατά Kanam ήκολουθήθη από Countercurrent Distribution, χρησιμοποιούντες διάφορα συστήματα διαλυτικών, ή όποια όμως δεν έδωσε καθαρόν προϊόν. 'Ως εκ τούτου έφηρμόσθη έν συνεχεία ήλεκτροφόρησης επί μάζης άμύλου, συμφώνως προς την μέθοδον των Tiselius και Kunkel (10). Δι' αυτού του τρόπου έλήφθη προϊόν τó όποιον χρωματογραφικώς και ήλεκτροφορητικώς συμπεριφερέτο ως καθαρά ούσια και άναμφιβόλως ήταν τελείως καθαρά vasopressin (11). 'Η ειδική δραστικότητα της, ήταν 450 περίπου άγγειοτόνοι μονάδες κατά mg. 'Ο βιολογικός έλεγχος τής άγγειοτόνου δραστικότητας τής vasopressin έγένετο in vivo, διά μετρήσεως τής αύξήσεως τής πιέσεως του αίματος ποντικών (12). 'Αν χρησιμοποιηθή ως πρώτη ύλη, διά την άπομόνωσι των όρμονών, ό όπίσθιος λοβός χοίρων τότε ή μέν oxytocin είναι ή αυτή μέ την oxytocin τής άγελάδος, ή δέ vasopressin διαφέρει από την τής άγελάδος εις δραστικότητα. 'Η vasopressin από ύποφύσεις χοίρων έχει ειδική δραστικότητα περίπου 300 μονάδες (άγγειοτόνους) κατά mg. Τήν διαφοράν συντάξεως των δύο αυτών vasopressins θά είδωμεν κατωτέρω. Εις τον πίνακα I άναγράφονται οι βιολογικές ιδιότητες τής καθαρής oxytocin και vasopressin (άγελάδος) καθώς και οι ειδικές δραστικότητες δι' έκάστην των ιδιοτήτων αυτών:

ΠΙΝΑΞ I. Δραστικότητες καθαρής Oxytocin και Vasopressin συγκρινόμενες με τó U.S.P. Standard. *Όλοι οι άριθμοί είναι U.S.P. units per mg.

	Ολανόμιος (Μήτρα ποντικών)	Ταπεινώσις πιέσεως αίματος (*Όρνιθες)*	Δακτυαργός (Κουνέλια)*	*Άγγειοτόνος (Ποντικοί)*	*Αντιόσμωτική (Σκύλοι)*
Oxytocin	450	450	450	7	3
Vasopressin	30	85	100	450	450

* Αναφέρεται τó είδος του ζώου επί του όποιου έγένετο ό βιολογικός έλεγχος.

Τό πρώτο βήμα διά την εύρεσι τής συντάξεως των δύο αυτών όρμονών ήταν ό προσδιορισμός των περιεχομένων άμινοξέων. Τοúτο έγένετο δι' ύδρολύσεως των ούσιών και άκολουθως χρωματογραφικής άναλύσεως επί στηλών άμύλου, κατά την μέθοδο των Moore και Stein (13). Εύρέθη ότι εις έκάστην των όρμονών ήσαν παρόντα 8 διάφορα L-άμινοξέα και μάλιστα εις άναλογία 1:1 και ότι επιπροσθέτως εις κάθε 8 άμινοξέα 3 μόρια άμμωνίας ήσαν παρόντα. 'Επειδή δέ τó μοριακόν βάρος δι' έκάστην των όρμονών, προσδιορισθέν διά τής θερμο-ηλεκτρο-ωσμωτικής μεθόδου, εύρέθη να είναι περίπου 1000, ήταν φανερόν ότι τó μόριον έκάστης

των όρμονών περιείχε 8 άμινοξέα. Εις τον πίνακα II άναγράφονται τά άποτελέσματα τής χρωματογραφικής άναλύσεως:

ΠΙΝΑΞ II. Προσδιορισμός περιεχομένων άμινοξέων (μοριακές άναλογίες)

Oxytocin	Vasopressin (άγελάδος)	Vasopressin (χοίρου)
Λευκίνη 1	Φαινυλαλανίνη 1	Φαινυλαλανίνη 1
*Ισολευκίνη 1	Τυροσίνη 1	Τυροσίνη 1
Τυροσίνη 1	Προλίνη 1	Προλίνη 1
Προλίνη 1	Γλουταμιν. όξύ 1	Γλουταμιν. όξύ 1
Γλουταμιν. όξύ 1	*Ασπαραγιν. όξύ 1	*Ασπαραγιν. όξύ 1
*Ασπαραγιν. όξύ 1	Γλυκίνη 1	Γλυκίνη 1
Γλυκίνη 1	*Αργινίνη 1	Λυσίνη 1
Κυστίνη 1	Κυστίνη 1	Κυστίνη 1
*Άμμωνία 3	*Άμμωνία 3	*Άμμωνία 3

'Εκ του πίνακος II είναι φανερόν ότι ή oxytocin και ή vasopressin έχουν όμοια τά 6 άμινοξέα και διαφέρουν μόνον κατά τά άλλα δύο: λευκίνη και ίσολευκίνη είναι εις την oxytocin, φαινυλαλανίνη και άργινίνη (ή λυσίνη) είναι εις την vasopressin. 'Η vasopressin τής άγελάδος διαφέρει από την vasopressin του χοίρου εις τó ότι ή μέν πρώτη περιέχει άργινίνη ένψ ή δευτέρα περιέχει λυσίνη. 'Ως εκ τούτου ή vasopressin τής άγελάδος ονομάζεται arginine-vasopressin ένψ ή του χοίρου lysine-vasopressin.

Και τώρα ός έλθωμεν εις τó πρόβλημα εύρέσεως τής συντάξεως τής oxytocin.

'Ελέχθη προηγουμένως ότι ή oxytocin περιέχει κυστίνη (-S-S-) ως τó θειούχον άμινοξύ. 'Ως πρώτη προσέγγισις προς έπίλυσιν τής συντάξεως ήταν να εύρεθί άν, όξειδωσις τής όρμόνης με ένα όξειδωτικό π.χ. ύπερμυρμηκικόν όξύ, θά έδιδε ένα ή δύο προϊόντα. Δι' αυτής τής όξειδώσεως ό δεσμός του δι-σουλφιδίου τής κυστίνης θά ύφίστατο όξειδωτικήν σχάσιν διά να δώση δύο σουλφονικές ομάδες και ούτω ή κυστίνη θά μετετρέπετο εις δύο μόρια κυστεϊνικού όξέος. Τώρα άν τó μόριο τής oxytocin ήταν μία εύθεια πεπτιδική έλλυσις, θά έπρεπε ή διά ύπερμυρμηκικού όξέος όξειδωσις να δώση δύο μικρότερα πεπτίδια που τó καθένα έκτός των άλλων άμινοξέων θά περιείχε άνά έν μόριον κυστεϊνικού όξέος. 'Αντιθέτως άν τó μόριο τής oxytocin ήταν κάποιας κυκλικής συντάξεως, τότε όξειδωσις με ύπερμυρμηκικό όξύ θά είχε ως συνέπεια να ληφθί ένα μόνον πεπτίδιον τó όποιον θά περιείχε έκτός των άλλων άμινοξέων και δύο μόρια κυστεϊνικού όξέος. Πράγματι δι' όξειδώσεως τής oxytocin με ύπερμυρμηκικόν όξύ έλήφθη ένα μόνον πεπτίδιον, τó όποιον με χρωματογραφικήν άνάλυσιν έδειξεν ότι περιέχει τά 7 άμινοξέα τής oxytocin και επί πλέον άντι κυστίνης περιέχει 2 μόρια κυστεϊνικού όξέος. 'Ως εκ τούτου έξήχθη τó συμπέρασμα ότι ή όρμόνη είναι ένα κυκλικό πεπτίδιο.

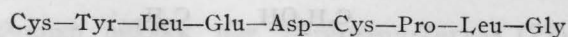
'Η ήλεκτροφορητική συμπεριφορά τής oxytocin έδειχνε την ύπαρξιν μιās τουλάχιστον έλευθέρως άμινομάδος. Προς προσδιορισμόν του άμινοξέος του

φέροντος την ελευθέραν αμινομάδα, του N-terminal, ως λέγεται, έφηρμόσθη ή τεχνική του Sanger (14), δηλαδή ή χρησιμοποίησις του δινιτροφθοροβενζολίου (DNFB). Το αντίδραστήριον αυτό, ως γνωστόν, αντιδρά με την ελευθέραν μόνον αμινομάδα ενός πεπτιδίου και δίδει ένα δινιτροφαινυλο-παράγωγο του πεπτιδίου (DNP-παράγωγο) το όποιον έν συνεχεία δι' ύδρολύσεως με όξύ δίδει όλα τα περιεχόμενα εις το πεπτιδίο αμινοξέα ελεύθερα, εκτός του έχοντος την ελευθέραν αμινομάδα, του εύρισκόμενου δηλ. εις την άρχήν της πεπτιδικής αλύσου, το όποιον λαμβάνεται ως DNP-αμινοξύ και ούτω άνιχνεύεται. Με την μέθοδον του Sanger λοιπόν εύρέθη ότι ή κυστίνη είναι το μόνο αμινοξύ εις το μόριον της oxytocin που έχει ελευθέρα αμινομάδα και μάλιστα μόνον την μίαν αμινομάδα εκ των δύο που περιέχει.

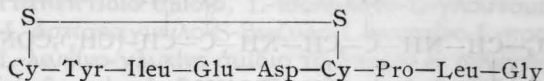
Πρός προσδιορισμόν του αμινοξέος του φέροντος ελευθέρα καρβοξυλομάδα, του C-terminal ως λέγεται, έφηρμόσθη ή τεχνική των Schlack και Kumpf (15), συμφώνως προς την όποιαν δι' επιδράσεως θειοκυανιούχου άμμωνίου επί τινος πεπτιδίου, το αμινοξύ που φέρει καρβοξύλιο ελεύθερο και που έπομένως εύρίσκεται εις το τέλος της πεπτιδικής αλύσου, σχηματίζει μιá θειοϋδαντοίνη ή όποία με Ba(OH)₂ αποκόπτεται της πεπτιδικής αλύσου και άνιχνεύεται. Δι' αυτής της μεθόδου εύρέθη ότι ή oxytocin δέν έχει ελεύθερο καρβοξύλιο (16). Όταν όμως ή όρμόνη θερμανθή με 0,1N ύδροχλωρικόν όξύ εις τους 90° επί 1 ώραν, χάνει ένα μόριον άμμωνίας και καθίσταται βιολογικώς άδρανής. Αν επί αυτού του προϊόντος έφαρμοσθή ή μέθοδος του Schlack και Kumpf λαμβάνεται τελικώς ή θειοϋδαντοίνη της γλυκίνης. Είναι έπομένως φανερόν ότι ή γλυκίνη είναι το C-terminal αμινοξύ της oxytocin, της όποιας όμως το καρβοξύλιο δέν είναι ελεύθερο αλλά είναι ύπό μορφήν άμιδίου.

Κατεργασία της όρμόνης με βρωμιούχον ύδωρ είχεν ως συνέπειαν όχι μόνον την όξειδωσι της κυστίνης και βρωμίωσιν της περιεχομένης τυροσίνης αλλά και σχάσιν του μόριου της όρμόνης εις δύο μικρότερα πεπτιδία, ένα διπεπτιδίο και ένα έπταπεπτιδίο. Το διπεπτιδίον εύρέθη ότι άποτελείται από 1 μόριο κυστεϊνικοϋ όξέος και 1 διβρωμοτυροσίνης και μάλιστα κατά την σειράν: κυστεϊνικό όξύ-διβρωμοτυροσίνη. Το έπταπεπτιδίο, που με την μέθοδο του Sanger εύρέθη να έχη ως N-terminal αμινοξύ την ίσολευκίνη, περιείχε τα υπόλοιπα αμινοξέα της oxytocin. Η αντίδρασις αυτή με βρωμιούχον ύδωρ ώδήγησεν εις το συμπέρασμα ότι εις την oxytocin ύπάρχει ή σειρά: κυστεϊνης-τυροσίνης-ίσολευκίνης (16) (Cys-Tyr-Ileu).

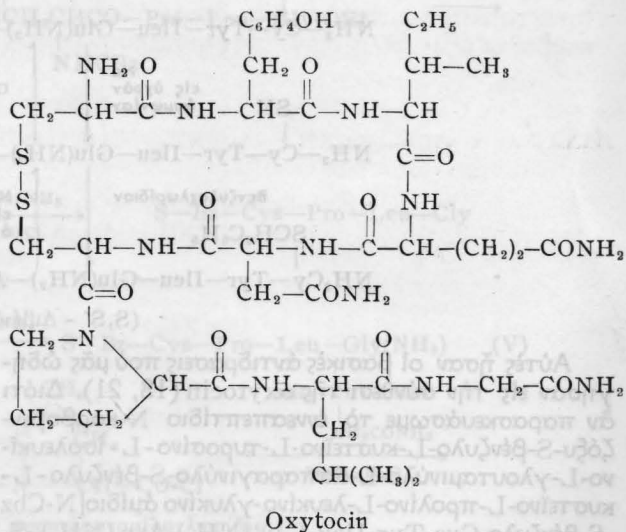
Έκλεκτική ύδρόλυσις της όρμόνης με όξύ, είχεν ως άποτέλεσμα την λήψιν διαφόρων διπεπτιδίων και τριπεπτιδίων. Δι' έφαρμογής των διαφόρων ύπαρχουσών μεθόδων εύρέσεως της σειράς των αμινοξέων εις πεπτιδικήν άλυσον, π. χ. άποικοδόμησις κατά Edman (17), μέθοδος Sanger (14) κ.τ.λ., εύρέθη τελικώς ότι εις το μόριον της oxytocin ύπάρχει ή ακόλουθος σειρά αμινοξέων (17α):



Και έπειδή, ως έλέχθη προηγουμένως, το μόριο της όρμόνης έχει κυκλικήν σύνταξιν και 1 μόριον κυστίνης είναι το S- περιέχον αμινοξύ και όχι 2 μόρια κυστίνης, συνάγεται ότι ή ακριβής σειρά των αμινοξέων είναι ή ακόλουθος:



Έλέχθη επίσης άνωτέρω ότι από την ύδρόλυσι της oxytocin λαμβάνονται, εκτός των 8 μορίων αμινοξέων και 3 μόρια άμμωνίας. Το ένα μόριο άμμωνίας προέρχεται, ως ίδωμεν, από το C-terminal αμινοξύ την γλυκίνη, της όποιας το καρβοξύλιο εύρίσκεται εις το μόριον της όρμόνης, ως άμιδίου. Η προέλευσις των δύο άλλων μορίων άμμωνίας εξηγείται με την παραδοχήν ότι το γλουταμινικόν και άσπαραγινικόν όξύ εύρίσκονται εις το μόριον της όρμόνης ως τα αντίστοιχα άμιδιά των, δηλαδή ως γλουταμίνη [Glu(NH₂)] και άσπαραγίνη [Asp(NH₂)]. Βάσει λοιπόν των άνωτέρω δεδομένων, έπροτάθη ό ακόλουθος συντακτικός τύπος δια την oxytocin (16, 18).



Είναι δηλαδή ή oxytocin ένα κυκλικό όκταπεπτιδίο-άμιδίο που άποτελείται από ένα κυκλικό πενταπεπτιδίο που φέρει ως πλευρικήν άλυσον ένα τριπεπτιδίο-άμιδίο.

Πορεία έργασίας άνάλογος προς την άκολουθηθείσαν εις την περίπτωσιν της oxytocin, ώδήγησεν εις την εύρεσιν της συντάξεως και της vasopressin (19), δια την όποιαν έπροτάθη ό έν συνεχεία άναγραφόμενος τύπος.

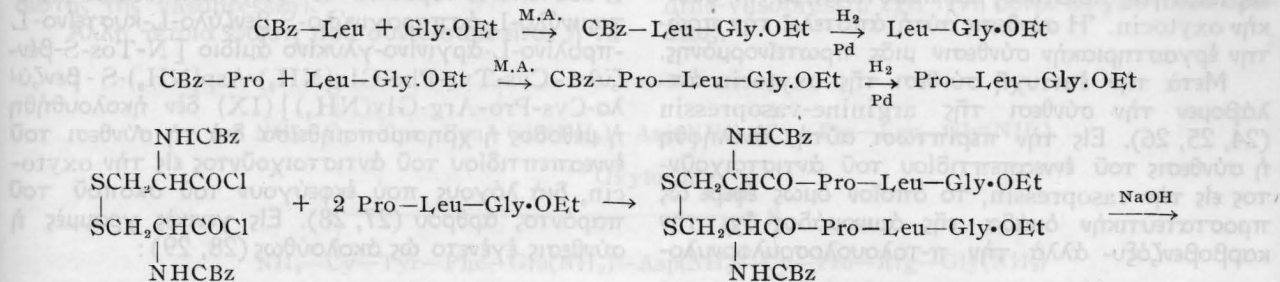
Είναι έπομένως και ή vasopressin ένα κυκλικόν όκταπεπτιδίο-άμιδίο που άποτελείται από ένα κυκλικό πενταπεπτιδίο που φέρει επίσης ως πλευρικήν άλυσον ένα τριπεπτιδίο-άμιδίο.

Όπως φαίνεται από σύγκρισιν των δύο συντακτικών τύπων, ή oxytocin διαφέρει από την va-

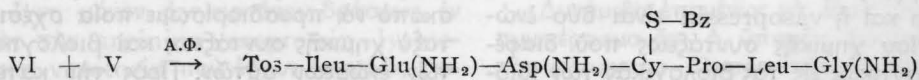
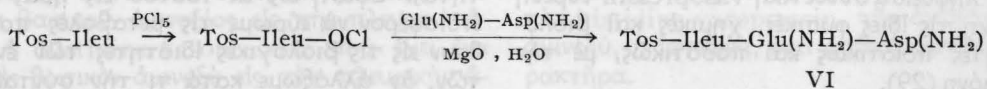
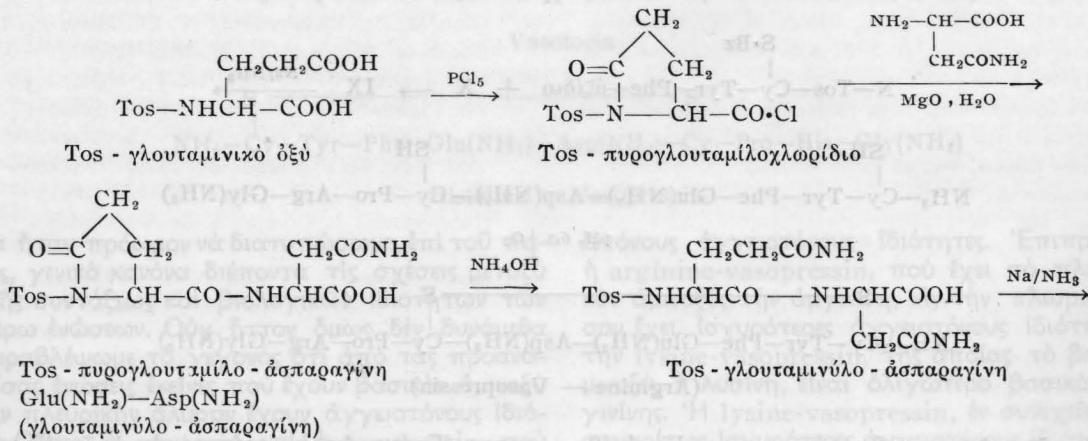
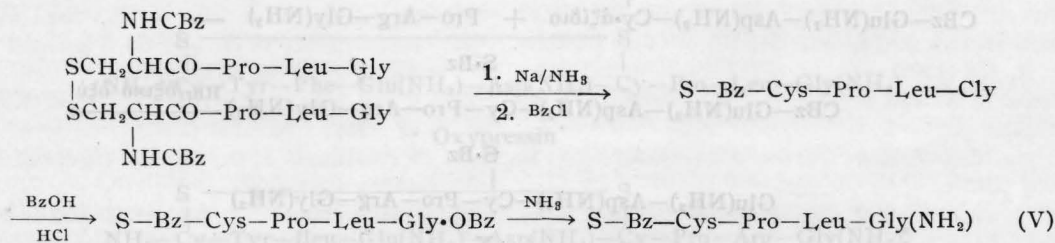
Η σύνθεσις επομένως τῆς oxytocin ἀνάγεται εἰς τὴν σύνθεσιν ἑνὸς ἑνεαπεπτιδίου (IV), μὲ εὐθείαν ἄλυσον. Κατὰ τὴν διάρκειαν τῶν συνθέσεων ἐχρησιμοποιήθησαν ὡς προστατευτικὲς ὁμάδες διὰ μὲν τὴν ἀμινομάδα, ἡ καρβοβενζόξυ- καὶ ἡ π-τολουολο-σουλφονύλο- διὰ δὲ (Tos), τὴν ὑδροσουλφομάδα (-SH), ἡ βενζύλο- ὁμάς. Καὶ οἱ τρεῖς αὐτὲς ὁμάδες ἀπομακρύνονται ἀπὸ τὸ μόριο μὲ ἀναγωγή μὲ Na εἰς ὑγρὰν ἀμμωνία, ἰδιαιτέρως δὲ ἡ καρβοβενζόξυ ὁμάς ἀπομακρύνεται καὶ μὲ ὑδρογόνωσι παρουσιάζει καταλύτου (22). Οἱ καρβοβενζοξυλιώσεις τῶν χρησιμοποιηθέντων ἀμινοξέων καὶ ἐνδιαμέσων πεπτιδίων ἐγένοντο συμφώνως πρὸς τὴν κλασικὴ μέθοδο τῶν Bergmann-Zervas, ὅπως περιγράφεται εἰς τὴν ἀρχικὴν των δημοσίευσιν (22) καὶ εἰς σωρεῖαν ἄλλων μεταγενεστέρων δημοσιεύσεων των. Διὰ τὴν σύνθεσιν τῶν ἐνδιαμέσων πεπτιδίων ἠκολουθήθη τὸσον

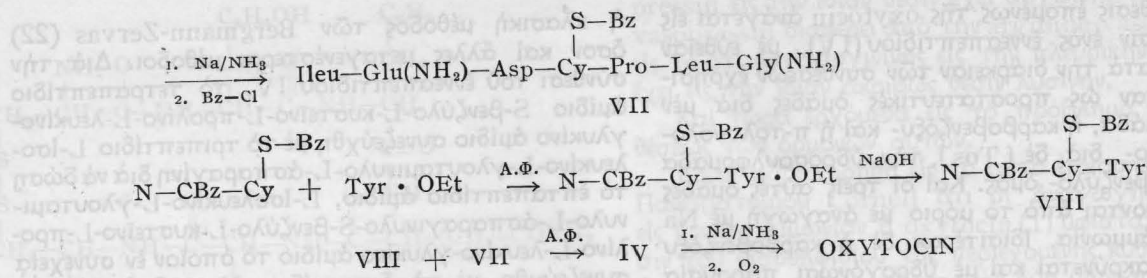
ἡ κλασικὴ μέθοδος τῶν Bergmann-Zervas (22) ὅσον καὶ ἄλλες μεταγενέστεραι μέθοδοι. Διὰ τὴν σύνθεσιν τοῦ ἑνεαπεπτιδίου IV, τὸ τετραπεπτιδίου ἀμίδιο S-βενζύλο-L-κυστεῖνο-L-προλῖνο-L-λευκίνο-γλυκίνο ἀμίδιο συνεζεύχθη μὲ τὸ τριπεπτιδίου L-ισο-λευκίνο-L-γλουταμινυλο-L-ἄσπαραγίνη διὰ τὴν δῶσιν τὸ ἐπταπεπτιδίου ἀμίδιο, L-ισολευκίνο-L-γλουταμινυλο-L-ἄσπαραγινυλο-S-βενζύλο-L-κυστεῖνο-L-προλῖνο-L-λευκίνο-γλυκίνο ἀμίδιο τὸ ὁποῖον ἐν συνεχείᾳ συνεζεύχθη μὲ τὸ διπεπτιδίου, N-καρβοβενζόξυ-S-βενζύλο-L-κυστεῖνο-L-τυροσίνη διὰ τὴν δῶσιν τὸ ποθούμενον ἑνεαπεπτιδίου IV.

Εἰς τὸ κατωτέρω σχῆμα ἀναγράφονται λεπτομερῶς τὰ διάφορα συνθετικὰ στάδια ποῦ ὠδήγησαν εἰς τὴν σύνθεσιν τοῦ ἑνεαπεπτιδίου IV καὶ τελικῶς εἰς τὴν σύνθεσιν τῆς oxytocin (18, 21, 23).



Δι - CBz - κυστεῖνο - διχλωρίδιον



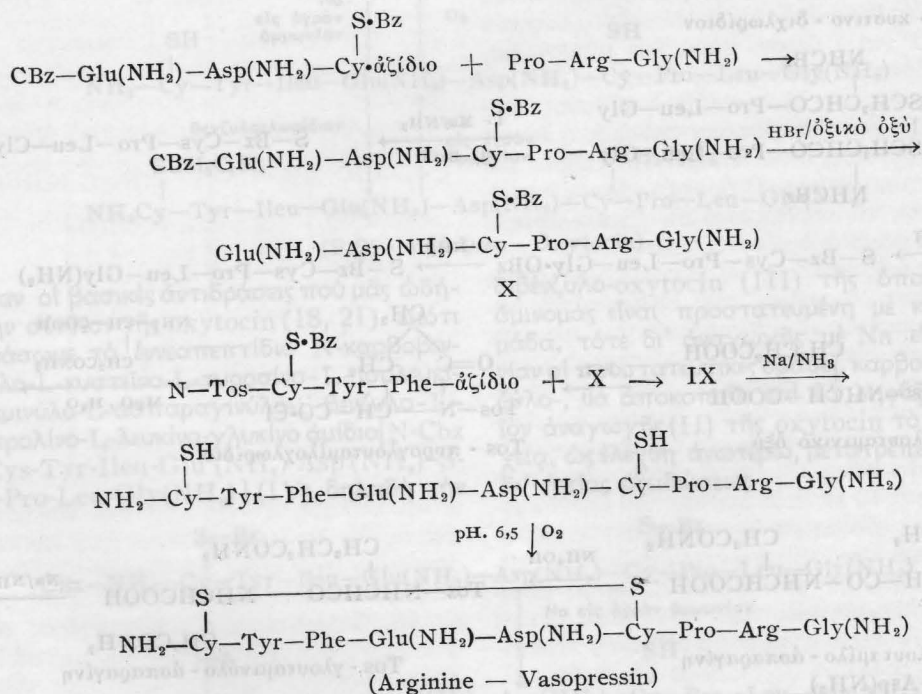


M.A.=μέθοδος μικτών ανυδριτών, A.Φ.=μέθοδος ανυδριτών φωσφόρου, CBZ=καρβοβενζόξυ, Bz=βενζυλο, Tos=π-τολουόλοσουλφονύλο, Na/NH₃=άναγωγή με Na εις υγράν αμωνίαν, OEt=αιθυλεστέη

Ἡ οὕτω ληφθεῖσα συνθετικὴ oxytocin εὐρέθη νὰ ἔχη τὶς ἴδιες ἀκριβῶς φυσικὲς, χημικὲς καὶ βιολογικὲς ιδιότητες ποιοτικῶς καὶ ποσοτικῶς, μὲ τὴν φυσικὴν oxytocin. Ἡ σύνθεσις αὐτὴ ἀποτελεῖ τὴν πρῶτην ἐργαστηριακὴν σύνθεσιν μιᾶς πρωτεϊνορμόνης.

Μετὰ τὴν ἐπιτυχητὴ σύνθεσι τῆς oxytocin ἀνελάβομεν τὴν σύνθεσι τῆς arginine-vasopressin (24, 25, 26). Εἰς τὴν περίπτωσι αὐτῇ, ἀνελήφθη ἡ σύνθεσις τοῦ ἑνεαπεπτιδίου τοῦ ἀντιστοιχοῦντος εἰς τὴν vasopressin, τὸ ὁποῖον ὁμως ἔφερε ὡς προστατευτικὴν ὁμάδα τῆς ἀμινομάδος ὄχι τὴν καρβοβενζόξυ- ἀλλὰ τὴν π-τολουόλοσουλφονύλο-

ομάδα. Διὰ τὴν σύνθεσι τοῦ ἑνεαπεπτιδίου αὐτοῦ δηλαδὴ τοῦ N-π-τολουόλοσουλφονύλο-S-βενζύλο-L-κυστεῖνο-L-τυροσῖνο-L-φαινυλαλανύλο-L-γλουταμινύλο-L-ἀσπαραγινύλο-S-βενζύλο-L-κυστεῖνο-L-προλῖνο-L-ἀργινίνο-γλυκίνο ἀμίδιο [N-Tos-S-βενζύλο-Cys-Tyr-Phe-Glu(NH₂)-Asp(NH₂)-S-βενζύλο-Cys-Pro-Arg-Gly(NH₂)] (IX) δὲν ἠκολουθήθη ἡ μέθοδος ἢ χρησιμοποιοηθεῖσα διὰ τὴν σύνθεσι τοῦ ἑνεαπεπτιδίου τοῦ ἀντιστοιχοῦντος εἰς τὴν oxytocin, διὰ λόγους ποὺ ἐκφεύγουν τοῦ σκοποῦ τοῦ παρόντος ἀρθρου (27, 28). Εἰς γενικὲς γραμμὰς ἡ σύνθεσις ἐγένετο ὡς ἀκολουθῶς (28, 29):



Ἡ οὕτω ληφθεῖσα συνθετικὴ vasopressin εὐρέθη ἐπίσης νὰ ἔχη τὶς ἴδιες φυσικὲς, χημικὲς καὶ βιολογικὲς ιδιότητες ποιοτικῶς καὶ ποσοτικῶς, μὲ τὴν φυσικὴν ὁρμόνη (29).

Ἡ oxytocin καὶ ἡ vasopressin εἶναι δύο ἐνώσεις παραπλησίον χημικῆς συντάξεως ποὺ διαφέρουν ὁμως σημαντικῶς εἰς τὰς βιολογικὰς τῶν ιδιό-

τητας. Ἐφάνη ὡς ἐκ τούτου εἰς ἡμᾶς ἐξαιρετικῶς ἐνδιαφέρον νὰ εὐρωμε τὶς μεταβολὰς ποὺ θὰ ἐπέλθουν εἰς τὶς βιολογικὲς ιδιότητες τῶν ἐνώσεων αὐτῶν, ἂν ἀλλάξωμε κατὰ τι τὴν σύνταξί τους, μὲ σκοπὸ νὰ προσδιορίσωμε ποῖα σχέσις ὑπάρχει μεταξὺ χημικῆς συντάξεως καὶ βιολογικῶν ιδιοτήτων τῶν ἐνώσεων αὐτῶν. Πρὸς τὴν κατεύθυνσιν αὐτῇ

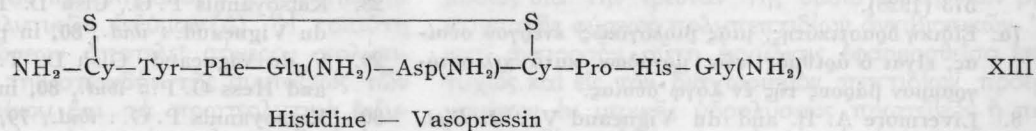
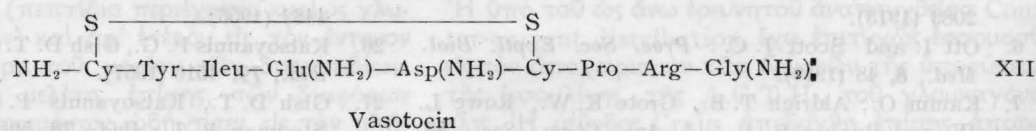
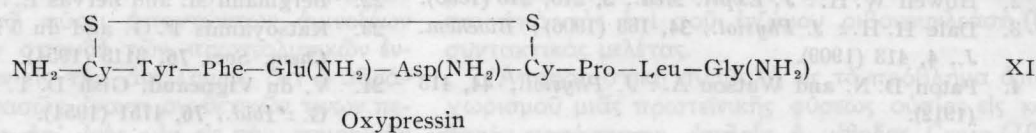
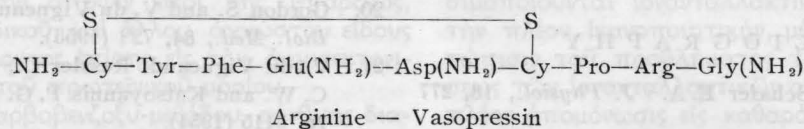
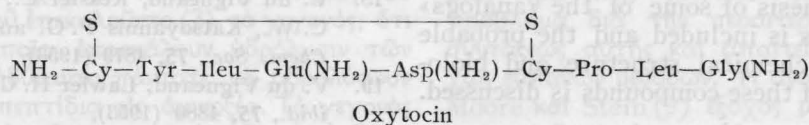
εργαζόμενοι συνεθέσαμε σειράν τοιούτων ενώσεων μερικές τῶν ὁποίων ἀναγράφονται κατωτέρω. Διὰ τὴν σύνθεσιν τῶν ἐνώσεων αὐτῶν, τῶν «analogs» ὅπως λέγονται, ἠκολουθήσαμε μεθόδους εἴτε παρόμοιες πρὸς τὴς χρησιμοποιηθεῖσες διὰ τὴν σύνθεσιν τῆς oxytocin καὶ vasopressin εἴτε νέας τοιαύτας.

Μία τέτοια ἐνωσις εἶναι ἡ ὑφ' ἡμῶν ὀνομασθεῖσα oxypressin (30) (XI). Ἡ ἐνωσις αὐτή, ὅπως καὶ ἡ ὀνομασία της δηλοῖ, εἶναι κατὰ τὸ ἡμισυ oxytocin καὶ κατὰ τὸ ἡμισυ vasopressin. Τὸ δακτυλικὸ τῆς σύστημα (κυκλικὸ πενταπεπτίδιο) εἶναι ὅμοιο μὲ τὸ τῆς vasopressin, ἐνῶ ἡ πλευρική της ἄλυσος εἶναι τὸ τριπεπτίδιο ποῦ φέρει, ὡς πλευρική ἄλυσος, ἡ oxytocin. Ἡ oxypressin εὔρεθη νὰ ἔχη ἰσχυρὰν ὠκυτόκιον δρᾶσιν (ιδιότης τῆς oxytocin) καὶ ἴχνη μόνου ἀγγειοτόνου δρᾶσεως (ιδιότης τῆς vasopressin).

Ἄλλη τέτοια ἐνωσις ποῦ συνεθέσαμε εἶναι ἡ va-

sotocin (31), (XII). Ὄνομα δηλοῖ, εἶναι κατὰ τὸ ἡμισυ vasopressin καὶ κατὰ τὸ ἡμισυ oxytocin, μὲ τὴν διαφορὰν ὅτι εἰς αὐτὴ τὴν περίπτωσιν, τὸ δακτυλικὸ σύστημα τῆς ἐνώσεως εἶναι ὅμοιο μὲ τὸ τῆς oxytocin καὶ ἡ πλευρική ἄλυσος εἶναι ἡ αὐτὴ μὲ τὴν τῆς vasopressin. Ὑπάρχει δηλαδὴ εἰς τὴν vasotocin ἀντίστροφος συνδυασμὸς «ὁρμονικῶν ἡμίσεων» ἀπὸ αὐτὸν ποῦ ἔχει ἡ oxypressin. Καὶ ἡ vasotocin ἔχει ὁρμονικὰς ιδιότητες, χαρακτηριστικῶς δὲ ἐντονον ἀγγειοτόνον δρᾶσιν.

Μία ἄλλη τέλος ἐνωσις, ποῦ παρασκευάσαμε, εἶναι ἡ histidine-vasopressin (32), (XIII). Ἡ ἐνωσις αὐτὴ ἔχει σύνταξιν ὁμοία πρὸς τὴν vasopressin, μὲ τὴν διαφορὰν ὅτι εἰς τὴν πλευρικήν ἄλυσον ἀντὶ τοῦ ἰσχυρῶς βασικοῦ ἀμινοξέος, ἀργινίνης, ἔχει τὸ λίαν ἀσθενῶς βασικὸν ἀμινοξύ, ἰστιδίνη. Ἡ histidine-vasopressin ἔχει ἴχνη μόνου ἀγγειοτόνου δρᾶσεως.



Θὰ ἦταν πρόωρον νὰ διατυπώσωμε, ἐπὶ τοῦ παρόντος, γενικὸ κανόνα διέποντα τὴς σχέσεις μεταξὺ χημικῆς συντάξεως καὶ βιολογικῶν ιδιοτήτων τῶν ἄνωτέρω ἐνώσεων. Οὐχ ἤττον ὁμως δὲν δυνάμεθα νὰ παραβλέψωμε τὸ γεγονός ὅτι ἀπὸ τὰς προαναφερθεῖσας ἐνώσεις ἐκεῖνες ποῦ ἔχουν βασικὸν ἀμινοξύ εἰς τὴν πλευρικήν ἄλυσον ἔχουν ἀγγειοτόνους ιδιότητες. Οὕτω, ἡ oxytocin καὶ ἡ oxypressin, ποῦ στεροῦνται βασικοῦ ἀμινοξέος εἰς τὴν πλευρικήν ἄλυσον καὶ ἡ histidine-vasopressin, ποῦ ἔχει ἕνα λίαν ἀσθενὲς βασικὸν ἀμινοξύ εἰς τὴν πλευρικήν ἄλυσον, ἔχουν ἴχνη μόνου ἀγγειοτόνου δρᾶσεως, ἐν ἀντιθέσει πρὸς τὴν arginine-vasopressin, lysine-vasopressin καὶ vasotocin ποῦ ἔχουν ἰσχυρῶς βασικὰ ἀμινοξέα εἰς τὴν πλευρικήν ἄλυσον καὶ ἔχουν

ἐντόνους ἀγγειοτόνους ιδιότητες. Ἐπιπροσθέτως, ἡ arginine-vasopressin, ποῦ ἔχει τὸ πλέον βασικὸν ἀμινοξύ, τὴν ἀργινίνη, εἰς τὴν πλευρικήν ἄλυσον ἔχει ἰσχυρότερες ἀγγειοτόνους ιδιότητες ἀπὸ τὴν lysine-vasopressin, τῆς ὁποίας τὸ βασικὸν ἀμινοξύ, ἡ λυσίνη, εἶναι ὀλιγώτερο βασικὸ τῆς ἀργινίνης. Ἡ lysine-vasopressin, ἐν συνεχείᾳ, ἔχει ἀσθενέστερες ἀγγειοτόνους ιδιότητες ἀπὸ τὴν histidine-vasopressin, τῆς ὁποίας τὸ βασικὸν ἀμινοξύ, ἡ ἰστιδίνη, ἔχει ἀσθενέστατον βασικὸν χαρακτήρα.

Δυνάμεθα ἐπομένως νὰ ἐξαγάγωμε τὸ ἀσφαλὲς συμπέρασμα ὅτι ἡ ὑπαρξὶς βασικοῦ ἀμινοξέος εἰς τὴν πλευρικήν ἄλυσον τῶν ἐνώσεων αὐτῶν, εἶναι ἀπαραίτητος προϋπόθεσις διὰ νὰ ἔχη ἡ ἐνωσις ἀγ-

γιοτόνους ιδιότητες και μάλιστα όσον βασικότερον είναι τὸ ἀμινοξύ τῆς πλευρικῆς ἀλύσου τόσον ἰσχυρότερες εἶναι οἱ ἀγγειοτόνοι ιδιότητες τῆς ἐνώσεως.

[Τὸ ἄρθρο αὐτὸ ἄς θεωρηθῆ σάν μία ἐκδήλωση τιμῆς καὶ σεβασμοῦ πρὸς τὸν καθηγητὴ κ. Λεωνίδα Ζέρβαν, ὑπὸ τὸν ὁποῖον ὁ συγγραφεὺς εἶχε τὴν ἐξαιρετικὴν τύχην νὰ ἐργασθῆ καὶ νὰ καθοδηγηθῆ εἰς τὸν δρόμον τῆς χημείας τῶν πεπτιδίων].

S U M M A R Y

Hormones of the Posterior Pituitary

By PANAYOTIS G. KATSOYANNIS

A short review of the chemistry and physiology of the posterior pituitary hormones is presented. The synthesis of some of the «analogs» of these hormones is included and the probable relation between chemical structure and biological properties of these compounds is discussed.

B I B L I O G R A P H Y

1. Oliver G. and Schafer E. A. : *J. Physiol.*, **18**, 277 (1895).
2. Howell W. H. : *J. Exptl. Med.*, **3**, 215, 245 (1898).
3. Dale H. H. : *J. Physiol.*, **34**, 163 (1906); *Biochem. J.*, **4**, 413 (1909).
4. Paton D. N. and Watson A. : *J. Physiol.*, **44**, 413 (1912).
5. R. von den Velden : *Berlin Klin. Wochschr.*, **50**, 2083 (1913).
6. Ott I. and Scott J. C. : *Proc. Soc. Exptl. Biol. Med.*, **8**, 48 (1910).
7. Kamm O., Aldrich T. B., Grote K. W., Rowe L. W. and Bugbee E. P. : *J. Am. Chem. Soc.*, **50**, 573 (1928).
- 7a. Εἰδικὴ δραστηκότης, μιᾶς βιολογικῶς ἐνεργοῦ οὐσίας, εἶναι ὁ ἀριθμὸς τῶν μονάδων κατὰ χιλιοστόγραμμα βάρους τῆς ἐν λόγῳ οὐσίας.
8. Livermore A. H. and du Vigneaud V. : *J. Biol. Chem.*, **180**, 365 (1949).
9. Burn J. M. : *Quart. J. Pharm. Pharmacol.*, **4**, 517 (1931).
10. Kunkel H. G. : *In «Methods of Biochemical Analysis»*, vol. I, D. Glick, Ed., *Interscience Publishers, Inc.*, New York p. 141.
11. Turner R. A., Pierce J. G. and V. du Vigneaud : *J. Biol. Chem.*, **191**, 21 (1951).
12. Dekanski J. : *Brit. J. Pharmacol.*, **7**, 567 (1952).
13. Moore S. and Stein W. H. : *J. Biol. Chem.*, **178**, 53 (1949).
14. Sanger F. : *Biochem. J.*, **39**, 507 (1945).
15. Waley S. G. and Watson J. : *J. Chem. Soc.*, 2394 (1951).
16. V. du Vigneaud, Ressler C. and Trippet S. : *J. Biol. Chem.*, **205**, 949 (1953).
17. Edman P. : *Acta Chem. Scand.*, **4**, 283 (1950).
- 17a. Ἡ συμβολικὴ παράσταση τῶν ἀμινοξέων, ἡ προαθεῖσα ὑπὸ Brand E, Saidel L. J., Goldwater W. H., Kassell B. and Ryan F. J., *J. Am. Chem. Soc.*, **67**, 1524 (1945), χρησιμοποιεῖται εἰς τὴν παρούσαν δημοσίευσιν.
18. V. du Vigneaud, Ressler C., Swan J. M., Roberts C. W., Katsoyannis P. G. and Gondon S. : *J. Am. Chem. Soc.*, **75**, 4879 (1953).
19. V. du Vigneaud, Lawler H. C. and Popenoe E. A. : *ibid.*, **75**, 4880 (1953).
20. Gordon S. and V. du Vigneaud. : *Proc. Soc. Exptl. Biol. Med.*, **84**, 723 (1953).
21. V. du Vigneaud, Ressler C., Swan J. M., Roberts C. W. and Katsoyannis P. G. : *J. Am. Chem. Soc.*, **76**, 3115 (1954).
22. Bergmann M. and Zervas L. : *Ber.*, **65**, 1192 (1932).
23. Katsoyannis P. G. and du Vigneaud V. : *J. Am. Chem. Soc.*, **76**, 3113 (1954).
24. V. du Vigneaud, Gish D. T. and Katsoyannis P. G. : *Ibid.*, **76**, 4751 (1954).
25. Katsoyannis P. G. and du Vigneaud V. : *ibid.*, **78**, 4482 (1956).
26. Katsoyannis P. G., Gish D. T. and du Vigneaud V. : *ibid.*, **79**, 4516 (1957).
27. Gish D. T., Katsoyannis P. G., Hess G. P. and Stedman R. J. : *Ibid.*, **78**, 5954 (1956).
28. Katsoyannis P. G., Cish D. T., Hess G. P. and V. du Vigneaud. : *ibid.*, **80**, in press (1958).
29. V. du Vigneaud, Gish D. T., Katsoyannis P. G. and Hess G. P. : *ibid.*, **80**, in press (1958).
30. Katsoyannis P. G. : *ibid.*, **79**, 109 (1957).
31. Katsoyannis P. G. and V. du Vigneaud. : *ibid.*, **80**, in press (1958).
32. Katsoyannis P. G. and V. du Vigneaud. : *Arch. Biochem. Biophys.*, in press (1958).

(Εισήχθη τῆ 16ῆ Ἰουλίου 1958)

Πεπτιδική σύνθεσις

Υπό Δ. ΘΕΟΔΩΡΟΠΟΥΛΟΥ

Εὐθύς ὡς διεπιστώθη ὅτι ὁ πεπτιδικὸς δεσμὸς ἀποτελεῖ τὸ θεμελιώδες γνῶρισμα τῆς ἀρχιτεκτονικῆς κατασκευῆς τοῦ πρωτεϊνικοῦ μορίου, ἢ ἀνεύρεσις μεθόδων συνθέσεως πεπτιδίων κατέστη μία τῶν ἐντονωτέρων ἐπιδιώξεων τῶν ὀργανικῶν χημικῶν.

Πλείστοι ὅσαι μέθοδοι ἐπροτάθησαν μέχρι σήμερον (1). Ἄδιαφιλονείκητον ἐν τούτοις προτεραιότητα κατέχει ἡ καρβοβενζοξυ-μέθοδος τῶν Bergmann-Zέρβα (2), ἡ ὁποία ἀπετέλεσε τὴν ἀπαρχὴν τῆς ραγδαίας ἐξελίξεως τῆς πρωτεϊνικῆς χημείας.

Ὡς βασικὸν ἐπιχείρημα κατὰ τῆς θεωρίας τοῦ πεπτιδικοῦ δεσμοῦ ἐπεκαλοῦντο (3) τὸ γεγονός, ὅτι τὰ ἔνζυμα, τὰ ὁποῖα ἐπροκάλουν ὑδρολύσιν τῶν πρωτεϊνῶν, δὲν ἠδύναντο πάντοτε νὰ ὑδρολύσουν ἀπλᾶ συνθετικὰ πεπτιδία εἰς ἀμινοξέα. Τὸ γεγονός τοῦτο ἐνίσχυε τὴν ἀποψιν περὶ τῆς ὑπάρξεως, πλὴν τοῦ πεπτιδικοῦ, καὶ ἄλλου ἀγνώστου εἴδους δεσμοῦ, συμβάλλοντος ἐπίσης εἰς τὴν ἀρχιτεκτονικὴν κατασκευὴν τοῦ πρωτεϊνικοῦ μορίου.

Ἡ διὰ τῆς καρβοβενζοξυ-μεθόδου σύνθεσις διαφόρων πεπτιδίων-ὑποστρωμάτων, ἀπαρτιζομένων ἐκ πλείστων ἐν τῇ φύσει ἀπαντώντων ἀμινοξέων καὶ ἡ ἐπὶ τούτων σπουδῆ τῶν πρωτεολυτικῶν ἐνζύμων, ὠδήγησαν εἰς τὴν ἀντίληψιν, ὅτι ἡ ἀδρᾶνεια τῶν πρωτεϊνῶν, ἔναντι συνθετικῶν τινῶν πεπτιδίων, ὠφείλετο ἀφ' ἑνὸς μὲν εἰς τὴν ποιοτικὴν σύστασιν αὐτῶν, (πεπτιδία περιέχοντα κυρίως γλυκίνην καὶ ἀλανίνην) καὶ ἀφ' ἑτέρου εἰς τὸν ἔντονον πολικὸν χαρακτῆρα τοῦ μορίου τῶν διπεπτιδίων.

Ἡ ἐνζυματικὴ μελέτη, ἐπίσης, τῶν διαφόρων πεπτιδίων-ὑποστρωμάτων ὠδήγησεν εἰς τὴν πλήρη διαλεύκανσιν τοῦ προβλήματος τῆς ἐκλεκτικότητος τῶν πρωτεολυτικῶν ἐνζύμων (4). Ἡ τοιαύτη συσσώρευσις γνώσεων ἀποτελεῖ σήμερον πολὺτιμον συμβολὴν εἰς τὴν σπουδὴν τῆς συντάξεως τῶν πρωτεϊνῶν, δεδομένου ὅτι τὰ πρωτεολυτικὰ ἔνζυμα ἀποτελοῦν, πρὸς τὸ παρόν, τὰ μοναδικὰ ἀναλυτικὰ ἀντιδραστήρια διὰ τὴν ἐκλεκτικὴν ἀποικοδόμησιν πεπτιδικῶν ἀλύσεων.

Πράγματι, κατὰ τὴν διάρκειαν τῶν τελευταίων ἐτῶν, πλείστα ἐρευνητικὰ κέντρα ἀσχολοῦνται μὲ τὴν μελέτην τῆς συντάξεως διαφόρων πρωτεϊνῶν καὶ πολυπεπτιδίων.

Διὰ τῆς ἐπιπόνου ἐρεύνης τῶν πρωτεϊνικῶν χημικῶν, ἡ σύνταξις τῶν ὁρμονῶν ἰνσουλίνης (5), Α.С.Т.Н. (6) (ἀδρενοκορτικοτροπίνη), τοῦ ἀντιβιοτικοῦ βασιτρασίνης (7) καὶ κατὰ μέγα μέρος τοῦ ἐνζύμου ριβονουκλεάση (8) ἔχουν διαλευκανθῆ.

Ἡ ἀπομόνωσις τῶν πρωτεϊνῶν εἰς καθαρὰν κατάστασιν διὰ διαφόρων, εἰ δυνατόν, μεθόδων ἀποδεδειγμένης διαχωριστικῆς ἰκανότητος, ἀποτελεῖ ἀπαραίτητον προϋπόθεσιν πρὸς ἀποφυγὴν περιπε-

τειῶν κατὰ τὴν σπουδὴν τῆς συντάξεως τῶν ὡς ἄνω μεγαλομοριακῶν ἐνώσεων.

Ὅταν πλείστοι ἐνδείξεις συνηγοροῦν ὑπὲρ τῆς ὁμοιογενείας τῆς ὑπὸ μελέτην πρωτεΐνης, ἢ καλλίτερον ὅταν διὰ τῆς ἐφαρμογῆς διαφόρων μεθόδων, δὲν διαπιστοῦται ἡ παρουσία ξένων προσμίξεων, τότε μόνον συνιστᾶται, ὡς τὸ ἐπόμενο βῆμα, προσδιορισμὸς τοῦ μοριακοῦ βάρους καὶ ποιοτικὸς καὶ ποσοτικὸς προσδιορισμὸς τῶν ἀμινοξέων τῶν περιεχομένων εἰς τὸ πρωτεϊνικὸν μόριον.

Ὁ ποσοτικὸς προσδιορισμὸς τῶν ἀμινοξέων μιᾶς πρωτεΐνης ἀποτελεῖ θεμελιώδους σημασίας πρόβλημα διὰ τὴν περαιτέρω διαλεύκανσιν τῆς συντάξεως αὐτῆς καὶ ἀπαιτεῖ τὴν ἐφαρμογὴν ἐξόχως εὐπαθῶν μεθόδων. Ἡ ἀναπτυχθεῖσα ὑπὸ τῶν Moore καὶ Stein (9) ἔξοχος μέθοδος, καθ' ἣν χρησιμοποιοῦνται ἰονανταλλακτικαὶ ρητῖναι, ἀποτελεῖ τὴν πλέον ἱκανοποιητικὴν, μέχρι σήμερον, ἀντιμετώπισιν τοῦ προβλήματος τούτου. Διὰ τῆς χρήσεως τῶν ἰονανταλλακτικῶν ρητινῶν ἐπετεύχθη ἐπὶ πλέον ἀπομόνωσις εἰς καθαρὰν κατάστασιν διαφόρων πρωτεϊνῶν καὶ πολυπεπτιδίων, ὡς διαπιστοῦται ἀπὸ τὰς ἐπὶ τοῦ ἐνζύμου ριβονουκλεάση (8) συντακτικᾶς μελέτας.

Ἀποφασιστικὴ συμβολὴ εἰς τὸ πρόβλημα ἀποχωρισμοῦ μιᾶς πρωτεϊνικῆς φύσεως οὐσίας εἰς καθαρὰν κατάστασιν, ὑπῆρξε ἡ μέθοδος Craig (10). Ἡ ὑπὸ τοῦ ὡς ἄνω ἐρευνητοῦ ἀναπτυχθεῖσα Counter-current distribution, ἔχει ἐπιτυχῶς ἐφαρμοσθῆ εἰς τὸν ἀποχωρισμὸν τῶν ὁρμονῶν τῆς ὑποφύσεως, τῆς ἰνσουλίνης, τῆς Α.С.Т.Н., τοῦ γλουκαγόνου κλπ. Ἡ μέθοδος Craig ἀπεδείχθη ἐπίσης ἀπαράμιλλος διὰ τὴν ἔρευναν τῆς ὁμοιογενείας τῶν βακτηριακῆς φύσεως πολυπεπτιδίων ἀντιβιοτικῶν. Ἡ κατ' ἀντιρροπὴν αὕτη ἐκχύλισις ἐφαρμοσθεῖσα ἐπιτυχῶς καὶ εἰς τὸν διαχωρισμὸν πεπτιδίων προερχομένων ἐκ μερικῆς ὑδρολύσεως πρωτεϊνῶν ἢ πολυπεπτιδίων, ὠδήγησεν εἰς τὴν ἀνεύρεσιν τῆς συντάξεως τῆς τυροσιδίνης (11) «Α» καὶ «Β», τῆς πολυμυξίνης «Β» (12), τῆς βασιτρασίνης (7), κλπ.

Τὸ διαρκῶς αὐξανόμενον ἐνδιαφέρον τῶν πρωτεϊνικῶν χημικῶν καὶ ἡ ὑπ' αὐτῶν ἐπισταμένη μελέτη τῆς συντάξεως διαφόρων βιολογικῆς σημασίας πρωτεϊνικῶν ἐνώσεων σκοπὸν ἔχει τὴν κατανόησιν τῆς σχέσεως, ἡ ὁποία πρέπει νὰ ὑφίσταται μεταξὺ τῆς συντάξεως μιᾶς πρωτεΐνης καὶ τῆς δράσεως αὐτῆς ἐπὶ τοῦ ζῶντος κυττάρου. Αὕτη καθ' ἑαυτὴ ἢ φύσις τοῦ προβλήματος μαρτυρεῖ ὅτι δὲν εἶναι δυνατὴ ἡ ἐξεύρεσις ἀπλῆς λύσεως τοῦ θεμελιώδους καὶ συναρπαστικοῦ τούτου κεφαλαίου τῆς συγχρόνου ἐπιστήμης.

Πράγματι, ἀπὸ τὰ ἀποτελέσματα τῶν μέχρι τοῦδε μελετῶν ἐπὶ τῆς συντάξεως διαφόρων πρω-

τεινικής φύσεως ενώσεων δεν έχουν, εϊσέτι προκύψει κανόνες, οί όποίοι δύνανται νά συσχετίσουν φυσιολογικάς ιδιότητάς με καθωρισμένην διάταξιν άμινοξέων.

Τοιαύτη συσχέτισις δεν φαίνεται πιθανή νά προκύψη έως ότου περισσότερα πειραματικά δεδομένα από διαφόρους πρωτεϊνας καταστούν δυνατά. Η τοιαύτη δέ συσσώρευσις γνώσεων άποτελεί άναμφισβητήτως, θεμελιώδες έργον τών πρωτεϊνικών χημικών.

Έν τούτοις, έχει καταστή σήμερον σαφές ότι και ή συνθετική πεπτιδική χημεία δύναται τά μέγιστα νά συμβάλη εις τήν επίλυσιν του προβλήματος συντάξεως και βιολογικής δράσεως τών πρωτεϊνικής φύσεως ενώσεων. Η σύνθεσις, π. χ. διαφόρων βιολογικώς ενεργών πολυπεπτιδίων, όχι μόνον τελικώς άποδεικνύει τήν όρθότητα τής αναλυτικής εργασίας, αλλά παρέχει τήν δυνατότητα τής συνθέσεως και αναλόγων ενώσεων, με καθωρισμένας τροποποιήσεις του μορίου αυτών. Η μελέτη τής βιολογικής δράσεως τών τελευταίων τούτων ενώσεων δύναται νά παράσχη πολυτίμους πληροφορίας έν σχέσει με τήν επίδρασιν τής συντάξεως επί τής έμφανίσεως τών βιολογικών δράσεων.

Η σύνθεσις τών όρμονών τής ύποφύσεως, όξυτοκίνης (13), βασοπρεσίνης (14) και τών παραγώγων αυτών (15), άποτελεί άναμφισβητήτως μίαν νέαν και έλπιδοφόρον αντιμετώπισιν του προβλήματος τούτου.

Από τās μέχρι τουδε μελετηθείσας ομάδας πολυπεπτιδίων άπαντώντων εις τήν φύσιν, ή τών αντιβιοτικών βακτηριακής προελεύσεως, άποτελεί μίαν όλως ένδιαφέρουσαν ομάδα.

Τά χαρακτηριστικά γνωρίσματα του πεπτιδικού αυτών μορίου είναι τά εξής :

1ον. Η κυκλική σύνταξις.

2ον. Η ύπαρξις άμινοξέων D-στεροχημικής διατάξεως. Εις τήν βασιτρασίνη, π. χ., έπεβεβαιώσαμε τήν διάταξιν L-ισολευκίνο-D-φαινυλαλανίνη (16).

3ον. Η ύπαρξις άμινοξέων μη διαπιστωθέντων μέχρι τουδε εις φυσικάς πρωτεϊνας, ως δι-άμινοβουτυρικόν όξύ (12).

4ον. Η ύπαρξις δεσμών διαφόρων τών μέχρι τουδε γνωστών α-πεπτιδικών δεσμών.

Ότω εις τó αντιβιοτικόν βασιτρασίνη, ως διεπιστώθη υπό του L. C. Craig (17), ή ε-άμινομάς τής λυσίνης εύρέθη πεπτιδικώς ήνωμένη, ένζ εις όλας τās φυσικάς πρωτεϊνας ή άμινομάς αύτη άπαντᾷ ως έλευθέρα. Ός δέ υπό τών Bergmann-Zέρβα διεπιστώθη (4), ή ε-άμινομάς τής λυσίνης ως έλευθέρα πρέπει άπαραιτήτως νά είναι έλευθέρα διά τήν υπό τής θρυψίνης ύδρόλυσιν λυσίνο-πεπτιδίων.

Η ύπαρξις του «άνωμάλου» αυτού ε-πεπτιδικού δεσμού εις τó αντιβιοτικόν βασιτρασίνη και ειδικώς ή άκριβής διάταξις τών άμινοξέων τών ήνωμένων με τās δύο άμινομάδας τής λυσίνης, άπετέλεσαν αντικείμενον ιδιαιτέρας ανακοινώσεώς μας μετά του L. C. Craig (18).

Η ως άνω ανακοινώσις μας μετά του κ. Craig έθεσε τέρμα εις τήν διαφοράν άπόψεων έν σχέσει με

τήν άκριβή διάταξιν τών άμινοξέων περι τήν λυσίνην εις τήν βασιτρασίνη. Η διαφορά άπόψεων συνίστατο εις τó γεγονός ότι δύο έρευνητικά κέντρα (7) εργαζόμενα συγχρόνως επί τής συντάξεως του ως άνω αντιβιοτικού, έπρότεινον δύο εκ διαμέτρου αντιθέτους διατάξεις.

Διά τής συνθέσεως προτύπων πεπτιδίων περιλαμβανόντων άμινοξέα με τās αντιθέτους προτεινόμενας διατάξεις και σπουδής αυτών, διαπιστώσαμεν ως όριστικήν τήν διάταξιν α-ισολευκίνο-(ε-άσπαράγινο)-λυσίνη.

Η ύπαρξις του άνωμάλου αυτού είδους του πεπτιδικού δεσμού εις βασιτρασίνην έδημιούργησε τó ένδιαφέρον διά τήν περαιτέρω μελέτην τής βιολογικής σημασίας τών ε-πεπτιδίων, τήν σύνθεσιν τών όποίων πρό τινος άνεκοίνωσα (19). Ήδη μελετάται ή πιθανή δράσις αυτών ως άδρανοποιητών διαφόρων πρωτεολυτικών ένζύμων και ειδικώς του ένζυμου θρυψίνης.

Η ύπαρξις τών πολυπεπτιδίων αντιβιοτικών ώδήγησεν εις πολλές προσπαθείας συνθέσεως αντιβακτηριακής δράσεως ενώσεων πεπτιδικής φύσεως. Άξιόλογος εργασία έγινετο υπό τών Harris και Work (20), οί όποίοι εξέλεξαν ως έναρκτήριον σημείον τήν γνωστήν σειράν τών άμινοξέων εις τήν γραμμισιδίνη S. Συνέθεσαν πρώτον, τó πενταπεπτιδίον βαλυνο-όρνιθινο-λευκίνο-φαινυλαλανινο-προλίνη εξ άμινοξέων L-στεροχημικής διατάξεως και δεύτερον, τó αυτό ως άνω πενταπεπτιδίον με φαινυλαλανίνη D-στεροχημικής διατάξεως.

Αμφότερα τά ως άνω πεπτιδία εύρέθη νά παρουσιάζουν έλαχίστην αντιβακτηριακήν δράσιν, άποδεικνυομένου κατ' αυτών τον τρόπον ότι ή βακτηριακή δράσις έπηρεάζεται άμέσως εκ τής κυκλικής συντάξεως, εις τήν περίπτωσιν τών πεπτιδίων αντιβιοτικών.

Μεταξύ δέ τών συνθετικών διαστεροεισομερών δεν διεπιστώθη αξιόλογος διαφορά εις τήν βιολογικήν αυτών δράσιν. Παρ' όλον ότι δύναται τελικώς νά άποδειχθή ότι ή ύπαρξις τών D-στεροχημικής διατάξεως άμινοξέων δεν είναι καθόλου άσχετος με τήν έμφάνισιν τών βιολογικών δράσεων τών ως άνω αντιβιοτικών, ή παρουσία τών άμινοξέων D-στεροχημικής διατάξεως πρέπει νά μνημονεύεται πρós τó παρόν, ως ένα γεγονός άνευ σαφούς έπεξηγήσεως.

Κατά τον Hotchkiss (21) τά D-άμινοξέα τών πολυπεπτιδίων αντιβιοτικών δεν είναι άπαραίτητα διά τήν έμφάνισιν τής αντιβακτηριακής αυτών δράσεως, αλλά ή παρουσία των όφείλεται μάλλον εις τήν σταθερότητα τήν όποιαν προσδίδουν εις τó μόριον έναντι ένζυματικών άποικοδομήσεων. Είναι δέ ένδιαφέρον από τής άπόψεως αυτής τó γεγονός, ότι τά ως άνω αντιβιοτικά πεπτιδικής φύσεως — από τά μέχρι τουδε μελετηθέντα — δεν προσβάλλοντα υπό τών γνωστών πρωτεολυτικών ένζύμων.

Τέλος, ή σημασία τών άμινοξέων D-στεροχημικής διατάξεως διά τó κλείσιμον του δακτυλίου του μορίου των στηρίζεται εις τινας περιπτώσεις και επί πειραματικών δεδομένων.

ὡς ἤδη ἐμνημονεύθη, ἡ καρβοβενζοξική ὁμάς ἀφαιρεῖται διὰ καταλυτικῆς ὑδρογονώσεως (2) ἢ καὶ δι' ἀναγωγῆς μὲ νάτριοι εἰς ὑγρὰν ἀμμωνίαν (26) εἰς τὰς περιπτώσεις πεπτιδίων κυστίνης ἢ κυστεΐνης.

Ἐν γνώσει τοῦ γεγονότος τούτου γενᾶται τὸ ἐρώτημα κατὰ πόσον εἶναι δυνατὴ ἡ σύνθεσις πολυπεπτιδίων περιεχόντων ὄχι μόνον μίαν, ὡς ἡ ὀξυτοκίνη, ἀλλὰ περισσοτέρας «γεφύρας» κυστίνης εἰς τὸ μόριον.

Μὲ ἄλλους λόγους ἐπειδὴ ἡ «γέφυρα» θείου, —S—S—, τῆς κυστίνης διασπᾶται κατὰ τὴν διάρκειαν τῆς ἀπομακρύνσεως τῆς προστατευτικῆς ὁμάδος, ἡ σύνθεσις πολυπεπτιδίων περιεχόντων περισσοτέρας τῆς μίας «γεφυρῶν» κυστίνης, ὡς π. χ. ἡ ἰνσουλίνη, εἶναι ἐξαιρετικῶς δύσκολος ἢ ἀδύνατος.

Παρίσταται συνεπῶς ἀνάγκη εἰσαγωγῆς καὶ νέας προστατευτικῆς ὁμάδος τῶν ἀμινομάδων, ἡ ὁποία νὰ δύναται νὰ ἀπομακρυνθῆ ἄνευ διασπάσεως ὑφισταμένων «γεφυρῶν» κυστίνης, ἐπίσης, ἄνευ διασπάσεως τῶν πεπτιδικῶν δεσμῶν καὶ συγχρόνως ἡ ὁμάς αὕτη νὰ προσδίδῃ εἰς τὰ διάφορα πεπτιδοπαράγωγα μεγαλύτεραν εὐδιαλυτότητα ἔναντι τῶν διαφόρων ἄλλων προστατευτικῶν ὁμάδων.

Ἡ νέα αὕτη μέθοδος καθ' ἣν χρησιμοποιεῖται ἡ τριτυλομάς διὰ τὴν παροδικὴν προστασίαν τῶν ἀμινομάδων, διαμορφωθείσα εἰς τὸ Ἔργαστήριον Ὀργανικῆς Χημείας τοῦ Πανεπιστημίου Ἀθηνῶν καὶ ὀνομασθεῖσα «τριτυλομέθοδος» (27) φέρεται ἐκπληροῦσα τὰς ὡς ἄνω προϋποθέσεις.

S U M M A R Y

Peptide Synthesis

By D. THEODOROPOULOS

Among the numerous contributions to the development of methods for peptide synthesis the carbobenzoxy-method of Bergmann and Zervas has been proved of an outstanding importance. The potentialities of the carbobenzoxy-method are indicated by its use for the synthesis of numerous peptides involving all the natural occurring amino acids and more recently, for the synthesis of various polypeptides of important biological function.

B I B Λ Ι Ο Γ Ρ Α Φ Ι Α

1. Sheehan J. and Frank V.: *J. Am. Chem. Soc.* **71**, 1856 (1949); Kidd D. and King F.: *Nature* **162**, 776 (1948); Wieland and Schafer: *Ann.* **576**, 104 (1952); Anderson G. and McGregor: *J. Am. Chem. Soc.* **79**, 6180 (1957); Sheehan J. and Ding-Djung Yang: *J. Am. Chem. Soc.* **80**, 1154 (1958).
2. Bergmann M. and Ζέρβας Α.: *Ber.* **62**, 1192 (1932).
3. Oppenheimer C.: *Die Fermente und ihre Wirkung, the Hague*, 1936, Supplement, p. 618 et seq.

4. Bergmann M., Ζέρβας Α. καὶ Ross J.: *J. Biol. Chem.* **111**, 245 (1935); Bergmann M., Ζέρβας Α. καὶ Fruton J.: *J. Biol. Chem.* **115**, 593 (1936).
5. Sanger F. and Tuppy H.: *Biochem. J.*, **49**, 481 (1951); Ryle A., Sanger F., Smith L. and Kitai R.: *Biochem. J.* **60**, 541 (1955).
6. Bell P.: *J. Am. Chem. Soc.* **76**, 5565 (1945); White F. and Landmann A.: *J. Am. Chem. Soc.* **77**, 1711 (1955).
7. Hausmann W. Weisiger, J. and Craig L. C.: *J. Am. Chem. Soc.* **77**, 723 (1955); Lockart J. and Abraham E.: *Biochem. J.* **58**, 663 (1954).
8. Hirs C., Stein W. and Moore S.: *J. Biol. Chem.* **221**, 151 (1956); Redfield R. and Anfinsen C.: *J. Biol. Chem.* **221**, 385 (1956).
9. Moore S. and Stein W.: *Cold. Spr. Harb. Symp. Quant. Biol.* **14**, 179 (1950).
10. Craig L. C. and Craig D.: *Technique of Organic Chemistry*, (Ed. Weissberger A.) Vol. 3, 1950, p. 171.
11. Paladini A. and Craig L. C.: *J. Am. Chem. Soc.*, **73**, 1887 (1954).
12. Hausmann W.: *J. Am. Chem. Soc.* **78**, 3663 (1956).
13. Du Vigneaud V., Ressler C., Swann J., Roberts C., Κατσόγιαννης Π. καὶ Gordon S.: *J. Am. Chem. Soc.* **75**, 4879 (1953).
14. Κατσόγιαννης Π., Gish D. and Du Vigneaud V.: *J. Am. Chem. Soc.* **79**, 4516 (1957).
15. Κατσόγιαννης Π.: *J. Am. Soc.*, **79**, 109 (1957); Ressler C., and Du Vigneaud V.: *J. Am. Chem. Soc.* **79**, 4511 (1957).
16. Θεοδωρόπουλος Α. καὶ Craig L. C.: *J. Org. Chem.* **20**, 1169 (1955).
17. Weisiger J., Hausmann W. and Craig L. C.: *J. Am. Chem. Soc.* **77**, 731 (1955).
18. Θεοδωρόπουλος Α. καὶ Craig L. C.: *J. Org. Chem.* **21**, 1376 (1956).
19. Θεοδωρόπουλος Α.: *J. Org. Chem.* **23**, 140 (1956).
20. Harris J. and Work I.: *Biochem. J.* **46**, 592 (1950).
21. Hotchkiss D.: *Adv. Enzym.* **4**, 153 (1944).
22. Schwyzer R. and Sieber P.: *Helv. Chim. Acta* **40**, 624 (1957).
23. Bergmann M., and Ζέρβας Α.: *Z. Physiol. Chem.* **221**, 51 (1933); Bergmann M. and Ζέρβας Α.: *J. Biol. Chem.* **113**, 341 (1936); Bergmann M., Ζέρβας Α. καὶ Fruton J.: *J. Biol. Chem.* **111**, 225 (1935); Bergmann M., Ζέρβας Α., Fruton J., Schneider F. and Schleich H.: *J. Biol. Chem.* **109**, 325 (1935); Bergmann M., Ζέρβας Α. καὶ Greenstein J.: *Ber.* **65**, 1692 (1932); Bergmann M., Ζέρβας Α. καὶ Rinke H.: *Z. Physiol. Chem.* **224**, 40 (1934); Bergmann M., Ζέρβας Α., Rinke H. and Schleich H.: *Z. Physiol. Chem.* **224**, 26 (1934); Bergmann M., Ζέρβας Α., Rinke H. and Schleich H.: *Z. Physiol. Chem.* **224**, 33 (1934); Bergmann M., Ζέρβας Α. καὶ Salzmann L.: *Ber.* **66**, 1228 (1933); Bergmann M., Ζέρβας Α., Salzmann L. and Schleich H.: *Z. Physiol. Chem.* **224**, 17 (1934); Bergmann M., Ζέρβας Α., Schleich H. and Leinert F.: *Z. Physiol. Chem.* **212**, 72 (1934); Ζέρβας Α., Winitz and Greenstein J., *J. Org. Chem.* **22**, 1515 (1957).
24. Θεοδωρόπουλος Α.: *J. Org. Chem.* **21**, 1550 (1956).
25. Θεοδωρόπουλος Α. καὶ Fölsh G.: *Acta Chem. Scand. to be published.*
26. Du Vigneaud V. and Behrens O.: *J. Biol. Chem.* **117**, 27 (1937).
27. Ζέρβας Α. καὶ Θεοδωρόπουλος Α.: *J. Am. Chem. Soc.* **78**, 1359 (1956).

(Εἰσῆχθη τῇ 28ῃ Ἰουλίου 1958)

Αί μέθοδοι άδιαβροχοποιήσεως τών ύφασμάτων

Υπό ΑΙΝ. ΒΑΣΙΛΕΙΑΔΗ

Σκοπός του παρόντος άρθρου είναι η περιγραφή των μεθόδων διά των οποίων επιτυγχάνεται η άδιαβροχοποίηση των ύφασμάτων· πρό αυτού όμως θα ήτο σκόπιμον να εξετάσωμεν εν συντομία το πρόβλημα από θεωρητικής πλευράς.

Η δίοδος του ύδατος διά μέσου ενός ύφασματος, έφ' όσον τά μεταξύ των νημάτων διάκενα δέν είναι μεγάλη, όφείλεται εις την διαβροχήν αυτού δηλαδή εις τό γεγονός ότι η ύλη εκ τής οποίας είναι κατασκευασμένον τό ύφασμα είναι ύδρόφιλος. Πολλάκις όμως συμβαίνει ένα ύδρόφιλον ύλικόν να συμπεριφέρεται ως ύδρόφοβον λόγω τής υπάρξεως επί τής έπιφανείας του ύδροφόβων ύλών, αί όποία παρεμποδίζουν την διαβροχήν του. Παράδειγμα άποτελεί ό βάμβαξ, ό όποίος, άν και ύδρόφιλος, συμπεριφέρεται πρό του καθαρισμού του ως ύδρόφοβος ένεκα τής υπάρξεως επί τής έπιφανείας των ίνών του μικρών ποσοτήτων λίπους, κηρών και ρητινών. Είναι προφανές λοιπόν ότι τό είδος τής έπιφανείας του ύλικού παίζει πρωτεύοντα ρόλον εις τόν καθορισμόν των ύδροφόβων ιδιοτήτων του.

Τό ύδρόφοβον ή ύδρόφιλον μιξς έπιφανείας δυνάμεθα να εξακριβώσωμεν εκ του σχήματος τό όποιον λαμβάνει μία σταγών ύδατος τοποθετουμένη επ' αυτής. Αν η σταγών τείνη να διατηρήση τό σφαιρικόν της σχήμα ή έπιφάνεια είναι ύδρόφοβος, ενώ άντιθέτως άν τείνη να εξαπλωθή επ' αυτής σχηματίζουσα λεπτόν ύμένιον τότε πρόκειται περί ύδρόφιλου έπιφανείας.

Μέτρον τής ικανότητος ενός ύγρου να διαβρέχη ένα στερεόν θεωρείται ή καλουμένη «γωνία έπαφής», ή όποία όρίζεται ως ή περικλείουσα την σταγόνα γωνία ή σχηματιζομένη υπό τής έπιφανείας και τής έφαπτομένης τής σταγόνας εις τό σημείον έπαφής μετά του στερεού. Διά μίαν ύδρόφοβον έπιφάνειαν ή γωνία έπαφής είναι μεγαλύτερα των 90°, ενώ διά μίαν ύδρόφιλον μικρότερα. Η γωνία έπαφής συνδέεται μετά των έπιφανειακών τάσεων διά τής σχέσεως

$$\gamma_{\Sigma} = \gamma_{\Upsilon} \text{ συν}\theta + \gamma_{\text{M}}$$

όπου γ_{Σ} είναι ή έπιφανειακή τάσις του στερεού εν έπαφή μετά του άέρος, γ_{Υ} του ύγρου εν έπαφή μετά του άέρος και γ_{M} του στερεού εν έπαφή μετά του ύγρου (1).

Δεδομένου ότι ή «συνάφεια» μεταξύ στερεού και ύγρου δίδεται υπό τής σχέσεως.

$$M = \gamma_{\Sigma} + \gamma_{\Upsilon} - \gamma_{\text{M}}$$

$$\text{έπεται ότι } M = \gamma_{\Upsilon} (1 + \text{συν}\theta)$$

δηλαδή διά μετρήσεως τής έπιφανειακής τάσεως του ύγρου εν έπαφή μετά του άέρος και τής γωνίας έπαφής δυνάμεθα να ύπολογίσωμεν την συνάφειαν μεταξύ ύγρου και στερεού και κατά συνέπειαν την

ικανότητα του ύγρου να διαβρέχη τό στερεόν (1).

Προσπάθειαι έχουν καταβληθή διά την χρησιμοποίησην τής άνωτέρω σχέσεως προς εξακρίβωσιν του βαθμού άδιαβροχοποιήσεως των ύφασμάτων. Τό πρόβλημα όμως περιπλέκεται εις την περίπτωσιν αυτήν διότι ή έπιφάνεια των ύφασμάτων δέν είναι συνεχής άλλ' άντιθέτως άνώμαλος και πορώδης.

Ο Wenzel (2) έδειξεν ότι ή έξίσωσις του Freundlich ή παρέχουσα την «τάσιν συναφείας»

$$T = \gamma_{\Upsilon} \text{ συν}\theta$$

ισχύει μόνον διά μαθηματικά έπίπεδα (1) και ότι δι' άνωμάλους έπιφανείας ως τας των ύφασμάτων ή κατάλληλος έξίσωσις είναι

$$T = \gamma_{\Upsilon} \frac{\text{συν}\theta}{R}$$

όπου R είναι αριθμός μεγαλύτερος τής μονάδος παριστών τόν λόγον του πραγματικού προς τό φαινομενικόν έμβαδόν τής έπιφανείας.

Η ύπαρξις ξένων μορίων επί των νημάτων του ύφασματος δυνατόν επίσης να έπηρεάση τας ιδιότητας του άδιαβροχοποιηθέντος ύλικού, ως πιστεύεται δε υπό πολλών ή παρατήρησις δύο γωνιών έπαφής διά τό αυτό σύστημα όφείλεται εις την ύπαρξιν των μορίων αυτών. Οί Bartell και Cardwell (3) π.χ. αναφέρουν δύο γωνίας έπαφής αναλόγως του έαν τό ύγρον προχωρεί προς την έξεταζομένην έπιφάνειαν ή άπομακρύνεται εξ αυτής. Πρέπει να σημειωθή πάντως ότι οί Fowkes και Harkins (4) διά χρησιμοποίησης καλύτερων μεθόδων μετρήσεως τής γωνίας έπαφής δέν εύρον διαφοράς.

Οί Baxter και Cassie (5) επίσης, οί όποιοι έμελέτησαν έπισταμένως τό πρόβλημα τής άδιαβροχοποιήσεως των ύφασμάτων κατέληξαν εις τό συμπέρασμα ότι διά μίαν πορώδη έπιφάνειαν ή παρατηρουμένη γωνία έπαφής θ_n δέν είναι ή πραγματική ή είσερχομένη εις τας άνωτέρω σχέσεις. Ούτοι συνέδεσαν τας δύο γωνίας διά τής σχέσεως

$$\text{συν}\theta_n = \zeta_1 \text{ συν}\theta - \zeta_2$$

όπου τά ζ_1 και ζ_2 παριστούν τό κλάσμα του παραλλήλου προς την έπιφάνειαν έπιπέδου τό κατεχόμενον υπό τής μεσεπιφανείας στερεού-ύγρου και ύγρου-άέρος άντιστοιχώς.

Οί αύτοι έρευνηται δίδουν άντι τής έξισώσεως του Freundlich την σχέσηιν

$$T = \gamma_{\Upsilon} \text{ συν}\theta_n = \gamma_{\Upsilon} (\zeta_1 \text{ συν}\theta - \zeta_2)$$

συνεσχέτισαν δε περαιτέρω τας τιμάς των ζ_1 και ζ_2 μετά τής γωνίας έπαφής, τής διαμέτρου των ίνών και τας άποστάσεις αυτών εις τό νήμα (5) (6).

Άλλος παράγων ό όποίος έπηρεάζει σημαντικώς την άδιαβροχοποίησην είναι τό είδος τής ύφάν-

σεως, δηλ. η σχετική θέσις και η απόστασις μεταξύ των νημάτων εις το υφασμα. Όσον μικροτέρα η μεταξύ των νημάτων απόστασις τόσο μεγαλύτερα θα είναι η καμπυλότης της προχωρούσης επιφανείας του ύδατος (εφ' όσον η γωνία επαφής είναι μεγαλύτερα των 90°) και κατά συνέπειαν τόσο μεγαλύτερα θα είναι η απαιτούμενη πίεσις δια να δυνηθῆ το ύδωρ να διέλθῃ διὰ των διακένων των νημάτων.

Αί μέθοδοι ἀδιαβροχοποιήσεως των υφασμάτων διαιρούνται εις δύο κατηγορίας :

α) Ἐπικάλυψις του υφάσματος δι' ὑλῶν ἀδιαπεράτων ὑπὸ του ὕδατος, ὡς π.χ. ἐλαστικοῦ, ξηρανομένων ἐλαίων, φυσικῶν καὶ τεχνητῶν ρητινῶν κ.τ.λ. Μειονέκτημα των μεθόδων τῆς κατηγορίας αὐτῆς εἶναι ὅτι τὸ ὕφασμα καθίσταται ὄχι μόνον ἀδιαβροχον ἀλλὰ καὶ ἀδιαπέρατον ὑπὸ του ἀέρος καὶ ὡς ἐκ τούτου ἀνθυγιεινὸν λόγῳ τῆς παρεμποδίσσεως τῆς κυκλοφορίας του ἀέρος καὶ τῆς ἐξατμίσεως του ἰδρώτους.

β) Κατεργασία του υφάσματος δι' ὑλῶν, αἱ ὁποῖαι καθιστοῦν ὑδροφόβους τὰς ἴνας τῆς ὕφανσμου ὕλης προστατεύουσαι κατ' αὐτὸν τὸν τρόπον τὸ ὕφασμα ἀπὸ τὴν ἐπίδρασιν του ὕδατος χωρὶς ὁμως καὶ νὰ παρεμποδίζου τὴν ἐλευθέραν διόδον του ἀέρος διὰ των πόρων του υφάσματος. Κατὰ τὴν ἐφαρμογὴν των μεθόδων τῆς κατηγορίας αὐτῆς συνιστᾶται ὅσον τὸ δυνατὸν πυκνότερα ὕφανσις του υφάσματος ὥστε τὸ ὕδωρ νὰ μὴ δύναται νὰ διέλθῃ διὰ των μεταξύ των νημάτων χώρων. Αἱ μέθοδοι τῆς κατηγορίας αὐτῆς δύναται νὰ χωρισθοῦν εις φυσικὰς καὶ χημικὰς. Εἰς τὰς φυσικὰς περιλαμβάνονται αἱ μέθοδοι τῆς βοήθειᾳ των ὁποίων ἐπιτυγχάνεται ἀδιαβροχοποίησις δι' ἀπλῆς ἐπικάλυψεως των ἰνῶν του υφάσματος δι' ὑδροφόβων ὑλῶν, ὡς π.χ. σαπῶνων διαφόρων μετάλλων, κηρῶν, ζελατίνας, διαφόρων πολυμερῶν κτλ. Ἀντιθέτως διὰ των χημικῶν μεθόδων ἐπιτυγχάνεται ἡ μετατροπὴ τῆς χημικῆς συστάσεως τῆς ἐπιφανείας τῆς ἰνὸς κατὰ τρόπον ὥστε νὰ καθίσταται αὕτη ὑδρόφοβος. Εἰδικῶς διὰ τὰ ἐκ βάμβακος ὕφασματα ἡ ἀδιαβροχοποίησις δύναται νὰ ἐπιτευχθῆ δι' ἐστεροποίησεως ἢ αἰθεροποίησεως τῆς κυτταρίνης διὰ καταλλήλων ἐνώσεων περιεχουσῶν μακρὰν ἀλειφατικὴν ἄλυσιν ἢ ὁποῖα καὶ προσδίδει τὰς ὑδροφόβους ιδιότητας εις τὴν ἴνα.

Κατωτέρω περιγράφονται συντόμως αἱ διάφοροι μέθοδοι ἀδιαβροχοποιήσεως.

Α' Κατηγορία

1) Ἐπικάλυψις του υφάσματος δι' ἐλαστικοῦ. Ἡ μέθοδος αὕτη εἶναι μία των ἀρχαιοτέρων, ἐκρησιμοποιήθη δὲ διὰ πρώτην φοράν ὑπὸ των ἰθαγενῶν τῆς Νοτίου Ἀμερικῆς πρὸ ἀρκετῶν αἰῶνων. Ἡ μέθοδος εις τὴν ἀρχικὴν της μορφήν περιελάμβανε ἀπλῆν ἐπικάλυψιν του υφάσματος διὰ του χυμοῦ των καουτσουκοδένδρων (latex-ὕδατικὸν γαλάκτωμα ἐλαστικοῦ) καὶ ξήρανσιν εις τὸν ἥλιον, διὰ τὴν ἀποφυγὴν δὲ ἀνομοιομόρφου συστολῆς τὸ ὕ-

φασμα ἐκρατεῖτο κατὰ τὴν ξήρανσιν τεταμένον. Ἡ οὕτω ἐπιτυγχανομένη ἀδιαβροχοποίησις ὀφείλεται εις τὸν σχηματισμὸν ἐνὸς ἐπιφανειακοῦ στρώματος ἐξ ἐλαστικοῦ, δεδομένου ὅτι τὰ συσσωματώματα του ἐλαστικοῦ εἶναι πολὺ μεγάλα διὰ νὰ δύναται νὰ εἰσχωρήσουν εις τὸ ἐσωτερικὸν του υφάσματος (7). Διὰ τὴν ὑποβοήθησιν τῆς διεισδύσεως χρησιμοποιοῦνται διαβροκτικά (8) καὶ εἰδικῶς οὐσίαι, ὡς π.χ. Hygrolite, Nekal κλπ., αἱ ὁποῖαι ἐλαττώνου τὴν ἀλκαλικότητα του γαλακτώματος του ὁποῖου τὸ pH εἶναι περίπου 11,5. Ἡ καλύτερα διείσδυσις του ἐλαστικοῦ εις τὸ ἐσωτερικὸν των ἰνῶν διὰ τῆς ὀξύνσεως του γαλακτώματος ἐξηγεῖται ὡς ἐξῆς (9): Ὅταν ἡ κυτταρίνη ἢ ὁποῖα εἶναι ἐλαφρῶς ὀξίνος (pH ~ 5) ἔρχεται εις ἐπαφὴν μετὰ του γαλακτώματος του ἐλαστικοῦ ἐπέρχεται μερικὴ καταστροφή του κολλοειδοῦς με φυσικὴν συνέπειαν τὸν σχηματισμὸν ἐπὶ τῆς ἐπιφανείας του κατεργαζομένου υφάσματος ἢ νήματος ἐνὸς λεπτοτάτου στρώματος ἐξ ἐλαστικοῦ τὸ ὁποῖον παρεμποδίζει τὴν περαιτέρω διείσδυσιν. Κατ' ἄλλον τρόπον ἡ καταστροφή του κολλοειδοῦς χαρακτηρὸς του γαλακτώματος ἀποφεύγεται δι' ἀνυψώσεως του pH τῆς ἰνὸς (10). Ἐπίσης τὸ μειονέκτημα αὐτὸ δύναται νὰ ἐξουδετερωθῆ διὰ κατεργασίας των ἰνῶν του βάμβακος πρὸ τῆς νηματοποίησεως.

Ἄντι χυμοῦ καουτσουκοδένδρων δύναται νὰ χρησιμοποιηθοῦν διαλύματα ἐλαστικοῦ εις ὀργανικοὺς διαλύτες. Ἡ χρησιμοποίησις ὁμως διαλυμάτων μειονεκτεῖ καὶ συνήθως ἀποφεύγεται, διότι ἀπαιτοῦνται εἰδικῶς συσκευαί, δεδομένου ὅτι τὰ πλεῖστα των ὀργανικῶν διαλυτικῶν εἶναι εὐφλεκτα, ἐπιβλαβῆ εις τὴν ὑγείαν κτλ.

Ἡ ἀδιαβροχοποίησις δι' ἐλαστικοῦ ἐπιτυγχάνεται διὰ κατεργασίας του υφάσματος ἐντὸς του καταλλήλου γαλακτώματος ἢ διαλύματος, ξηράνσεως ἢ ἐκδιώξεως του διαλυτικοῦ καὶ ἐπαναλήψεως τῆς ἐργασίας μέχρις ὅτου ἐπιτευχθῆ τὸ ἐπιζητούμενον πάχος του ἐξ ἐλαστικοῦ στρώματος ἐπὶ του υφάσματος.

Καλύτερα ἀποτελέσματα ἐπιτυγχάνονται διὰ προσθήκης εις τὸ γαλάκτωμα ἢ διάλυμα του ἐλαστικοῦ διαφόρων ἄλλων οὐσιῶν, ὡς π.χ. κηρῶν, λιπαρῶν ὀξέων, λιπαρῶν ἀλκοολῶν, ἀδιαλύτων σαπῶνων κτλ. μέχρις 25% (11).

2) Ἐπικάλυψις διὰ ξηρανομένων ἐλαίων (12). Κυρίως χρησιμοποιεῖται λινέλαιον. Ἡ ἀδιαβροχοποίησις ἐπιτυγχάνεται διὰ κατεργασίας του υφάσματος ἐντὸς λινελαιίου θερμοκρασίας 25°—30° C καὶ ξηράνσεως εις θερμοκρασίαν 70°—95° C ἐντὸς ὑψηλῶν πύργων. Μία ἢ δύο ἐπικαλύψεις ἀρκοῦν.

3) Ἐπικάλυψις διὰ παραγῶγων τῆς κυτταρίνης. Ἐχουν ἐλαχίστην ἐφαρμογὴν, κυρίως δὲ χρησιμοποιοῦνται νιτροκυτταρίνη ἢ ὀξικὴ κυτταρίνη. Μία μέθοδος ἢ ὁποῖα χρησιμοποιεῖται με κάποιαν ἐπιτυχίαν εἶναι ἡ διὰ κατεργασίας του βαμβακεροῦ υφάσματος ἐντὸς διαλύματος χαλκαμμωνίας ὁπότε σχηματίζεται λεπτὸν συνεχῆς ἐπιφανειακὸν στρώμα ἐκ χαλκοκυτταρίνης προστατεῦον ἐπαρκῶς τὸ ὕφασμα (13). Πρέπει νὰ τονισθῆ πάντως ὅτι τὸ στρώμα αὐ-

τὸ τῆς χαλκοκυτταρίνης καταστρέφεται μετὰ μακρὰν ἔκθεσιν εἰς τὸ ἥλιακὸν φῶς.

Β' Κατηγορία

α) Φυσικαὶ μέθοδοι

1) Ὁξικὸν ἢ μυρμηκικὸν ἀργίλλιον. Διὰ τῆς μεθόδου αὐτῆς, ἢ ὁποῖα εἶναι μία τῶν παλαιότερων, τὸ καταβυθιζόμενον ἐπὶ τοῦ ὑφάσματος ὑλικὸν ἀποτελεῖται ἐκ βασικῶν ἀλάτων τοῦ ἀργιλίου. Ἡ μέθοδος ἔχει τὸ μειονέκτημα ὅτι εἶναι κοπιώδης καὶ μακρὰς διαρκείας, ἐνῶ ἡ ἀδιαβροχοποίησις ὑπόκειται εἰς ταχεῖαν φθορὰν λόγῳ τῆς συνεχοῦς ἀπομακρύνσεως ἐκ τοῦ ὑφάσματος τῆς ὑδροβόφου ὕλης ὑπὸ μορφήν κόνεως.

Διὰ τὴν καλὴν ἀδιαβροχοποίησιν τοῦ ὑφάσματος ἀπαιτεῖται παρατεταμένη (9—20 ὥραι) κατεργασία ἐντὸς τοῦ διαλύματος τοῦ ὀξικοῦ ἢ μυρμηκικοῦ ἀργιλίου ἀκολουθουμένη ὑπὸ βραδείας ξηράνσεως εἰς χαμηλὴν θερμοκρασίαν. Μετὰ τὴν πλήρη ξήρανσιν τοῦ ὑφάσματος ἡ θερμοκρασία αὐξάνεται καὶ τὰ ὕδατοδιαλυτὰ ἄλατα τοῦ ἀργιλίου ἀφυδατοῦνται, ὑπὸ σύγχρονον ἀπομάκρυνσιν μέρους τοῦ ὀξέος, πρὸς σχηματισμὸν ἀδιαλύτων ἀλάτων τῆς μορφῆς $(\text{CH}_3\text{COO})_4\text{Al}_2(\text{OH})_2$, $(\text{HCOO})_4\text{Al}_2(\text{OH})_2$. Εἰς μικρότερον ποσοστὸν σχηματίζονται ἐπίσης τὰ $(\text{CH}_3\text{COO})_3\text{Al}_2(\text{OH})_3$ καὶ $(\text{CH}_3\text{COO})_2\text{Al}_2(\text{OH})_4$.

2) Ἀδιάλυτοι σάπωνες. Ἡ μέθοδος αὐτή, δυναμένη νὰ θεωρηθῇ καὶ ὡς τελειοποίησις τῆς προηγουμένης συνίσταται εἰς τὸν σχηματισμὸν ἢ καταβύθισιν ἐπὶ τοῦ ὑφάσματος ἀδιαλύτων σαπῶνων, ὡς π. χ. τῶν διὰ χαλκοῦ, ἀργιλίου, ζirkονίου, τιτανίου, ψευδαργύρου κτλ., οἱ ὅποιοι διὰ τῆς ἀλειφατικῆς των ἀλύσεως καθιστοῦν τὴν ἴνα ὑδρόφοβον.

Κυρίως χρησιμοποιεῖται ὁ ἄχρους μετ' ἀργιλίου σάπων, ἐνῶ ὁ χαλκοσάπων, ὁ ὁποῖος προσδίδει εἰς τὸ ὑφάσμα χαρακτηριστικὴν πρασίνην χροιάν, χρησιμοποιεῖται συνήθως διὰ σύγχρονον ἀδιαβροχοποίησιν καὶ προστασίαν τοῦ ὑφάσματος ἀπὸ τὴν ἐπίδρασιν μικροοργανισμῶν. Εἰς τὴν Γερμανίαν καὶ τὰς Ἡνωμένας Πολιτείας χρησιμοποιοῦνται εἰς σημαντικὸν βαθμὸν ἄλατα τοῦ ζirkονίου (14). Πλεονεκτήματα τῆς μεθόδου εἶναι ἡ ἐλαχίστη διαλυτότης τῶν μετὰ στεατικοῦ καὶ παλμιτικοῦ ὀξέος ἀλάτων τοῦ ζirkονίου εἰς τὰ συνήθως χρησιμοποιούμενα διαλυτικά διὰ τὸ ξηρὸν καθάρισμα τῶν ἐνδυμάτων. Ἐπίσης οἱ σάπωνες αὐτοὶ δὲν ὑδρολύονται εὐκόλως. Ἀντὶ τῶν σαπῶνων τῶν λιπαρῶν ὀξέων δύναται νὰ χρησιμοποιηθοῦν ἄλατα τῶν ἀνωτέρω ἀναφερθέντων μετάλλων μετὰ διαφόρων συνθετικῶν ἀπορρυπαντικῶν (15), εἰς πρόσφατον (1957) δὲ δίπλωμα εὐρεσιτεχνίας (16) περιγράφεται ἡ παρασκευὴ ἐνώσεων τοῦ γενικοῦ τύπου $\text{RCOOAl}=\text{O}$ (ὅπου R μακρὰ ἀλειφατικὴ ἄλυσις) δυναμένων νὰ χρησιμοποιηθοῦν καὶ διὰ τὴν ἀδιαβροχοποίησιν ὑφανσίμων ὑλῶν.

Ἡ ἀδιαβροχοποίησις διὰ σαπῶνων τοῦ ἀργιλίου ἐπιτυγχάνεται συνήθως εἰς δύο στάδια. Κατὰ τὸ πρῶτον τὸ ὑφάσμα ἐμποτίζεται διὰ διαλύματος

καλῆς ποιότητος σάπωνος περιεκτικότητος περίπου 1% καὶ συμπιέζεται διὰ τὴν ἀπομάκρυνσιν τῆς περισσεύσεως τοῦ σαπῶνοδιαλύματος. Τὸ δεύτερον στάδιον περιλαμβάνει κατεργασίαν διὰ διαλύματος ὀξικοῦ ἀργιλίου εἰδικοῦ βάρους 1,05 καὶ ξήρανσιν τοῦ ὑφάσματος.

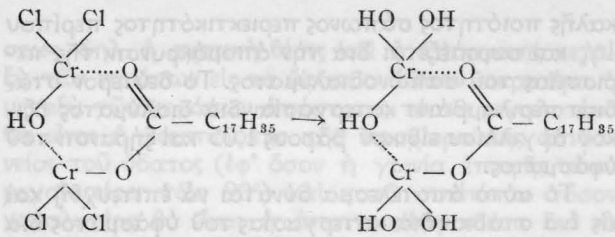
Τὸ αὐτὸ ἀποτέλεσμα δύναται νὰ ἐπιτευχθῇ καὶ εἰς ἓνα στάδιον διὰ κατεργασίας τοῦ ὑφάσματος διὰ διαλύματος τοῦ μεταλλικοῦ σάπωνος ἐντὸς καταλλήλου διαλυτικοῦ, ὡς π. χ. βενζολίου, βενζίνης κτλ. Εἰς ἀμερικανικὰ δίπλωμα εὐρεσιτεχνίας ἀναφέρεται ἡ προσθήκη τριαιθανολαμίνης (17) καὶ γλυκερικοῦ ὀξέος (18) εἰς τὸ ἐντὸς πετρελαϊκοῦ αἰθέρος διάλυμα τοῦ μεταλλικοῦ σάπωνος διὰ τὴν ἐλάττωσιν τοῦ ἰξώδους τοῦ διαλύματος καὶ διευκόλυνσιν τῆς διαποτίσεως τοῦ ὑφάσματος. Διὰ νὰ ἀποφεύγεται ἡ χρῆσις διαλυτικῶν, τὰ ὁποῖα ἀπαιτοῦν εἰδικὰς συσκευὰς καὶ προφυλάξεις, φέρονται εἰς τὸ ἐμπόριον γαλακτώματα τῶν λιπαρῶν ὀξέων μετὰ τοῦ καταλλήλου ἄλατος τοῦ μετάλλου. Ὁ μεταλλικὸς σάπων σχηματίζεται ἐπὶ τοῦ ὑφάσματος κατὰ τὴν ξήρανσιν.

Ἡ ἀδιαβροχοποίησις διὰ σαπῶνων τοῦ ζirkονίου δύναται νὰ ἐπιτευχθῇ διὰ κατεργασίας τοῦ ὑφάσματος ἐπὶ $1/2$ —1 λεπτόν ἐντὸς τοῦ καταλλήλου διαλύματος ἀκολουθουμένης ὑπὸ ξηράνσεως εἰς 80°—100° C. Πολὺ καλὰ ἀποτελέσματα λαμβάνονται διὰ χρησιμοποίησεως διαλύματος παρασκευαζομένου δι' ἀναμίξεως ἴσων ὄγκων δύο ἄλλων διαλυμάτων, ἐκ τῶν ὁποίων τὸ μὲν ἐν περιέχει 56,89 gr ἀνθρακικοῦ ἀμμοφίου καὶ 40,00 gr θεικοῦ ζirkονίου διαλυμένα εἰς 500 ml ὕδατος θερμοκρασίας 25° C, τὸ δὲ ἕτερον 34,4 gr ἐλαϊκοῦ νατρίου διαλυμένα εἰς 500 ml ὕδατος θερμοκρασίας 40°—50° C (19).

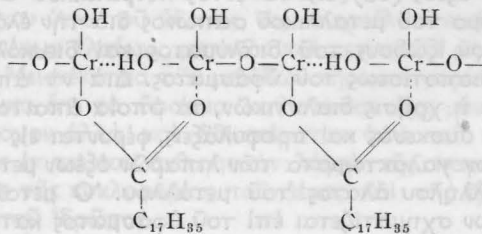
3) Σύμπλοκα τοῦ χρωμίου (20). Τὰ προϊόντα τῆς κατηγορίας αὐτῆς εἶναι σύμπλοκα τοῦ χλωριούχου χρωμίου μετὰ λιπαρῶν ὀξέων φερόμενα εἰς τὸ ἐμπόριον ὑπὸ μορφήν διαλυμάτων εἰς ἰσοπροπανόλην. Ἡ ἀξία των ὡς μέσον ἀδιαβροχοποίησεως ὀφείλεται εἰς τὴν μακρὰν ἀλειφατικὴν ἔλυσιν τὴν ὁποῖαν φέρουν καὶ τὸν ἔντονον ἠλεκτροθετικὸν χαρακτήρα των ὁ ὁποῖος παρέχει τὴν δυνατότητα ἠλεκτροπολικοῦ δεσμοῦ μετὰ τὸν συμπλόκου καὶ ὑφανσίμου ὕλης. Προϊόντα τῆς μορφῆς αὐτῆς, ὡς τὸ Quilon (Du Pont) καὶ τὸ Ombrophobe (Sandoz), δίδουν πολὺ καλὰ ἀποτελέσματα ἐπὶ ἐρίου, μετάξης, κυτταρίνης, ὀξικῆς κυτταρίνης, νάυλον καὶ ἄλλων συνθετικῶν ὑλῶν, τῆς ἀδιαβροχοποίησεως μὴ καταστρεφόμενης διὰ ξηροῦ καθαρίσματος ἢ ἐλαφροῦ πλυσίματος. Ὅπως ὁμως καὶ οἱ σάπωνες χαλκοῦ, τὰ σύμπλοκα τοῦ χρωμίου προσδίδουν εἰς τὸ ὑφάσμα χαρακτηριστικὴν πρασίνην χροιάν.

Ἡ ἀδιαβροχοποίησις διὰ τῆς μεθόδου αὐτῆς ἐπιτυγχάνεται διὰ κατεργασίας τοῦ ὑφάσματος δι' ὑδατικοῦ διαλύματος τοῦ εἰς ἰσοπροπανόλην φερόμενου συμπλόκου καὶ ξηράνσεως εἰς θερμοκρασίαν μεγαλύτεραν τῶν 100° C.

Ὡς πιστεύεται (20), κατὰ τὴν ἀραίωσιν τοῦ συμπλόκου δι' ὕδατος ἐπέρχεται ὑδρόλυσις κατὰ τὸ σχῆμα :



Τὸ ὕδρολυθὲν σύμπλοκον κατὰ τὴν θέρμανσιν ἀφυδατοῦται δημιουργουμένων ἀδιαλύτων εἰς τὸ ὕδωρ πολυμερῶν πιθανοῦ τύπου:



Εἰς πρόσφατον δίπλωμα εὐρεσιτεχνίας (21) περιγράφεται καὶ ἡ χρῆσις μιγμάτων ἀποτελουμένων ἐκ συμπλοκῶν τοῦ χρωμίου καὶ μικρομοριακῶν προϊόντων συμπυκνώσεως οὐρίας—φορμαλδεΐδης, τὰ ὅποια πλὴν τῆς ἀδιαβροχοποιήσεως προφυλάσσουν τὸ ὑφάσμα ἐκ τοῦ τσαλακώματος. Εἰς νεωτάτην ἐπίσης ἐργασίαν (22) ἀναφέρεται ὅτι σύμπλοκα τοῦ χρωμίου μετὰ φθοριοπαραγῶγων μονοκαρβονικῶν ὀξέων, ὡς π. χ. $\text{Cl}(\text{CF}_2\text{CFCl})_n\text{CF}_2\text{COOH}$ καὶ $\text{HCF}_2(\text{CF}_2)_n\text{COOH}$, καθιστοῦν τὰ ἐκ βάμβακος ὑφάσματα ἀδιαπέραστα ὄχι μόνον ὑπὸ τοῦ ὕδατος ἀλλὰ καὶ τοῦ ἐλαίου, ἐνῶ συγχρόνως αὐξάνουν τὴν ἀντοχήν των.

4) *Παραφίναι*. Σκληραὶ παραφίναι σημείου τῆς 55'—60" ἀλλὰ καὶ ὠρισμένοι κηροὶ χρησιμοποιοῦνται συνήθως ἐν συνδυασμῶ με ἄλατα τοῦ ἀργιλίου διὰ τὴν ἀδιαβροχοποίησιν ἐλαφρῶν ὑφασμάτων, τὸ σπουδαιότερον δὲ πλεονέκτημα τῆς μεθόδου εἶναι ὅτι ἡ ἐμφάνισις τοῦ ὑφάσματος δὲν διαφέρει αἰσθητῶς τοῦ μὴ ἀδιαβροχοποιηθέντος. Εἰς τὸ ἐμπόριον κυκλοφοροῦν προϊόντα τὰ ὅποια εἴτε περιέχουν τὸ ἄλας τοῦ ἀργιλίου εἰς τὸ προσφερόμενον γαλάκτωμα τῆς παραφίνης (ὡς π. χ. τὸ Cerol T τῆς Sandoz) ὁπότε πρὸ τῆς κατεργασίας τοῦ ὑφάσματος ἀπαιτεῖται μόνον ἀραιώσις δι' ὕδατος, εἴτε εἶναι ἀπλᾶ γαλακτώματα παραφίνης (ὡς π. χ. τὸ Cerol S τῆς Sandoz) ὁπότε ἀμέσως πρὸ τῆς χρήσεως προστίθεται ἡ ἀπαιτουμένη ποσότης ὀξικίου ἀργιλίου.

Εἰς τὴν Γερμανίαν ἀντὶ τῶν ἀλάτων τοῦ ἀργιλίου χρησιμοποιοῦνται ἐνώσεις τοῦ ζirkονίου καὶ κυρίως ὀξυχλωριοῦχον ζirkόνιον (Persistol τῆς B.A.S.F.), ὑποστηρίζεται δὲ ὅτι ἡ μέθοδος αὕτη δίδει καλύτερα ἀποτελέσματα ὄχι μόνον ὅσον ἀφορᾷ τὴν ποιότητα τῆς ἀδιαβροχοποιήσεως ἀλλὰ καὶ τὴν ἀντοχήν αὐτῆς εἰς τὴν πλύσιν. Ὡς πιστεύεται τὸ ζirkόνιον σταθεροποιεῖ κατὰ κάποιον τρόπον τὴν παραφίνην ἐπὶ τοῦ ὑφάσματος χωρὶς ὅμως νὰ

ἀντιδρᾷ μετὰ τῆς ἰνός, ἂν καὶ ἔχει ὑποστηριχθῆ (23) ὅτι κατὰ τὴν ἀδιαβροχοποίησιν διὰ σαπῶνων ζirkονίου τὸ μέταλλον ἔχει τάσιν νὰ σχηματίζῃ σύμπλοκα μετ' ὕδροξυλίων εὐρισκομένων εἰς γειτονικά ἄτομα ἀνθρακος.

Τὰ διὰ τὴν ἀδιαβροχοποίησιν χρησιμοποιούμενα γαλακτώματα παραφίνων παρουσιάζουν τὸ πλεονέκτημα ὅτι δὲν ἀπαιτοῦν εἰδικὰς συσκευὰς καὶ δὲν περικλείουν τοὺς κινδύνους τῶν ὀργανικῶν διαλυτικῶν, παρουσιάζουν ὅμως δυσκολίας εἰς τὴν παρασκευὴν των καὶ ὡς ἐκ τούτου ἀπαιτεῖται πλὴν τῆς καταλλήλου ἐκλογῆς τοῦ pH (συνήθως 3,5—5,5) καὶ ἡ χρῆσις εἰδικῶν γαλακτωματοποιητῶν (24). Οὗτοι ὅμως εἶναι συνήθως ὕδροφίλου χαρακτήρος καὶ ὡς ἐκ τούτου μειώνουν τὴν δρασίαν τῆς πρὸς ἀδιαβροχοποίησιν χρησιμοποιουμένης ἐνώσεως. Εἰς μερικὰς περιπτώσεις εἶναι δυνατὴ ἡ χρῆσις γαλακτωματοποιητῶν, οἱ ὅποιοι κατὰ τὴν θέρμανσιν τοῦ ὑφάσματος, διὰ τὴν συμπλήρωσιν τῆς ἀδιαβροχοποιήσεως, εἴτε καταστρέφονται, εἴτε διασπῶνται εἰς προϊόντα ὕδροφύβου χαρακτήρος (24α).

Μία τῶν πλέον διαδεδομένων μεθόδων ἀδιαβροχοποιήσεως διὰ παραφίνης χρησιμοποιεῖ διάλυμα περιέχον 25% κηρόν, 5% ὀξικὸν ἀργίλλιον, 5% γαλακτωματοποιητὴν, 1% ὀξικὸν ὀξύ καὶ 64% ὕδωρ. Ἡ κατεργασία γίνεται εἰς θερμοκρασίαν 50°—60° C ἐπὶ χρονικὸν διάστημα ἐξαρτώμενον ἐκ τοῦ εἴδους τοῦ ὑφάσματος, συμπληροῦται δὲ ἡ ἀδιαβροχοποίησις διὰ ξηράνσεως εἰς θερμοκρασίαν 110°—120° C. Διὰ τὴν ἀδιαβροχοποίησιν μεμονωμένων ἐνδυμάτων χρησιμοποιεῖται συνήθως λουτρόν περιέχον 5—10% ἐπὶ τοῦ βάρους τοῦ ἐνδύματος τοῦ καταλλήλου μίγματος (π. χ. ὡς ἀνωτέρω), ἡ κατεργασία δὲ διαρκεῖ μέχρις ἐξαντήσεως τοῦ λουτροῦ.

5) *Ὄργανοπυριτικά ἐνώσεις* (25). Κυρίως χρησιμοποιοῦνται μεθυλοπολυπυριτικά ἐνώσεις (26), δύνανται ὅμως νὰ χρησιμοποιηθοῦν καὶ ἄλλα παράγωγα ὡς π. χ. φαινυλοπολυπυριτικά καὶ βινυλοπυριτικά ἐνώσεις. Ὡς καὶ διὰ τὰς λοιπὰς ἀδιαλύτους εἰς τὸ ὕδωρ ἐνώσεις τὰς χρησιμοποιουμένας διὰ τὴν ἀδιαβροχοποίησιν τῶν ὑφασμάτων, αἱ ὀργανοπυριτικά ἐνώσεις φέρονται εἰς τὸ ἐμπόριον εἴτε ὑπὸ μορφήν διαλυμάτων εἰς ὀργανικούς διαλύτες, εἴτε ὑπὸ μορφήν γαλακτωμάτων, τῶν τελευταίων προτιμωμένων διὰ τοὺς εἰς ἄλλην θέσιν τοῦ παρόντος ἄρθρου ἀναφερθέντας λόγους. Ὡρισμένα προϊόντα τοῦ ἐμπορίου εἶναι μίγματα ὀργανοπυριτικῶν ἐνώσεων καὶ ἐνώσεων τοῦ ζirkονίου ἢ τιτανίου (27) διὰ τῶν ὁποίων ἐπιτυγχάνεται καλυτέρα ἀδιαβροχοποίησις, συνδυασμὸς δὲ τῆς ὀργανοπυριτικῆς ἐνώσεως μετὰ προϊόντων συμπυκνώσεως οὐρίας—ἢ μελαμίνης—φορμαλδεΐδης προστατεύει τὸ ὑφάσμα καὶ ἐκ τοῦ τσαλακώματος.

Εἰς τὴν πράξιν ἡ ἀδιαβροχοποίησις ἐπιτυγχάνεται διὰ κατεργασίας τοῦ ὑφάσματος ἐντὸς τοῦ καταλλήλου διαλύματος ἢ γαλακτώματος καὶ ἐν συνεχείᾳ θερμάνσεως εἰς 120°—160° C ὅπου ἐπιτελεῖται ὁ πολυμερισμὸς τοῦ χρησιμοποιουμένου μικρομοριακοῦ προϊόντος.

Ἡ ἀδιαβροχοποίησις δι' ὀργανοπυριτικῶν ἐνώ-

σεων είναι άνθεκτική εις τὸ ξηρὸν καθάρισμα, καταστρέφεται ὁμως κατὰ τὴν πλύσιν διὰ σάπωνος ἢ ἀλκαλικῶν ἀπορρυπαντικῶν.

6) *Πρωτεϊνικαὶ οὐσίαι*. Οὐσίαι ὡς καζεΐνη, ζελατίνη ἢ ἀκόμη καὶ προϊόντα μερικῆς διασπάσεως διαφόρων πρωτεϊνῶν δύνανται νὰ χρησιμοποιηθοῦν πρὸς ἀδιαβροχοποίησιν τῶν ὑφασμάτων, ὑπὸ τὴν προϋπόθεσιν ὅτι ἡ πρωτεΐνη θὰ καταστῆ ἀδιάλυτος εἰς τὸ ὕδωρ διὰ καταλλήλου κατεργασίας. Διὰ τὴν ἀδιαλυτοποίησιν τῆς πρωτεΐνης χρησιμοποιοῦνται κυρίως ἄλατα ἀργιλίου (28). Πολλάκις διὰ τὴν καλυτέρευσιν τῆς ἀδιαβροχοποιήσεως προστίθενται εἰς τὸ μίγμα πρωτεΐνης-ἀλάτων ἀργιλίου κηροί, παραφίνοι ἢ καὶ ἄλλαι λιπαραὶ ἐνώσεις.

Ἡ μέθοδος αὕτη χρησιμοποιεῖται κυρίως εἰς τὴν Ἀγγλίαν (29), ἐν δὲ τῶν εὐρύτερον χρησιμοποιουμένων προϊόντων, τὸ *Mystolene K.P.*, εἶναι γαλάκτωμα συμπλόκων πρωτεΐνης-ἀργιλίου.

7) *Συνθετικὰ πολυμερῆ*. Πλὴν τῶν ἀνωτέρω ἀναφερομένων μεθόδων ἀδιαβροχοποιήσεως ὑπάρχουν δεκάδες ἄλλων προστατευομένων ὑπὸ διπλωμάτων εὐρεσιτεχνίας καὶ τῶν ὁποίων τὴν βᾶσιν ἀποτελοῦν πολυμερῆ περιέχοντα μακρὰν ἀλειφατικήν ἄλυσιν προσδίδουσας τὰς ὑδροφόρους ιδιότητας εἰς τὴν ἴνα. Προϊόντα οὐρίας-φορμαλδεϋδης, ὡς π. χ. ὀκταδεκυλοουρία (30), δύνανται νὰ χρησιμοποιηθοῦν μὲ πολὺ καλὰ ἀποτελέσματα ἐφ' ὅσον ἡ ἀλειφατικὴ ἄλυσιν περιέχει τοῦλάχιστον ἕνδεκα ἄτομα ἀνθρακος. Εἰς τὸ αὐτὸ δίπλωμα εὐρεσιτεχνίας (30) ἀναφέρεται καὶ ἡ χρῆσις ὀκταδεκυλοφαινόλης ἐπίσης ἐν συνδυασμῷ μετὰ φορμαλδεϋδης. Ἡ ἀδιαβροχοποίησις ἐπιτυγχάνεται εἴτε διὰ κατεργασίας τοῦ ὑφάσματος ἐντὸς τοῦ γαλακτώματος τῆς καταλλήλου ἐνώσεως τῆς οὐρίας ἢ φαινόλης καὶ ἐν συνεχείᾳ ξηράνεως καὶ θερμάνσεως ἐπὶ πολλὰς ὥρας εἰς 110° C παρουσίᾳ φορμαλδεϋδης, εἴτε διὰ κατεργασίας τοῦ ὑφάσματος ἐντὸς γαλακτώματος περιέχοντος καὶ τὴν φορμαλδεϋδην (π.χ. γαλακτώματος μικρομοριακοῦ προϊόντος συμπυκνώσεως οὐρίας-φορμαλδεϋδης) ἀκολουθουμένης φυσικὰ ὑπὸ ξηράνεως καὶ πολυμερισμοῦ τοῦ προϊόντος ἐπὶ τοῦ ὑφάσματος. Τὸ *Persistol VS* εἶναι ὀκταδεκυλοαιθυλενοουρία, ὑποστηρίζεται δὲ ὅτι ἡ ἐνώσις αὕτη δύνανται νὰ ἀντιδράσῃ μετὰ τῆς κυτταρίνης πρὸς σχηματισμὸν χημικῆς ἐνώσεως. Ἡ ἀδιαβροχοποίησις διὰ *Persistol VS* ἐπιτυγχάνεται διὰ κατεργασίας τοῦ ὑφάσματος ἐντὸς γαλακτώματος 5% ἀκολουθουμένης ὑπὸ ἐκθλίψεως καὶ ξηράνεως εἰς θερμοκρασίαν μεγαλυτέραν τῶν 80° C. Ἡ μέθοδος αὕτη πλεονεκτεῖ πολλῶν ἄλλων διότι δὲν ἀπαιτεῖται ἐκπλυσίς ἢ ἐξουδετέρωσις τοῦ ὑφάσματος μετὰ τὴν ξήρανσιν, δεδομένου ὅτι δὲν ὑπάρχουν ὑποπροϊόντα καὶ τὸ προϊόν εἶναι οὐδέτερον. Τροποποίησιν τῶν ἀνωτέρω μεθόδων ἀποτελεῖ ἡ χρῆσις ὕδατοδιαλυτῶν ἀλάτων ἀνωτέρων ἀλειφατικῶν ἀμινῶν, ὡς π.χ. $\text{CH}_3\text{COONH}_2\text{C}_{17}\text{H}_{35}$ (31), ἀποφευγόμενον κατ' αὐτὸν τὸν τρόπον τῶν γαλακτώματων.

Πλὴν τῶν ἀνωτέρω χρησιμοποιοῦνται ἐπίσης βινυλοπαράγωγα (32), παράγωγα γλυκερίνης-φθαλικοῦ ἀνυδρίτου (33), πολυακρυλικά παράγωγα ἐν

συνδυασμῷ μετὰ ὀξικοῦ ἀργιλίου (34), τὰ ἄλατα μετὰ βαρέων μετάλλων ἐνώσεων τοῦ τύπου ROCH_2COOH , ὅπου R μακρὰ ἀλειφατικὴ ἄλυσιν (35), κτλ.

β) Χημικαὶ μέθοδοι

Διὰ τῶν μεθόδων αὐτῶν ἐπιτυγχάνεται ἡ τροποποίησις τῆς συστάσεως τῆς ἐπιφανείας τῆς ἴνως, ὥστε αὕτη νὰ καθίσταται ὑδρόφορος, διὰ χημικῆς ἀντιδράσεως. Εἰδικῶς διὰ τὰ κυτταρινικῆς συστάσεως ὑφάσματα τὰ ὁποῖα κυρίως χρησιμοποιοῦνται διὰ τὴν κατασκευὴν ἀδιαβρόχων, ἡ ἀδιαβροχοποίησις ἐπιτυγχάνεται σχεδὸν ἀποκλειστικῶς δι' ἐστεροποιήσεως ἢ αἰθεροποιήσεως τῶν ὑδροξυλίων τῆς κυτταρίνης διὰ καταλλήλων ἐνώσεων περιεχουσῶν μακρὰν ἀλειφατικὴν ἄλυσιν, ἡ ὁποία ὡς ἔχει ἤδη ἐκτεθῆ καθιστᾷ τὰς ἴνας ὑδροφόρους. Αἰθεροποίησις τῆς κυτταρίνης εἶναι, φυσικὰ, προτιμότερα τῆς ἐστεροποιήσεως, διότι ἡ κατὰ τὴν αἰθεροποίησην σχηματιζομένη ἐνώσις εἶναι πρακτικῶς ἀπρόσβλητος καὶ ὡς ἐκ τούτου ἡ ἐπιτυγχανομένη ἀδιαβροχοποίησις διατηρεῖται τόσον ὅσον καὶ τὸ ὑφάσμα. Ὡς γνωστόν, οἱ ἐστέρες ὑδρολύονται ὑπὸ ἀλκαλιῶν ἐνῶ οἱ αἰθέρες διασπῶνται μόνον ὑπὸ ὀξέων καὶ μάλιστα ὑπὸ τοιαύτας συνθήκας ὥστε τῆς ὑδρολύσεως τοῦ αἰθέρος νὰ προηγήται ἡ καταστροφή τῆς κυτταρίνης.

1) *Ἐστεροποιήσις*. Ἡ ἐστεροποίησις τῆς κυτταρίνης δύνανται νὰ ἐπιτευχθῆ διὰ ποικίλων τρόπων, σχεδὸν δὲ ὅλαι αἱ μέθοδοι τῆς ὀργανικῆς χημείας αἱ χρησιμοποιούμεναι διὰ τὴν ἐστεροποίησιν ἀλκοολῶν περιγράφονται εἰς τὰ ἀπειράριθμα διπλώματα εὐρεσιτεχνίας τῶν μεγάλων ἐταιρειῶν χημικῶν προϊόντων. Οὕτω δύνανται νὰ χρησιμοποιηθοῦν πρὸς τὸν σκοπὸν αὐτὸν διαλύματα εἰς ὀργανικὰ διαλυτικά ἢ γαλακτώματα ἀνυδριτῶν (36), χλωριδίων (37), ἐστέρων τοῦ χλωροκαρβονικοῦ ὀξέος (38), οὐρεθάνων (39), ἰσοκυανικῶν (40), ἰσοθειοκυανικῶν (41), καὶ διισοκυανικῶν ἐνώσεων (20), καρβοδιιμιδίων (42), κετενῶν (43) κτλ. Εἰς ὅλας, φυσικὰ, τὰς περιπτώσεις ἡ χρησιμοποιουμένη ἐνώσις φέρει μακρὰν ἀλειφατικὴν ἄλυσιν περιέχουσαν 10—18 ἄτομα ἀνθρακος, ἡ κατεργασία δὲ τοῦ ὑφάσματος γίνεται κατὰ τρόπον ὥστε ἡ ἀντίδρασις μετὰ τῆς κυτταρίνης καὶ τῆς χρησιμοποιουμένης ἐνώσεως νὰ περιορίζεται εἰς τὴν ἐπιφάνειαν τῆς ἴνως διὰ νὰ διατηροῦνται τὰ ἐξωτερικὰ χαρακτηριστικὰ τοῦ ὑφάσματος.

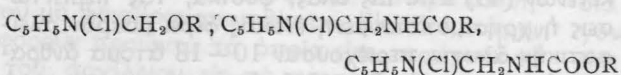
Ἄν καὶ κάθε μέθοδος ἀδιαβροχοποιήσεως ἀπαιτεῖ αὐστηρῶς καθωρισμένας συνθήκας διὰ τὴν ἐπιτευξιν τῶν καλυτέρων δυνατῶν ἀποτελεσμάτων, δύνανται νὰ λεχθῆ ὅτι ὁ γενικὸς τρόπος ἐφαρμογῆς τῶν διὰ τὴν ἐστεροποίησιν χρησιμοποιουμένων μεθόδων συνίσταται εἰς τὰς ἑξῆς τρεῖς ἐργασίας: Πρῶτον, κατεργασίαν τοῦ ὑφάσματος ἐντὸς τοῦ καταλλήλου γαλακτώματος ἢ διαλύματος. Δεύτερον, ξήρανσιν τοῦ ὑφάσματος ἢ ἀπομάκρυνσιν τοῦ διαλυτικοῦ. Τρίτον, θερμάνσιν τοῦ ὑφάσματος εἰς θερμοκρασίας κυμαινομένης συνήθως μετὰξὺ 90° C καὶ 120° C διὰ τὴν συμπλήρωσιν τῆς ἀντιδράσεως. Αἱ ὑψηλότεραι θερμοκρασίαι προτιμῶνται, διότι οὕτω μειοῦται ὁ

χρόνος θερμάνσεως, πολλάκις όμως ή φύσις του αντιδραστήριου είναι τοιαύτη ώστε να απαιτήται παρατεταμένη θέρμανσις εις χαμηλήν θερμοκρασίαν. Κατά την χρησιμοποίησιν χλωριδίων π. χ. το έλευθερούμενον υδροχλώριον δέν επιτρέπει ύψηλάς θερμοκρασίας συνιστωμένης θερμάνσεως εις 50° - 80° C. Είς παρομοίαις περιπτώσεις είναι επίσης απαραίτητος ή προσθήκη εις τό χρησιμοποιούμενον διά τήν άδιαβροχοποίησιν αντιδραστήριον τής αντίστοιχου ποσότητος μιᾶς άσθενοῦς οργανικής βάσεως, π. χ. διαιθυλαμιλίνης, διά τήν δέσμευσιν του κατά τήν αντίδρασιν έλευθερουμένου όξέος. Ύρισμένα έκ τών άνωτέρω αντιδραστήριων, ως π. χ. αί κετέναι, δύνανται να χρησιμοποιηθοῦν και διά τήν άδιαβροχοποίησιν έρίου.

2) *Αίθεροποίησης*. Ύως έχει ήδη λεχθή ή αιθεροποίησης τής κυτταρίνης δι' ένώσεων περιεχουσών μακράν άλειφατικήν άλυσιν πλεονεκτεί τής έστεροποίησης, διότι ή λαμβανομένη ένωσις δέν προσβάλλεται υπό άλκαλίων και κατά συνέπειαν ή επιτυγχανομένη άδιαβροχοποίησης είναι άνθεκτική εις τήν πλύσιν και διατηρείται πρακτικώς τόσον όσον και αυτό τοῦτο τό ύφασμα.

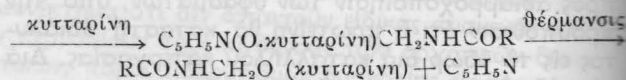
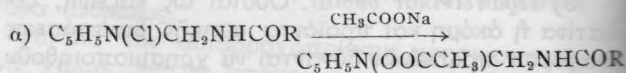
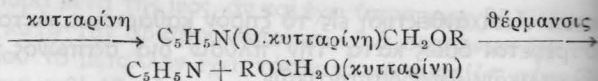
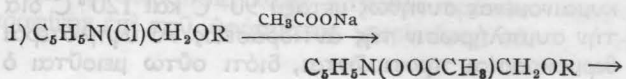
Ή αιθεροποίησης τής κυτταρίνης επιτυγχάνεται κατά κανόνα δι' α-άλογωνμένων μεθυλοενώσεων (αί αιθυλοενώσεις είναι ακατάλληλοι ως μη άρκούντως δραστικά), χρησιμοποιούνται δέ κυρίως χλωρομεθυλαιθέρες, χλωρομεθυλαμίδια και χλωρομεθυλοκαρβαμίδια. Πλεονέκτημα τών δύο τελευταίων κατηγοριών είναι ότι δέν απαιτείται πλέον ή χρήσις άνωτέρων άλειφατικών άλκοολών, αλλά ή πρώτη ύλη είναι όξέα έκ τών εύρισκομένων άφθόνως εις τήν φύσιν.

Αί ένώσεις αῦται δύνανται να χρησιμοποιηθοῦν είτε υπό μορφήν διαλυμάτων έντός οργανικών διαλυτικών είτε ως τεταρτοταγείς βάσεις του άμμωνίου, π. χ. μετά πυριδίνης, αί όποιαί είναι ύδατοδιαλυταί. Αί μετά πυριδίνης ένώσεις έχουν τους κάτωθι γενικούς τύπους:

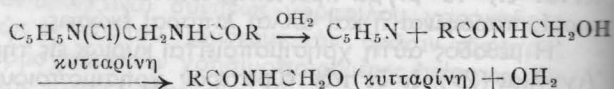


όπου R παριστᾷ μακράν άλειφατικήν άλυσιν.

Μία τών πρώτων ένώσεων τών χρησιμοποιηθεισών επιτυχώς διά τήν επίτευξιν μονίμου άδιαβροχοποίησεως ήτο ή μετά πυριδίνης ένωσις του δεκαοκταοξυμεθυλοχλωριδίου (44) τό όποιον θεωρείται υπό πολλών ως άποτελοῦν τήν βάση του Velan PF (I.C.I.) ύλικοῦ χρησιμοποιουμένου διά τήν άδιαβροχοποίησιν παντός τύπου ύφασμάτων περιλαμβανομένων τών έξ έρίου και μετάξης. Είναι πιθανώτερον πάντως ότι τό Velan PF έχει ως βάση τό χλωρίδιον τής δεκαοκταμιδομεθυλοπυριδίνης (45). Αί λαμβάνουσαι χώραν αντιδράσεις μεταξύ κυτταρίνης και τών δύο αῦτῶν ένώσεων είναι κατά τόν Mullin (46) αί έξής:



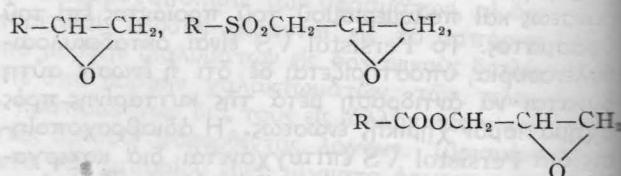
Κατά τόν Davis (47) ή τελευταία αντίδρασις λαμβάνει τήν μορφήν



Είς οίανδήποτε έκ τών άνωτέρω τριών κατηγοριών και άν υπάγεται ή πρὸς άδιαβροχοποίησιν χρησιμοποιουμένη ένωσις, τέσσαρα είναι τά στάδια τής όλης έργασίας. Πρῶτον, κατεργασία του ύφασματος έντός ύδατικού διαλύματος τής καταλλήλου συστάσεως. Δεύτερον, ξήρασις του ύφασματος. Τρίτον, θέρμανσις εις θερμοκρασίαν κυμαινομένην μεταξύ 100° C και 150° C επί χρονικόν διάστημα 5 μέχρις 1 λεπτοῦ. Τέταρτον, καλή έκπλυσις διά τήν άπομάκρυνσιν τών ύποπροϊόντων τής αντιδράσεως. Ή αντίδρασις μετά τής ινός επιτελείται κυρίως κατά τό τρίτον στάδιον.

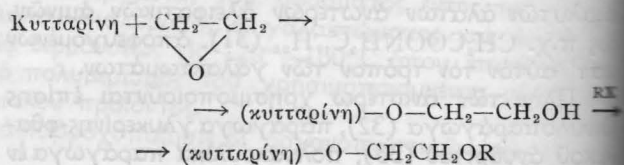
Παρόμοια μετά τών άνωτέρω προϊόντα δύνανται να παρασκευασθοῦν με βάση τήν ούρίαν (48), φαινυλενοδιαμίνην (49), δικαρβαμίδια (50) κτλ. Επίσης χρησιμοποιούνται μεθυλοαμίδια (51) διαλυτοποιούμενα δι' έστεροποίησης μετά όξικοῦ άνυδρίτου (π. χ. RCONHCH_2OOCCH_3) ή ClCOC_6H_4SO_3H (52) κτλ.

Κατ' άλλον τρόπον ή αιθεροποίησης τής κυτταρίνης επιτυγχάνεται δι' αιθυλενοξειδίου (53) ή ύποκατατεστημένων παραγῶγων αῦτοῦ τών γενικῶν τύπων:



όπου R μακρά άλειφατική άλυσιν.

Επίσης αντί τής παρασκευής τών παραγῶγων του αιθυλενοξειδίου και τής έν συνεχείᾳ αντιδράσεως τών προϊόντων αῦτῶν μετά τής κυτταρίνης δύνανται να χρησιμοποιηθοῦν άλληλοδιαδόχως αιθυλενοξείδιον και τό χλωρίδιον άνωτέρας λιπαρᾶς άλκοόλης κατά τό σχήμα (54)



Αδιαβροχοποίησης λόγω διογκώσεως

Μία τελείως διάφορος μέθοδος αδιαβροχοποίησης χρησιμοποιεί την αρχήν επί της οποίας σπινθηρίζεται ή κατασκευή των εκ λινοῦ σωλήνων των πυροσβεστικῶν ἀντλιῶν. Ὡς γνωστὸν τὸ ὑφάσμα αὐτὸ δὲν εἶναι ἀδιαβροχὸν ὅταν εἶναι στεγνόν, παρουσιάζει δὲ κατ' ἀρχὰς διαρροήν, τοῦ ὕδατος διερχομένου διὰ τῶν μεταξὺ τῶν νημάτων διακένων. Ὅσον ὅμως προχωρεῖ ἡ διαβροχὴ τοῦ ὑφάσματος, αἱ ἴνες διογκοῦνται καὶ κλείουν τοὺς κενοὺς χώρους ὥστε ὁ σωλὴν νὰ καθίσταται ἀδιάβροχος.

Βάσει τῆς αὐτῆς ἀρχῆς κατασκευάζονται ἀδιαβροχὰ ὑφάσματα ἐκ μακροίνου μερσερισμένου βάμβακος διὰ καταλλήλου ἐκλογῆς τοῦ τύπου τοῦ νήματος καὶ τοῦ εἶδους τῆς ὑφάνσεως (55). Ὅσον ὀλιγώτερον ἐστριμμένον εἶναι τὸ νῆμα καὶ ὅσον πυκνότερα ἢ ὑφανσις τόσον καλύτερα τὰ λαμβανόμενα ἀποτελέσματα. Τὰ ὑπὸ τὸ ὄνομα Ventile ἀγγλικά ἀδιάβροχα ὑφάσματα κατασκευάζονται κατὰ τὸν ἀνωτέρω τρόπον ἐκ μακροίνου αἰγυπτιακοῦ βάμβακος.

Εἰς τὰς Ἠνωμένας Πολιτείας ἀντὶ μακροίνου βάμβακος, ὁ ὁποῖος σπινθίζει, χρησιμοποιοῦν κοινὸν ἀμερικανικὸν βάμβακα ὁ ὁποῖος ὅμως πρὸ τῆς ὑφάνσεως κατεργάζεται δι' ὑδροξυαιθυλοκυτταρίνης, ἐνώσεως χαρακτηριζομένης ὑπὸ μεγάλης διογκωτικῆς ἰκανότητος (56). Κατὰ τὴν διαβροχὴν τοῦ ὑφάσματος ἡ ὑδροξυαιθυλοκυτταρίνη διογκοῦται καὶ κλείει τὰ μεταξὺ τῶν νημάτων διάκενα, καθιστῶσα οὕτω τὸ ὑφάσμα ἀδιάβροχον. Πρέπει νὰ τοιςσῆ πάντως ὅτι ἡ ὑδροξυαιθυλοκυτταρίνη, ἂν καὶ εἶναι ἀδιάλυτος εἰς τὸ ὕδωρ, διαλύεται εἰς τὰ ἀλκάλια καὶ ὡς ἐκ τούτου ἀπαιτεῖται προσοχὴ κατὰ τὴν πλύσιν ὑφασμάτων τοῦ εἶδους αὐτοῦ.

S U M M A R Y

The Waterproofing of Textile Fabrics

By A. VASSILIADIS

The water repelence of surfaces is first discussed in terms of physicochemical principles. Then the various methods and materials used for the waterproofing of textile fabrics are reviewed. Special attention is given to the newly developed chromium complexes, the organosilicon compounds, and the reagents which modify the chemical nature of the surface of the fibres so that it becomes hydrophobic.

B I B Λ Ι Ο Γ Ρ Α Φ Ι Α

1. Adam N. K.: *The Physics and Chemistry of Surfaces*, Oxford University Press, 1941, σελ. 179.
2. Wenzel R. N.: *Ind. Eng. Chem.*, **28**, 988 (1936).
3. Bartell F. E. καὶ Cardwell P. H.: *J. Am. Chem. Soc.*, **64**, 494, 1530, 1641 (1942).
4. Fowkes F. M. καὶ Harkins W. D.: *J. Am. Chem. Soc.*, **62**, 3377 (1940).
5. Baxter S. καὶ Cassie A. B. D.: *J. Text. Inst.*, **36**, T67 (1945).
6. Cassie A. B. D. καὶ Baxter S.: *Trans. Faraday Soc.*, **40**, 546 (1944).

7. Dietrich: *Ind. Eng. Chem., Anal. Ed.*, **2**, 102 (1930).
- Grenquist: *Ind. Eng. Chem.*, **20**, 1073 (1928).
8. Hunemorder: *Trans. Inst. Rubber Ind.*, **8**, 316 (1932).
9. Bougrand: *B. P.* 405311.
10. *Bl. π. χ.* Dunlop: *B. P.* 324664 ἢ Pirelli: *B. P.* 347691.
11. *Bl. π. χ.* International Latex Processes: *B. P.* 445631.
12. Le Brun: *Text. World*, 1938 (8), 56. Warner: *Oilsilk, Harlequin Press*, 1939.
13. Scoffern: *B. P.* 1744 (ἔτος 1859). *Bl. καὶ Marsh J. T.: Textile Finishing, Chapman and Hall*, 1951, σ. 513.
14. General Aniline and Film Corp., *U. S. P.* 2316057.
15. *B. P.* 354443.
16. Rinse, *B. F.* 1130416.
17. *U. S. P.* 2032528.
18. *U. S. P.* 2785989.
19. National Lead Co.: *U.S.P.* 2457853.
20. Rochas P.: *Teintex.*, **28**, 349 (1957).
21. I. C. I., *B.P.* 767834.
22. Philips F. J. et al.: *Text. Res. J.*, **27**, 369 (1957).
23. Blumenthall W. B.: *Rayon and Synth. Text.*, **31** (12), 81 (1950).
24. *Bl. π. χ.* Du Pont, *B. P.* 458815.
- 24a. Nattrass R.: *Text. Manuf.*, **84**, 193 (1958).
25. Capru M.: *Teintex*, **22**, 924 (1957); Watt J. A. C.: *J. Text. Inst.*, **48**, T175 (1957); Nattrass R.: *Text. Manuf.*, **84**, 193 (1958).
26. *Bl. π. χ.* Phòne-Poulenc, *B.P.* 758987; Watt, J.A.C.: *J. Text. Inst.*, **48**, T175 (1957).
27. *Allied Chemical and Dye Corp.*, *B. P.* 766810.
28. *B. P.* 3095 (ἔτος 1886).
29. Harding T. R.: *The Dyer*, **105**, 765 (1951).
30. I. G., *B. P.* 463300.
31. I. G., *B. P.* 467166.
32. *Bl. π. χ.* I. G., *B. P.* 472613.
33. *Bl. π. χ.* Du Pont, *B. P.* 419373.
34. *B. P.* 371041.
35. *B. P.* 413728.
36. *Bl. π. χ.* Nathanson, *B.P.* 356878 καὶ *B.P.* 458805.
37. *Bl. π. χ.* Karrer, *U.S.P.* 1897026.
38. *Bl. π. χ.* I. G., *B. P.* 460602.
39. *Bl. π. χ.* I. G., *B. P.* 461670.
40. *Bl. π. χ.* Bayer, *B. P.* 767945.
41. Stolte-Missy, *B. P.* 767945.
42. Deutsche Hydrierwerke, *B. P.* 511536.
43. *Bl. π. χ.* Deutsche Hydrierwerke, *B. P.* 522204.
44. I. C. I., *B. P.* 466817.
45. I. C. I., *B. P.* 477991.
46. Mullin C. E.: *Text. Colorist*, **60**, 96, 231 (1938); *Chem. Inds.*, **47**, 404 (1940).
47. Davis F. V.: *J. Soc. Dyers Col.*, **63**, 260 (1947).
48. *Bl. π. χ.* I. C. I., *B. P.* 497856.
49. I. C. I., *B. P.* 517631.
50. Deutsche Hydrierwerke, *B. P.* 521116.
51. Du Pont, *B. P.* 537297.
52. Ciba, *B. P.* 524737.
53. Heberlein Patent Corp., *U. S. P.* 2252039.
54. Dreyfus, *B. F.* 845300.
55. Peirce F. T.: *Text. Res. J.*, **17**, 123 (1947).
56. Goldthwait. *U. S. P.* 2352707; Goldthwait C. F. καὶ Smith H. O.: *Text. World*, **95** (7), 105 (1945).

ΓΕΝΙΚΗ ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

Elliot S.: *The Alkaline-Earth and the Heavy-Metal Soaps*, Reinhold Publishing Corp., 1946.

MacFarlane S.: *The Technology of Synthetic Fibres*, Fairchild Publications Inc., 1953.

Marsh J. T.: *An Introduction to Textile Finishing*, Chapman and Hall, 1951.

Ward K. Jr.: *Chemistry and Chemical Technology of Cotton*, Interscience Publishers Inc., 1955.

(Εἰσήγησις τῆ 21ῆ Μαΐου 1958)

Ἐνίσχυσις ἐρευνῶν διεξαγομένων εἰς τὴν χώραν μας

Ἄνεκοινώθη ἐπισήμως ὅτι τὰ Ἐθνικὰ Ἰνστιτοῦτα τοῦ Ὑπουργείου Ὑγιεινῆς, Παιδείας καὶ Κοινωνικῆς Προνοίας τῶν Η.Π.Α., ἐχορήγησαν εἰς τὸ Πανεπιστήμιον Ἀθηνῶν 27 000 δολλάρια ἀποκλειστικῶς πρὸς συνέχισιν τῶν ἀπό τινος, εἰς τὸ Ἐργαστήριον Ὁργανικῆς Χημείας τοῦ Πανεπιστημίου Ἀθηνῶν ὑπὸ τὴν διεύθυνσιν τοῦ καθηγητοῦ κ. Λεωνίδα Ζέρβα, διεξαγομένων ἐρευνῶν ἐπὶ φωσφορυλιώσεως ἀμινοξέων καὶ πεπτιδίων ὡς καὶ ἐπὶ νοκλεϊνικῶν ὀξέων.

Ἔτερα 4 000 δολλάρια ἐχορηγήθησαν εἰς τὸ αὐτὸ ὡς ἄνω Ἐργαστήριον πρὸς συνέχισιν τῶν εἰς αὐτὸ διεξαγομένων ἐρευνῶν ἐπὶ πεπτιδικῶν συνθέσεων, ὑπὸ τοῦ Ἀμερικανικοῦ Κληροδοτήματος «Ἄννα Φοῦλερ». Ἀμφότερα τὰ ὡς ἄνω ποσὰ πρόκειται νὰ χρησιμοποιηθοῦν κυρίως διὰ τὴν ἀγορὰν ἐπιστημονικῶν ὀργάνων καὶ εἰς μικρὰν κλίμακα διὰ τὴν ἀγορὰν χημικῶν οὐσιῶν.

Ὁ ἐν Ζυρίχῃ ἐγκατεστημένος Χημικὸς - Βιομήχανος κ. Κωνσταντῖνος Γκέρτσος ἐδώρησε εἰς τὸ Ἐργαστήριον Ὁργανικῆς Χημείας ἓν πολωσίμετρον «Zeiss» νέου τύπου, ἀξίας περίπου 3 000 μάρκων, ὡς καὶ διάφορα ἄλλα ὄργανα προελεύσεως Ἀμερικῆς (συσκευὰς ταχείας ἐξατμίσεως, εἰδικὸς ζυγός, ἠλεκτρικὴν συσκευὴν προσδιορισμοῦ σημείου τήξεως) ἀξίας περίπου 1 500 δολλαρίων.

Τέλος τὸ ὑπὸ τὴν διεύθυνσιν τοῦ καθηγητοῦ κ. Wettstein τμήμα ἐρευνῶν τοῦ Ἑλβετικοῦ Οἴκου «Ciba» ἐχορήγησε διὰ τοὺς αὐτοὺς ὡς ἄνω σκοποὺς εἰς τὸ Ἐργαστήριον Ὁργανικῆς Χημείας ἐπιστημονικὰ ὄργανα καὶ χημικὰς οὐσίας συνολικῆς ἀξίας 2 200 δολλαρίων.

Πρὸς τοὺς ὡς ἄνω δωρητὰς ὁ καθηγητὴς κ. Λεων. Ζέρβας ὡς καὶ τὸ Πανεπιστήμιον Ἀθηνῶν ἐξέφρασαν τὰς εὐχαριστίας τῶν.

Τὰ «Χημικὰ Χρονικά» ἐπιχαίρουν διὰ τὴν εὐπρόσδεκτον καὶ σημαντικὴν ταύτην ἐπαύξισιν τῶν ἐρευνητικῶν δυνατοτήτων εἰς τὴν χώραν μας, ἢ ὅποια ἀποτελεῖ συγχρόνως ἀναγνώρισιν ἑλληνικῶν ἐπιστημονικῶν ἐπιτευγμάτων.

Διευθύνσεις συμφώνως τῷ Νόμῳ :

Τυπογραφεῖον ΜΑΡΓΑΡΙΤΑΣ ΓΟΥΔΕΛΗ, Εὐριπίδου 92 — Ἀθήναι
Προϊστ. τυπογρ. ΚΩΝΣΤ. ΖΑΧΑΡΙΟΥ, Γανοχώρων 41 — Νίκαια