

Ressenya

EXPERIÈNCIES DE SÍNTESIS DE POLIPÈPTIDS, PEPTONES I PROTEÍNES PEL MITJÀ DELS FERMENTS

Els treballs crítics de Bayliss sobre'ls resultats obtinguts fins avui respecte a la síntesi feta pels ferments amb fragments de desdoblament de la mateixa molècula sintetitzada, han contribuït de manera notable a refermar l'idea de la possibilitat que un mateix ferment pugui desintegrar i recompondre la mateixa substància.

En el procés de formació de les grasses per la glicerina i els àcids grassos sota la presència de la lipasa, s'ha demostrat de manera decisiva que precedeix una fase reversible. S'escindeix, p. e., butirat etílic mitjançant lipasa i no té lloc una hidròlisi completa. Es verifica un equilibri. S'afegeix a l'alcohol etílic i àcid gras el ferment conegut i aleshores apareix l'ester. L'alteració de l'equilibri en un o altre sentit dóna origen ja a hidròlisi, ja a sintetització.

En els hidrats de carbó les coses sembla que tinguin lloc d'altra manera. Les primeres observacions sobre síntesi dels disacàrids amb monosacàrids foren explicades partint del concepte que un mateix ferment no podria ésser a la vegada destructor i reedificador. La maltasa, p. e., forma isomaltosa de la glucosa. L'isomaltosa no és atacable per la maltasa, però, en canvi, es deixa hidrolitzar per l'emulsina. Altre ferment pot, en canvi, actuar sintèticament. Pot admetre's que l'emulsina forma maltosa de la glucosa, però és inatacable pel dit ferment. Resumint, el ferment sintetitzador formaria sempre una molècula que no podria ésser desintegrada per ell.

Bayliss en sos treballs ha demostrat que els experiments duts a cap per gran nombre d'investigadors no posen pas en clar de cap manera que un ferment hagi arribat a construir una molècula que no pugui també desintegrar. La principal causa d'error partia de no haver empleat preparats de ferments suficientment purs. Així aquell preparat, els efectes del qual eren atribuïts a la maltasa, segurament contenia també emulsina. Aquest ferment era possiblement el que hauria originat la formació de l'isomaltosa. A més, en els assaigs en què l'emulsina obrava sobre la glucosa existia també la maltasa.

Els fets, doncs, passen com entre les grasses. Aquí també es presenta la fase d'equilibri quan els ferments actúen sobre la glucosa i s'ha format ja una quantitat fixa de disacàrid. Això tenia lloc en l'experiència clàssica, quan, actuant la maltasa sobre la glucosa, s'havia transformat ja un 15 per cent d'aquesta substància. Per altra banda, resulta difícil comprendre perquè s'hagi de presentar un equilibri si un determinat ferment sols pogués influir la reacció en un únic sentit.

Les experiències de síntesi de les proteïnes mitjançant ferments són encara avui escasses i bastant fosques. S'ha interpretat com a productes sintètics les nomenades plasteïnes que resulten de l'acció del lab sobre les solucions de peptones. Hi ha hagut qui creia haver aconseguit la regeneració de la protamina per l'acció de la tripsina sobre graus de desintegració de la mateixa protamina produïts pel propi ferment i també haver-la aconseguit per l'acció de la pepsina sobre'ls productes de la digestió pèptica de la caseïna. No obstant, aquestes proves tenen solament el valor del fet insegur. No existeix, avui per avui, la prova absoluta de la capacitat sintètica dels ferments dels grups de les proteases i peptases.

Abderhalden des de fa anys ha fet nombrosos assaigs per aconseguir, per síntesi, polipèptids i albuminoides mitjançant ferments. La seva obra al començament és un seguit de provatures. De primer empleava un àcid amínic a diferents concentracions, però ben aviat va optar per usar-los en nombre de dos, tres o més. En molts casos va emplear productes de desintegració diferents de substàncies albuminoides obtinguts per l'acció de pepsina, tripsina o erepsina. A voltes feia ús del suc pancreàtic i intestinal barrejats. També va servir-se dels sucus obtinguts del premsat o macerat d'òrgans.

Pel mètode òptic pogué comprovar un canvi rotatori de la barreja de substrate i ferment durant el transcurs de l'acció del darrer i feu assaigs d'isolament d'alguns compostos. La reacció de la barreja variava en tots sentits. Anava guiat per la pretensió de resoldre definitivament la qüestió i, per tant, no quedava en ses investigacions cap detall sense examinar-se. Però malauradament la majoria de les proves quedaren sense cap resultat positiu. No tant sols no's podia comprovar cap síntesi, sinó que les materies primes s'obtingueren en el mateix estat. En alguns casos es féu palesa una modificació rotatoria — que fins en alguns casos va ésser considerable — fent actuar suc de premsat intestinal sobre solucions concentrades de leucina i alanina i alanina i glicocola. Però no s'aconseguí isolar cap producte definitiu. D'totes maneres la forta reacció del biuret que va aconseguir-se indicava la formació de compostos molecularment superiors. Moltes de les experiències tenien d'ésser menyspreades perquè no s'havia pogut evitar l'infecció.

Aquest seguit de contrarietats no conseguiren fer depositar l'afany de Abderhalden per a arribar a una síntesi clara, sinó que continuà sense interrupció els experiments iniciats. Va metoditzar el treball i procedí per sempre més de la manera següent: En primer lloc, esterilitzava amb gran cura els

matrassos de conservació amb els substractes. A cada dues proves afegia una quantitat de solució salina fisiològica igual a la quantitat de solució de ferment afegida a les altres. Passats 8, 16, 32, 64, 80 i 120 dies s'investigava les proves, es feia la reacció del biuret i es feia la comparació de cada recipient amb els altres. Després es tractà de fer l'isolament dels possibles productes formats empleant tots els recursos imaginables. Utilitzà també la determinació del nitrogen amínic pels mètodes de Sørensen i després pel de Slyke i darrerament ha fet ús del mètode òptic i de l'interferòmetre de Loewe. Però després de centenars de provatures es veié Abderhalden obligat a abandonar aquestes experiències.

Posteriorment preparà barreges de suc gàstric, pancreàtic i intestinal, amb àcids amínics de fetge, ronyó, ganglis limfàtics i pulmó i deixava que tingués lloc la seva digestió, cosa que's verificava al cap d'uns tres mesos, però la prova del biuret era negativa i no s'hi trobava rastres de polipèptids.

De cada un d'aquells productes en preparà una solució, aproximadament al 20 per 100 (uns 20 grs. N) en solució salina fisiològica, en la qual barreja s'empleà uns 100 cc. per cada assaig. Després, per cada barreja d'àcids amínics se'n destinaren les següents progressions d'assaig:

- 1) 100 cc. de solució + 25 cc. de solució salina fisiològica.
 - 2) 100 cc. de solució + 25 cc. de suc de maceració de l'organ.
- La barreja fou bullida fortament durant una hora
- 3) 100 cc. de solució + 25 cc. de suc de maceració d'organ.

Tots els assaigs eren preparats en doble i a cada barreja d'àcid amínic fou afegida una quantitat de suc de maceració de fetge, ronyó, tiroide i pulmó.

A més, foren preparades també proves amb suc gàstric, pancreàtic i intestinal i en alguns casos suc de maceració de llevadura. Es tingué gran compte de preparar els suc de maceració privant previament de sang l'organ i triturant-lo després curosament. 100 grs. d'organ es barrejaren amb 200 cc. de solució de sal al 0'60 per 100. La barreja es deixà a l'estufa durant setze hores, previa addició de toluol, i després d'aquest temps es filtrà.

A sobre de cada prova va dipositar-se una capa de toluol a bastament gruixuda (2 cm. aproximadament) i després de tancades amb parafina se les deixà a l'estufa quatre setmanes. S'examinà aleshores algunes de les proves detingudament; el resultat era també ara negatiu. Degut a això es deixà les restants per espai de cinc mesos a temperatura de l'habitació i passat aquest temps se les examinà sistemàticament. Un fet va cridar l'atenció. La reacció de biuret era clara *en aquelles proves en què el suc de maceració d'organ i la barreja d'àcids amínics procedien del mateix organ*. En les altres proves, o era negativa o molt feblement apreciable. Això últim era el que passava amb les proves que havien estat sotmeses a cocció al començar l'experiment.

La determinació del nitrogen amínic segons el mètode de Slyke donà per

resultat que totes les solucions en què la barreja d'àcids amínics i de suc de maceració no provenien del mateix organ posseïen aproximadament la mateixa quantitat de nitrogen amínic, inclòs en les proves que previament havien estat cuites. Les proves a les quals no s'havia afegit solució de ferment no foren investigades sobre'l seu contingut d'àcids amínics. *En les proves, en les quals la barreja d'àcids amínics i suc de maceració provenien del mateix organ, pogué comprovar-se d'un 5 a un 15 per 100 menys de nitrogen amínic que en les altres proves.*

Així, p. e., per cada 10 cc. d'assaig hi havia 0'1984 grs. de nitrogen amínic en la barreja de macerat de fetge i àcids amínics de fetge, 0'2213 grs. en la prova cuita i 0'2300 grs. en la de suc de tiroide i àcids amínics de fetge.

10 cc. de la prova de suc de maceració de tiroide més àcids amínics de tiroides hi havia 0'1772 grs. de nitrogen amínic i en la mateixa prova cuita 0'2001 grs. Totes les altres proves contenien aproximadament la mateixa quantitat de nitrogen amínic que la prova amb solució cuita.

10 cc. de prova de suc de maceració de ronyó més àcids amínics de ronyó contenien 0'1654 grs. de nitrogen amínic, mentre que les altres proves en contenien 0'1856 i 0'1904 grs. respectivament.

Les experiències dutes a terme amb suc premsat de llevadura i amb suc de digestió no demostraven cap disminució de nitrogen amínic.

Totes aquestes observacions van anar seguides d'una curiosa determinació del nitrogen total per la qual cosa es va poder comprovar que aquest no sofria variacions sensibles.

Malauradament no pogué isolar-se cap associació determinada, amb tot i utilitzar una llarga serie de recursos.

Finalment, mitjançant l'hidròxid de ferro coloidal s'aconseguí precipitar la barreja de substrate-ferment en alguns casos i es procedí a la determinació del N total del precipitat una vegada rentat amb gran cura. En altres casos va aconseguir-se una coagulació per acidulació 0'1 per 100 d'àcid acètic i calor.

En les proves amb solució de ferment cuita no's pogué observar la coagulació, però l'observació era clara en les experiències de barreja d'àcid amínic i solució de ferment d'un mateix organ. La determinació del N de la gleba obtinguda mitjançant l'hidròxid de ferro coloidal i per l'àcid acètic i calor, demostrà que existia albúmina.

No hi ha cap dubte que havia tingut lloc una síntesi encara que nó s'hagués pogut separar un producte ben definit. Les comprovacions verificades són suficients per a fer creure que els àcids amínics sota l'acció dels ferments havien format peptona i albúmina. Efectivament: s'ha de creure en la formació de la primera, perquè després de la coagulació el filtrat manifestà encara una franca reacció del biuret i després el propi Abderhalden ha demostrat, per proves especials, que existien productes dialisables que posseïen encara la reacció.

Quedaven encara punts a resoldre: Podia ésser deguda la síntesi a l'acció de bacteries que podien haver-se desenrotllat durant el llarg període de temps que durà l'experiencia? Es van dur a terme experiments de cultius aerobis i anaerobis que donaren resultat completament negatiu.

Cabía també preguntar-se sobre la possibilitat d'haver-se desenrotllat microorganismes en una primera fase de l'experiment els quals haurien pogut morir en el transcurs d'aquell.

Va procedir-se a centrifugar fortament totes les solucions abans de l'experiment i el centrifugat fou examinat mitjançant impregnació colorimètrica, però no's trobà cadàvers bacterians encara que l'observació no podia fer-se amb rigorosa seguretat. Quedava el dubte de si les bacteries haguessin estat dissoltes pels ferments.

Finalment, podia encara fer-se una objecció: amb el suc de maceració s'ha afegit una petita quantitat d'albumina a les proves, petita quantitat d'albumina que fa que les proves sotmeses a cocció es manifestin feblement tèrboles. Aquesta petita quantitat d'albumina en totes les proves ha estat destruïda naturalment en aquelles en què la cocció no fa ostensible un enterboliment i la reacció del biuret és negativa o molt poc positiva. La quantitat d'albumina afegida podia, doncs, haver restat intacte en aquelles proves en les quals al final de l'experiencia mostraven reacció d'albumina.

Contra d'això parla el fet d'existir en aquestes proves una quantitat d'albumina superior a la de les proves cuites. La diferencia resultava tan declarada que obligava a descartar tal possibilitat.

Les experiencies d'Abderhalden donen peu a consideracions de gran valua en el terreny de la Biologia. Val, per tant, la pena transcriure a continuació íntegrament les paraules que Abderhalden emplea per a cloure el seu darrer treball:

«Es un fet sorprenent el que sols tingui lloc una síntesi en aquelles proves en les quals el suc de maceració d'un organ ha actuat sobre una barreja d'àcids amínics procedents del mateix organ.

L'observació feta indica que'ls ferments cel·lulars tenen una acció específica. Observacions posteriors han demostrat que el suc de maceració de cèl·lules de fetge destrueixen l'albumina d'elles, però no la d'altres especies cel·lulars. Si se suposa que la construcció específica de les diferents formes cel·lulars depèn de la de les diferents parts de la cèl·lula i si es dona per demostrat que els mateixos ferments destrueixen i reintegren, *aleshores resulta lògicament, que aquells ferments que reintegren i destrueixen productes cel·lulars deuen ésser considerats com a molt específics respecte a certs substractes*. De no ésser així, els ferments de les cèl·lules hepàtiques deurien també poder destruir i reintegrar els components d'altres cèl·lules orgàniques. Per altra banda no pot imaginar-se que sols un cert ferment reuneixi els diferents àcids amínics en series i nombre determinats i no deixi d'actuar fins a deixar la molècula d'albumina completament acabada.

R e s s e n y a

Probablement són tota una serie de ferments els que intervenen en la construcció i desmoronament de les materies albuminoides. De totes maneres el fet de posseir les diferents classes de cèl·lules substancies o agrupaments moleculars especialment característiques d'elles, fa pensar en la possible existencia de gran nombre de proteases.

Les observacions fins avui aportades sobre ferments no sanguinis són també aplicables amb llurs conseqüències als ferments de la sang. També aquests es manifesten altament específics. Si un sèrum actúa no específicament, és a dir, si destintegra diferents classes d'albumina és possible que's degui a l'existència en ell de nombrosos i diferents ferments.

Intimament relacionats amb els experiments descrits, hi ha començats un seguit d'assaigs. Com ja és sabut, el triptofan lliure i en solució diluida, dóna una coloració rosada si se li afegeix aigua de brom. L'àcid amínic no lliure no dóna aquesta reacció colorant. Per tant, aquesta reacció havia de servir com a pedra de prova en la síntesi de productes compostos de triptofan i de tota una serie d'àcids amínics.

Efectivament, en molts casos va notar-se la desaparició de la reacció colorant, però solament escassíssimes vegades va aconseguir-se obtenir novament el triptofan per hidrolisi del producte format. Però degut a arribar les solucions a colorar-se deixant-les en repòs no resultava aventurat suposar que el triptofan afegit havia sofert una transformació.

Aquest fet s'ha d'aclarir amb noves provatures.

Finalment, s'ha dut a terme experiments amb peptones i suc de maceració d'òrgans. Al cap de vuit setmanes s'ha vist que'n totes les proves en les quals la peptona i el suc de maceració procedien d'un mateix organ s'hi feia visible una marcada turbulencia.

Del treball integrat per totes aquestes experiències no se'n pot treure encara una conseqüència.»

A l'esclatar la guerra Abderhalden prometia continuar les experiències descrites.

LEANDRE CERVERA.