

Tesis de Posgrado

Influencia de algunos agentes químicos en la proteólisis péptica

Canónica, Mauricio

1912

Tesis presentada para obtener el grado de Doctor en Química de la Universidad de Buenos Aires

Este documento forma parte de la colección de tesis doctorales y de maestría de la Biblioteca Central Dr. Luis Federico Leloir, disponible en digital.bl.fcen.uba.ar. Su utilización debe ser acompañada por la cita bibliográfica con reconocimiento de la fuente.

This document is part of the doctoral theses collection of the Central Library Dr. Luis Federico Leloir, available in digital.bl.fcen.uba.ar. It should be used accompanied by the corresponding citation acknowledging the source.

Cita tipo APA:

Canónica, Mauricio. (1912). Influencia de algunos agentes químicos en la proteólisis péptica. Facultad de Ciencias Exactas y Naturales. Universidad de Buenos Aires. http://digital.bl.fcen.uba.ar/Download/Tesis/Tesis_0079_Canonica.pdf

Cita tipo Chicago:

Canónica, Mauricio. "Influencia de algunos agentes químicos en la proteólisis péptica". Tesis de Doctor. Facultad de Ciencias Exactas y Naturales. Universidad de Buenos Aires. 1912. http://digital.bl.fcen.uba.ar/Download/Tesis/Tesis_0079_Canonica.pdf

EXACTAS UBA

Facultad de Ciencias Exactas y Naturales



UBA

Universidad de Buenos Aires

INFLUENCIA DE ALGUNOS AGENTES QUÍMICOS
EN LA
PROTEÓLISIS PÉPSICA

UNIVERSIDAD NACIONAL DE BUENOS AIRES
FACULTAD DE CIENCIAS EXACTAS, FÍSICAS Y NATURALES

— :: —

INFLUENCIA DE ALGUNOS AGENTES QUÍMICOS

EN LA

PROTEÓLISIS PÉPSICA

—

TESIS

PRESENTADA PARA OPTAR EL GRADO DE DOCTOR EN QUÍMICA

POR

MAURICIO CANÓNICA

FARMACÉUTICO

—

BUENOS AIRES

ESTABLECIMIENTO TIPOGRÁFICO DE OTERO Y C.º

VENEZUELA 570-72

1912

*La Facultad no se hace solidaria de
las opiniones vertidas en las tesis.*

PADRINO DE TESIS:

DR. EDUARDO L. HOLMBERG

A LA MEMORIA DE MI PADRE

A MI MADRE

A LOS MIOS

A MI TIO, SEÑOR PEDRO BIANCHI
GRATITUD PROFUNDA

SEÑORES CONSEJEROS:

SEÑORES PROFESORES:

Os presento este modesto trabajo como tesis inaugural. Descaría que él fuera mucho más digno de las lecciones que he recibido de mis distinguidos Profesores en las aulas de esta Facultad, pero me anima la esperanza de que en vuestro fallo sabréis conciliar la benevolencia con la rectitud, como cuando era vuestro alumno.

La curiosidad que me han despertado siempre los fenómenos catalíticos, fué la causa de que eligiera como tema un punto del vastísimo terreno que éstos presentan: la influencia ejercida por algunos cuerpos en la acción de un catalizador orgánico, la pepsina. La honda satisfacción que experimentaré será para mí una recompensa excesiva, si habréis juzgado que los datos obtenidos poseen alguna utilidad teórica ó práctica.

Permitidme que exprese aquí mi profundo agradecimiento hacia el doctor Eduardo L. Holmberg, por el alto honor que me concede acompañándome como padrino en este acto y hacia todos mis maestros por los beneficios intelectuales que me prodigaron durante mis estudios.

También deseo manifestar mi sincero reconocimiento hacia el doctor Horacio Damianovich y el señor Luis Guglielmelli quienes me favorecieron durante este trabajo con preciosas indicaciones respecto á la teoría y técnica del mismo.

Quedo agradecido al señor don Agustín Barbagelata, jefe de la Oficina Química Nacional de Buenos Aires, por haberme permitido utilizar aparatos de esa repartición.

Me une un sentimiento de cariño y gratitud á todos mis compañeros y amigos adquiridos en esta Facultad, que con una espontaneidad característica me han ayudado siempre que les ha sido posible.

PRIMERA PARTE

1 — Consideraciones generales sobre la proteólisis

Entre los fenómenos bioquímicos presentan grande importancia é interés las evoluciones constructivas y destructivas de las sustancias proteicas. La función que desempeñan éstas en la vida vegetal y animal, la complicación de sus moléculas, han hecho que una legión de fisiólogos y químicos hayan dedicado y dediquen sus horas de trabajo á la resolución de tan difíciles problemas, cuales son la investigación de las propiedades, separación, naturaleza química, análisis y hasta síntesis de dichas sustancias. En la metamorfosis de la materia al través de los seres vivientes, se nota que en los vegetales el proceso es complicativo. Se edifican las grandes moléculas con almacenamiento de cierta energía potencial, quitada al medio ambiente, la mayor parte procedente de radiaciones solares; en los animales, contrariamente, hay simplificaciones, desmoronamiento de esos edificios moleculares, con restitución de la energía absorbida. Obran á grandes rasgos pues, los vegetales por síntesis, los animales por análisis. Esto no es absoluto. Los animales superiores, antes de asimilar las grandes moléculas proteicas, las descomponen en fragmentos, con los cuales vuelven á construir los edificios

moleculares. que les son propios. Esos fragmentos de moléculas son las agrupaciones que, reunidas en distinta cualidad, cantidad y orden, forman la gran variedad de cuerpos proteicos. Ellos pueden obtenerse por hidrólisis artificial *in vitro*, y los más simples, los que forman como el límite de la proteólisis trípica, son: la glicocola, alanina, valina, leucina, serina, ácido aspártico, glutámico, lisina, arginina, cistina, fenilalanina, tirosina, prolina, triptofano, histidina, leucinimida, glucosamina, amoníaco.

Estudiando la cualidad y cantidad de esas agrupaciones que están contenidas en cada sustancia proteica, ó sea haciendo su análisis hidrolítico, se dan grandes pasos en química para el conocimiento de la composición de dichas sustancias, y en fisiología para el conocimiento de su metabolismo. Es por eso que E. Fischer, E. Abderhalden y otros químicos han prestado en estos últimos años su precioso concurso, practicando largos y difíciles análisis hidrolíticos de variadas sustancias proteicas, y un resumen de cuyos resultados consignaremos más adelante.

Las sustancias albuminoides, en general coloides, no solo no pueden atravesar el intestino, sino que á menudo serían tóxicas y no asimilables; de ahí el fraccionamiento mencionado, que se efectúa en el tubo digestivo por líquidos segregados por las glándulas auxiliares, cuya acción es debida especialmente á principios orgánicos catalizadores hidrolizantes, las diastasas proteolíticas. Tales son la pepsina y el fermento lab segregados por el estómago, la tripsina por el páncreas, la erepsina de Cohnheim segregada por la mucosa del intestino delgado de los mamíferos, la arginasa descubierta por Kossel y Dakin en la mucosa intestinal, pero que se encuentra

más activa en el hígado. Esos fermentos son semejantes á otros que se hallan en los tejidos de vegetales y de animales. Toman parte activa en el metabolismo intracelular de las sustancias proteicas, por ejemplo, en la solubilización de estas sustancias en las semillas durante la germinación. Entre ellas existen analogías pero también diferencias. Las diferencias se refieren generalmente á la naturaleza de los proteicos que atacan, al grado de hidrólisis á que llevan la molécula y á las condiciones de actividad.

Así la pepsina, tripsina, papaína, erepsina, arginasa atacan especialmente las sustancias proteicas simples ó proteínas propiamente dichas, las proteosas, los peptidos y la arginina; los fermentos lab animales y las quimasas vegetales que caseifican la leche, las caseasas de muchos hongos y vegetales superiores que licúan el coagulum formado por las quimasas, la glutenasa de G. Bertrand y Muttermilch, atacan los fosfoproteídos tales como la caseína, las sustancias proteicas del gluten; la nucleasa que descompone los ácidos nucleicos, la guanasa y la adenasa que transforman las aminopurinas en oxipurinas, son fermentos de los nucleoproteídos; la gelatinasa, glutinasa ó gelatasa de muchos bacterios (*Microc. prodigiosus*, *Bacillus pyocyaneus*, *St. albus*, *St. aureus*, *Bac. anthracis*, *Vib. cholerae*, *Vib. de Finkler-Prior*, *Vib. Metchnikovi*, etc.), de levaduras, mohos (*Aspergillus niger*, *Penicillium glaucum*), hongos superiores y de jugos de vegetales y animales superiores hidroliza la gelatina, de manera que es un fermento que ataca un proteoide.

A continuación expongo la clasificación provisoria adoptada por M. Javillier en su obra sobre Fermentos Proteolíticos, y que, como se ve, está fundada en la na-

turaliza de las sustancias que atacan preferentemente y en su origen:

Fermentos de las proteínas ó proteínolíticos	{ Pepsina Tripsina Erepsina }	del tubo digestivo	
		Fermentos proteínolíticos de los tejidos y de los órganos de los animales	De los tallos; ej. papaína
			De semillas; ej: proteasa de la malta
Fermento de los proteídos	{ Fermentos proteínolíticos de las plantas }	De las hojas; ej: nepentina	
		De los frutos; ej: bromelina	
		De los hongos y microbios	
		{ De los fosfoproteídos }	Quimasa
			Caseasa
{ De los nucleoproteídos }	Glutenasa		
	Nucleasa		
		Guanasa y adenasa	

Fermentos de los proteoides ó albuminoides : Gelatinasa.

Las diastasas en cuestión pertenecen al numeroso grupo de las hidrolasas, que Oppenheimer (1) clasifica de la manera siguiente:

A — Hidrolasas

I — Eterasas

a) Diastasas que desdoblan los eteres simples.

b) Lipasas { Zoolipasas
 |
 | Fitolipasas

II — Carbohidrasas

a) Disacararas { Maltasa
 | Sacarasa (invertasa)
 | Lactasa
 | Trehalasa, melibiasa, etc.

b) Trisacararas y tetrasacararas

c) Glucosidasas { Amigdalasa (emulsina),
 | gaultherasa, etc.
 | Mirosinasa

d) Polisacararas { Amilasas y dextrinasas
 | Celulasa
 | Inulinasa, seminasa, pectina-
 | sa, etc.

III — Amidadas ó proteasas.

a) Amidadas simples como ureasa, arginasa, adenasa, guanasa, etc.

b) Peptasas y ereptasas

c) Nucleasa y fitasa

(1) C. Oppenheimer. Die Fermente und ihre Wirkungen. Leipzig t. I. página 44.

d) Triptasas $\left\{ \begin{array}{l} \text{Tripsina del} \\ \text{páncreas} \\ \text{Leucoproteasa} \\ \\ \text{Fitotriptasas} \end{array} \right. \left\{ \begin{array}{l} \text{de fanerógamas} \\ \text{de criptógamas} \end{array} \right.$

e) Autólisis de los tejidos.

f) Pepsinasas.

IV — Coagulasas.

a) Quimasa (lab.)

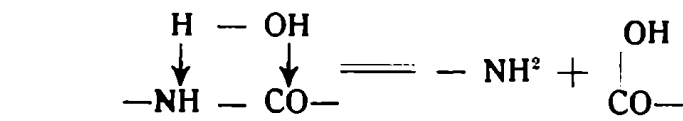
b) Trombasa (fibrinfermento).

In vitro, como hemos dicho, para la hidrólisis de las sustancias proteicas no es necesario recurrir á las diastatas. Con el fin de estudiar la composición de esas sustancias, se puede utilizar los ácidos clorhídrico, sulfúrico, álcalis, como hicieron E. Fischer, E. Abderhalden, etc. (1) en sus importantes trabajos. Sea cualquiera el agente proteolítico (ácidos y álcalis diluídos ó diastatas), el proceso es esencialmente catalítico y parece diferenciarse solamente en la velocidad, grado de hidrólisis, etc.

Las sustancias proteicas poseen un carácter general en su constitución que las acerca mucho, y es que en su molécula hay muchas agrupaciones como ésta:



que adquieren fácilmente una molécula de agua, como indica esta esquema:



(1) E. Fischer. Untersuchungen über Aminosäuren, Polypeptide und Proteine. Berlin 1906.

quedando así rota en ese sitio la cadena primitiva. Esto nos explica la producción de gran cantidad de ácidos aminados en la hidrólisis profunda de las sustancias proteicas. La rotura de esas cadenas complejas es lógico admitir que se produzca en los puntos más débiles ó más fácilmente atacables, poniendo en libertad primeramente los grandes grupos constituyentes. Estos pueden fragmentarse á su vez, y así sucesivamente esta especie de desmenuzamiento de la molécula proteica llega á veces hasta cuerpos relativamente muy simples y cristalizables (digestión trípica) ó se detiene en unos cuerpos todavía muy complejos, las peptonas, como sucede en la digestión péptica.

En cuanto al mecanismo íntimo de esas hidrólisis, que son análogas á las hidrólisis de otros cuerpos, se sabe poco á pesar de que se estudiaron mucho sus caracteres y sus leyes. Entran en la categoría de las acciones catalíticas producidas por el 1.º y 2.º grupo de catalizadores, según la clasificación de Ostwald ó sea por compuestos orgánicos lábiles (diastasas) y cuerpos disociados (ácidos, bases, sales).

Lo cierto es que sucede como si el catalizador tomara moléculas de agua y las cediera al cuerpo que se hidroliza, de cuya combinación resulta un desdoblamiento como ya sabemos.

En la acción de los electrolitos diluidos se ve algo más claro, si se tiene en cuenta que las experiencias de Ostwald demuestran que la actividad catalítica de los ácidos es paralela al grado de disociación ó sea al número de moléculas de H^2O disociadas en H y OH que serían precisamente los radicales dotados de una reaccionabilidad especial. Algunos autores quieren acercar las diastasas al grupo anterior de catalizadores. Ob-

servan en efecto, que un carácter general de ellas es que actúan en conjunto con un radical inorgánico (manganeso para la lacasa, calcio para la quimasa y fibrin-fermento, H Cl para la pepsina, etc.), lo cual hace suponer que la parte orgánica funcione como soporte que formaría con el radical inorgánico una combinación muy apta para que éste entre en función. Esta función de soporte parece que es frecuentemente desempeñada por las sustancias proteicas. Pero se debe tener en cuenta que las diastasas son coloides y como tales forman sistemas microheterogéneos, mientras que los electrolitos en solución constituyen sistemas homogéneos.

2 — Clasificación de las sustancias proteicas y productos que se obtienen en su hidrólisis

“Las sustancias cuya transformación es producida por las diastasas proteolíticas, dice Javillier (1), son muy numerosas, muy diversas, muy estudiadas y mal conocidas.

Hace más ó menos diez años, los conocimientos que se tenían sobre ellas se reducían á poco; composición elemental, algunas reacciones generales de coloración ó de precipitación y algunos cuerpos definidos provenientes de su oxidación como la úrea y el ácido oxálico, ó de hidrólisis como la leucina y la tirosina. Debemos especialmente á A. Kossel y E. Fischer, el progreso realizado en este sentido en esta última década. El descubrimiento de albúminas relativamente simples, como las protaminas, el empleo de ácidos fuertes como agentes de hidrólisis, la aplicación de métodos nuevos de aislamiento de los ácidos aminados, en fin, la preparación sintética de peptidos que recuerdan las peptonas de origen diastásico por sus propiedades, marcan las etapas sucesivas del progreso realizado en tan poco tiempo en ese sentido”.

Sería inútil hacer figurar en esta pequeña monografía un resumen sobre las propiedades de las sustancias proteicas, sobre las cuales existen grandes y voluminosas obras; pero sí las nombraré indicando su com-

(1) M. Javillier. *Les ferments proteolytiques*. Pág. 2.

portamiento en la hidrólisis péptica y trípica, que es el carácter que tiene más relación con esta tesis.

Una clasificación racional de los compuestos proteicos no es hoy todavía posible; ella sería la que tuviera por base la constitución química de esos cuerpos definidos. Las clasificaciones provisionarias existentes tienden á ella, pero en gran parte están fundadas en caracteres exteriores como la solubilidad; en el origen ó rol fisiológico; en la composición y productos de desdoblamiento. Una de las mejores parece ser la de Hammarsten, modificada por Cohnheim (1) que es la que paso á exponer.

A — *Cuerpos proteicos simples ó proteínas*

I — Albúminas. — Serumalbúmina, ovalbúmina, lactalbúmina.

II — Globulinas. — Serumglobulina, fibrinógeno y fibrina, lactoglobulina, ovoglobulina, pericaglobulina, cristalino α y β . páncreasglobulina, globulina de la orina, globulina de los órganos, miosina, fitoglobulinas (edestina, excelsina).

III — Albúminas alcohosolubles de las plantas. — Gliadina, hordeína, zeína.

IV — Histonas.

V — Protaminas.

VI — Albuminoides.

1 — Kolágenos.

2 — Keratinas, koilinas.

3 — Elastinas.

4 — Fibroínas.

5 — Esponginas, gorgoninas.

(1) O. Cohnheim. *Chemie der Eiweisskörper*. Braunschweig, 1911.

- 6 — Conquiolinas.
- 7 — Amiloides.
- 8 — Ictilepidinas.
- 9 — Albumoides.
- 10 — Melaninas.

B — *Productos de transformación de las proteínas*

- I — Acidalbúminas y alcalialbúminas.
- II — Albumosas, peptonas, peptidos.
- III — Albúminas halogenadas, oxiproteínas.

C — *Proteídos ó cuerpos proteicos compuestos*

- I — Fosfoproteídos.
- II — Nucleoproteídos.
- III — Hemoglobinas, y cuerpos afines.
- IV — Glicoproteídos. — Mucinas, mucoides, helicoproteído.

A — *Cuerpos proteicos simples* ⁽¹⁾

I — *Albúminas*

Las albúminas son solubles en agua. Han sido obtenidas en cristales. No precipitan saturando sus soluciones acuosas con Cl Na y estando el líquido neutro, como también con SO₄Mg aún á 40°; en cambio son precipitadas por esas sales en líquido acidulado por ácido acético. Las soluciones de albúmina no son precipitadas por ácido acético.

(1) Los datos que consigno sobre cada grupo de substancias proteicas han sido extraídos de la obra citada de Cohnheim, del suplemento de la Encicl. Quim de Guareschi, de la Quim. fisiol de M. Arthus y de otras partes.

Son albúminas:

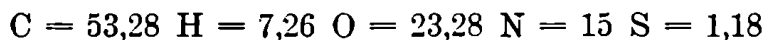
- a) La serumalbúmina que, según Hofmeister y Kura-
jeff, respondería á esta fórmula:



de peso molecular 10166. Sometida á hidrólisis por Ab-
derhalden, Samyely y Derselbe, dió el porcentaje de gru-
pos componentes (Cohnheim, página 482), que figura
en el cuadro general número 1.

- b) La ovalbúmina está contenida en los huevos acompa-
ñada por una globulina y un mucoide.

El análisis elemental dió á Hofmeister:

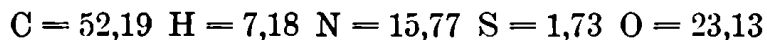


La hidrólisis practicada por Abderhalden, Pregl,
Osborne, Gilbert, Harris y Morner, dió los productos
que pueden verse en el cuadro general número 1. Hof-
meister calcula como fórmula mínima:



correspondiente á un peso molecular 5378.

- c) La lactalbúmina se encuentra en la leche en pequeña
cantidad comparando con la caseína. Sebelien prac-
ticó el análisis elemental, encontrando por ciento:



Abderhalden y Pribram encuentran como productos de
hidrólisis en 100 gramos de lactalbúmina de vaca, los
que se encuentran en el cuadro número 1. — El com-
portamiento de las albúminas en la digestión péptica
será detallado en el párrafo titulado “proteólisis pép-
tica”.

II — Globulinas

Son insolubles ó difícilmente solubles en agua. Son más bien solubles en soluciones salinas diluídas y neutras, de las que vuelven á precipitar por ulterior dilución con agua ó acidulando ó separando la sal por diálisis.—Son precipitadas por la saturación con $\text{SO}_4 \text{Mg}$ ó $\text{SO}_4 (\text{NH}_4)_2$ ó Cl Na .

a) La serumglobulina, según Hammarsten, contiene por ciento esta composición en peso:

$$\text{C} = 52,71 \quad \text{H} = 7,01 \quad \text{N} = 15,85 \quad \text{S} = 1,11 \quad \text{O} = 23,32$$

Los productos de hidrólisis obtenidos (Cohnheim, página 191), son los que se ven en el cuadro número 1.

b) El fibrinógeno y la fibrina de la sangre. — En la coagulación de la sangre “los glóbulos blancos afuera de los vasos sanguíneos poseen la propiedad de abandonar al plasma una sustancia, el profibrinfermento ó protrombasa que es transformada en fibrinfermento ó trombasa por las sales de calcio disueltas en el plasma. — Ese fibrinfermento desdobra el fibrinógeno disuelto en el plasma sanguíneo en dos sustancias: una que precipita, la fibrina; la otra que queda disuelta en el suero, la fibringlobulina” (1).

El fibrinógeno, según Hammarsten, posee la siguiente composición centesimal:

$$\text{C} = 52,93 \quad \text{H} = 6,9 \quad \text{N} = 16,66 \quad \text{S} = 1,25 \quad \text{O} = 22,26$$

La composición centesimal de la fibrina se aleja poco de la del fibrinógeno. — Los datos que se tienen sobre hidrólisis de la fibrina pueden verse en el cuadro número 1.

(1) M. Arthus. *Chimie physiologique*.

La digestión péptica de la fibrina será tratada en el párrafo titulado “Proteólisis péptica”.

- c) La lactoglobulina se halla en la leche en la pequeña cantidad de unos miligramos por litro.
- d) Ovoglobulina. — Existe en el huevo en la proporción de 6,6 o/o de las sustancias proteicas.
- e) Percaglobulina en los ovarios de *Perca fluviatilis*.— Estas tres últimas globulinas se desdoblán en productos análogos á los de la serumglobulina.
- f) El cristalino del ojo, del cual hay dos variedades: el α cristalino y el β cristalino, que se diferencian entre otras cosas, en su poder rotatorio y en su temperatura de coagulación.
- g) La globulina cristalina de la orina, encontrada por Noël Paton en una orina de un enfermo de enfermedad desconocida.
- h) Proteína de la orina; de Bence Jones. — Su análisis centesimal dió:

$$C = 52,42 \quad H = 6,83 \quad N = 15,66 \quad S = 1,46$$

según Grutterink y Graaff. — Los productos de su hidrólisis están en el cuadro número 1.

- i) Globulinas de los órganos.
- j) La miosina. — Según Halliburten, la formación de la miosina en el mioplasma abandonado á sí mismo es análoga á la formación de la fibrina en el plasma sanguíneo, y provendría de la transformación del miosinógeno; existe la hipótesis que intervenga aquí también una diastasa, el miosinfermento. — El análisis elemental de la miosina dió á Kuhne y Chittenden:

$$C = 52,79 \quad H = 7,12 \quad N = 16,86 \quad S = 1,26$$

Weiss de 100 gramos de miosina de músculos de salmón, obtuvo por hidrólisis:

Arginina.	5.66	gramos
Histidina.	3.33	„
Lisina	4.95	„

- k) Las fitoglobulinas ó globulinas de las plantas se hallan en las semillas. — Son, por ejemplo, globulinas de semillas oleaginosas: la edestina, excelsina, amandina, corilina; de semillas de leguminosas: la phaseolina, legumina, conglutina, vignina, glycinina; globulinas de los cereales que están acompañadas por una albúmina, la leucosina de Osborne, en el trigo, centeno, cebada, maíz, avena.

III — *Proteínas alcoholubles de los cereales*

Han sido estudiadas:

- a) La gliadina, soluble en alcohol á 70°, cuyo análisis hidrolítico por Osborne, Clapp, Abderhalden, etc. (Cohnheim, página 224), se puede ver en el cuadro número 1.
- b) La hordeína de la cebada.
- c) La zeína del maíz, soluble en alcohol á 96°.

IV — *Histonas*

Son sustancias proteicas de carácter básico, precipitables por los álcalis y solubles en un exceso de éstos. Fácilmente solubles en ácidos. — En la naturaleza no se hallan preformadas, sino unidas á los grupos que Kossel llamó prostéticos, formando así cuerpos importantísimos tales como las hemoglobinas. — La pepsina las digiere con formación de histopeptonas.

Entre las histonas estudiadas están: la histona de

los leucocitos de la glándula timo, la de los hematies del ganso, la de los espermatozoides de peces, la globina, principal componente de la hemoglobina. — Algunos porcentajes de los productos de hidrólisis de ciertas histonas están en el cuadro número 1.

V — *Protaminas*

Son las proteínas naturales de estructura más simple que se conocen. — Son bases más enérgicas que las histonas y dan con los ácidos sales cristalizadas. — Han sido encontradas en los espermatozoides de peces, donde se hallan combinadas con el ácido nucleico. — No contienen azufre. — No se coagulan por el calor. — La pepsina parece no actuar sobre ellas. — Han sido estudiadas la salmina, clupeína, scombrina, sturina, ciclopterina, cyprinina α y β , crenilabrina. — Goto da como fórmulas mínimas:

De la salmina.	C ₃₀ H ₅₇ N ₁₇ O ₆
De la clupeína.	C ₃₀ H ₆₂ N ₁₄ O ₉
De la scombrina.	C ₃₂ H ₇₂ N ₁₆ O ₈
De la sturina.	C ₃₄ H ₇₁ N ₁₇ O ₉

Entre sus productos de hidrólisis es notable la cantidad de arginina. — De la sturina se obtuvo mucha histidina y lisina; de la cyprinina mucha lisina.

VI — *Albuminoides*

No se encuentran en las células de los animales, sino que forman la sustancia fundamental entre la que están las células. — Sirven para apoyo, envoltura, conexión del protoplasma. — Son completamente insolubles en todos los líquidos animales. — Por el calor no se coagu-

lan. al contrario, se disuelven transformándose en gelatina, que por enfriamiento da una jalea. — Hidrolizadas dan los productos comunes de desdoblamiento.—Por sus propiedades físicas se cree que el peso molecular sea muy elevado, así Siegfried calcula en 70.000 el de la elastina. — Se incluye entre los albuminoides las siguientes sustancias:

1 — Colágenos

Se hallan en el tejido conjuntivo ordinario, en el tejido cartilaginoso y en el óseo. — Haciéndolos hervir largo tiempo con agua se transforman en gelatina ó glutina ó cola, pudiéndose efectuar la transformación inversa á 130° (Hofmeister), como si el colágeno fuera el anhídrido, la gelatina el ácido. — La composición centesimal del colágeno, según Hofmeister, es:

$$C = 50,75 \quad H = 6,47 \quad N = 17,86 \quad S + O = 24,92$$

Contiene poquísimos azufre. — Entre los productos de desdoblamiento se obtuvo mucha glicocola y nada de tirosina (1) (véase el cuadro número 1).

Los colágenos calentados antes con agua ó mejor con ácido diluídos, se disuelven en el jugo gástrico y pancreático. — La pepsina digiere la gelatina con formación de gelatosas (glutosas) y gelatinopeptonas (glutinopeptonas). — Ambos productos han sido estudiados; así utilizando el método de las sales neutras se han separado proto y deutero gelatosas y Schermesser, por el procedimiento de Siegfried, aisló una gelatinopeptona á la cual atribuye la fórmula $C^{23} H^{39} N^7 O^{10}$ y que

(1) O. Cohnheim. Pág. 246.

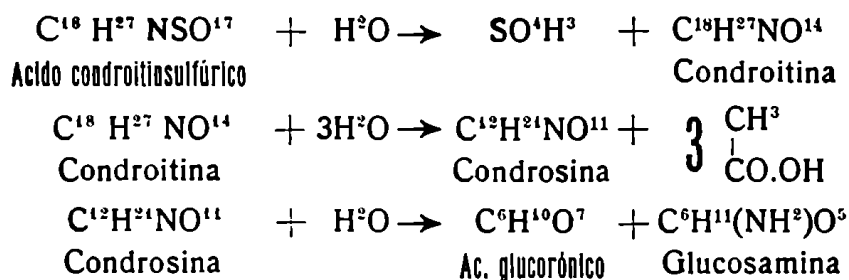
por hidrólisis sulfúrica produce arginina, lisina, ácido glutámico y glicocola.

Los colágenos principales son:

a) El colágeno de los cartílagos. — Lo que se llamaba antes condrígeno que por ebullición se transformaba en condrina, se admite hoy como una mezcla de colágeno y mucina. — Según Morner, en un cartílago habría:

- 1.º — Condromucoide y sus productos de hidrólisis.
- 2.º — Acido condroitinsulfúrico.
- 3.º — Colágeno.
- 4.º — Un albumoide (en los cartílagos viejos).

El condromucoide, según Schmiedeberg, sería combinación de un colágeno con el ácido condroitinsulfónico. — Este se desdobra en caliente por hidrólisis con H Cl al 4-5 o/o, según esta ecuación:



b) El colágeno de los huesos (oseína).

c) Colágeno de invertebrados. — Hoppe Seyler encontró tejidos colágenos en los cefalópodos.

d) Glutolina. — Este nombre dió Faust á una sustancia proteica encontrada en la sangre y que parece ser un colágeno por dar débil la reacción de Millon y por su bajo porcentaje en S.

2 — *Keratina*

Es el componente principal del tejido córneo, epidermis, cabellos, lana, uñas, plumas, etc. — Es keratina la película que reviste interiormente la cáscara de los huevos, la neurokeratina del cerebro, médula. — Hay varias especies de keratina, como resulta de los análisis elementales practicados en tejidos keratinosos de distinto origen. — Varía especialmente la cantidad de azufre, la cual es en general muy grande. — La keratina se disuelve en agua á 150°-200°; también en caliente con los álcalis formándose sulfuro alcalino, albumosas y quizás peptonas. — Sus productos de hidrólisis, como puede verse en el cuadro general, son los de las sustancias proteicas comunes (Cohnheim, páginas 255 y 257), pero muy variables en cantidad en las distintas keratinas. — Es digna de observación la elevada cantidad de cistina, que en los cabellos del hombre alcanza 14 o/o.

La keratina reciente es atacada á veces por la pepsina, pero en general no lo es, dependiendo esto mucho de su edad. — Da la reacción de Millon, la xantoproteica y la del azufre.

3 — *Elastina*

Se encuentra en el tejido conjuntivo de los animales superiores y en gran cantidad en el ligamentum nucae. — El análisis centesimal de la elastina del ligamentum nucae de buey, dió:

$$C = 54,32 \quad H = 6,99 \quad N = 16,74$$

Parecía no contener azufre, pero H. Schvartz obtuvo de la aorta una elastina con azufre; se cree que el

azufre se pierde por el modo habitual de preparación en el cual intervienen álcalis.

Por las diastasas proteolíticas se empieza por desdoblarse fácilmente en los principales productos, según Horbaczewsky; la hemielastina que es una heteroalbumosa y la elastinpeptona que está constituida por una deuteralbumosa y probablemente también por peptonas.

Entre sus productos de hidrólisis es de observar la cantidad elevada de glicocola y la pequeña de tirosina, la ausencia de ácido aspártico y triptofano. — La elastina da la reacción de Millon y la xantoproteica.

4 — *Fibroína*

Forma un 53 o/o de la seda, en la que está acompañada por una glutina, la sericina y otra sustancia oscura todavía, la serina. — También forma la parte fundamental de las telas de araña. — Es insoluble en los disolventes neutros, álcalis y ácido acético concentrado; se disuelve en los ácidos concentrados, en los líquidos cupro y zincoamoníacales. — Cramer da como datos sobre su composición centesimal:

$$C = 48,6 \quad H = 6,4 \quad N = 18,89$$

En su análisis hidrolítico se puede notar que produce gran cantidad de glicocola, alanina, tirosina.

5 — *Espongina—Gorgonina*

La espongina es la sustancia fundamental de las esponjas. — Antes se confundía con la fibroína, pero parece diferenciarse entre otras cosas por la falta de tirosina en sus productos de hidrólisis (véase el cuadro

general y Cohnheim, página 264), y por ser insoluble en el líquido cuproamoníacal. — Su análisis centesimal dió á Croockewit :

C = 47 H = 6,31 N = 16,15 S = 0,5 I = 1,08

La espongina sería así una sustancia proteica iodada natural, cuyo iodo se ha retirado también entre sus productos de hidrólisis bajo forma de un compuesto, probablemente ácido monoiodoaminobutanoico.

La gorgonina es la sustancia fundamental del esqueleto del coral. *Gorgonia cavolinii*.

6 — *Conquiolina*

Se encuentra en las conchas de moluscos gasterópodos y lamelibranquios y cáscaras de huevos de los mismos. — Es difícilmente soluble en agua sobrecalentada y en ácidos; más fácilmente en álcalis, si es joven.

7 — *Amiloide*

Se halla en el bazo, hígado, riñones en ciertas condiciones patológicas. — Por acción de los ácidos se desdobra en albúmina y ácido condroitinsulfúrico, por lo que Krawkow la considera como una combinación de esas dos sustancias. — Por digestión péptica se hidroliza, pero el ácido condroitinsulfúrico queda inalterado. — Algunos de los productos de su hidrólisis profunda (Cohnheim, página 268) se ven en el cuadro número 1. — Su análisis elemental dió á Tschermak estos porcentajes :

C = 53,01 H = 7,00 N = 16,20 S = 1,56

8 — *Ictilepidina*

Se halla en escamas de peces con un colágeno.—En frío es insoluble en agua, en ácido diluïdos, soluble en ácidos y álcalis concentrados, pero más fácilmente en caliente. — No da la reacción de Adamkiewiez. Es atacada por el ácido clorhidropéptico y la solución alcalina de tripsina.

El análisis elemental por Abderhalden y Voctinovic, dió por ciento:

C = 50,87 H = 6,56 N = 15,69 S = 1,02

9 — *Melaninas*

Son ciertos pigmentos negros ú oscuros que se encuentran en la piel, cabellos, células epiteliales de la retina, en ciertas neoformaciones patológicas, en la orina y sangre de ciertos enfermos. — Son en general difíciles de aislar y los métodos que existen se cree que los alteran. — Nencki demostró que el triptofano ó proteïneromógeno, no sólo por sus propiedades colorantes, sino también por sus productos de descomposición tiene cierto parecido con las melaninas y lo considera como la sustancia madre de éstas. — Las melaninas son muy ricas en azufre y en general no dan las reacciones características de las sustancias proteicas.

10 — *Albumoides*

Forman las membranas propias de muchas glándulas, el sarcolema, la sustancia sólida del cristalino. — Parecen á las proteïnas coaguladas. — Son casi insolubles é indigeribles. — Por ebullición no producen gelatina. — Los principales son:

- a) El sarcolema.
- b) La membranina, que forma la cápsula del cristalino.
- c) La reticulina que se encuentra en fibras de las glándulas linfáticas, del bazo, mucosa intestinal, hígado, riñones, vesículas de los pulmones.
- d) La sustancia fundamental de la *chorda dorsalis* de algunos peces.

B — Productos de transformación de las proteínas

Por el calor ó por acción de distintos reactivos, como ácidos, álcalis, alcohol, diastasas proteolíticas, se obtienen modificaciones de las proteínas con propiedades diferentes. — Se suelen llamar también desnaturalizadas. — Cohnheim las clasifica en:

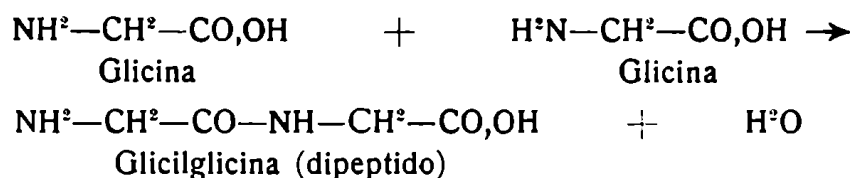
- 1—Acidalbúminas y alcalialbúminas.
- 2—Albumosas, peptonas, peptidos.
- 3—Proteínas halogenadas, oxiproteínas.

Las acidalbúminas y alcalialbúminas se obtienen por acción energética de ácidos y álcalis concentrados sobre las albúminas comunes como la del suero sanguíneo ó la del huevo. — Poseen algunos caracteres comunes, así son casi insolubles en agua y en soluciones diluídas de Cl Na, pero solubles en soluciones diluidísimas de ácidos ó álcalis. Esas soluciones no se coagulan por el calor.

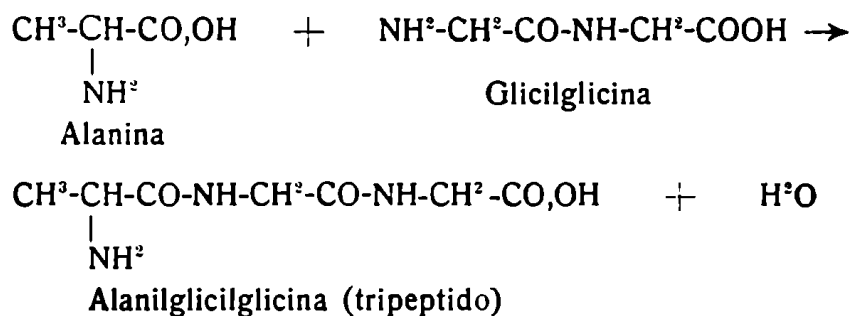
Sin embargo, las álcali- y acidalbúminas son compuestos diferentes; así disolviendo un alcalialbúmina en un ácido no se obtiene un acidalbúmina, y viceversa, un acidalbúmina disuelta en un álcali no es una solución de alcalialbúmina. — El proceso de desnaturalización parece ser distinto.

De las albumosas y peptonas será tratado al hablar de la proteólisis péptica.

Los peptidos son los cuerpos proteicos más conocidos, más simples y también, se podría decir, más artificiales. — Debemos su conocimiento á los preciosos trabajos de E. Fischer (1) y sus colaboradores E. Abderhalden, Brunner, Warburg, Suzuki, etc. Los ácidos aminados son susceptibles de unirse entre sí con pérdida de agua, como indicamos:



Se ve que la eliminación del agua se efectúa á expensá del grupo amidógeno de uno de los aminoácidos y del oxhidrilo del otro. — En la misma forma tenemos:



Análogamente se concibe teóricamente como se puedan obtener tetra, penta, etc. peptidos. — A continuación expongo una lista de polipeptidos estudiados y la mayor parte sintetizados por Fischer y sus colaboradores:

(1) E. Fischer. Untersuchungen über Aminosäuren, Polypeptide und Proteine. Berlin, 1906.

Dipeptidos

Glicilglicina	Fenil-glicil-alanina A y B
Glicil-dl-alanina	Glicil-fenilalanina
dl-alanil-glicina	Alanil-fenilalanina
d-alanil-glicina	Leucil-fenilalanina A y B
l-alanil-glicina	Fenilalanil-glicina
Alanil-alanina (inactiva)	Fenilalanil-fenilalanina
d-Alanil-d-alanina	Glicil-l-tirosina
α -Aminobutiril-glicina	Leucil-l-tirosina
Glicil-dl-leucina	Seril-serina
dl-leucil-glicina	Isoseril-isoserina
Alanil-leucina A y B	Glicil-asparagina
Leucil-alanina	Leucil-asparagina
Leucil-isoserina A y B	Fenil-glicil-asparagina
Leucil-leucina	Acido leucil-aspártico
Fenilglicilglicina	Asparagil-monoglicina
dl-prolil-alanina	Acido l-leucil-d-glutámico
Leucil-prolina (inactiva)	d-Alanil-l-tirosina
Lisil-lisina	l-Tirosil-l-tirosina
Histidil-histidina	Glicil-l-triptofano
Glicil-d-valina	l-Triptofil-glicina
d-Valil-glicina	d-Alanil-l-triptofano
d-Alanil-d-valina	d-Alanil-l-triptofano
l-Leucil-d-valina	l-Leucil-l-histidina

Tripeptidos

Diglicil-glicina	Asparagil-dialanina
dl-Alanil-glicil-glicina	Glicil-d-alanil-glicina
Dialanil-alanina	Glicil-l-asparagil-l-leucina
dl-Leucil-glicil-glicina	l-Leucil-glicil-d-alanina
Leucil-alanil-alanina A y B	l-Leucil-glicil-l-leucina

Glicil-leucil-alanina	d-Alanil-glicil-l-tirosina
Alanil-leucil-glicina	Glicil-d-alanil-l-tirosina
Leucil-alanil-glicina A y B	l-Leucil-glicil-l-triptofano
dl-Fenil-alanil-glicilglicina	Leucil-glicil-fenilalanina
Diglicil-fenilalanina	Dileucil-fenilalanina

Tetrapeptidos

Triglicil-glicina	Dialanil-cistina
dl-Leucil-diglicil-glicina	Dileucil-cistina
Dileucil-glicil-glicina	d-Alanil-diglicil-glicina
Diglicil-cistina	Glicil-d-alanil - glicil-l-tirosina

Pentapeptidos

Tetraglicil-glicina	l-Leucil-triglicil-l-leucina
l-Leucil-triglicil-l-tirosina	

Hexapeptidos

Pentaglicil-glicina	Leucil-tetraglicil-glicina
---------------------	----------------------------

Heptapeptidos

Leucil-pentaglicil-glicina

Octopeptidos

l-Leucil-hexaglicil-glicina

Decapeptidos

l-Leucil-octoglicil-glicina

Tetradecapeptidos

l-Leucil-triglicil-l-leucil-octoglicil-glicina

Octodecapeptidos

l-Leucil-trigicil-l-leucil-trigicil-l-leucil-octoglicil-glicina .

Peso molecular: 1213,3.

Los tetradecapeptidos y los octodecapeptidos dan la reacción del biureto y se acercan mucho en sus caracteres á las peptonas. — Si son insensibles á la reacción de Millon y de Adamkiewicz, es por la ausencia de tirosina y triptofano en su molécula.

C — Los proteídos ó cuerpos proteicos compuestos

Están formados por la unión de una proteína con una sustancia no proteica, de naturaleza variable, llamada grupo prostético. — En los fosfoproteídos es el ácido fosfórico, en los nucleoproteídos el ácido nucleico, en las hemoglobinas un pigmento ferruginoso, la hematina, en los glicoproteídos un complejo hidrocarbonado.

I — Fosfoproteídos

Se confundieron antes con los nucleoproteídos porque en la digestión péptica se separan dos partes: una proteína fácilmente soluble y otro complejo difícilmente soluble que contiene el fósforo. — Pero los fosfoproteídos no contienen bases xánticas ni ácido nucleico.—Poseen función ácida, siendo poco solubles en agua al estado libre y bastante solubles al estado de sales. — Bajo esta forma no son en general coagulables por el calor, pero basta una ligera acidez para que lo sean. — Los principales fosfoproteídos son:

a) Caseína. — Es la sustancia proteica caracterís-

tica de la leche. — Al estado libre es insoluble en agua. — En la leche se encuentra disuelta bajo forma de caseinato cálcico, pero es precipitable por pequeñísima cantidad de ácido. — El fermento lab del jugo gástrico la transforma en paracaseína que es insoluble aún bajo forma de sal cálcica. — Su composición centesimal, según Hammarsten, sería :

C = 52,96 H = 7,05 N = 15,55 S = 0,758 P = 0,847

Por digestión péptica de corta duración, como la que tiene lugar en el estómago, sufre escasa transformación. — Por digestión péptica prolongada se forman albumosas, peptonas y cuerpos abiuréticos. — E. Fischer y E. Abderhalden aislaron tirosina, ácido α —pirrolidincarbónico y un polipeptido biurético. — Queda un residuo rico en fósforo, la paranucleína de Kossel ó pseudonucleína de Hammarsten. — Ese residuo varía en cantidad según el origen de la caseína; la de cabra deja mucho más que la de vaca, según Long (M. Javillier).

La digestión triptica de algunas caseínas dió los productos que se observan en el cuadro general número 1.

b) Vitelina. — Se encuentra en la yema de los huevos de aves. — Por digestión clorhidropéptica produce vitelosas, y un residuo, la pseudonucleína, cuya composición centesimal es :

C=42,11 H=6,08 N=14,73 S=0,55 P=5,19 Fe=0,39

Bunge llama hematógeno á este compuesto ferrosfosforado. — Los productos de su hidrólisis (Cohnheim, página 290), figuran en el cuadro general.

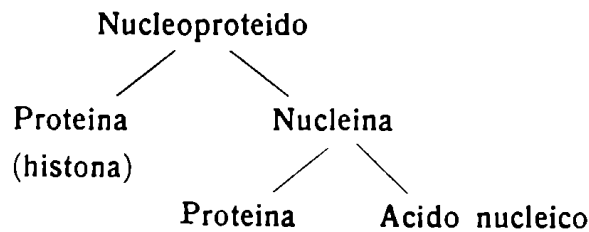
c) Ictulina. — Existe en los huevos de peces.

d) Fosfoproteídos del protoplasma celular.

e) Fosfoproteídos parecidos á las mucinas. — Se comportan como las mucinas y las sustancias mucoides, es decir, sus sales alcalinas son líquidos filantes; son precipitadas por los ácidos y se desnaturalizan por la acción prolongada del calor, alcohol y álcalis. — Entre sus productos de desdoblamiento no se hallan hidratos de carbono. — Su digestión péptica deja como residuo una pseudonucleína.

II — Nucleoproteídos

Son compuestos de una proteína y ácido nucleico.— En la digestión péptica dan una verdadera nucleína, que queda intacta. — Hervidos con ácidos minerales diluídos dan además de una proteína, cuerpos xánticos. Su composición y descomposición es representada por este esquema de Kossel y Lilienfeld:



El grupo prostético sería el ácido nucleico, que contiene el fósforo. — Los ácidos nucleicos son poco solubles en agua fría, mucho en caliente y muchísimo en los álcalis y acetato de potasio. — Son ácidos bibásicos, de peso molecular y fórmula aún dudosa. — Schmiedeberg deduce de los análisis elementales la fórmula siguiente para el de esperma de salmón:



Stendel por el análisis hidrolítico calcula esta otra:



Los ácidos nucleicos por hidrólisis con los ácidos, ó aún solamente con agua dan:

- a) 4 bases xánticas ó purinas: la adenina, hipoxantina, xantina y guanina;
- b) 3pirimidinas: el uracilo, la timina y la citosina;
- c) Hidratos de carbono (hexosas ó pentosas);
- d) Acido fosfórico;
- e) Amoníaco.

Los principales nucleoproteídos que han sido estudiados son:

- 1—Nucleoproteído de los espermatozoides de peces.—
El de salmón parece compuesto de ácido nucléico 60,50 o/o y protamina 35,56 o/o. Schmiedeberg lo considera como una sal formada por once moléculas de ácido nucleico y diez de protamina.
- 2—Nucleohistona extraída del timo. Forma el 77 o/o de la sustancia seca de los leucocitos. Por digestión clorhidropéptica se separan nucleínas.
- 3—Nucleoproteído de los núcleos de hematias de las aves y reptiles. Parece constituido por 42,1 o/o de ácido nucleico y 57,82 de histona.
- 4—Nucleoproteído del páncreas, obtenido por Hammarsten.
- 5—Nucleoproteído de la glándula tiroide. Digerido con clorhidropepsina produce una nucleína. Por proteólisis profunda da bases xánticas y un hidrato de carbono que no es una pentosa.
- 6—Nucleoproteído del hígado, extraído por Wohlgestmith, Levene y Scaffidi.
- 7—Nucleoproteído de los bacterios.
- 8—Acido triticonucleico de las semillas de trigo.

III — *Hemoglobinas y cuerpos análogos*
(metalloproteídos)

La hemoglobina es un proteído formado por la combinación de una proteína, la globina, con una sustancia no proteica, la hematina.

Los análisis centesimales de hemoglobinas de distintos animales dieron cifras algo distintas; la de perro dió. á Hoppe Seyler:

C=53,85 H=7,32 N=16,17 O=21,84 S=0,39 Fe=0,43

El fierro está contenido en la hematina. La fórmula de la hemoglobina de caballo, según Jaquet, sería:

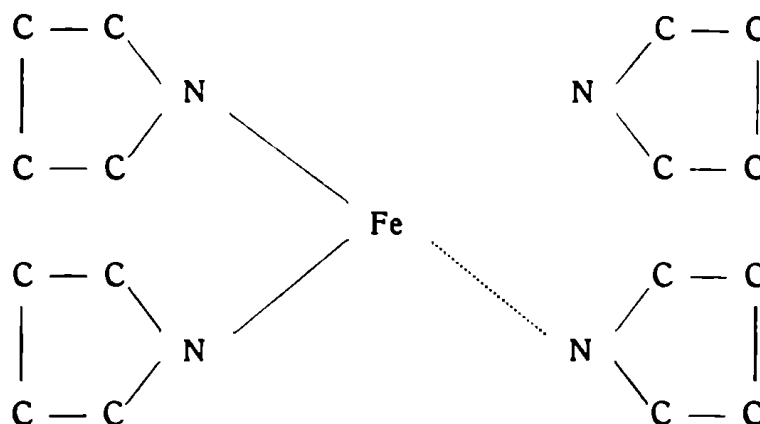
C₇₅₈ H₁₂₀₃ N₁₉₅ O₂₁₈ Fe S₃; peso molecular: 16669

Por acción péptica la hemoglobina, análogamente á los otros metalloproteídos, se desdobla en globina, sustancia proteica del grupo de las histonas, que es digerida, y hematina, grupo prostético ferruginoso, que queda inalterado. Esta propiedad se utiliza para la preparación de la hematina.

Resiste en modo extraordinario á la putrefacción, durante la cual se transforma solo en hemoglobina reducida, que ulteriormente no es atacada.—Resiste también á la acción de la tripsina. — Por acción pasajera de ácidos orgánicos débiles ó de ácidos minerales sumamente diluídos se transforma en acidhemoglobina. Si la acción es más enérgica, se hidroliza y se desdobla en globina y hematina, cuya unión parece ser bastante débil. Se ha pensado que sea como una sal en la que la hematina funcionaría como ácido.

Los análisis de la hematina no son muy concordantes y su fórmula varía según varios autores: sería C₃₄ H₃₅ N₄ Fe O₅, para Hoppe Seyler; C₃₂ H₃₂ N₄ Fe O₅,

para Nencki y Sieber; $C_{32} H_{34} N_4 Fe O_3$, para Hufner y Kuster. Willstatter cree que el Fe está unido al N pirrólico en esta forma:



Por análisis hidrolítico, Abderhalden halló en la globina de caballo los cuerpos (Cohnheim, página 333), que consigno en el cuadro general número 1.

IV — *Glicoproteídos*

Los glicoproteídos se caracterizan porque entre sus productos de hidrólisis se encuentra un hidrato de carbono, pero no compuestos xánticos. — El hidrato de carbono que resulta está dotado de poder reductor. No se coagulan por el calor. Poseen carácter ácido; enrojecen el tornasol y son precipitados por los ácidos. En cambio son fácilmente solubles en álcalis con formación de sales que poseen reacción neutra; pero un pequeño exceso de álcali los desnaturaliza. Entre los glicoproteídos indicaremos las mucinas, los mucoides y los fosfoglicoproteídos.

a) Mucinas. — Son sustancias mucilaginosas y filantes insolubles en ácido acético. — Por hidrólisis ácida producen una sustancia reductora. F. Müller obtuvo

de una mucina salivar hasta 36,9 o|o de glucosamina. Son disueltas, aunque difícilmente, por jugos pépsicos y trípsicos formando una solución límpida que, según Friederich, Müller y Mitjukoff, contiene albumosas, pero no se separan hidratos de carbono.

Con los metales alcalino-térreos forman sales solubles; el mucus natural es, según Müller, la sal sódica.

Las mucinas dan la reacción del biureto, la xantoproteica, la de Millon y la del azufre.

b) Mucoides. — Difieren de las mucinas por su composición elemental, su solubilidad y algunas reacciones de precipitación. — Así, por ejemplo, las mucinas son precipitables por ácido acético y los mucoides no.

Los mucoides son difícilmente atacados por el jugo gástrico. Los que han sido objeto de más estudio, son: el condromucoide y el ácido condroitinsulfúrico que se han indicado al tratar de colágenos; el mucoide de los tendones, huesos, piel; el del cuerpo vítreo y de la córnea; el ovimucoide, que se halla en la clara de huevo con la ovalbúmina y la ovoglobulina, por hidrólisis produce hasta 29,4 o|o de glucosamina, según Stendel; el mucoide del suero de la sangre, el de la orina, el de los huevos de cefalópodos, etc.

c) Fosfoglicoproteídos. — Se distinguen especialmente de las mucinas y mucoides por contener fósforo. Hammarsten encontró en la *Helix pematia* un fosfoglicoproteído, que llamó helicoproteído.

Cuadro No. 1 - Productos de hidrólisis de algunas sustancias proteicas (1)

	Glicocola	Alanina	Valina	Leucina	Serina	Ac. aspártico	Ac. glutámico	Lisina	Arginina	Cistina	Fenilalanina	Tirosina	Prolina	Triptofano	Histidina	Amorhaco
Albúminas	Ovalbúmina.....	2,1	..	6,1	..	1,5	9,1	0,29	4,4	1,1	2,25	ab.	..	1,5
	Seroalbúmina.....	4,19	..	30	0,56	4,43	7,7	2,53	4,29	2,1	2,34	0,96
	Lactalbúmina.....	2,5	0,9	19,4	..	1,0	10,1	2,4	0,85	4,0
Globulinas	Seroglobulina.....	3,5	..	18,7	8,5	1,51	2,7	2,5	2,5	1,75
	Fibrina.....	8,0	3,6	15,0	0,8	2,0	10,4	4,0	3,0	1,17	2,5	3,82	3,6	existe	..	existe
	Proteína de la orina (Bence Jones).....	1,7	4,5	10,6	..	4,5	6,0	6,6	4,6	..	1,5	1,7	1,9	existe	1,9	1,6
	Edestina (Cannabis sativa).....	3,8	3,6	6,2	14,5	4,5	14,5	1,65	14,7	14,7	..	2,4	2,1	1,7	2,19	2,28
	Excelsina (Bertholletia excelsa).....	0,6	2,33	1,51	8,7	3,85	12,94	1,64	14,29	14,29	..	3,55	3,03	3,65	1,47	1,80
	Amandina (Prunus amygdalus).....	0,52	1,40	0,16	4,45	5,42	23,13	0,72	12,16	12,16	..	2,53	1,12	2,44	1,87	3,70
	Globul. de sem. de Cucurb. maxima.....	0,57	1,92	0,7	7,32	4,5	13,4	1,99	14,44	14,44	..	8,32	3,07	2,82	2,63	1,64
	Globul. de sem. de Goss. herbaceum.....	1,2	4,5	existe	15,5	2,9	17,59	2,06	13,51	13,51	..	3,9	2,3	2,3	3,46	2,33
	Faseolina (Phaseolus vulgaris).....	0,55	1,8	1,04	9,65	5,42	14,54	4,58	4,87	4,87	..	3,25	2,84	2,77	2,62	2,06
	Legumina (Pisum sativum).....	0,38	2,08	..	8,0	5,30	16,97	4,98	11,73	11,73	..	3,75	1,55	3,22	1,63	2,05
	Legumina (Vicia sativa).....	0,39	1,15	1,36	8,8	3,21	18,3	3,7	11,06	11,06	..	2,87	2,42	4,04	2,94	2,16
	Glicinina (Soja hispida).....	0,97	..	0,68	8,47	3,89	19,46	3,39	7,69	7,69	..	3,86	1,86	3,78	2,10	2,56
	Vignina.....	0	0,97	0,34	7,82	3,97	14,89	4,31	7,20	7,20	..	5,27	2,26	5,25	3,08	2,34
	Leucosina (trigo).....	0,94	4,45	0,18	11,34	3,35	6,73	2,75	5,94	5,94	..	3,83	3,34	3,18	2,83	1,41
	Histona del timo.....	0,5	3,46	..	11,8	3,66	2,2	6,31	1,46

(1) Según datos de la obra de O. Cohnheim «Chemie der Eiweisskörper». Las cantidades son porcentajes.

Cuadro No. 1 - Productos de hidrólisis de algunas sustancias proteicas

	Glicocola	Alanina	Valina	Leucina	Serina	Ac. aspártico	Ac. glutámico	Lisina	Arginina	Cistina	Fenilalanina	Tirosina	Prolina	Triptofano	Histidina	Amoniacaco
Colágeno	19,25	3,0	..	6,75	0,4	0,56	14	5-6	9,3	..	0,4	..	7,7	..	0,4	0,43
Keratina (cuerno de buey).....	0,34	1,2	5,7	18,3	0,7	2,5	14	..	2,25	6,8	3	4,58	3,6
Keratina (crin de caballo).....	4,7	1,5	0,9	7,1	0,6	0,3	(3,7)	1,12	4,45	7,98	..	3,2	3,4	0,61
Keratina (lana de oveja).....	0,58	4,4	2,8	11,5	0,1	2,3	12,9	7,3	..	2,9	4,4
Keratina (pluma de ganso).....	2,6	1,8	0,5	8	0,4	1,1	(2,3)	3,6	3,5
Elastina	25,75	6,58	1	21,38	0,76	2,48	1,86	..	3,8	0,34	1,74	..	0,53	0,05
Fibroina (seda de New-Chwang) ..	19,7	23,8	..	1,6	1	2,9	1,7	1,2	9,8	1,85
Fibroina (seda de Canton).....	37,5	23,7	..	1,5	1,5	0,75	0	1,6	9,8	1
Fibroina (s. de Schantung Tussah) ..	14,5	22,	..	1	1,8	1	1,75	1	9,7	2,5
Fibroina (seda de Bengala).....	30,5	20,	..	1,2	1,75	0,8	1,75	1,4	10	1
Fibroina (seda de Cheefoo).....	12,5	18,	..	1,2	1	2	vest.	1	8,5	2,5
Fibroina (s. de Tai-Tsao-Tsam) ...	25,2	18,2	..	0,9	1,2	2,1	2	1	7,8	1
Fibroina (seda Italiana).....	36	21,	..	1,5	1,6	existe	1	..	1,5	10	(0,3)
Fibroina (seda Italiana).....	33,5	20,	..	0,75	1,9	1	0,25	1,25	9	0,8
Fibroina (seda Japonesa).....	35	22,6	..	0,7	0,7	1	0,07	1,3	9,7	0,7
Espongina	13,9	7,5	..	4,7	18,1	3-4	5-6	6,3
Conquiolina.....	4	poco	2,7	7,8	5
Amiloide	15,1	2,3	..
Ictilepidina	5,7	3,1	1,2	9,2	6,7

Albuminoides

Cuadro No. 1 - Productos de hidrólisis de algunas sustancias proteicas

	Glicocola	Alanina	Valina	Leucina	Serina	Ac. aspártico	Ac. glutámico	Lisina	Arginina	Cistina	Fenilalanina	Tirosina	Prolina	Triptofano	Histidina	Amoniaco
Glutenina (Triticum vulgare)	0,89	4,65	0,24	5,95	..	0,91	23,42	1,92	4,72	..	1,97	4,25	4,23	..	1,76	4,01
Gliadina (* , *)	0	2,00	0,21	5,61	..	0,58	37,33	0	3,16	..	2,35	1,20	7,06	..	0,58	5,11
Gliadina (Secale cereale)	0,13?	1,33	..	6,30	..	0,25	38,05	0	2,22	..	2,70	1,19	9,82	..	0,39	5,11
Hordeína (Hordeum vulgare)	0	1,34	1,40	7,00	..	1,32	43,20	0	2,16	..	5,03	1,67	13,73	..	1,28	4,87
Zelma (Zea maiz)	0	9,79	8,98	19,55	..	1,73	26,17	0	1,55	..	6,55	3,55	9,04	..	0,82	3,64
Glutenina (* , *)	0,25	6,22	..	0,63	12,72	2,93	7,06	..	1,74	3,78	4,99	..	3,0	2,12
Clupeína (Clupea harengus)	3?	6?	0	3?	0	89	0	11?	0	0	..
Salmína (Salmo salar)	0	1,65	0	3,25	0	89,2	0	4,3	0	0	..
Scombrina (Scomber scombrus)	6,8	0	0	0	0	88,9	0	3,8	0	0	..
Sturina (Accipenser sturio)	existe	0	existe	0	8,4	63,4	0	0	0	11,8	..
Cyprinina α (Cyprinus carpio)	existe	30,3	8,6	0	..	0	0	..
Cyprinina β (* , *)	existe	3,3	28,0	1,5	..	0	0	..
Cyclopterina (Cyclopterus lusopus)	existe	0	65,6	2,2	..	existe	0	..
Crenilabrina (Crenilabrus pavo)	11,0	42,3	existe	..	0	0	..
Caseína (vaca)	0	0,9	6,69	7,92	0,13	1,2	10,77	5,8	4,8	existe	3,5	4,5	6,7	2	2,6	1,8
Caseína (cabra)	0	1,5	..	7,5	..	1,1	11,25	2,75	4,95	4,72
Caseína (mujer)	0	1,2	..	8,8	..	1,0	10,95	2,8	4,71	2,85
Vitelina	0	0,75	1,87	9,87	..	2,13	12,95	4,81	7,46	..	2,54	3,37	4,18	existe	1,9	1,25
Globina (caballo)	0	4,19	24,04	..	0,56	4,33	1,73	4,28	5,42	0,31	4,24	1,33	2,34	existe	10,96	0,93
Pseudomucina	4,68	2,64	..	0,29	..	1,098	0,75

Proteínas alcohólicas
de frutos de graníneas

Proteínas

Proteínas

3 - La proteólisis péptica

Para tratar de una manera sintética esta parte, como también la que se refiere á la proteólisis trípica, me ha parecido conveniente seguir aproximadamente lo escrito al respecto por M. Javillier en su obra sobre diastasas proteolíticas, donde el autor resume bien los conocimientos que sobre ello se tenían hasta la fecha.

En la digestión péptica la molécula proteica es fragmentada en partes que pueden ser numerosas, pero aún complicadas y voluminosas. Las sustancias que resultan de esta proteólisis se han reunido bajo el nombre de proteosas; Mialhe las llamaba albumosas; Lehmann, peptonas. — Esa expresión no se aplica á una sustancia definida, sino á la mezcla de cuerpos que resultan en dicha digestión, y engloba los productos de hidrólisis que provienen de materias proteicas bien diferentes, de modo que se aplica á mezclas que por lo menos difieren en la proporción de sus constituyentes. Las proteosas no son más coagulables por el calor, pero dan aún las principales reacciones de coloración y precipitación de las sustancias proteicas. Es un conjunto complejo, como ya dijimos, y para conocerlo mejor se ha buscado separar sus componentes, problema sumamente complicado, cuyas vías de resolución hasta hoy no han podido ser más que artificiales y arbitrarias.

Cuando al principio de la acción péptica sobre una proteína, se satura la acidez del líquido en experiencia con $\text{CO}_3 \text{Na}^2$, se ve producirse un precipitado; se designa éste con el nombre de sintonina ó parapeptona (Meissner). Es un acidalbúmina. Después de cierto tiempo de digestión, no se puede más producir ese precipitado y

la sustancia proteica está enteramente transformada en lo que Meissner llamaba peptona.

Si á la ebullición se satura con sulfato de amonio, antes en medio neutro, luego en medio alcalino y por último en medio ácido, se forma un precipitado, pero queda un líquido que posee todavía propiedades de los cuerpos protéicos, por ejemplo, dá intensamente la reacción del biureto y la xantoproteica. Al conjunto de los productos precipitables por sulfato de amonio á saturación se llama albumosas, á los otros peptonas. Como se ve, la separación es arbitraria desde el principio, el carácter de la precipitabilidad por sulfato de amonio es bien artificial y provisorio. Sin embargo no es el único carácter diferencial entre albumosas y peptonas. El conjunto de sus caracteres indica que el orden de sucesión en cuanto al alejamiento de la albúmina primitiva es:

Proteina → sintonina → albumosa → peptona

En ese esquema simple no hay que olvidar que las palabras sintonina, albumosa, peptona, designan no individuos químicos, sino mezclas.

Llevando más profundamente las investigaciones, Meissner, Schützemberger, Kühne y Chittenden han deducido de experiencias, que la albúmina se comporta en sus desdoblamientos como si estuviera constituida por dos partes inigualmente atacables por las diastasas digestivas; una que se hidroliza fácilmente en la digestión por la tripsina, llegando hasta los ácidos aminados; la otra, que solamente llega á una peptona (antipeptona). La primera parte de la molécula proteica constituye el hemigrupo, la segunda el antiggrupo. — Los autores transportan esa concepción á la digestión péptica y piensan que habrá albumosas provenientes del anti-

grupo, como también hemi y antipeptonas pépsicas. — Esto es más bien teórico, y prácticamente no se podría distinguir las peptonas provenientes del hemi y del antigupo; Kühne las llama en conjunto amfopeptonas.

Para separar los diversos grupos que constituyen la albumosa, Kühne y sus discípulos han recurrido á diferencias de solubilidad en agua y soluciones de sales. Tratando la solución de albumosa por Cl Na á saturación, precipitan las albumosas que se han llamado primarias; las que quedan disueltas se llamaron secundarias. El precipitado redisolto en Cl Na diluido y dializado, se separa en dos partes: la heteroalbumosa, insoluble en agua pura fría, precipita; la protoalbumosa queda disuelta. El líquido que se había saturado de Cl Na, se dializa y luego se trata por sulfato de amonio á saturación para precipitar las albumosas secundarias (deuteroalbumosas).

En el siguiente cuadro están reunidas esas diferencias de propiedades:

Albumosas	}	Primarias, pp. por Cl Na á saturación.	Heteroalbumosas, insolubles en agua pura fría, pero solubles en las soluciones salinas diluidas.
			Protoalbumosas, solubles en agua pura, en las soluciones salinas diluidas.
		Secundarias, no pp. por Cl Na á saturación.	Deuteroalbumosas, solubles en agua, solubles en soluciones salinas diluidas.

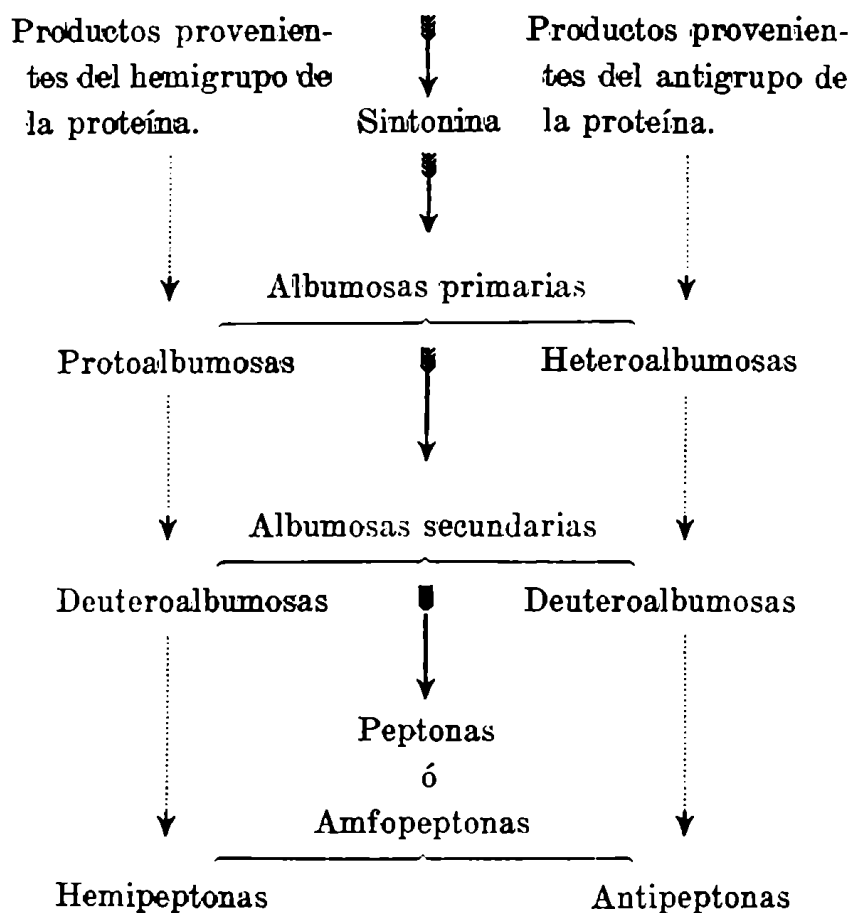
Las albumosas primarias (propeptonas de Meissner), son caracterizadas por tres reacciones llamadas propeptónicas:

- 1.°—Precipitan por NO_3H en soluciones salinas diluídas; el precipitado es soluble en un exceso de ácido; se disuelve por el calor y reaparece por enfriamiento.
- 2.°—Precipitan por el $\text{Fe}(\text{CN})_6\text{K}_4$ y el ácido acético; el pp. es soluble en caliente y reaparece en frío.
- 3.°—Agregando á una solución de albumosas primarias un volumen igual de solución saturada de Cl Na y exceso de ácido acético, se produce pp. soluble en caliente y que reaparece por enfriamiento.

Neumeister cree que las heteroproteosas provienen sobre todo del antiggrupo y las protoproteosas del hemigrupo. Spiro observó que por hidrólisis profunda de una heteroproteosa extraída de peptona comercial Witte se obtiene especialmente leucina y glicocola; la protoalbumosa correspondiente da sobre todo tirosina y no da glicocola.

Las albumosas secundarias (deuteroalbumosas ó amfoalbumosas), son solubles en agua, soluciones salinas diluídas y Cl Na á saturación. — No dan las reacciones propeptónicas ó no las dan netamente. — El siguiente esquema sintetiza la manera de ver de Kühne y Neumeister:

Proteína



I — *Albumosas*

a) *Separación de las albumosas primarias y secundarias.* — S. Frankel ha propuesto el empleo del sulfato de cobre que precipita solamente las albumosas primarias y O. Folin sustituye el sulfato por el acetato. Se rinde más completa la precipitación agregando $\frac{1}{4}$ de volumen de alcohol.

Pick, fundándose en que la solución semisaturada de sulfato de amonio precipita solamente las albumosas

primarias, agrega á una solución de albumosas un volumen igual de solución saturada de sulfato de amonio, para separarlas.

b) *Separación de las proto- y heteroalbumosas.*—

El método de Kühne y Chittenden, basado en la insolubilidad de las heteroalbumosas en agua fría no ofrece garantía, porque parece que esa insolubilidad no es completa.

Método de Pick. — La solución de albumosas neutralizadas se trata durante 3 ó 4 horas al baño maría en un balón provisto de refrigerante á reflujó, por 2 volúmenes de alcohol á 95°; se produce un precipitado que se separa, se purifica por varias disoluciones en agua hirviendo y precipitaciones por sulfato de amonio, luego por alcohol; corresponde á la heteroalbumosa de Kühne. — La otra parte soluble en el alcohol á 60°, es recogida por evaporación del disolvente, purificada por un método análogo; corresponde á la protoalbumosa de Kühne.

La heteroalbumosa se hincha en agua fría, pero se disuelve muy poco; es soluble en agua hirviendo y reprecipitable por enfriamiento. — Precipita por adición de alcohol, desde la proporción de 30 o|o. — El ácido nítrico á 20 o|o agregado por gotas, origina un precipitado insoluble en caliente y que reaparece en frío.

La protoalbumosa es soluble en agua fría; soluble en alcohol aún á 80°, con la particularidad que es más soluble en alcohol diluído que en agua. — En esta propiedad se funda su separación, por el método de Pick descripto. — El ácido nítrico á 20 o|o precipita ligeramente sus soluciones, pero el precipitado es soluble en exceso de reactivo.

Por hidrólisis clorhídrica la heteroalbumosa produ-

ce leucina y glicocola; la protoalbumosa dá tirosina, poca leucina y nada de glicocola. La tripsina ataca más fácilmente la protoalbumosa que la heteroalbumosa, propiedad que favorece la opinión de que la primera provenga del hemigrupo y la segunda del antiggrupo.

Método de Siegfried-Adler. — Este método se basa en el empleo del alumbre de hierro amoníacal como precipitante. — A la solución de albumosas primarias se agrega 5 o/o de sulfato de amonio y luego alumbre de hierro amoníacal, hasta que cese de precipitar y sin exceso. — El precipitado se prensa, lava cuidadosamente con solución de sulfato de amonio á 5 o/o, se suspende en el agua y se precipita el hierro por amoníaco concentrado. — Se purifica por una nueva precipitación.—Se separa el ácido sulfúrico por la barita, el exceso de barita por el carbonato de amonio y se evapora hasta sequedad en el vacío. — Esta primera fracción (A) constituye la protoalbumosa. — Del líquido primitivo se extrae una segunda fracción (B) saturando con alumbre de hierro amoníacal sólido y corresponde á la heteroalbumosa.

Las albumosas primarias separadas así no son exactamente iguales á las obtenidas por Kühne, Pick, etc.; pero Adler atribuye esas diferencias á distinto grado de pureza, y considera sus albumosas como cuerpos definidos. — La proto y heteroalbumosa de Adler se diferencian en su composición centesimal, en el poder rotatorio, en su solubilidad en alcohol (la primera es soluble en alcohol á 60°, la segunda no).

c) *Albumosas secundarias ó amfoalbumosas
ó deuteroalbumosas*

Kühne consideraba como deuteroalbumosas los productos de digestión péptica precipitables por sulfato de amonio á saturación, pero no por el cloruro de sodio ó sulfato de magnesio á saturación. Pick fué el primero que tentó de separarlas en fracciones, análogamente á lo que se había hecho con las primeras. — El principio de su método consistía en adicionar progresivamente de sulfato de amonio la solución de proteosas secundarias. El primer enturbiamiento que se obtiene señala el límite inferior de precipitación de una primera fracción; si se sigue agregando la sal de amonio, cuando cesa de producirse precipitado, se habrá alcanzado el límite superior de precipitación de esa primera fracción, que se separa. — Se vuelve á agregar sulfato de amonio y de la misma manera se aísla una segunda fracción. Pick aísla así 4 fracciones, habiendo determinado previamente entre qué límites de concentración salina se forma precipitado.

La primera fracción se obtiene mezclando una solución al 5 o|o de proteosas con un volumen igual de solución saturada de sulfato de amonio. — Esa porción encierra, como ya vimos, las albumosas primarias (I).

La segunda fracción se obtiene agregando al líquido separado de las albumosas primarias, la mitad de su volumen de solución saturada de sulfato de amonio. Se separa el precipitado (II).

La tercera fracción (III) es obtenida saturando con sulfato de amonio puro en polvo el líquido separado del pp. II.

La cuarta fracción (IV), que es muy pequeña, pro-

viene de adicionar el líquido separado del precipitado III de 1|10 de solución de sulfato de amonio acidulada por ácido sulfúrico. — Pick designa las deuteroalbumosas precipitadas en II, III y IV con las letras A, B, C. Por sus caracteres parece que pasan progresivamente de las albumosas primarias á las peptonas. — Así, por ejemplo, la precipitación por ácido nítrico, cloruro de sodio en líquido acético, ferrocianuro en líquido acético, sulfato de cobre diluído, ácido tricloraético, iodhidrargirato de potasio, va disminuyendo en intensidad desde A á C. — Las deuteroalbumosas dan las reacciones de Millon, de Adamkiewicz, del biureto. — A contiene mucho azufre, B contiene poco y C no contiene.

En la separación se puede sustituir el sulfato de amonio por el sulfato de zinc. — Zunz lo usó para separar las proteosas en la peptona Witte y obtuvo un resultado análogo al de Pick. — Una de las ventajas del sulfato de zinc consiste en que se puede dosar en cada fracción el nitrógeno, para saber como está repartido.

II — *Peptonas pépsicas verdaderas (anfopeptonas)*

Las peptonas constituyen el producto final de la digestión péptica de una proteína. — Quedan en el líquido cuando se han separado las albumosas. — Los principales caracteres que las diferencian de las albumosas son los siguientes:

No precipitan en líquido hirviendo por el sulfato de amonio á saturación, cualquiera que sea la reacción del medio.

No precipitan por ácido nítrico, aún saturando previamente la solución de cloruro de sodio.

No precipitan por los ioduros dobles, si no están

en presencia de una gran cantidad de una sal muy soluble como cloruro de calcio, sulfato de amonio, de zinc.

Entre las reacciones de coloración dan la del biuret, la xantoproteica. — Son dializables. — No contienen azufre.

Para extraerlas del líquido privado de albumosas, Kühne precipita con alcohol. — Hofmeister usa ioduro de potasio iodado, y obtiene así como precipitado una peptona iodada, que se lava con alcohol absoluto para eliminar el iodo.

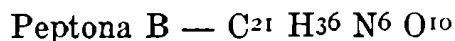
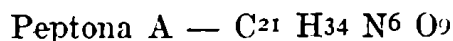
La anfopeptona no es una especie química, sino una mezcla. Hofmeister y Siegfried por distintas vías han trabajado para separar sus componentes.

Escuela de Hofmeister. — Pick, Umber, Alexander, Zunz, y otros operan en resumen así: al líquido ácido y saturado de sulfato de amonio (Pick) ó de sulfato de zinc (Zunz), se agrega hasta que cese de precipitar, una solución iodada de ioduro de potasio saturada por sulfato de amonio ó sulfato de zinc. — Se recoge el precipitado; se trata por alcohol á 96°; una parte (A) no se disuelve en alcohol, otra (B) se disuelve.

Las peptonas A y B obtenidas así, no parecen tener caracteres netamente diferenciales y es probable que sean á su vez mezclas.

Escuela de Siegfried. — Mühle agrega al líquido sulfúrico saturado de sulfato de amonio, una solución de alumbre de hierro amoniacal con precaución, hasta que cese de precipitar y evitando un exceso. — Obtiene así un primer precipitado, de donde por un tratamiento especial extrae una peptona A. — Al líquido filtrado se agrega alumbre finamente pulverizado, y amoníaco hasta que la reacción sea sólo débilmente ácida. Se produce un segundo precipitado, del cual extrae otra peptona B.

Siegfried y sus discípulos admiten estas dos peptonas como cuerpos químicamente definidos, y dan las siguientes fórmulas:



Son insolubles en alcohol absoluto, eter, cloroformo, sulfuro de carbono, acetona, poco solubles en alcohol á 96°, solubles en ácido acético y soluciones salinas saturadas. — Precipitan por el tanino, ácido pícrico, cloruro mercúrico, ácido fosfotúngstico. — Son sensibles á la reacción del biureto, de Millon, de Adamkiewicz y xantoprotéica. — Poseen poder rotatorio levógiro que para la peptona A es $\left[\alpha_D \right]_{20^\circ} = -36,36$ y para la peptona B $\left[\alpha_D \right]_{20^\circ} = -20,17$ á $-24,33$.

La peptona A por hidrólisis trípica produce arginina, tirosina y cuerpos idénticos á las antipeptonas γ β de Siegfried.

Si las peptonas sean verdaderamente los últimos términos de la digestión péptica, es un punto aún discutido. Kühne y Neumeister afirman positivamente.—Haría entonces, según esto, una diferencia fundamental entre la pepsina y la tripsina, pues ésta fragmenta de una manera mucho más profunda la molécula proteica, dando cuerpos relativamente simples y cristalizables, como los ácidos aminados.

Hoppe Seyler, contrariamente, sostiene que entre los dos procesos digestivos existe solo diferencia de velocidad para alcanzar el término final. — Corroboran

esta opinión Laurow, Malfatti, Salaskin, Langstein con sus digestiones que duraban meses y hasta un año.—Pero, como observa bien Javillier, es probado que esa acción sea solamente debida á la pepsina? No se podría atribuir á los bacterios, á pesar de los antisépticos usados (timol, cloroformo, eter)? ó á otro fermento que acompañe la pepsina? ó, con más probabilidad, al mismo H Cl? Este, en efecto, aunque muy diluído, puede por sí sólo producir la hidrólisis trípica; es simple cuestión de tiempo. E. Abderhalden, O. Rostocki y H. Fischer actuando con jugo gástrico natural extraído por el procedimiento de Pawlow no han encontrado ácidos aminados en las digestiones que efectuaron. Por otra parte, dice Javillier, entre la opinión de Kühne y Neumeister: “la digestión péptica da como término final peptonas, cuerpos biuréticos” y la opinión opuesta de Hoppe Seyler “la digestión péptica da como término final cuerpos cristalizables abiuréticos”, puede haber una tercera opinión: “el término final de la digestión péptica sería representado por cuerpos abiuréticos que no serían amino ácidos, sino intermediarios entre éstos y las peptonas”. Esta opinión es apoyada por las experiencias de Zunz y especialmente de Pfaundler. — Este último sometió á una digestión péptica de seis meses seroalbúmina y también fibrina. Separó las albumosas por SO_4Zn y las peptonas por iodo ó por ácido fosfotúngstico. El líquido filtrado no da más la reacción del biureto, no contiene ni leucina, ni tirosina, ni ácido aspártico y glutámico, pero contiene cuerpos capaces de hidrolizarse con producción de ácidos aminados.

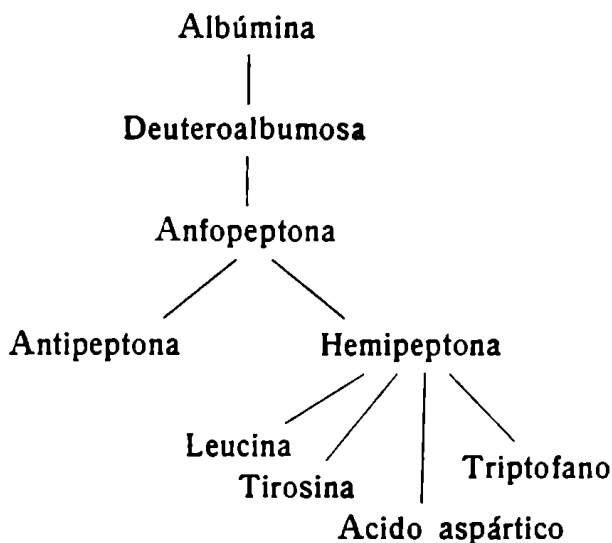
4 - Proteólisis trípica ⁽¹⁾

a) *Digestión trípica: esquema de Kühne y Neumeister*

Sometiendo una proteína, la fibrina, por ejemplo, á la acción del jugo pancreático activado ó á la de una solución de tripsina en condiciones favorables de temperatura y alcalinidad, sufre una transformación que al principio es análoga á la que se produce en la digestión péptica, con formación de albumosas y luego peptonas. — Pero la acción no cesa allí, sino que continuando, pronto aparecen cuerpos cristalizables tales como la tirosina, leucina, etc., y sometiendo el líquido á un análisis metódico se encuentra una serie de ácidos aminados; se produce, según la expresión gráfica de Hugouneng, una verdadera desarticulación de la molécula proteica (2). — Pero no toda la molécula se transforma en amino ácidos; una parte que pertenece al antiggrupo, resiste á la acción de la tripsina y queda bajo la forma de peptona (anti-peptona) biurética; la otra parte (hemipeptona) correspondiente al hemigrupo, sigue hidrolizándose y descomponiéndose en aminoácidos. — He aquí el esquema de esta concepción de Kühne:

(1) M. Javillier. *Les ferments proteolytiques.*

(2) La palabra «tripsina» proviene del griego: *truptestai*, yo disloco.

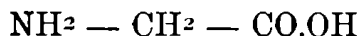


b) *Cuerpos que se producen en la proteólisis trípica*

La hidrólisis profunda de las sustancias proteicas puede producirse artificialmente por la tripsina, pero más fácilmente con los ácidos y álcalis en ciertas condiciones de dilución y temperatura; en este último caso ninguna parte de la molécula resiste á la hidrólisis. El término final está formado por cuerpos cristalizados, casi todos ácidos aminados. — Además de la función ácido y amina que son las más abundantes, presentan también la función fenol, alcohol y otras. — A continuación escribo las fórmulas de esos cuerpos y algunas de las propiedades que Javillier indica como útiles para su separación ó caracterización (1).

—Ácidos monoaminados monobásicos—

Glicocola (aminoetanoico, glicina)



Su éter etílico hierve de 51°,5 á 52°,5 bajo la

(1) Los métodos para la separación de esos productos se pueden hallar en la siguiente publicación de E. Abderhalden. «*Neuere Ergebnisse auf dem Gebiete der speziellen Eiweißchemie*». Jena, 1909.

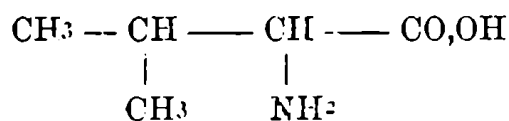
presión de 10 mm. de mercurio. — El clorhidrato de ese éter cristaliza y se obtiene haciendo pasar una corriente de H Cl en la solución de glicocola en alcohol absoluto.

Alanina (ácido α -aminopropanoico).



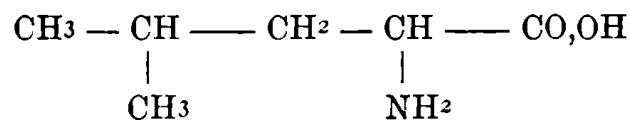
Su éter etílico hierve á 48°,5 bajo 10 mm. de presión.

Valina (ácido α -aminoisovaleriánico; α amino- β metil butanoico) —

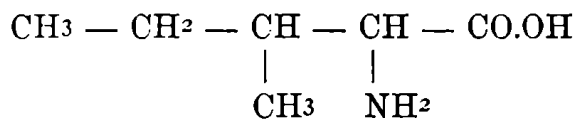


Su éter etílico destila á 80° á la presión de 10 mm.

Leucina (ácido α aminoisocaproico; α amino- γ metil pentanoico)—



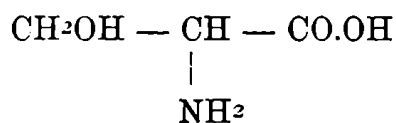
sión. Cristaliza fácilmente. — Funde á 170°. — Está frecuentemente mezclada con una isoleucina.



de la cual es difícilmente separable.

— Ácidos oxiaminados monobásicos —

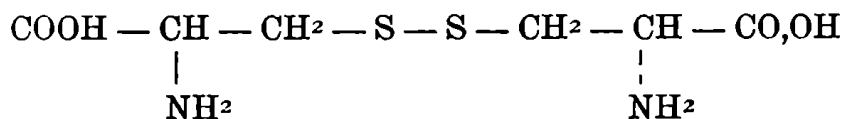
Serina (ácido amino-oxipropanoico)



Su éter etílico destila entre 100° y 130° á 10 mm. de presión. — La serina funde á 246°, descomponiéndose.

Base fuertemente alcalina; precipita por el ácido fosfotúngstico, por nitrato argéntico, cúprico, ácido pícrico en solución alcohólica. — El Cl² Hg produce precipitado soluble en CO² (diferencia con la histidina).

Cistina (ácido α diamino- β ditiopropanoico)

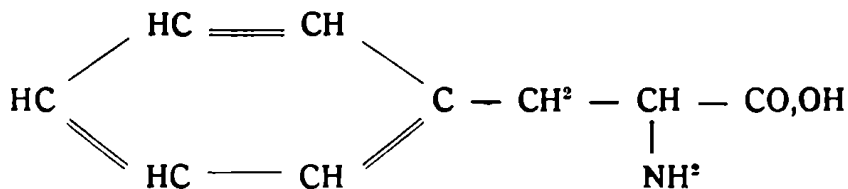


Calentada con una solución sódica de óxido de plomo produce precipitado negro de sulfuro de plomo. — Su derivado benzoilado es insoluble y funde á 180°-181°.

— *Cuerpos que contienen cadenas cerradas* —

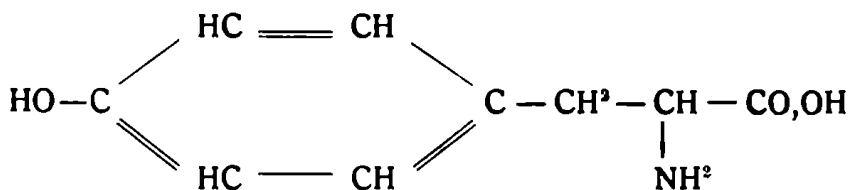
1.º Benzénica

Fenilalanina (ácido fenilaminopropanoico)



Su éter etílico destila arriba de 100° á la presión de 0,5. — La fenilalanina es muy soluble en éter. — Por oxidación crómica da fenilacetaldehida de olor característico.

Tirosina (ácido paraoxi- β fenil- α aminopropanoico).

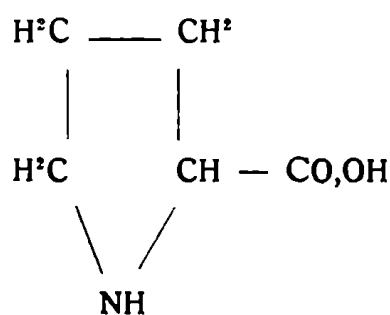


Es muy poco soluble en agua, y en las digestiones trípicas se deposita espontáneamente, cristalizada, im-

pura por la leucina de la que se separa aprovechando su insolubilidad en el ácido acético cristalizable y el alcohol. — Da intensamente la reacción de Millon. — La tirosinasa la oxida dando una coloración roja y luego negra.

2.º Pirrolídica

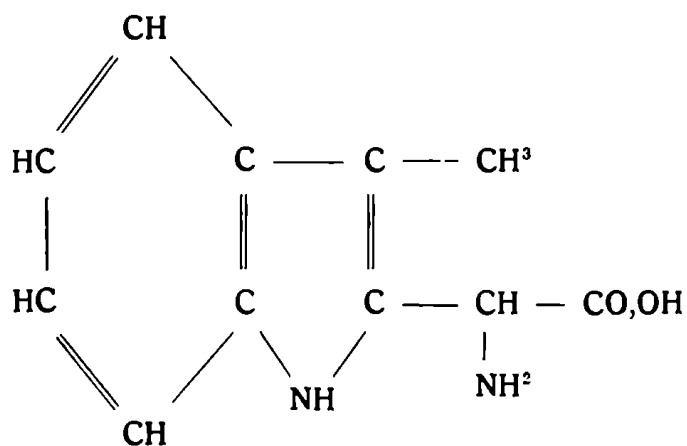
Prolina (ácido pirrodilín- a carbónico)



Su éter etílico destila á 75°-76° bajo la presión de 11 mm.

3.º Indólica

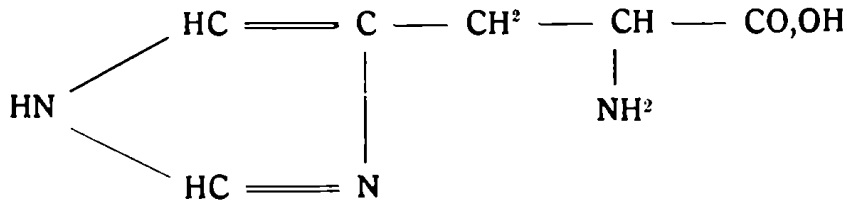
Triptofano (ácido scatolaminoacético)



Por adición de agua de Cl ó de Br produce coloración roja.

4.º Imidazólica

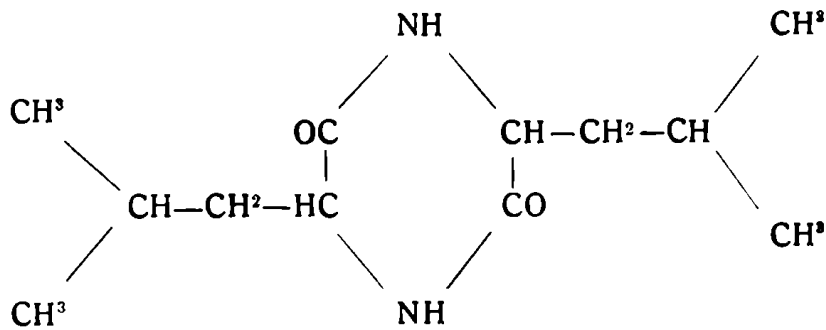
Histidina (ácido α amino- β imidazol propanoico)



Precipita con ácido fosfotúngstico. El Cl_2Hg la precipita aún en presencia de CO_2 (diferencia con arginina)

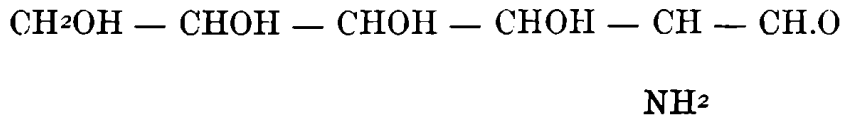
5.º Piperazínica

Leucinimida ($\beta\delta$ diisobutil — $\alpha\gamma$ diceto piperazina)



Otros cuerpos

Glucosamina—



Amoniaco NH_3

Los ácidos aminados citados, exceptuando la glicocola, poseen poder rotatorio cuando son obtenidos por la tripsina, y son más ó menos racémicos cuando la hidrólisis es producida por los ácidos.

c) — *Distinción entre la digestión péptica y trípica por reacciones coloreadas de la tirosina y del triptofano.*

Hemos visto que en la digestión trípica se producen cuerpos á los cuales no se llega con la pepsina, si su acción no se prolonga demasiado. — Se presenta entonces la posibilidad de distinguir esas dos fermentaciones, caracterizando alguno de los cuerpos puestos en libertad. — Las reacciones que mejor se pueden utilizar son las coloreadas de la tirosina y del triptofano. G. Bertrand descubrió una oxidasa, la tirosinasa, que ejerce su acción oxidante sobre la tirosina, dando una coloración roja que luego vira al negro. V. Harlay utiliza como reactivo una maceración glicerínica de *Russula delica*, hongo muy rico en tirosinasa. — Se puede operar así: A la solución del producto, neutralizado previamente (por adición de ácido acético en ligero exceso y luego CO_3Ca si es alcalino; — por CO_3Ca si es ácido), se agregan algunas gotas de la solución de tirosinasa. Los productos pépticos dan un tinte rojo que después de algunas horas pasa al verde aceituna, color que vira al rojo por amoníaco y retorna al verde por HCl ; con los productos trípicos se obtiene coloración roja, luego negra, que el amoníaco no modifica.

Otra reacción diferencial está fundada en la existencia de triptofano en los productos trípicos. — Al líquido proveniente de digestión trípica se agregan algunas gotas de agua de Br ; se forma precipitado amarillo rojizo, que se disuelve por agitación con tinto rosa violáceo.

En los líquidos de digestión péptica no se produce dicha reacción; sólo con un gran exceso de agua de Br se forma precipitado amarillento.

d) — *Antipeptonas de Kühne y de Siegfried* (1)

Como indicamos en otra parte, en la digestión por la tripsina, no toda la molécula proteica es transformada en productos de estructura relativamente simples, como los aminoácidos. — Según Kühne queda en el líquido digestivo una sustancia biurética, no precipitable por sulfato de amonio y á la cual designó con el nombre de antipeptona. — Para aislarla, Kühne somete la sustancia proteica á una digestión trípica prolongada; concentra el líquido y después de separar la tirosina que precipita, por filtración, satura el líquido de sulfato de amonio en medio neutro, luego ácido y luego alcalino, para precipitar las albumosas. — Separadas éstas por el reposo, precipita la peptona con ácido fosfotúngstico, descompone el fosfotungstato por la barita, elimina el exceso de barita por ácido sulfúrico, filtra y precipita la peptona con alcohol. — Esta antipeptona parece ser una mezcla.

Siegfried (2) con su método de precipitación con alumbre de hierro y de amoníaco aisló dos antipeptonas: α y β , que considera como individuos químicos puros, cuyas fórmulas serían:



Son solubles en agua y de carácter ácido. — Difícilmente solubles en alcohol á 96° é insolubles en alcohol absoluto. — No precipitan por el ferrocianuro acético, por subacetato de plomo, por ácido metafosfórico; precipitan por el tanino, cloruro mercúrico, ácido fosfotúngstico y exceso de ácido pícrico. Son levóginas y de

(1) y (2) M. Javillier. Obra citada, páginas 126 y 127.

poder rotatorio distinto. Son sensibles á las reacciones del biureto, xantoproteica y de Adamkiewicz; insensibles á las de Millon y de Molisch. Pero según otros autores y según el mismo Siegfried se puede, prolongando la acción de la tripsina, hacer desaparecer todo cuerpo biurético, y entonces tendríamos que también estos cuerpos serían términos transitorios de esa proteólisis. Siegfried obtuvo hidrolizando por medio de ácidos diversas sustancias proteicas (gelatina, caseína, oxihemoglobina, fibrina, edestina), una serie de cuerpos parecidos á las fibrintripsinpeptonas citadas y las llamó Kyrinas. Se diferencian, sin embargo, porque son cuerpos básicos, dan fosfotungstatos cristalizables y no poseen poder rotatorio. Siegfried demostró que son especies químicas definidas y tienen mucha analogía con las protaminas.

Por otro lado es posible y ya se ha conseguido, separar en la digestión trípica algunos de los mismos peptidos que Fischer ha obtenido sintéticamente.—Así Fischer y Abderhalden aislaron entre los productos de hidrólisis de la fibroína la glicil-l-tirosina y entre los de la elastina la glicil-l-leucina.

SEGUNDA PARTE

Condiciones de actividad de la pepsina

La actividad de la pepsina es modificada:

I — Por factores físicos: temperatura, concentración, tiempo, etc.

II — Por factores químicos: reacción, compuestos minerales ú orgánicos que la acompañan.

I — Factores físicos

Temperatura

La temperatura óptima de actividad de la pepsina varía según las condiciones en que se encuentra; puede variar con la proporción y naturaleza del fermento, con la acidez, la naturaleza del ácido y la composición del líquido en que actúa. — Es por esto que las opiniones de distintos autores á este respecto no concuerdan.

Una idea sobre la influencia de la temperatura en la licuación de la albúmina coagulada, cuando las otras condiciones sean buenas, pueden darla estos datos de R. O. Herzog (1).

Temperatura.....	14°	19°,4	24°,2	28°,9	35°,5
Columna de albúmina digerida en tubos de Mett.....	0,95	2,14	3,67	4,9	7,7

(1) C. Oppenheimer. Die Fermente und ihre wirkungen. I, pág. 260.

Petit consigna el máximo de actividad á 50°; Hammarsten á 40°. Mayer encontró que varía muchísimo según la proporción de ácido clorhídrico que haya en el líquido.

Para las pepsinas comunes que están en el comercio y que se utilizan para usos médicos y puestas en condiciones que se acerquen á las naturales, la temperatura óptima parece estar alrededor de 40°.

Arriba de 50° la actividad disminuye rápidamente.

En cuanto á la temperatura mortal se presentan análogas diferencias de pareceres que para la óptima.— Según Ad. Mayer, sería entre 55° y 60°; según Biernacki 65°. Harlay sostiene que las soluciones de pepsina pierden parte de su actividad á 60°, y el fermento es totalmente destruído á 68°. — Como se ve, no se puede concluir sobre esto sino vagamente. — Depende también mucho del grado de pureza; aumentando la pureza parece disminuir la temperatura mortal.

Shaklee, de sus observaciones dedujo para la lenta destrucción de la pepsina á 37° en solución acuosa, la siguiente fórmula:

$$K = \frac{x}{t (b - x)}$$

siendo x la cantidad por ciento de pepsina destruída; b , la cantidad primitiva; t , el tiempo; K , una constante (= 0,5).

Después de doce días de permanencia en esa temperatura estaría ya destruída el 86 o|o.

Las diastasas, como los bacterios, resisten más el calor seco que el húmedo. — Según Salkowski se puede calentar la pepsina seca á 100° durante 4 horas, y según Schmidt á 110° durante una hora sin que pierda su ac-

tividad. C. Fermi y L. Pernossi (1), en un extenso trabajo en el cual estudiaron la acción del calor, de la luz solar, de la filtración, de algunos agentes químicos sobre varias diastasas, afirman que la pepsina pierde su actividad cuando es mantenida durante una hora de 65° á 70° C en presencia de agua y cuando es calentada á 100° en estado de sequedad durante 4 horas. — También observaron la acción del calor sobre las diastasas secas suspendidas en líquidos inertes (alcohol amílico, éter, cloroformo, benzene). — La pepsina resistió á la temperatura de 80° durante una hora en cloroformo, alcohol amílico, benzene, pero no en éter; y á la temperatura de 100° durante una hora se mantuvo activa sólo en presencia del alcohol amílico.

La pepsina soporta muy bajas temperaturas; Bickel observó que no era destruída por la temperatura de — 160° durante 15 minutos.

Otros factores físicos: concentración, tiempo.

Una de las primeras leyes en el sentido de relacionar la acción proteolítica de la pepsina con el tiempo y la concentración en que actúa, fué la simple dada por Brucke en 1859 (2).

Sus observaciones fueron llevadas sobre fibrina suspendida y ovalbúmina coagulada. Dedujo que

$$F. t = K$$

expresión en la cual F representa la concentración de la pepsina en el líquido en que actúa; t, el tiempo necesario para licuar cierta cantidad de proteína y K es constante.

(1) C. Fermi und L. Pernossi, Zeitschrifts für Hygiene. t. 18, pág. 83.

(2) C. Oppenheimer. Die Fermente. I, pág. 241. También se encuentran allí otros de los datos que expongo en este párrafo.

E. Schutz en 1887 ha dado y Borissow más tarde confirmado, la siguiente ley para la digestión péptica: “La velocidad de la digestión ó sea la cantidad de peptonas producidas para determinado tiempo y determinada cantidad de albúmina, es proporcional á la raíz cuadrada de la cantidad de pepsina”. E. Schutz determinaba polarimétricamente la cantidad de peptonas producida, y los siguientes resultados numéricos demuestran la ley citada:

Cantidad de pepsina.....	1	4	9	16	25	36	49	64
Rotación observada	9,4	20,5	32,3	45,4	55,2	65,0	76,0	85,3
» calculada	10,8	21,6	32,4	43,2	54,1	64,9	75,7	86,5

J. Schutz ha confirmado los datos de E. Schutz dosando la cantidad de ázoe digerido, pero dedujo que la ley de Schutz no se verifica para grandes concentraciones del fermento.

Sjoqvist, en 1895, con la ayuda de la medida de la conductibilidad, apreció la velocidad de la digestión que se efectuaba de una misma cantidad de albúmina de huevo (tan exenta como fuera posible de sales), con 1, 2, 4, 8, etc. partes de pepsina, á 37°. — Halla que el aumento de conductibilidad Δ (desde el momento de la mezcla hasta el de la medida), era para iguales y cortos tiempos (alrededor de 4 horas), proporcional á la raíz cuadrada de la cantidad de fermento

$$\Delta = K \sqrt{F}$$

Si haciendo variar F se quiere que Δ sea constante, se puede hacer varias T (el tiempo) en razón inversa de F, de modo que según la expresión de Brucke Ft sea constante. — La cantidad de albúmina digerida es en-

tonces una función de $F \cdot t$, de modo que la cantidad de pepsina F en el tiempo, $\frac{t}{F}$ digiere la misma cantidad que la unidad de pepsina en el tiempo t , conclusión á la cual llegaron: Brucke, usando fibrina suspendida; Sjoqvist, albúmina disuelta y con distintos métodos de medida (1).

Arrhenius confirmó también la ley de Brucke por medio de la experiencia siguiente: Cantidades variables de pepsina (F) eran agregadas á cantidades constantes de gelatina timolada y $H Cl$. — A determinados tiempos (t) tomaba ensayos del termóstato y los dejaba un tiempo constante en la heladera para interrumpir la proteólisis.

La masa se solidificaba si la cantidad de pepsina agregada era pequeña y permanecía líquida si era suficiente. — Observó así que la cantidad de fermento que bastaba para mantener la licuación, era más ó menos inversamente proporcional á la duración de la digestión.

Huppert y F. Schutz midieron la cantidad de acidalbúmina, de albumosas primarias (precipitables según Hofmeister con exceso de acetato hierro en líquido neutro) y de deuteroalbumosas (determinadas polarimétricamente) que se producían en una digestión de ovalbúmina purificada. Dedujeron que la velocidad de la acción péptica es directamente proporcional á la cantidad de albúmina empleada, á la raíz cuadrada del tiempo, de la cantidad de pepsina y de la concentración del ácido clorhídrico (hasta 0,2 o/o solamente).

$$S = K A \sqrt{t p s}$$

(1) En la obra citada de Oppenheimer, tomo I, pág. 244 se hallan los datos numéricos que comprueban esa regla.

S representa la cantidad de albumosas secundarias producidas; K. una constante que depende de la naturaleza de la pepsina, de la temperatura, etc.; A la cantidad de albúmina empleada; t la duración del ensayo; p la cantidad de pepsina; s la concentración del ácido (no superior á 0,2 o/o). — Es bien entendido que en la práctica esa proporcionalidad es solamente aproximada, como se observa en los datos numéricos obtenidos por dichos autores para comprobación de su ley.

J. Sailer y C. B. Farr (1), para explicar la ley de Schutz, suponen que la pepsina en solución está formada por partículas que, ó están en continuo movimiento y mutuamente se chocan, ó irradian actividad y las emanaciones de distintas partículas interfieren. — Según estos autores, la primera hipótesis sería la más satisfactoria, pero en ambos casos un aumento en la distancia entre las partículas causa un aumento en su capacidad de actividad, proporcional al cuadrado de esa distancia ó de la dilución. — Por eso la actividad crece solamente según la raíz cuadrada de la concentración, mientras que si cada partícula pudiera actuar individualmente tanto en la solución concentrada como en la diluída, es claro que la actividad del líquido sería proporcional á la concentración.

Los mismos autores también confirman que para concentraciones altas no se verifica la ley de Schutz.

Además no se debe olvidar que interviene también el H Cl y que si se hace variar la concentración de la pepsina, hay que hacer variar también la del ácido, si se quiere obtener el máximum de efecto.

Si están presentes cuerpos que produzcan inhibi-

(1) J. Sailer and C. B. Farr. Studies in the natural and artificial inhibition of peptic digestion. American journal of Med. Sciences, 1907.

ción, el problema se hace aún más complicado. — Así se explica como Sailer y Farr diluyendo numerosas muestras de contenidos gástricos naturales, encontraron que ninguno respondía á la ley de Schutz (método de Mett). En algunos casos al diluir aumentaba el poder digestivo; otros que no manifestaban actividad tales como habían sido extraídos, la adquirían por la dilución, como si estuviese latente. — Y es fácil comprender que puede suceder así cuando, por ejemplo, á medida que se diluye, disminuye más rápidamente la inhibición que el poder digestivo del líquido; inversamente, si se concentra y la inhibición aumenta más rápidamente que la actividad péptica, es evidente que ésta llegará á ser anulada por aquélla.

También, como es natural, observaron que había una dilución óptima más allá de la cual volvía á disminuir el poder proteolítico.

La acidez en todos esos líquidos era diferente.

II — Factores químicos

Reacción

La pepsina actúa en medio ácido. — El grado de concentración que de cada ácido es necesario para producir un efecto dado, es variable. — No haré en este punto la larga historia de las polémicas que se han suscitado sobre la naturaleza del ácido que acompaña la pepsina en el estómago y el estado en que se encuentra. Lo que parece indudable es que el ácido clorhídrico es el que se presta mejor para la actividad péptica. — La cantidad de ácido necesaria para producir el mejor efecto es tan discutible como la temperatura óptima; depende sobre todo de la naturaleza y concentración de la pep-

sina y de la naturaleza de la sustancia proteica sobre la que debe actuar. — De manera que varían las opiniones de los experimentadores por haberse colocado en condiciones distintas. — Slis indica 1,25 o|oo; Huppert y Schutz, 2 o|oo; Disdier, 1,5 o|oo; Petit, 1,5 á 3 o|oo. — Este último autor observó que para actuar sobre la fibrina la dosis óptima de ácido clorhídrico es mayor que para actuar sobre la ovalbúmina y Brucke indicó 0,88 por ciento para la fibrina .

En experiencias de Zunz, la acción existía todavía cuando la acidez era sumamente pequeña; así en solución de fosfato disódico que era débilmente alcalina al tornasol y débilmente ácida á la fenolftaleína, la pepsina atacaba la serumalbúmina aunque lentamente.

Hermann, Boas, Ewald indicaron que 0,7 o|o de H Cl empezarían á perturbar la digestión péptica.

Iscovesco (1) hizo experiencias al respecto. — Usó ya pepsina comercial, ya jugo gástrico de perro.—Las soluciones de pepsina eran obtenidas con agua ligeramente acidulada con H Cl y antes de ser empleadas eran dializadas de modo á rendirlas absolutamente neutras á los indicadores. — El jugo gástrico de perro que, como se sabe, es bastante ácido (4 á 5 o|oo), se neutralizaba en la misma forma. — Con esos jugos hizo digestiones en series. — Empleó cubos de albúmina coagulada por el calor y tan iguales como era posible. — Dejaba un tubo neutro como testigo y á los otros agregaba dosis crecientes de H Cl. — Pudo constatar que para soluciones de pepsina comercial al 1 o|o el líquido neutro no digería nada; los tubos testigos mostraban el cubo de albúmina intacto aún á los 8 días de estufa. — Con una

(1) H. Iacovesco. Du pouvoir digestif de la pepsine en rapport avec son acidité. C. R. Biologie, 1906.

acidez de 0,50 o|oo no había indicio de digestión aún después de 120 horas. — Con 1 o|oo, el mismo resultado nulo.

Sólo empezaba hacia 1,50 o|oo la acción digestiva y ésta era completa después de 12 horas. — A la dosis de 2 o|oo la digestión era casi completamente terminada á las 72 horas. — Es entre 2 y 3 o|oo que se hallaba el punto óptimo. A partir de 3 o|oo la adigestión era retardada y á 6 o|oo completamente paralizada.

Después de mucho tiempo, cuando no se tiene digestión alguna, el cubo de albúmina se vuelve gelatinoso y traslucido aún conservando su forma y se constata que se transforma gradualmente en acidalbúmina. — Esa modificación gelatiniforme no se observa más si se usa H Cl á más de 1 o|o.

Con el jugo gástrico de perro observaba la misma serie de fenómenos. — Con 1 o|oo de H Cl no había digestión; empezaba ésta á 2 o|oo y aumentaba de velocidad hasta un óptimum que está entre 4 y 6 o|oo; era luego retardada y dificultada con dosis crecientes de ácido y completamente detenida cuando la proporción de ácido era 25 o|oo. — Cuando se hacen experiencias del mismo género con jugo gástrico de cerdo, se nota que la dosis paralizante es mucho menor. — Resulta de esas experiencias que un jugo gástrico que (como el de perro) normalmente es muy ácido, soporta muy grandes aumentos de acidez antes que su acción digestiva sea paralizada; no así un jugo menos ácido, como el de cerdo.

Roger y Garnier (1) estudiaron la influencia de la variación simultánea del fermento y del ácido clorhídrico en un jugo gástrico artificial sobre la licuación de la

(1) C. R. Biologie, 1906.

albúmina coagulada. — Para cada experiencia repartían el líquido digestivo en cierto número de frascos que dividían en series. — La proporción de pepsina se duplicaba de una serie á otra y en cada serie la cantidad de H Cl aumentaba de un frasco á otro, según una progresión geométrica cuya razón es 2. — En el cuadro número 2 se ve el resultado obtenido.

Cuadro No. 2

H Cl por 1000 →	0,08	0,16	0,31	0,62	1,25	2,5	5	10	20	Total
	mm	mm	mm	mm	mm	mm	mm	mm	mm	mm
Pepsina 0,25 ‰	0	0,1	0,6	5	10	12	8	2	1	38,7
» 0,5 »	0,1	0,2	1,1	7	14	15	10	4	1,5	52,9
» 1 »	0,2	0,4	3	11	16	17	12	6	3,5	69,1
» 2 »	0,4	1	5,5	14	19	23	17	8	6	93,9
» 4 »	0,6	1,6	6,5	16	26	29	22	11	8	120,7
» 8 »	1,2	2	<u>8</u>	<u>18</u>	31	38	25	13	10	146,2
» 16 »	1,8	3	6	12	33	<u>39</u>	<u>39</u>	18	12	163,8
» 32 »	2,5	5	5,5	10	17	41	<u>42</u>	21	15	159
» 64 »	4	6	5	6	11	22	<u>43</u>	24	16	137
» 128 »	4,5	5	5	5	7	14	20	27	22	109
Total.....	15,3	24,3	46,2	104	184	250	238	124	95	

La dosis más débil de pepsina era 0,25 ‰; la más elevada 128 ‰. Los 9 frascos de cada serie encerraban para una misma dosis de pepsina, una cantidad de H Cl que variaba de 0,08 á 20 ‰ duplicándose.—Cada frasco recibía dos tubos de Mett con albúmina coagulada. — Los números obtenidos varían según diversas condiciones, especialmente según la temperatura á la cual se haya sometido la albúmina y la temperatura del termóstato, pero los resultados generales son concor-

dantes. — En la experiencia que consignan la albúmina había sido coagulada á 82° y los tubos quedaron en contacto del líquido digestivo durante 24 horas. — Los resultados son expresados en milímetros. — Cada uno de los números indica la longitud del cilindro de albúmina licuada en dos tubos de Mett; representa por lo tanto la suma de 4 superficies atacadas por el jugo gástrico.

De los datos numéricos obtenidos deducen lo siguiente:

El H Cl en exceso retarda la digestión péptica, pero la dosis óptima de ácido varía con la concentración de la pepsina. — Para una proporción de diastasa comprendida entre 0,25 y 8 o|oo la solución más activa es la que encierra 2,5 de H Cl. — Cuando la dosis de pepsina alcanza 16 o|oo, los líquidos que contienen 2,5 y 5 de H Cl ejercen el mismo efecto. Con 32 y 64 de pepsina, el óptimum de ácido es 5 o|oo; para 128 de pepsina es 10 o|oo.

El efecto desfavorable de un exceso de ácido es tanto más notable, cuanto menor es el título en pepsina.— Lo más curioso es que un exceso de pepsina perturbe la digestión; existe entonces para la diastasa como para el ácido una concentración óptima y ésta varía considerablemente según la proporción de H Cl. — Para cantidades débiles de H Cl como 0,31 y 0,63 o|oo, la proporción más favorable de pepsina es 8 o|oo.

Cuando el ácido aumenta, la dosis óptima de pepsina también se eleva; con 1,25 de H Cl se necesita 16 de fermento para producir el mayor efecto; con 2,5 se necesita 32; con 5 es preciso 64; con 10 ó 20 de ácido el mejor resultado corresponde á 128 de pepsina. — Cuando la proporción de ácido es mínima, un exceso de pepsina favorece la digestión; así si el líquido no contiene más que 0,16 o|oo de H Cl, el efecto mejor es obtenido con

64 de pepsina, y si la proporción cae á 0,08 o 100, la mejor proteólisis se observa con el título 128 de pepsina.

En resumen: “con las dosis medias de H Cl se necesitan dosis medias de pepsina; si la proporción de ácido se eleva ó baja afuera de los límites fisiológicos, se debe usar un exceso de fermento para producir el mejor efecto”.

Habría sido útil que los autores hubiesen consignado qué clase de pepsina han empleado y su título comercial, pues como ésta no es un cuerpo definido, sino una mezcla más ó menos activa, el saber solamente su peso no satisface. — Sería también útil investigar si puede reemplazarse los números que representan el peso de pepsina, por los productos del peso por la actividad determinada por un procedimiento convencional perfectamente definido.

A. Ferranini (1) considera el exceso de H Cl libre como una especie de antiséptico de la pepsina, cuya acción perturbadora disminuye si se agrega al líquido peptonas. — Ambard y Foá (2) comunicaron que, según se desprende de estudios de las propiedades eléctricas de líquidos digestivos, el H Cl forma verdadera combinación con las peptonas. — Estos investigadores observaron que la acidez de soluciones de albúmina variaba durante la digestión péptica á que estaban sometidas. — La cantidad de soda que había que agregar para la neutralización del H Cl aumentaba desde el principio hasta el fin del proceso digestivo. — Contrariamente, el proceso electrométrico indicaba que la acidez disminuía. — Para explicar el resultado del procedimiento volumétri-

(1) C. R. Biologie, 1906.

(2) C. R. Biologie, 1905.

co, los autores creen que la soda agregada para la titulación sea fijada por los productos de digestión y que éstos pueden fijar cantidades mayores de soda que de ácido. — Experimentos comparativos que efectuaron sobre las combinaciones de la albúmina y de la peptona con el H Cl y soda, confirmaron esa interpretación. — Demostraron que la albúmina no fija ni H Cl ni Na OH, y que cuando se agrega á una solución $\frac{N}{10}$ de H Cl ó $\frac{N}{20}$ de Na OH una cantidad dada de solución dializada de albúmina, es como si se agregara agua destilada. — Al contrario cuando se opera con solución de peptona, se ve que la cantidad de soda que es necesario emplear para titular una mezcla de peptona + ácido, es mucho más fuerte que la que se necesita para titular una solución de ácido igualmente diluído; recíprocamente la solución de peptona + soda exige menos ácido que una solución equivalente de soda.

Como hemos dicho, el ácido clorhídrico es el más favorable para ayudar la pepsina en su acción, luego siguen en una serie decreciente establecida por Larin el ácido oxálico, nítrico, sulfúrico, tártrico, cítrico, láctico, fórmico, málico, acético, butírico, valeriánico.—Estos datos tienen importancia relativa, pues como la dosis óptima de esos ácidos es probable que sea tan caprichosamente variable como para el ácido clorhídrico, sería necesario repetir para cada uno de ellos observaciones experimentales análogas á las que citamos de Roger y Garnier para el H Cl. — En experiencias de Fermi y Pernossi (1), la pepsina disolvió y peptonizó la fibrina en presencia de ácido fórmico, oxálico, málico, tártrico;

(1) Zeitschrift für Hygiene, t. 18, pág. 85.

con menor actividad en presencia de ácido propiónico.—
Con ácido butírico, valeriánico, bórico se mantuvo casi
enteramente inactiva.

Petit halló que la proporción de diversos ácidos que
á 50° produce en doce horas el efecto máximo sobre la fi-
brina, es la siguiente:

H Cl	3 ‰	Acido fórmico	10 ‰
H Br	5 á 10 ‰	» oxálico	20 á 40 ‰
SO ⁴ H ²	5 á 10 ‰	» láctico	20 ‰
PO ⁴ H ³	5 á 10 ‰	» tártrico	10 á 40 ‰
		» cítrico	20 á 40 ‰

El ácido acético no manifestó alguna actividad en
dosis de 20 á 40 o|oo.

Actividad de la Pepsina en presencia de cuerpos extraños

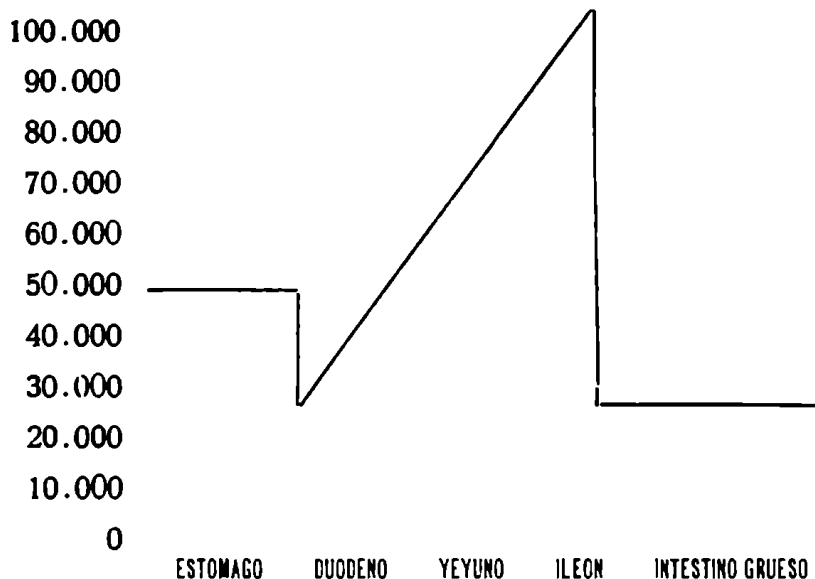
1 — Elección de método de observación

Si las diastasas presiden muchos de los fenómenos vitales, el estudio de la influencia que sobre ellas y su actividad ejerce la presencia de distintas sustancias, debe formar un capítulo importante de la bioquímica, de la fisiología, de la farmacodinámica. — Cuando se trata de las diastasas del tubo digestivo esa importancia crece, si se considera que el medio en que actúan abunda en sustancias extrañas y heterogéneas tales como los alimentos en el caso normal y los medicamentos, por ejemplo, en los casos anormales.

Desgraciadamente en esta clase de observaciones se presentan grandes inconvenientes. — Las experiencias *in vitro* se alejan grandemente de las condiciones naturales, lo cual es causa de que las conclusiones á que se llega tengan un valor pequeño para la práctica. — Para citar un ejemplo: el $\text{CO}_3\text{H Na}$ detiene completamente la proteólisis péptica artificial, cuando la cantidad es suficiente para neutralizar el H Cl ; si se introduce, en cambio, en el estómago del animal vivo, provoca la secreción de jugo gástrico y especialmente de H Cl . Sabemos además que en el tubo digestivo existe una gran cantidad de bacterios los cuales intervienen en los procesos digestivos, que resultan así muy complicados. He aquí un esquema que demuestra como varía más ó

menos numéricamente la flora bacteriana en el tubo digestivo, según experiencias de A. Gilbert y A. Domínicí (1).

Bacterios por mmg.



Según estas consideraciones, las experiencias, para tener valor directo, parece debieran efectuarse ó en un medio natural en el animal vivo ó por lo menos en líquidos naturales extraídos del animal. — Esto sin embargo tendría el inconveniente que las deducciones serían más bien empíricas, puesto que la complicación del fenómeno dificultaría la interpretación de los resultados, y por lo tanto el descubrimiento de las leyes á que responden las influencias en cuestión. — Además, para que los resultados de distintas observaciones sean comparables, es conveniente colocarse en condiciones análogas; cosa que sería difícil para realizar usando líquidos naturales, cuando se desea efectuar un número grande de experiencias.

No obstante esos inconvenientes, pueden, complementándose los datos que proporciona el fisiólogo de la reacción compleja *in vivo* y los del químico de la reacción simple *in vitro*, iluminar sobre estos puntos difíciles.

Los trabajos efectuados por los químicos y fisiólogos sobre este tema son poco comparables entre sí, á veces discordantes en sus conclusiones, porque han utilizado técnicas ó sustancias distintas. — Vemos en efecto, por ejemplo, que, para medir la actividad péptica, unos se fundan en una propiedad física del líquido de digestión (poder rotatorio, viscosidad, conductibilidad eléctrica, propiedad de hacer espuma) ó en una propiedad química (precipitabilidad por ácido nítrico); otros se basan en la cantidad de sustancia proteica digerida en cierto tiempo (procedimiento de Mett, de Grutzner, Thomas y Weber, etc.) ó, lo que es análogo, en el tiempo que emplea el líquido en digerir cierta cantidad de sustancia (procedimiento de Jacoby, de Macquaire).—La cantidad de sustancia proteica digerida se mide ya por la determinación total de ázoe solubilizado, por el procedimiento de Kjeldahl; ya por la disminución de longitud de un cilindro ó de un cubo de albúmina coagulada; ya por diferencia coagulando ó precipitando la parte que no ha sido atacada. En el método de Grutzner se aprecia la cantidad de fibrina disuelta, por la que se pone en libertad de carmín con que se impregna previamente la fibrina.

Lo que varía sobre todo es la naturaleza de la sustancia proteica empleada.—Los experimentadores usan ovalbúmina, fibrina, seroalbúmina, caseína, gelatina, ricina, edestina, etc. — Este es un punto que tiene importancia para la práctica, porque la pepsina actúa con dis-

tinta intensidad sobre ellas, como vimos en otra parte de esta tesis. — Conviene emplear una proteína típica, que encierre la mayoría de los grupos característicos de las sustancias proteicas; por eso es preferible la ovalbúmina, la fibrina ó la serumalbúmina. — La gelatina, por ejemplo, no respondería á esa condición. — El estado de la sustancia también varía. — La ovalbúmina es empleada á veces coagulada, á veces disuelta; la fibrina es usada fresca, ó desecada á baja temperatura (á 40° por el procedimiento de Macquaire) ó á mayor temperatura.

Es probable pues que esa gran heterogeneidad de condiciones sea la causa principal de la poca comparabilidad y concordancia de los resultados obtenidos por distintos experimentadores. — Sería por lo tanto conveniente unificar en lo posible la medida de la actividad de la pepsina, como de las otras diastasas, eligiendo uno ó pocos métodos que merecieran confianza. — También se hace notar la falta de una unidad ó de un tipo perfectamente definido, á los cuales referir el poder digestivo de un líquido. — En el procedimiento de Mett, por ejemplo, el decir que un líquido digestivo licúa 2 mm. de albúmina coagulada, en 12 horas á tal temperatura, no da idea de su poder proteolítico, porque no se ha establecido exactamente como deben prepararse los tubos de Mett, á qué temperatura debe coagularse la albúmina, cuánto tiempo debe durar la cocción, qué edad deben tener los tubos de Mett, etc., causas todas que hacen variar mucho la velocidad de la digestión.

He aquí los datos que consigna al respecto Linsier (1). — Este autor hace varias preguntas que pueden representar la crítica del método de Mett.

(1) *Journal de Pathologie et Physiologie*. Marzo, 1899.

1.º — Distintos cilindros de albúmina sumergidos en una misma solución ácida de pepsina, son en el mismo tiempo atacados de una manera igual?

Numerosas experiencias le demostraron que las diferencias entre las longitudes disueltas no pasan de 1 á 2 décimos de milímetro, y que el error por lo tanto no alcanza á 5 o|o cuando la cantidad disuelta sea 5 mm., error que puede reducirse tomando la media aritmética de las medidas de varios cilindros. — Es sobreentendido que los cilindros deben ser idénticos entre sí, igualmente cocidos ó sea á la misma temperatura y durante el mismo tiempo, sin lo cual los errores serían considerables.

El cuadro siguiente indica la longitud de la albúmina digerida en el mismo tiempo y por el mismo jugo gástrico artificial (H Cl 2 o|oo), variando la temperatura y duración de la cocción:

Temperatura de coagulación	Duración de la coagulación	Milímetros de albúmina disuelta
80°	1'	17,40
„	5'	15,75
90°	1'	12,75
„	5'	10,30
100°	15''	11,90
„	30''	11,20
„	1'	11,10
„	2'	10,55
	5'	10,00
	10'	9,30
	20'	9,10
	40'	8,30
	60'	7,40

Se observa que cuanto más elevada es la tempera-

tura de coagulación y cuanto más prolongada, más lento es el ataque por el jugo gástrico. — Según el autor, para el estudio de líquidos que poseen acción digestiva débil, es mejor emplear albúmina coagulada á 80°.—Sin embargo, si se quieren esterilizar al mismo tiempo los tubos de Mett para su conservación durante cierto tiempo, conviene ó efectuar la coagulación á mayor temperatura ó tinalizarlos á esa temperatura. — También hace notar Linossier cómo es lenta la transformación de la albúmina por la influencia del calor, puesto que después de 40 minutos de calefacción, su resistencia á la acción del jugo gástrico aumenta todavía.

Es también necesario que la sustancia sea homogénea; en la clara de huevo hay una parte fluída y otra espesa; en una misma experiencia se digirieron 22,4 milímetros de la parte espesa y 25,5 de la fluída.

2.º — La longitud del cilindro licuado es directamente proporcional al tiempo que dura la digestión?— Se podría sospechar *a priori* que el ataque fuera más vivo al principio, cuando el cilindro de albúmina aflora el tubo, que más tarde, cuando la superficie digerible está en el fondo de un tubo de vidrio.—No hay que pensar en una variación de la composición total del líquido por tan pequeña cantidad de albúmina, pero sí en la pequeña cantidad de líquido contenido en las extremidades del tubo, precisamente la única en contacto con la albúmina. — Esta se carga de peptonas y se empobrece en H Cl, disminuyendo así su poder digestivo; pero la difusión tiende á reemplazar constantemente este líquido alterado por el inalterado exterior al tubo. — Ahora bien, esta difusión es bastante rápida para mantener en contacto de la albúmina un líquido de una actividad siempre igual? — La experiencia puede darnos de esto

una indicación fiel. — En un trabajo de Samajlow existen cifras que establecen que el ataque de la albúmina queda aproximadamente constante, no pasando de 5 ó 6 mm., la longitud disuelta.

En mis experiencias, ya en blanco, ya en presencia de agentes químicos diversos, he medido muchas veces las longitudes disueltas y comprobado la exactitud de esa proporcionalidad hasta 7 mm.

La longitud de albúmina disuelta es independiente del diámetro del tubo.—Linossier sometió al mismo proceso digestivo albúmina en 2 tubos de sección bien distinta : : 1 : 4 y en un total de 30 medidas consigna :

Tubo grueso	111,1 mm. digeridos
Tubo pequeño	111,4 mm. „

3.º — ¿Qué relación existe entre la longitud de albúmina digerida y la concentración en pepsina del líquido digestivo? — Hemos dicho en otra parte de esta tesis que Borissow comprobó con el procedimiento en cuestión la ley de E. Schutz. con respecto á la digestión péptica, ó sea que la velocidad de la digestión es directamente proporcional á la raíz cuadrada de la cantidad de pepsina que se encuentra en el líquido digestivo. — Esta ley ha sido reconocida exacta por Samajlow. — G. Linossier la sometió también á una comprobación atenta y el cuadro adjunto representa el término medio de 29 experiencias, unas con jugo gástrico artificial (pepsina de cerdo + H Cl), otras con jugo gástrico humano. Ese líquido se dividía en dos partes; en una la pepsina era destruída por el calor. A 50 cm³ de una solución diluída de H Cl se agregaba respectivamente en cada ensayo 1, 2, 3, 4, 5 cm³ de la solución activa de pepsina y se completaba la cantidad total de 5 cm³ con solución de

pepsina calentada. — La duración de la digestión variaba de 24 á 120 horas.

Cantidad de pepsina	Milímetros disueltos	Relación de longitudes	Raíces cuadradas de las cantidades de pepsina	Cantidad de pepsina calculada según la ley
1	3,559	1,000	1,000	1,00
2	5,183	1,456	1,414	2,12
3	6,190	1,739	1,732	3,02
4	6,890	1,936	2,000	3,75
5	7,572	2,128	2,236	4,52

Esos números demuestran la concordancia casi absoluta entre la teoría y la práctica entre ciertos límites de concentración en pepsina, pues cuando ésta es muy elevada, las cantidades disueltas son inferiores á las teóricas.

4.º — La ley de Borissow no será, como sospechó Samajlow, una ley que rijan en general las acciones químicas ejercidas por un líquido sobre una superficie sólida invariable! — E. Schutz fué quien descubrió la ley de la raíz cuadrada usando albúmina disuelta, lo cual hace perder parte de su probabilidad á la hipótesis de Samajlow. Linossier, para demostrar que la ley no es debida á las condiciones especiales realizadas por Mett, coloca en soluciones á título variable de tiosulfato sódico, fragmentos de tubos de vidrio llenos de I. — Este se disuelve poco á poco y las cantidades disueltas medidas en longitud, varían con el título de la solución hiposulfítica, como se ve en este cuadro:

S ² O ³ Na ² %	Longitud de iodo disuelto	Relaciones de longitud
0,25	7,9	1,0
0,50	14,1	1,8
0,75	16,8	2,1
1,00	25,4	3,2

Observa el autor que á pesar de ser algo grosera la medida, las longitudes disueltas son más bien proporcionales á las cantidades de tiosulfato que á sus raíces cuadradas.

Como dijimos ya, esta ley parece más bien particular de la acción de la pepsina. — La pancreatina, por ejemplo, no actúa según ella; Linossier hacía variar las cantidades de pancreatina en una solución de $\text{CO}_3 \text{Na}^2$ á 2,56 g. o|oo. — Las longitudes de albúmina digeridas eran las siguientes:

Relación de cantidades de pancreatina	Milímetros de albúmina disuelta	Relaciones de longitudes
1	1,9	0,8
2	4,5	1,8
3	7,5	2,9
4	10,3	4,0

Se ve que la actividad es aproximadamente proporcional á la cantidad de pancreatina.

El tiempo que ha transcurrido desde la coagulación de la albúmina posee también su influencia; los tubos más antiguos son menos atacables sin que eso pueda atribuirse á la desecación, pues sucede lo mismo con tubos cerrados.

Es claro que estos inconvenientes que consisten en diferencias existentes en la sustancia proteica, cuando se quiere observar la influencia de un agente físico ó químico sobre la digestión, pierden casi toda su importancia si se toma una operación en blanco como tipo, que esté exactamente en las mismas condiciones que las otras, pero sin el agente cuya acción se quiere observar. Es el caso de mis experiencias. Pero si se tratara de utilizar, supongamos, el procedimiento de Mett para medir el poder proteolítico de un líquido, sería indispensa-

ble tener un tipo general, de condiciones estrictamente determinadas, y que puede ser tubos de Mett ó un líquido digestivo; en el primer caso se podría expresar directamente dicho poder proteolítico en milímetros por hora ó por día y en el segundo por una relación entre la longitud de albúmina disuelta en el líquido á medir y la disuelta en el líquido tipo. Un punto débil del procedimiento de Mett es que la licuación de la albúmina coagulada no es sino una de las fases de la proteólisis péptica. En ésta se forma, como vimos, sucesivamente sintonina, albumosas primarias, secundarias y peptonas. — Podría, por ejemplo, detenerse la digestión en albumosas primarias sin que el procedimiento nos dé indicios de ello. — Bajo ese punto de vista son superiores los métodos que nos indican el progreso de la transformación de la albúmina hacia el término peptonas, como por ejemplo los que se fundan en la precipitabilidad por NO_3H .

A pesar de los puntos criticables que pueden encontrarse en él, el procedimiento de Mett presenta caracteres especiales que lo hacen recomendable.

1.º — La comodidad que ofrece al operador pudiéndose efectuar simultáneamente muchos ensayos con pequeña cantidad de líquido digestivo y pequeña cantidad de sustancia proteica. — La medida de la actividad se reduce á medir una longitud.

2.º — La acción de los cuerpos que se producen en la digestión péptica (albumosas, peptonas, etc.) queda eliminada porque la cantidad de sustancia proteica que interviene es muy pequeña, lo cual simplifica mucho el fenómeno y aleja considerablemente este procedimiento de los otros, en que hay que tener en cuenta las combinaciones posibles entre los cuerpos provenientes del desdoblamiento de la albúmina y el cuerpo agregado.

3.º — La exacta concordancia que se observa entre los resultados de distintas experiencias. — Para citar un ejemplo; en dos digestiones efectuadas en distinta época, con distintos tubos de Mett, distinta duración de la digestión, ensayando la acción retardatriz del naftol β encontré:

	Mil. metros disueltos		Acción retardatriz %
	Con β naftol	Sin β naftol	
1.ª experiencia . .	1,85	7,325	74,75
2.ª experiencia . .	2,025	7,838	74,15

Resumiendo: este método no deja nada á desear en la práctica, si bien teóricamente tenga puntos críticos.

2 — Naturaleza de la influencia de los agentes químicos

Las influencias que se prevén teóricamente de los agentes químicos sobre las acciones diastásicas se pueden dividir según Oppenheimer (1) en 3 grupos:

1.º — El agente actúa directamente sobre la enzima. — Este caso es realizado por una parte por las sustancias que destruyen la diastasa (venenos) ó la debilitan, la precipitan, etc.; por otra por los agentes que transforman el enzimógeno en enzima activa.

Hay que tener en cuenta esta clase de acción, por ejemplo, en las preparaciones farmacéuticas oficinales á base de pepsina, cuyos excipientes y sustancias agregadas permanecen mucho tiempo en contacto con ella; así el alcohol la rinde poco á poco inactiva como demostró Thibault (2).

(1) C. Oppenheimer. *Die Fermente*. T. I, pág. 56.

(2) P. Thibault. *Etude sur les préparations officinales de pepsine*. Thèse. Paris, 1902.

2.º — El agente influye sobre la velocidad de reacción por intensificación ó disminución de la catálisis.— El mecanismo de esa influencia, según dice Oppenheimer, es probablemente algunas veces una reacción química entre la diastasa y el agente, que frecuentemente parece ser reversible. También puede suceder otras veces que el agente agregado actúe indirectamente debilitando otro agente acelerador ó retardador ya existente. Tal es el caso de una base ó de una sal de ácido débil agregada á una solución clorhídrica de pepsina.

3.º — El agente agregado actúa sobre el substratum rindiéndolo más ó menos apto para el ataque de la diastasa.

En general es difícil en una experiencia distinguir á cuál de esos tres grupos pertenece la influencia de un agente, que naturalmente puede actuar á la vez de dos ó de las tres maneras.

3 — Observaciones experimentales sobre la influencia de distintos agentes químicos en la proteólisis péptica.

En este capítulo consignaré datos entregados por varios autores, como también los que obtuve en mis experiencias. — Estos últimos se refieren á la acción de algunos medicamentos. He elegido para ello algunas de las especies químicas relativamente simples cuyo uso en terapéutica es más común y más prolongado, para conciliar en lo posible el valor teórico con el valor práctico de los resultados. — He creído más conveniente operar con una solución artificial de pepsina porque, como he observado en otra parte de esta tesis, así el fenómeno resulta más simple, y es más fácil, por tener un

líquido siempre de la misma composición, establecer datos comparativos entre la influencia de distintas sustancias agregadas.

El procedimiento de observación que utilicé es el de Mett, con técnica análoga á la que seguían H. Damjanovich y L. Guglielmelli (1) en sus experiencias para observar la acción de sustancias colorantes orgánicas artificiales sobre la peptólisis de los albuminoides.—A continuación paso á detallarlo.

Preparación de los tubos de Mett. — Se eligen tubos de vidrio posiblemente de 1 á 2 mm. de diámetro interior y de pared no muy espesa. — Aunque ya hemos dicho que el diámetro no influye en la velocidad de digestión, es conveniente que sean estrechos interiormente, porque así resulta más fácilmente medible la longitud del cilindro disuelto.—Se cortan en pedazos de unos 25 cm. de largo.

Por otra parte se baten 7 ú 8 claras de huevos absolutamente recientes, después de agregar unos 10 cm³ de agua destilada, hasta que toda la masa se haya convertido en espuma, y se abandona en sitio frío para deshacer la espuma. — Esta operación tiene por objeto homogeneizar la sustancia. — Se filtra por gasa para quitar las partículas sólidas y se vierte en una probeta que conviene sea de 30 cm. de altura y unos 4,5 cm. de diámetro interior. — Se introducen luego tubos bien limpios y secos, hasta que la albúmina los sobrepase de 1 cm. — Se tapa herméticamente la probeta con tapón de goma, provisto de un tubo con llave. — Se aplica á una bomba aspirante capaz de producir un vacío bastante pronunciado (3 ó 4 cm. de mercurio) y se extrae

(1) *Revue generale des matiéres colorantes.* T. XV, pág. 129, 1911.

el aire durante una hora ó más. — En efecto esto es indispensable, porque la albúmina mantiene disuelta gran cantidad de gases, que en el momento de la coagulación, por la elevación de temperatura, al dilatarse producirían numerosas burbujas permanentes.

Extraídos los gases, se cierra la llave y se procede á coagular la albúmina. — Para esto se coloca la probeta cerrada en un recipiente bastante alto que sirve como baño maría; se vierte agua hasta que la probeta quede sumergida. — Se calienta hasta 100°, temperatura que puede mantenerse unos 10 minutos, y luego se deja enfriar el baño maría estando la probeta adentro.—Es conveniente que la calefacción y el enfriamiento de la albúmina sean simultáneos con los del baño maría, porque á no ser así, los tubos más internos experimentarían distinta variación de temperatura que los más externos, y resultarían con distinto grado de cocción, condición que, como ya hemos dicho, influye sobre la velocidad de digestión. — Operando en esta forma la coagulación no es excesiva y los tubos quedan además esterilizados. — Se podría también calentar á 80° varias veces (por ejemplo tres, separadas por espacios de un día), es decir tindalizar.

Se extraen luego los tubos, se lavan cuidadosamente, secan y se recubren los extremos con parafina.

Así preparada, la albúmina se conserva en heladera muy bien durante un mes. — Si bien la albúmina se vuelve menos atacable en los tubos más antiguos, esto no perjudica porque las experiencias se comparan con tipos de la misma edad.

Líquido digestivo. — Usé la siguiente solución clorhídrica de pepsina:

Solución A	}	Pepsina pura (Merck)	20 g.
		H Cl	6 „
		Agua destilada	hasta 1000 cm ³

Esta solución era renovada frecuentemente de modo que al utilizarla su edad no fuese superior á una semana, pues su poder proteolítico va disminuyendo lentamente, quizás debido al contacto prolongado de la pepsina con el H Cl. — Este debilitamiento ha sido demostrado por Thibault (1); el ácido láctico sería menos nocivo. — En el momento de usarla se diluía hasta llevarla á doble volumen, como se verá á continuación. — El líquido así diluído disolvía en 24 horas de termóstato á 40° aproximadamente 4 mm. de albúmina preparada según se ha descrito. — Quizás parezca pequeña esta actividad, y con mayor cantidad de pepsina se aumentaría, pero hay que tener en cuenta que es conveniente asegurarse que la difusión tenga el tiempo necesario para renovar el líquido que está en contacto con la albúmina, igualmente en todos los tubos aunque la profundidad del cilindro disuelto sea diferente.

Conviene hacer notar que la pepsina no posee siempre la misma actividad, aunque sea de la misma proveniencia; es bueno por lo tanto elegir una muestra activa, homogénea y al mismo tiempo abundante, si se quiere efectuar muchas experiencias.

Digestión. — En vasitos de Erlenmayer de 60 cm³ colocaba 10 cm³ de la solución clorhídrica de pepsina (A) cierta cantidad (no mayor que 10 cm³) de solución de concentración conocida del cuerpo cuya influencia quería observar, y completaba 20 cm³ con agua destilada.— De modo que la concentración en pepsina era siempre

(1) Tesis citada.

10 o/oo, la de H Cl 3 o/oo y la del cuerpo agregado variaba á voluntad.

Los cuerpos insolubles ó poco solubles, como el ácido salicílico, subnitrato de bismuto, etc., eran pesados exactamente y agregados á los vasitos conteniendo cada uno:

Solución A	10 cm ³
Agua destilada	10 cm ³

Cortaba con lima los tubos de Mett en pedacitos largos unos 2 cm. procurando que la sección resultara perpendicular al eje del tubo; se consigue ésto con un poco de práctica y desechando los trozos que sean imperfectos. — Además el no ser recta la sección no perjudica mucho, porque se puede observar que la superficie de la albúmina se mantiene en la digestión paralela á sí misma y paralela por lo tanto á la superficie de la abertura del tubo, como indica la figura 1, si se ha procurado



Fig. 1

que éstas coincidieran al principio, y entonces la longitud tomada en un borde es igual *a b* de la albúmina digerida á la opuesta *c d*.

En cada vasito colocaba 2 trozos, los cuales presentan 4 superficies atacables al líquido digestivo. — Los vasitos eran tapados para impedir la volatilización de sustancias ó concentración del líquido.

Los tubos de Mett eran sostenidos por un pequeño soporte de vidrio cuando tenía interés en separarlos del cuerpo sólido agregado.

Las digestiones se hacían en termóstato de modo que la temperatura estuviese comprendida entre 37° y 40°, y se suspendía cuando la longitud disuelta en cada abertura alcanzaba unos 7 mm.; generalmente después

de unas 40 horas. — Reemplazaba entonces el líquido digestivo por agua y medía la longitud del cilindro disuelto con compás de espesor y lente con lo cual se alcanza fácilmente una aproximación de 1|10 de mm. — No hay que pretender mayor aproximación, porque la separación entre la parte sólida y la líquida no es absolutamente neta ó sea una línea; y parece inútil por lo tanto el usar microscopio y el usar, como hacía Samajlow, un aparato de tornillo micrométrico graduado en 1|100 de mm. — Los pequeños errores que pueden cometerse son compensados por el número de medidas, pues si se suman las 4 medidas de cada vasito se tienen 200 ó 300 décimos de mm., y se ve que sería bien pequeño el error aún equivocándose en 7 ú 8 décimos de mm., lo cual difícilmente sucede. — Por otra parte, en los números obtenidos en la mayor parte de estos trabajos no se pretende alcanzar una precisión como la que exigiría, por ejemplo, en un análisis cuantitativo, sino simplemente dar una idea bastante aproximada de la actividad digestiva en cada caso.

Para rendir más fácilmente comparables los números obtenidos en distintas experiencias, se puede expresar en porcentaje la influencia aceleratriz ó retardatriz de un agente. — Por ejemplo, si en los tubos control se ha licuado la albúmina en una longitud de 7 mm. y en otro influenciado por tal ó cual agente solamente se ha licuado 4,2 mm., es claro que existe una acción retardatriz de

$$\frac{7 - 4,2}{7} = \frac{2,8}{7} = 0,4$$

Refiriendo á 100 mm. esa acción estaría expresada numéricamente por 40 o|o.

Influencia ejercida por sales. — Conviene experimentar especialmente con las sales que pueden encontrarse más fácilmente en el tubo digestivo.

Contrariamente á la antigua opinión de Schmidt y de Mann (1) parece que todas las sales neutras retardan la proteólisis péptica.

A. Petit (2) (3) hacía ensayos con 5 centigramos de pepsina comercial en medio clorhídrico (3 o|oo) y fibrina en cantidad inferior á la que podía disolverse por la dosis de pepsina empleada. — He aquí lo que deducía:

	Dosis inactivas en milésimos	Dosis que retardan	Dosis que paralizan
Cl Na.	10 á 80	—	160
Br K, IK	10 „ 80	—	—
SO ₄ Mg.	10 „ 160	—	—
Cl NH ₄ , SO ₄ Cu, SO ₄ Zn	10 „ 40	—	—
PO ₄ H Na ²	4	10	20
Cl ² Mg	2 „ 4	8 á 12	16 á 20
Cl ² Fe	2 „ 40	—	—
SO ₄ Fe	2 „ 20	—	—

Fermi y Pernossi (4) observaron el efecto producido sobre la pepsina por el contacto de varios compuestos minerales. — Dejaban solución de pepsina en contacto con soluciones de dichos cuerpos durante 48 horas en estufa á 37° y luego ensayaban su actividad por medio de la fibrina reciente, cuyo grado de digestión observaban después de 24 horas y después de 5 días.—En las condiciones de sus experiencias encontraron que destruyen la pepsina: el ácido crómico, pícrico, el cromato de potasio, ferrocianuro de potasio, hidrato de bario;

(1) C. Oppenheimer. Die Fermente. T. II, pág. 277.
 (2) A. Petit. Recherches sur la pepsine. Paris. 1881.
 (3) M. Javillier. Les ferments proteolytiques. Pág. 30.
 (4) Zeitschrift für Hygiene. T. XVIII, pág. 83.

y que la debilitan el cloruro de cobalto, de cadmio, ácido fosfotúngstico, acetato de plomo, de cobre, nitrato de bismuto, iodo y algunos antisépticos orgánicos (aseptol, crosilol, creolina). — También encontraron que la pepsina y la tripsina conservan su actividad por contacto durante 5 días con carbonato de sodio á 5 o|o y en cambio la pierden en 1 día de contacto con hidrato de sodio ó de potasio á 1 o|o, pero resisten varios días al contacto de los mismos álcalis á 0,25 o|o.

Pfeiderer estudió la influencia de los sulfatos por el procedimiento colorimétrico de Grutzner y vió que la digestión podía llegar hasta ser nula.

Pawlow observó la acción desfavorable de los acetatos y salicilatos, y la acción pequeña del Cl Na; Danilewskys la del fosfato de sodio también nociva.

Dastre (1) ensayó la influencia de algunas sales sobre la digestión gástrica artificial y de los ácidos sobre la digestión salina de la fibrina. — Según este autor las digestiones artificiales realizadas por medio de la pepsina clorhídrica ó de un jugo gástrico de maceración de mucosa de estómago de cerdo acidulado con 3 o|oo de H Cl, no parecen ser perturbadas por la presencia de diferentes sales neutras en cantidades pequeñas. — Por ejemplo, el Cl Na y el Cl NH₄ en la proporción de 14 á 20 o|oo no hacen variar nada el proceso. — En cantidades grandes actúan, y, según el autor, á partir de 5 o|o para los dos cloruros el retardamiento se empieza á notar, y se paraliza totalmente la digestión de la fibrina cocida ó cruda cuando la proporción alcanza 15 o|o para el Cl Na y 20 o|o para el Cl NH₄. — Para conocer la actividad digestiva determinaba la cantidad de residuo de

A. Dastre. C. R. Biologie, 1891.

fibrina no disuelta; la sintonina, la globulina coagulable á 57°; la coagulable á 75°, y el resto estaba formado sobre todo por albumosas.

El mismo autor constató que el Cl Na al 15 o|o y menos enérgicamente el Cl NH₄ á 20 o|o digieren la fibrina, pero la acidez es desfavorable á esa acción, en vez de ser favorable como con la pepsina. — Los frascos que contenían fibrina cruda en medio salino á las 3 ó 4 horas mostraban una digestión avanzada y los que habían sido adicionados de H Cl (3 o|oo) no habían sufrido alteración. — Ascher por el procedimiento de Jacoby (1), dedujo que el Cl Na impide fuertemente y en cambio IK, INa y SO₄Na² muy poco.

Según Chittenden (2) los cloruros y bromuros retardarían en dosis grandes y activarían en pequeñas.— Para Kruger (2) todos los cloruros actúan retardando y de una manera igual si están en cantidades equivalentes.

Sailer y Farr (3) en experiencias destinadas á conocer cuales eran los límites de la inhibición producida por algunas sustancias conservadoras de alimentos sobre la digestión péptica con solución clorhídrica de pepsina y jugo gástrico natural simultáneamente, observaron que empezaba la digestión cuando una solución saturada de Cl Na era diluída á 1|20; y era igual el control cuando se diluía á 1|160. — El benzoato de sodio y el sulfito de sodio á 1 o|o producían inhibición completa; este último todavía actuaba en la dilución de 1|1600. — El NO₃K resultó todavía activo en la solución de 1|400 y

(1) Consiste en medir la cantidad mínima de pepsina necesaria para esclarecer en tres horas de digestión una solución opalescente de ricina.

(2) Oppenheimer. Die Fermente. T. II, pág. 277.

(3) American journal of Med. Sciences. 1907.

el ácido bórico en solución saturada sin efecto sensible.

Un trabajo importante sobre este punto es el del S. Levites (1). — El observa que se debe considerar la influencia del anión y la del catión, y que la acción del anión se relaciona con su constante de afinidad. — Usaba jugo gástrico de perro, 1 gramo de sustancia proteica y hacía variar la concentración de la sal desde N|16 hasta N|1. — Después de la digestión filtraba y dosaba en el líquido filtrado el nitrógeno disuelto, según Kjeldahl. — La sustancia proteica era fibrina secada á 100° C (Merck) y en otras experiencias ovalbúmina cristalizada. — Los porcentajes de nitrógeno disuelto bajo la influencia de las sales, se ven en las tablas I y II.

Tabla I — Fibrina

Concentración de la sal →	O	N 16	N 8	N 4	N 2	N 1
C Li.....	100	98,00	97,20	94,10
ClNa.....	»	98,00	97,15	96,74	94,50	81,60
Cl K.....	»	..	101,7	102,26	98,50	96,00
Cl Ca.....	»	..	99,00	98,49	98,29	96,11
Cl ² Sr.....	»	..	97,00	96,55	94,45	80,20
Br ² Na.....	»	..	96,65	96,25	..	75,49
Br X.....	»	97,14	95,63	94,75
I K.....	»	96,40	94,11	90,20	84,00	..
SO ⁴ Li ²	»	..	90,05	83,90	81,09	68,70
SO ⁴ Na ²	»	..	89,70	81,60	79,20	66,00
C ² O ⁴ K ²	»	96,11	88,00	80,14	72,57	47,41
Malonato sódico .	»	97,00	86,57	74,52	56,73	39,14
Acetato sódico ..	»	97,12	81,24	71,06	53,15	38,36
Propanoato sódico	»	96,00	74,72	51,19	38,49	21,75
Butanoato sódico.	»	96,10	70,24	48,20	32,00	14,30

Tabla II — Ovalbúmina cristalizada

Concentración de la sal →	O	$\frac{N}{8}$	$\frac{N}{4}$	$\frac{N}{2}$	$\frac{N}{1}$
Cl Na	100	..	94,95	89,34	..
Cl K	»	..	93,01	86,05	..
Cl ² Ca	»	..	95,54	87,92	77,77
Cl ² Sr	»	..	91,34	82,77	74,11
Br Na	»	..	92,20	85,00	..
Br K	»	..	86,47	82,74	..
Br ² Sr	»	91,76	84,00	77,21	..
I K	»	..	82,70	74,47	..
SO ⁴ Na ²	»	..	71,69	64,00	51,30
SO ⁴ K ²	»	..	97,00	71,74	..

Levites deduce en resumen lo siguiente:

1.° — Todas las sales, con pocas excepciones (Cl K para la fibrina), actúan perturbando la proteólisis péptica.

2.° — El impedimento observado se eleva con la concentración de las sales.

3.° — Dicha influencia es especialmente ocasionada por la parte ácida; la acción de la parte metálica es, en comparación de la parte ácida, pequeña.

4.° — Si omitiendo la acción de los cationes, se considera la de los aniones, se observa que es regida por una ley. — Comparando el efecto producido por sales de iguales cationes y diferentes aniones, vemos que es inversamente proporcional á la constante de afinidad del ácido, y que las sales de ácidos débiles actúan impidiendo más. — Se observa esto en los datos de la tabla III, que contiene la cantidad de ázoe disuelto bajo la influencia de soluciones N|8 y N|2 de sales sódicas y al lado las constantes de afinidad de los ácidos correspondientes.

Tabla III

	$\frac{N}{8}$	$\frac{N}{2}$	Constantes de afinidad (1)
Cl Na	97,15	94,50	H Cl..... 100
Br Na	96,65	..	H Br..... 111
I K.....	94,11	90,20
SO ⁴ Na ²	89,70	79,20	SO ⁴ H ² 73,20
Oxalato potásico..	88,00	72,87	Acido oxálico..... 18,60
Malonato sódico..	86,57	56,72	» malónico ... 3,08
Acetato sódico....	81,24	53,15	» acético..... 0,40
Propanoato sódico.	74,72	38,49	» propanoico.. 0,304
Isopentanoato sódico.	70,24	32,00	» isopentanoico 0,335

Cuando se agrega al jugo gástrico una sal, el H Cl pone en libertad una parte del ácido de la sal, tanto mayor cuanto más débil es el ácido, así si se agrega acetato ó butirato sódico, la descomposición es casi cuantitativa.



Si fuera sulfato de sodio, una parte mucho menor de H Cl entra á formar Cl Na. — En el primer caso el H Cl viene á encontrarse reemplazado por un ácido más débil y además hay que tener en cuenta la acción propia de las dos sales.

Schutz (2) deduce también de sus experiencias que la influencia de los aniones comparada con la de los cationes resulta superior, y dispone los aniones con arreglo á la actividad en la siguiente serie descendiente: rodanatos, acetatos, sulfatos, nitratos, ioduros, bromuros, cloruros. — En cuanto á los cationes, Na y K serían los primeros, y luego NH₄, Mg, Sr, Ba, Ca actuarían casi igualmente. Schutz cree que la acción inhibi-

(1) Determinadas por Ostwald por el procedimiento de inversión del azúcar.

(2) M. Javillier. *Les ferments proteolytiques*. Pág. 21.

triz de esas sales sea ejercida más bien sobre la pepsina que sobre la sustancia proteica, porque no hay relación con su poder precipitante.

En mis experiencias he observado la influencia de algunas sales ya alimenticias, ya usadas comúnmente como medicamentos. — Los detalles del procedimiento empleado han sido dados anteriormente. — Consigno los resultados en el cuadro número 3. — Las dosis empleadas para las sales, como también para los otros medicamentos, son calculadas más ó menos para que se encuentren en la solución con una concentración parecida á la que tendrían en el estómago, si bien esta última varía grandemente, dependiendo de la cantidad de líquido que se encuentra en él.

Todas las acciones retardatrices ó aceleratrices han sido reducidas á porcentajes para homogeneizar los resultados. — Si designamos con l la longitud de albúmina disuelta en el control, i la disuelta en el tubo influenciado, el porcentaje x de dicha influencia será dado por esta proporción:

$$\frac{l - i}{l} = \frac{x}{100}$$

En general las experiencias han sido repetidas, y se ha tomado el término medio de los resultados cuando no fuesen discordantes.

Cuadro No. 3

Cantidad ‰ →	0,1	0,5	1	2	5	10	20	
	Acción retardatriz por ciento							
Br Na.....	10,65	17,40	41,10	56,75	64,05	libre en 10, 20
Br NH ⁴	16,85	40,20	62,00	..	
I K.....	11,30	30,50	50,90	95,65	98,25	
CO ³ H Na.....	6,45	24,75	100	100	
NO ³ K.....	27,65	57,05	74,20	80,45	
ClO ³ K.....	18,35	32,10	72,45	90,80	..	
PO ⁴ Na ³ H.....	4,50	6,25	26,55	70,70	
As O ⁴ Na ³ H.....	5,85	
Glicerofosfato de magnesio...	5,90	13,70	29,00	..	
» de calcio.....	8,25	15,00	27,85	..	
» de hierro.....	4,25	8,90	13,20	..	
Acetato sódico.....	1,10	8,70	51,10	..	
Tartrato disódico.....	6,50	10,65	38,30	..	
» monopotásico.....	4,90	10,30	19,55	..	
Lactato de estroncio.....	0	0	3,75	..	
Benzoato sódico.....	31,40	66,50	97,50	100	Precipitado
Salicilato sódico.....	..	14,85	31,00	51,20	83,25	97,95	100	Precipitado
Oxalato ferroso.....	50,20	..	87,45	92,05	93,00	Indisuelto en 5, 10 y 20.
Subnitrato de bismuto.....	3,50	20,50	27,00	66,45	80,50	Indisuelto

El arseniato disódico fué ensayado también en dosis inferiores á las que figuran en la tabla, las que resultaron sin influencia sensible.

El cloruro de sodio presenta un interés especial, ya porque no sufre ninguna descomposición en el jugo gástrico y actúa por lo tanto como tal, ya porque es común su existencia en el estómago. — Por esto experimenté con mayor número de dosis, obteniendo los resultados que figuran á continuación:

Influencia de Cl Na

Cantidad de Cl Na por mil	Acción retardatriz por ciento
1,25	10,20
2,50	24,45
3,75	31,55
5,00	40,80

Cantidad de Cl Na por mil	Acción retardatriz por ciento
7,50	56,45
10,00	66,20
15,00	68,00
20,00	71,55
25,00	73,10
30,00	76,00
35,00	78,65
40,00	80,45
45,00	82,20
50,00	83,10

Por los datos obtenidos se ve que en las condiciones de estas experiencias ninguna sal es inactiva; entre las usadas, la más indiferente es el lactato de estroncio, lo cual demuestra que el ácido láctico que se pone en libertad reemplaza sin desventaja al H Cl.

En ciertas sales del mismo ácido (Br Na y Br NH₄, por ejemplo), se observa una concordancia en las cifras, que viene á apoyar la opinión de Schutz y de Levites, que el catión comparado con el anión tiene poca influencia.

Algunas sales parecen actuar sencillamente por neutralización del H Cl. — El CO₃H Na agregado en dosis pequeñas reemplaza H Cl por cantidades equimoleculares de Cl Na (el CO₂ no queda en el líquido) y retarda la digestión menos que si se agregan en su lugar cantidades correspondientes de Cl Na, como si la acción simultánea del Cl Na y H Cl fuese perjudicial, de acuerdo con la observación ya citada de Dastre con la fibrina. — Cuando la cantidad de CO₃H Na agregada es suficiente para neutralizar todo el H Cl, entonces no hay digestión y lo mismo sucede con otros cuerpos neutrali-

zantes como CO_3Ca , Mg O , etc., cuyos datos no transcribo.

Con los tartratos neutros y ácido se observa que en dosis pequeñas la acción retardatriz es más ó menos igual, pues no entra casi en juego la neutralización del H Cl ; en las dosis mayores el tartrato neutro es más retardante que el ácido.

El benzoato y salicilato de sodio son muy perjudiciales, especialmente por la influencia propia del ácido benzoico y salicílico que se pone en libertad, además de la neutralización del H Cl . — En cantidades pequeñas la acción de esas sales es aproximadamente igual á la de una cantidad equimolecular de ácido correspondiente, pero en dosis grandes la influencia de la sal es mayor, como resulta del siguiente cuadro comparativo:

Influencia comparada entre cantidades equimoleculares de salicilato de sodio y ácido salicílico

Salicilato sódico	Acción retardatriz	Acido salicílico	Acción retardatriz
0,5 ‰	14,85 %	0,431 ‰	14,70 %
1 ‰	31,00 ‰	0,862 ‰	29,50 ‰
5 ‰ pp	83,25 ‰	4,310 ‰	71,30 ‰
10 ‰	97,95 ‰	8,625 ‰	76,45 ‰
20 ‰	100,00 ‰	17,250 ‰	76,45 ‰

Parece que el efecto debido á la neutralización del H Cl se sumara á la acción propia del ácido puesto en libertad. — Cuando se agrega una sal de ácido débil al jugo gástrico en condiciones óptimas de acidez, hay varios efectos á considerar: la neutralización del H Cl , la presencia de un nuevo ácido y la de dos sales: una que ha sido agregada y un cloruro que se formó. — Resumiendo: en el jugo gástrico normal la pepsina está acompañada por un cuerpo, el H Cl ; si se agrega un

ácido está acompañada por dos cuerpos (ácidos); si se agrega una sal resulta acompañada por cuatro cuerpos (dos ácidos y dos sales).

Los cuerpos insolubles ó poco solubles en el agua acidulada parecerían *a priori* indiferentes.—Sin embargo, en el cuadro número 3 se ve que el subnitrito de bismuto perturba mucho la digestión péptica y su acción retardatriz, como la de otros cuerpos poco solubles que se verán más adelante, aumenta mucho con la cantidad agregada aún después que el líquido está saturado. — Es posible que el cuerpo sólido actúe por adsorción. — Quise por esto saber si un cuerpo insoluble é inactivo químicamente perjudicaba la digestión y para mantenerme en el orden de los medicamentos elegí el carbón vegetal de Belloc.

Hice con él varios ensayos: unos con carbón tal como se usa y otros con carbón previamente lavado con H Cl y luego cuidadosamente con agua, para asegurarme que la acción no fuese debida á la neutralización ó modificación del líquido digestivo por las sales del carbón. — Los resultados son los siguientes:

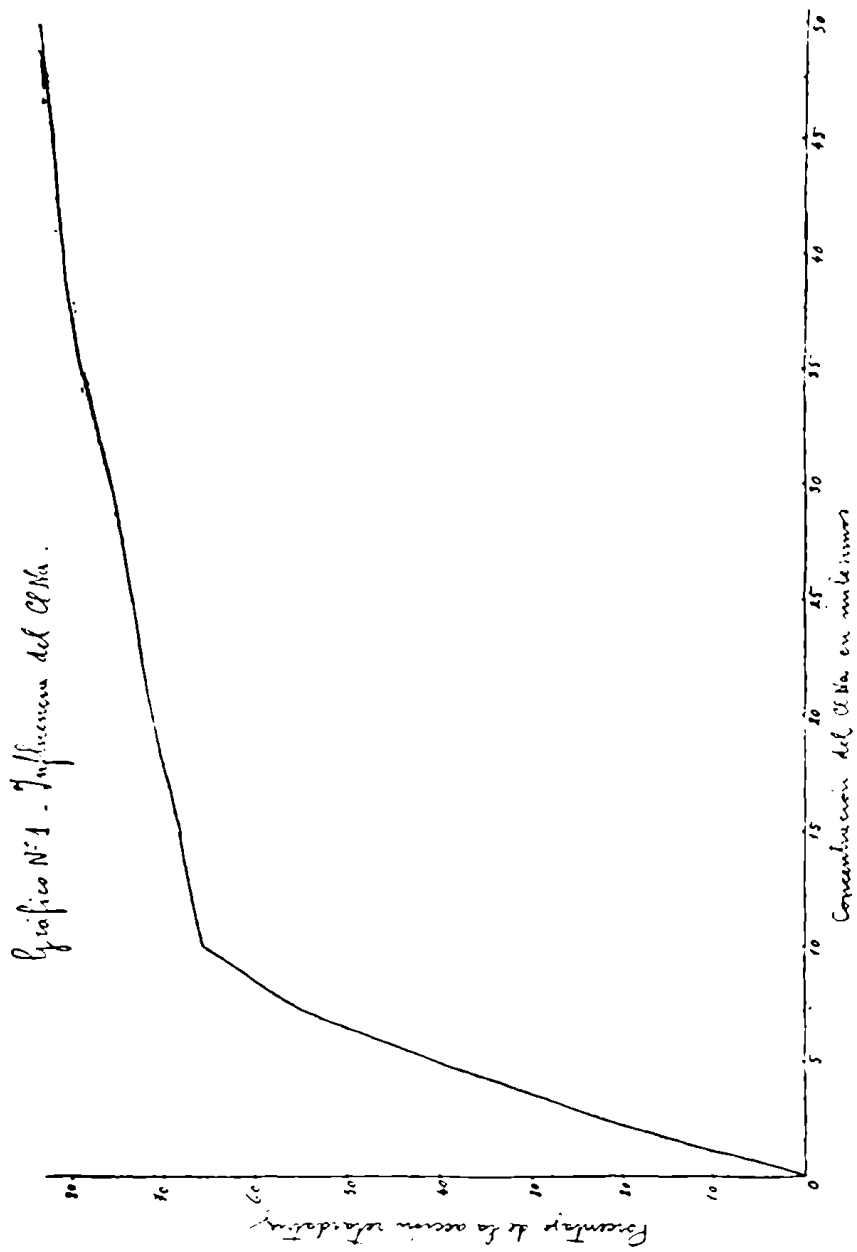
Cantidad agregada á 1000 cm ³ de líquido digestivo →	5 g.	10 g.	15 g.	20 g.
	Accion retardatriz por ciento			
Carbón de Belloc comercial.....	11,80	20,85	32,30	56,50
" " " lavado con H Cl.....	..	31,30	38,35	55,30

Se ve que en las condiciones de la experiencia ambos ejercen aproximadamente el mismo efecto perjudicial. — Es por lo tanto probable que estos cuerpos actúen fijando la pepsina ó el H Cl ó ambos, y si es así debe influir mucho el grado de pulverización. — No hay

que temer que el cuerpo sólido estorbe mecánicamente impidiendo el contacto de la albúmina con el líquido, pues se obtienen los mismos resultados si se tiene cuidado de poner el cuerpo sólido separado de los tubos que contienen la albúmina. — Además, aunque no se tome esta precaución, una vez iniciada la digestión, si los vasos están en reposo, el cuerpo sólido no se encuentra más en contacto de la albúmina, porque no penetra en el tubo y las medidas de la cantidad disuelta en las 4 extremidades concuerdan perfectamente, cosa que no sucedería si el cuerpo sólido impidiera mecánicamente el ataque de la superficie sólida por el líquido digestivo, pues esta acción sería mayor en la extremidad donde hubiera más contacto con el cuerpo sólido.

Las cifras obtenidas con el Cl Na demuestran que tiene una influencia grande. — Esta, en las dosis ensayadas, es retardatriz y aumenta mucho con la concentración en las dosis inferiores, siendo entonces aproximadamente proporcional á la concentración; luego, cuando ésta alcanza 10 o|oo, la acción aumenta poco con la concentración, como se ve mejor en el gráfico número 1. — Es de observar que en los tubos correspondientes á las dosis 10 y 15 o|oo, la superficie de digestión de la albúmina es poco definida, como esfumada, mientras que en los correspondientes á las otras dosis es neta.

Otros cuerpos inorgánicos. — Según A. Petit el I y el Br son paralizadores de la pepsina. — El ácido bórico sería inactivo, de acuerdo también con las experiencias ya citadas de Sailer y Farr. — Los ácidos arsenioso y arsénico serían aceleradores en pequeñas dosis é indiferentes en dosis grandes.



Pincussohn (1) estudió la influencia de los coloides inorgánicos Au, Pt, Ag, As, Bi, Sr, Fe (OH)³ y los encontró todos desfavorables, sobre todo los que no son preparados por el procedimiento eléctrico.

Cuerpos orgánicos

Alcoholes, azúcares. — E. Laborde (2) estudió la influencia de varios cuerpos con funciones alcohol en la digestión péptica y tripsica, para dilucidar divergencia de opiniones que existían al respecto, pues, mientras unos creían que la presencia de alcohol favorecía, otros admitían lo contrario. — Su técnica consistía en digerir albúmina de huevo coagulada y suspendida en un líquido péptico (agua + pepsina + H Cl) ó tripsico (agua + tripsina + CO₃Na²) durante 4 horas para el líquido péptico y 3 para el tripsico. — Cada alcohol entraba en la proporción de 5 y 20 o|oo. — Determinaba luego la cantidad de albumosas y peptonas formadas por el método indicado por Heatong y Vasing para las peptonas del comercio, que consiste en precipitar las albumosas por el SO₄ (NH₄)², dosar este último en forma de SO₄Ba y deducir las albumosas por diferencia. — Las peptonas se calculan restando el peso de las albumosas, del de la suma albumosas + peptonas obtenida por el procedimiento de Kjeldahl. — Fueron ensayados: el alcohol metílico, etílico, isobutílico, propílico, glicerina, alcohol láctico, málico, tártrico, manita, glucosa. — De los números obtenidos dedujo que el alcohol isobutílico, glicerina y ácido málico favorecen la digestión péptica; el metílico parece activar muy dé-

(1) Bioch. Zeitschrift. VIII, 387. 1908.

(2) C. R. Biologie. 1899.

bilmente. — Los alcoholes etílico, propílico, láctico, tártrico, manita y glucosa retardan.

La digestión pancreática era acelerada por los alcoholes metílico, isobutílico, glicerina, glucosa; retardada por los alcoholes etílico, propílico, láctico, málico, tártrico y manita.

G. Linossier (1) estudió también la acción de algunos alcoholes de fermentación sobre la pepsina, tripsina, lab, sucrasa. — Empleó el procedimiento de los tubos de albúmina y jugo gástrico artificial adicionado de 2 o/o de cada alcohol. — Con referencia á la pepsina obtuvo el siguiente resultado:

	Albúmina disuelta mm
Sin alcohol	8,3
Alcohol etílico 2 o/o	7,8
„ propílico „	7,2
„ butílico „	5,9
„ amílico „	2,6

Linossier calcula el porcentaje de la acción inhibidora, considerando que las longitudes de albúmina disuelta son, en igualdad de condiciones, proporcionales á las raíces cuadradas de la cantidad de pepsina, y calcula por lo tanto con arreglo á esto, la cantidad de pepsina que, sin alcohol, produciría el mismo efecto que 100 de pepsina en presencia del alcohol. — Obtiene así los siguientes números:

Sin alcohol	100
Alcohol etílico	87
„ propílico	75
„ butílico	51
„ amílico	10

(1) C. R. Biologie. 1899.

Así el alcohol etílico ha reducido de 13 o|o la acción péptica; el amílico 90 o|o.

A mi parecer, la acción inhibitrice no alcanza á esas cifras. — Es más claro y cómodo ver que si en ausencia de alcohol etílico se han licuado 8,3 mm. y con el 7,8 mm., el porcentaje de la acción retardatrice se deduce de esta proporción:

$$\frac{8,3 - 7,8}{8,3} = \frac{x}{100}$$

En efecto, la que se modifica por la presencia de un agente no es la cantidad de pepsina, sino la actividad.

Thibault (1) estudió en una tesis las modificaciones del poder digestivo que sufre la pepsina en las preparaciones officinales por acción del vehículo, lo cual naturalmente la puede perjudicar, no tanto durante la digestión como durante el largo tiempo que se encuentra en contacto con ella, por lo cual efectuó experiencias bajo esos dos puntos de vista. — Usó como sustancia proteica la fibrina preparada por M. Macquaire (desecación rápida de fibrina reciente en una corriente intensa de aire á una temperatura inferior á 40°). — Efectuaba las digestiones á 50°, durante 6 horas, con la pepsina á ensayar y apreciaba el progreso de la digestión por el número de gotas de NO₃H (D = 1,355 á 15°) que debía agregar á 10 cm³ del líquido filtrado, para producir enturbiamiento ó precipitado. — Consideraba perfecta la digestión cuando no se enturbiaba el líquido por 30 gotas de reactivo.

La presencia de alcohol durante la digestión resultó poco perjudicial en dosis inferiores á 4 o|o; crece su

(1) P. E. Thibault. Etude sur les préparations officinales de pepsine. Thèse. Paris, 1902.

acción con la cantidad hasta volverse paralizante alrededor de 10 o|o, pero según el mismo autor, la cantidad paralizante varía con la actividad del líquido digestivo. También Petit (1) da como inocua la cantidad de 8 o|o para cierta concentración de la pepsina; pero para la mitad de dicha concentración, para que el resultado sea perfecto debe disminuir la cantidad de alcohol á 4 o|o.

Los elixires y vinos, en las experiencias de Thibault, resultaron más desfavorables que las soluciones alcohólicas del mismo título. — La glicerina se mostró muy poco retardatriz, llegando solo á serlo cuando estaba en la proporción de 1:5 á 1:4 del líquido.

En cuanto á la influencia del contacto prolongado, llegó á la conclusión que á los cuatro meses de contacto de la pepsina en la proporción indicada por el Codex Francés para las preparaciones líquidas de ese fermento, con líquidos alcohólicos (11, 14 y 20 o|o), el poder digestivo es casi aniquilado y que el azúcar, glicerina, vino retardan este debilitamiento.

Chassaing (1) operando con pepsina extraída de soluciones alcohólicas de distinta graduación, con más de 6 meses de antigüedad, había deducido que el alcohol á 20 o|o no producía alteración. — También las experiencias de Mourrut y la relación de Vulpian á la Academia de Medicina de París condenando las preparaciones de pepsina á base de alcohol, admitían la inocuidad del contacto alcohólico inferior á 25 o|o. — La diferencia entre estas conclusiones y las de Thibault son debidas probablemente, según él, á la distinta concentración de fermento empleado.

En cuanto á la glicerina, es, según Thibault, un

(1) A. Petit. *Richerches sur la pepsine*. Paris, 1851.

(2) E. Chassaing. *Etude pratique de la pepsine*. Paris, 1887.

gran conservador de las soluciones de pepsina estando en una proporción de 20 á 25 o/o.

Sailer y Farr (2) encuentran que el alcohol y la aldehida fórmica inhiben la digestión gástrica sólo en altas concentraciones. — Observan que para que la aldehida fórmica produzca inhibición total es necesario elevar mucho la cantidad. — Según Bliss y Novy la pepsina no es destruida por la exposición á 4 o/o de aldehida fórmica. Starling cree al respecto que el formol previene de la digestión péptica la fibrina que le ha sido expuesta, pero que tiene poco efecto sobre la pepsina.

En mis experiencias ensayé por el método de Mett la influencia del medio alcohólico desde 1 hasta 16 o/o en volumen, actuando durante la proteólisis. — La acción retardatriz que manifestó está representada por los siguientes datos numéricos:

Influencia del alcohol

Cantidad de alcohol etílico en volumen %	Acción retardatriz por ciento
1. . . .	0
2. . . .	6,25
3. . . .	10,15
4. . . .	16,80
5. . . .	21,15
6. . . .	27,40
7. . . .	31,50
8. . . .	38,90
9. . . .	43,25
10. . . .	52,50
11. . . .	56,75
12. . . .	62,00
13. . . .	66,85
14. . . .	72,10
15. . . .	81,25
16. . . .	94,70

(2) American journal of. Med. Sciences. 1907. Trabajo citado.

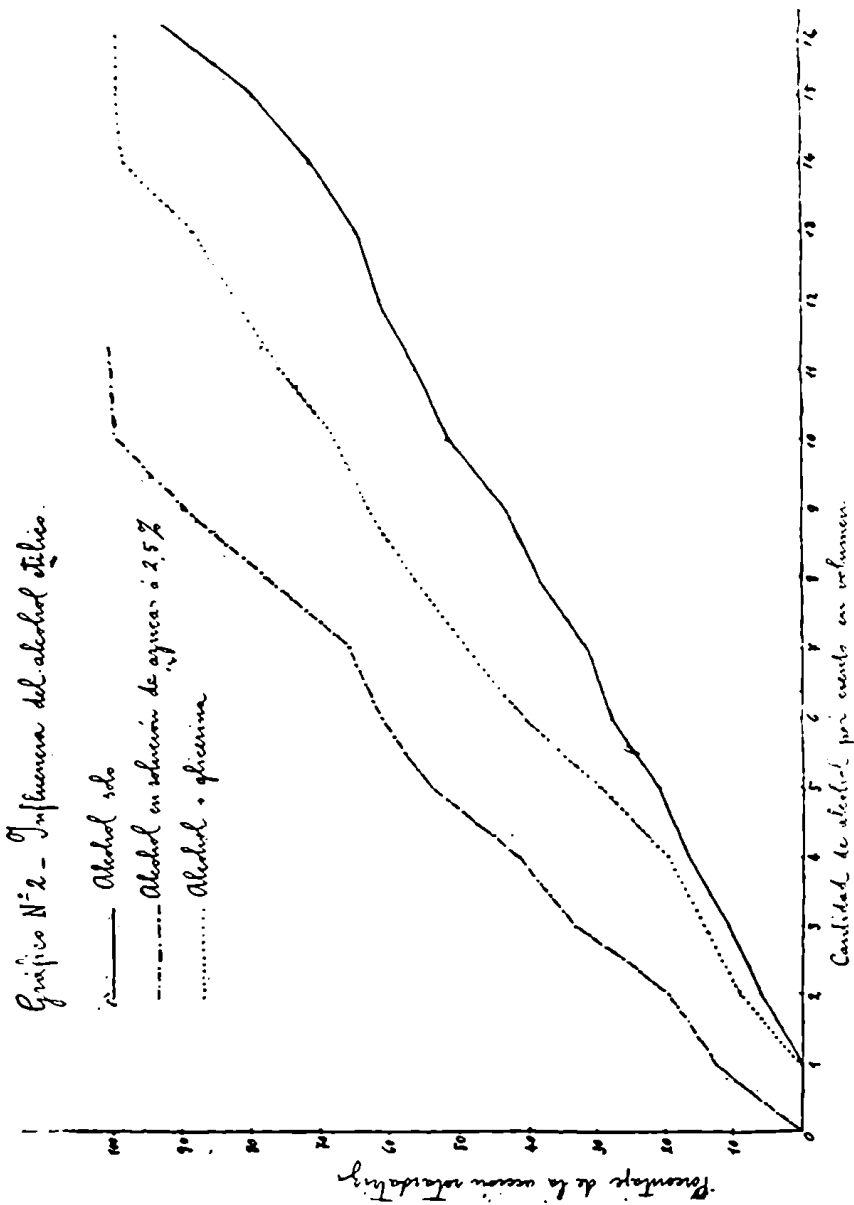
La superficie de separación entre la albúmina aún no atacada y el líquido disminuye en nititud con el aumento de la cantidad de alcohol, volviéndose como esfumada cuando la concentración del alcohol es mayor de 10 o|o, por lo cual he decidido considerar como longitud disuelta la que hay desde la abertura del tubo hasta donde empieza la opalescencia. Las digestiones fueron hechas en frascos cerrados y se tomó el término medio de 2 experiencias. — Los números consignados, como también el gráfico número 2 obtenido con ellos, demuestran que en las condiciones de las experiencias, la influencia del alcohol empieza á ser sensible desde 2 o|o y que hasta 14 o|o es aproximadamente proporcional á la cantidad de alcohol. — Desde 1 hasta 14 o|o corresponde á cada grado alcohólico aproximadamente en media un aumento de 5,5 o|o de acción retardatriz.

En otras experiencias quise ensayar la acción del alcohol en presencia de glicerina y en presencia de sacarosa, para saber si estas sustancias que parecen favorables para la conservación de la pepsina en solución, lo son también durante la acción péptica y además porque acompañan frecuentemente el alcohol en líquidos alimenticios y medicamentosos. — Empleé una solución de alcohol y glicerina en las siguientes proporciones:

Alcohol etílico	38 cm3
Glicerina	10 „
Agua	hasta 100 „

de la cual agregaba al líquido digestivo una cantidad apropiada para que el alcohol se encontrase en el líquido en la proporción de 1, 2, 3, etc., volúmenes o|o como en la experiencia anterior, pero acompañado por

$$\frac{10}{38} = \frac{5}{19}$$



de su volumen de glicerina. — Los porcentajes de la acción retardatriz que están á continuación demuestran que la glicerina actuando durante la proteólisis aumenta la nocividad. — El término medio 5,5 que dedujimos aproximadamente para la acción inhibitriz del grado alcohólico, se eleva en esta mezcla hasta 8 más ó menos.

Influencia del alcohol etílico en presencia de glicerina

Cantidad de alcohol % en volumen	Cantidad de glicerina % en volumen	Acción retardatriz por ciento
1.	0,262	0
2.	0,526	8,95
3.	0,789	13,70
4.	1,052	19,35
5.	1,315	29,70
6.	1,578	41,05
7.	1,841	49,05
8.	2,104	56,15
9.	2,367	63,50
10.	2,63	67,90
11.	2,893	75,45
12.	3,156	82,55
13.	3,419	88,70
14.	3,682	98,70
15.	3,945	100,00
16.	4,208	100,00

Ensayada la glicerina sola, en la cantidad que acompaña el alcohol en las dosis 3, 5, 7, 9, 11, 13 o/o en la experiencia anterior, resultó sin influencia apreciable en las dos primeras y poco retardatriz en las siguientes:

Cantidad de glicerina % en volumen	Aceleración (-) ó retardación (-) %
0,789. . . .	+ 2,05
1,315. . . .	+ 1,60
1,841. . . .	— 6,10
2,367. . . .	— 8,15
2,893. . . .	— 9,05
3,419. . . .	— 9,30

Podemos también observar que la influencia de la mezcla alcohol + glicerina es en general, según los datos citados, mayor que la que se obtiene sumando las acciones de cada cuerpo ensayado separadamente.

El azúcar es aún más perjudicial, como se puede ver en los datos que siguen y en el gráfico número 2.— Aquí dejé constante la cantidad de azúcar (2,5 o/o) y variaba la de alcohol desde 1 hasta 16 o/o.

Influencia del alcohol en presencia de sacarosa (2,5 o/o)

Cantidad de alcohol % en volumen	Gramos de sacarosa %	Acción re- tardatriz %
0.	2,5	10,10
1.	2,5	13,00
2.	2,5	18,40
3.	2,5	33,65
4.	2,5	41,50
5.	2,5	54,15
6.	2,5	61,00
7.	2,5	65,45
8.	2,5	77,60
9.	2,5	91,05
10.	2,5	100,00
11.	2,5	100,00
12.	2,5	100,00
13.	2,5	100,00
14.	2,5	100,00
15.	2,5	100,00
16.	2,5	100,00

Entre los cuerpos en cuya constitución predomina la función alcohol, ensayé además del alcohol etílico y glicerina citados, la manita, glucosa, lactosa y sacarosa, con los cuales obtuve los datos siguientes:

Influencia de algunos azúcares

Gramos ‰ →	2	5	10	20	30	40
	Acción aceleratriz (+) ó retardatriz (—) %					
Manita	0	0	— 8,95	— 10,60	
Glucosa	0	— 2,15	— 15,30		— 24,80
Lactosa	+ 4,40	+ 3,05	— 3,90		— 13,90
Sacarosa	+ 2,40	0	— 4,9	— 9,30		— 15,65

De estos datos se deduce que la influencia de esos cuerpos es relativamente pequeña; la lactosa hasta la concentración de 1 o/o parece más bien activante.—Hay que observar que algunas veces el cuerpo agregado no actúa como tal, sino que sufre transformaciones; tal es el caso de la sacarosa que durante la digestión es hidrolizada, actuando entonces una mezcla equimolecular de glucosa y levulosa.

Acidos orgánicos. — Efectué digestiones en presencia de ácido acético, oxálico, tártrico, cítrico, tánico, gálico, benzoico, salicílico, acetyl salicílico (aspirina), anhídrido carbónico.

Los números obtenidos con el ácido acético son los siguientes (1):

(1) En las concentraciones más altas la superficie de digestión de la albúmina es poco neta.

Influencia del ácido acético

Cantidad de ácido acético % en volumen	Acción aceleratriz (+) ó retardatriz (-) %
1.	+ 2,70
2.	+ 4,00
3.	- 4,90
4.	- 19,60
5.	- 32,00
6.	- 46,00
7.	- 54,40
8.	- 70,00
9.	- 82,75
10.	- 90,25

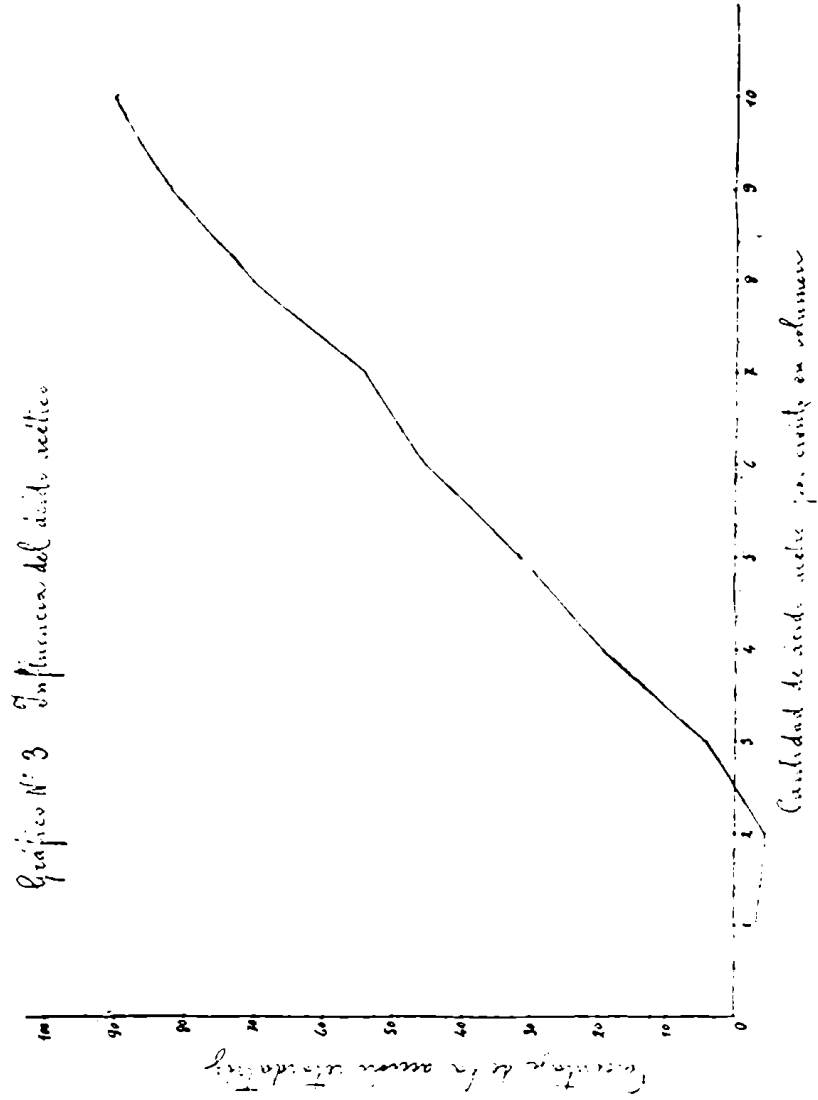
Se deduce que su acción es, comparada con la de otros ácidos, pequeña y en las dosis menores más bien favorable. — Hay cierta proporcionalidad aproximada entre la concentración y la inhibición producida.

En el cuadro siguiente expongo los datos que obtuve con otros ácidos orgánicos:

Influencia de algunos ácidos orgánicos

Gramos ‰ →	0,2	0,5	1	2	5	10	20
	Acción aceleratriz (+) ó retardatriz (-) %						
Acido acético..	+ 2,70	+ 4,00
> oxálico	- 2,6	- 11,50	- 16,00	- 20,10	..
> tártrico..	+ 5,35	+ 4,90	+ 8,00	+ 2,15
> cítrico...	0	0	+ 5,30	+ 7,10
> benzoico.	- 23,05	..	- 62,35 ⁽¹⁾	- 82,60 nd	..
> acetilsalicílico (aspirina)	- 14,80	..	- 52,80	- 65,10	- 72,2 nd
> tánico ...	- 9,75	- 29,25	- 39,85	- 57,00	- 77,40	- 100	- 100
> gálico	0	..	0	..

(1) Nd. significa no disuelto totalmente.



Los ácidos tártrico y cítrico son casi indiferentes ó más bien ligeramente activantes en las condiciones de estas experiencias. — Recordamos que sus sales eran en dosis análogas, fuertemente retardantes lo cual induce á creer que ese efecto fuera debido á la neutralización del H Cl que es reemplazado por un ácido débil. — Ya hemos visto que no sucede lo mismo con otros ácidos como el salicílico, benzoico, que poseen por sí mismos una fuerte influencia (1).

El tanino puede considerarse como verdaderamente incompatible con la pepsina. — En los ensayos citados ya es notable su influencia en la dilución de 1|5000. — Es probable que se deba en gran parte á este cuerpo la acción nociva en ese sentido que poseen muchas infusiones de vegetales en la digestión péptica, como las de te y café ensayadas por Schultz-Schultzenstein, la de mate ensayada por J. Lesage (2). Por lo menos no puede atribuirse en estas tres sustancias á la cafeína, porque como veremos, es de las pocas sustancias francamente aceleratrices.

Lo que más atrae la atención, es que actúe en tan pequeñas dosis. — Hay que tener en cuenta que el tanino se fija fuertemente sobre la sustancia proteica, lo cual, como se sabe, es aprovechado en curtiembre, en el dosaje de tanino, en la preparación de tanalbúmina. En los extremos del cilindro de albúmina de los tubos de Mett se nota esa fijación de la sustancia, análoga á la de una materia colorante en su acción tinctórea.— H. Damianovich y L. Guglielmelli (1) han demostrado

(1) La influencia nociva del ácido salicílico fué observada por Saller y Farr en el trabajo que he citado sobre inhibición producida por sustancias conservadoras.

(2) J. Lesage. Anales de la Soc. Científica Argentina. 1909. LXVIII, página 151.

(3) Revue generale des matiéres colorantes. 1911. T. XV, pág. 129.

que algunas sustancias colorantes orgánicas artificiales retardan la digestión péptica, aún encontrándose en muy pequeñas concentraciones, lo cual no es común entre los otros cuerpos. — Usaban el método de Mett, jugo gástrico artificial y la sustancia era agregada en la proporción de 1|6000. — A continuación transcribo las observaciones que los autores hicieron sobre los datos obtenidos:

“Los colorantes ácidos son los que se oponen más al proceso digestivo; así el ácido pícrico en la proporción de 1|6000 paraliza la digestión y otros, sin paralizarla, ejercen una acción francamente perturbatriz”.

“Los colorantes básicos, al contrario, poseen una acción casi nula y á veces más bien parecen acelerar la peptólisis. Señalan que quizás esa diferencia de acción entre las dos categorías de colorantes se deba en parte á “la acción de las sustancias colorantes ácidas sobre las diastasas albuminoides, como la pepsina”. — También citan como hecho importante que “los colorantes que poseen una acción sobre las fibras textiles albuminoides en un medio ácido, son precisamente los que dan origen á perturbaciones en el proceso proteolítico”.

Es probable que el tanino actúe de una manera análoga y su acumulación sobre la sustancia proteica (el substratum y quizás también la pepsina), debe indudablemente aumentar mucho el efecto que se esperaría de una concentración pequeña.

Contrariamente al tanino, el ácido gálico no ejerce acción visible en ninguna de las dosis ensayadas y se debe tener en cuenta que no se fija sobre las sustancias proteicas.

Influencia del anhídrido carbónico. — Según Herzen y otros autores el CO² podría ser favorable á la ac-

ción de la pepsina, cuando ésta fuera impedida por la concentración de los iones \overline{OH} ó sea por las bases. — Pernossi y Fermi niegan que el CO_2 pueda ayudar la proteólisis en ese caso y según Kühne y Langley la pepsina es pronto destruida por una solución de soda cáustica de 1|2 á 1 0|0; el pepsinógeno lo sería mucho más lentamente.

Dejando á un lado esa cuestión, quise saber si el CO_2 agregado al sólito jugo gástrico artificial y en la cantidad ó presión aproximada bajo la cual puede existir en el estómago, ejerce alguna acción. — El frasco de digestión es el cuyo esquema se ve en la figura.

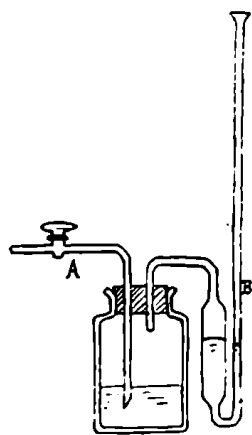


Fig. 2

En el líquido digestivo hacía pasar por el tubo con llave A antes de cerrar el frasco, una corriente de CO_2 hasta saturación, luego cerraba herméticamente y seguía introduciendo el CO_2 cuya presión me era indicada por el pequeño manómetro B. — Cerrada la llave, colocaba el conjunto en el termóstato con otro frasco testigo, sin CO_2 .— Ambos contenían tres tubitos de albúmina. — La presión que excedía

de poco una atmósfera, era observada durante la digestión, sin pretender de alcanzar precisión, lo cual además sería difícil porque las pequeñas variaciones que sufre la temperatura de la estufa hacen variar la tensión del gas.

Influencia del anhídrido carbónico

1.º Temperatura 37º.

	Albúmina digerida en mm.
Con CO ² á la presión de 1,16 atm. . .	5,75
Control sin CO ² , presión atmosférica.	6,20

2.º Temperatura 37º.

	Albúmina digerida en mm.
Con CO ² á la presión de 1,17 atm. . .	5,23
Control sin CO ² , presión atmosférica.	5,47

Se ve que la influencia del CO² en estas condiciones es despreciable, lo cual es de esperarse si se considera que es un ácido muy débil y que es muy pequeña la cantidad que queda disuelta en el jugo gástrico especialmente á la temperatura de digestión, superior á la ordinaria. — Quizás no suceda lo mismo con las diastasas que actúan en medio alcalino; Schierbeck dice que el trabajo máximo de la tripsina y de la ptialina se efectúa en un medio alcalino saturado de CO², condición que á menudo se realiza en el contenido intestinal. — Pero allí el CO² es retenido, podríamos decir, por los álcalis, contrariamente á lo que sucede en el jugo gástrico que es ácido.

Esta inactividad del CO² subsiste cuando la acidez del jugo gástrico es muy pequeña, como me demostró otra experiencia en la que reduje la cantidad de H Cl á 0,5 o|oo.

Influencia de otros cuerpos orgánicos usados comúnmente como medicamentos. — Entre la numerosa lista de sustancias medicinales de uso interno, hay algunas que presentan mayor interés bajo el punto de vista de su influencia en la digestión, porque son empleadas diariamente durante períodos á veces largos, se

mezclan con los alimentos y es sabido que algunas causan trastornos tales que rinden casi imposible su uso para algunos individuos. — Como la digestión consta de varias fases y fenómenos, es necesario saber sobre cuál proceso actúan esos cuerpos; investigar, por ejemplo, si es la proteólisis, la amilólisis ó la lipólisis la que es perturbada. — Un cuerpo nocivo para la digestión gástrica puede ser favorable en la pancreática ó vice-versa, sobre todo debido al cambio de reacción, de modo que es muy importante conocer su comportamiento en los dos procesos.

En el cuadro que sigue figuran los datos numéricos que obtuve con respecto á algunos de dichos medicamentos en la digestión péptica. — Los cuerpos poco solubles han sido agregados, como dije anteriormente, al estado sólido en el momento de iniciarse la digestión y en la cantidad indicada arriba de cada columna:

Influencia de varios cuerpos orgánicos

Gramos ‰ →	0,125	0,25	0,5	1	2	2,5	5	10	20	
	Acción retardatriz %									
Antipirina	6,4	..	2,15	4,25	..	
Piramidon	8,5	..	2,4	6,4	..	
Acetanilida	6,5	23,1	41,65	49,3 nd	(1)
Exalgina	8,55	32,7	61,1	95,7	
Fenacetina	12,4	14,5 nd	18,0	24,0	
Criogenina	9,8	16,65	..	34,3	44,1	52 nd	
Piperazina	0	..	18,35	100	100	Fijación
Urotropina	4,5	12	25,5	58,8	98,6	100	100	100	
Hidrato de cloral	4,35	..	12	24,1	50	
Sulfonal	1,75 nd	7,5	
Veronal	0	0	..	1,85	4,6 nd	..	
Naftol α	19,1	84,25	100 nd	100	100	Fijación
Naftol β	18,6	25	48,3	74,7	95,3 nd	98,8	100	Fijación
Benzonaftol	Ond	2,15	6,10	7,3	
Salol	12,6 nd	15,6	17,8	20,45	
Salipirina	15,6	32,1	..	59,7	78 nd	..	
Aspirina	14,8	54,8	65,1	72 nd	
Guayacol	14,1	24,7	..	49,6	
Tiocol	27,7	..	47,9	69,15	71,1	
Creosota	5,85	10,3	23,3	41,6	

(1) Nd. significa que en esa dosis y en las mayores no se disuelve totalmente.

Influencia de varios cuerpos orgánicos

Gramos ‰ →	0,125	0,25	0,375	0,5	1	2	2,5	5	10	20
Acción aceleratriz (+) ó retardatriz (–) ‰										
Sacarina.....	–8,5	–12,25	–15	–17	–34	
Azul de metileno	0	0	..	0	+14,6		+8,3	+14,3	0	–13,9
Fenolftaleína...	–5,8 nd	–21,1
Mentol.....	–26,4	–31,8	–31,85
Hidrato de terpina...	–3,35		..	–5,1 nd	–5,8	–6,45
Teobromina....	–1,9 nd	–2,3		..	–4,9	–7,5	–19,6
Cafeína.....	0	+3,7		..	+9,3	+23,5	+23,1
Citrato de cafeína...	+1,5
Sulfato de quinina...	–4,15		..	–20,8	–41,9	–66,5
Clorhidr. de morfina	..	–3,0	..	–2,5
» de cocaína	..	0	..	–1,2	–1,3
Pancreatina....	–2,6	–2,6	..	–2,55 nd	–3	–5,7
Papaína.....	–2 nd	–23	–48,45

Gramos ‰ →	0,0125	0,025	0,05	0,0625	0,1
Acción retardatriz por ‰					
Naftol α.....	..	4,5	..	10,1	..
Naftol β.....	..	5	..	9	..
Sulfato de estricnina.....	7,85	3,9	0	..	0

Considerando los números obtenidos haremos algunas observaciones sobre los cuerpos ensayados.

La influencia de la antipirina y del piramidón (dimetilamidoantipirina) es pequeña.

La acetanilida y la exalgina poseen una acción retardatriz ya pronunciada, algo mayor en esta última; la fenacetina actúa menos que los dos cuerpos anteriores en las dosis en que no se disuelve completamente. Se

observa aquí, como en otras experiencias ya citadas, que cuando la cantidad de la sustancia es superior á su coeficiente de solubilidad, la acción sigue variando con la dosis, pero no tanto como cuando se encuentra totalmente disuelta.

La criogenina (benzamida semicarbazida) sufre durante la digestión una reacción que colorea el líquido en amarillo si es pequeña la cantidad, en rojo si es elevada. — Su influencia es comparable en intensidad á la de los tres cuerpos anteriores.

La piperazina actúa como las bases en general, cuya acción es pequeña mientras no alcanzan la cantidad necesaria para neutralizar el H Cl, se vuelve paralizante cuando existen en esa cantidad.

La urotropina (hexametenetetramina) ejerce una acción retardatriz ya sensible en la proporción de 1|2000 y paralizante en la de 3|1000. No es difícil que una de las causas de su acción antipéptica sea la descomposición de esa sustancia en amoníaco y aldehida fórmica, cuando su permanencia en el jugo gástrico dura mucho tiempo, como en el caso de estas experiencias; en el estómago es difícil que eso suceda, pero siendo básica podría actuar neutralizando el H Cl.

El hidrato de cloral, el sulfonal y el veronal (dietilmalonilúrea) los tres empleados como hipnóticos, son relativamente muy poco nocivos, especialmente los dos últimos.

Los naftoles α y β á pesar de su poca solubilidad, resultan muy activos. — Su acción retardatriz es ya sensible en la concentración de 1|16000, va aumentando con la cantidad y á saturación se vuelve paralizante. El benzoato de naftilo β ó benzonaftol es al contrario indiferente, probablemente por su pequeñísima solubilidad.

La creosota fué ya indicada como muy perjudicial por Sailer y Farr (1), como también confirman mis experiencias. — El guayacol, uno de los componentes de la creosota y la sal potásica de su derivado sulfonado (tiocol), parecen ser en las mismas dosis algo menos activos. — El carbonato de guayacol resultó en las experiencias de Sailer y Farr sin inhibición sensible, según ellos por ser casi completamente insoluble en el jugo gástrico.

Sobre la influencia de la sacarina en la digestión péptica existen trabajos de varios autores. — Ch. Schmitt (2) efectuó digestiones artificiales de fibrina por solución clorhídrica de pepsina y también con líquido proveniente de maceración de mucosa de cerdo, comparando la inhibición producida por la presencia de la sacarina con la de una cantidad equivalente de azúcar. — Medía la velocidad de digestión por medio de la precipitabilidad del líquido por ácido nítrico. — Concluyó que á poder edulcorante igual, la sacarina retarda menos la digestión péptica que la sacarosa. — El autor sospecha que la viscosidad del medio azucarado sea una de las causas de esa diferencia. — Nencki practicó digestiones de ovalbúmina en presencia de líquidos azucarados y otras reemplazando los líquidos azucarados por las correspondientes cantidades de soluciones sacarinas; dosando la albúmina no disuelta llegó á la conclusión que la sacarina retarda poco la peptonización, menos que el alcohol y el azúcar.

Roger y Garnier (3) encuentran que cuando el líquido digestivo posee una acidez grande, la sacarina re-

(1) American journal of Med. Sciences, 1807. Trabajo citado.

(2) C. R. Biologie. 1901.

(3) C. Oppenheimer. Die Fermente. II, pág. 279.

tarda y en acidez deficiente acelera, quizás por ser ella misma ácida. — De mis experiencias se deduce que en las dosis comunes ejerce una inhibición pequeña y menor que la cantidad igualmente edulcorante de sacarosa.

El azul de metileno es de los pocos cuerpos que en las condiciones de mis experiencias aceleraban la licuación de la albúmina, pero solamente entre ciertos límites de concentración. — Hasta 0,5 o|oo era sin influencia sensible, de 1 hasta 5 o|oo aceleraba; en dosis superiores se volvía retardador. — Hay que recordar aquí la observación de Damianovich y Guglielmelli ya consignada, que los colorantes ácidos son los que obstaculizan el proceso proteolítico en líquido ácido; y los básicos (como el medicamento en cuestión) parecen tener poca influencia y á veces más bien favorecen.

El mentol á pesar de ser muy poco soluble en líquido acuoso, se manifiesta algo desfavorable.

El hidrato de terpina (metilmetoetilciclanediol) parece casi indiferente; hay que tener en cuenta que es muy poco soluble.

La teobromina y la cafeína, según Wroblewski (1), favorecen la acción péptica. — En mis experiencias la teobromina resultó casi inactiva, quizás debido en parte á su escasa solubilidad. — No así la cafeína, que como se ve, en las proporciones de 1 y 2 o|o es verdaderamente activante, con una influencia aceleratriz mayor que 20 o|o. — El citrato de cafeína resultó inactivo en una de las dosis en que ésta era más activa.

Tal comportamiento de la cafeína con la pepsina presenta su interés. Sería conveniente investigar si actúa de una manera análoga sobre otras diastasas y si eso

(1) Zeitschrifts für physiol. Chemie. 1895-06.

tiene alguna relación con su acción en las otras partes del organismo. — Entre los otros alcaloides ensayados la quinina bajo forma de sulfato era retardatriz; el clorhidrato de cocaína, el de morfina y el sulfato de estricnina en las proporciones indicadas, sin influencia sensible.

De las dos diastasas proteolíticas ensayadas, la pancreatina se mostró casi inactiva; la papaína, menos soluble, era retardatriz en las dosis grandes. — Es natural que estos dos fermentos no ayuden la digestión péptica, porque la pancreatina actúa en medio alcalino y en cuanto á la papaína, si bien no está del todo determinado cuál es la reacción que corresponde al máximum de actividad, se sabe que una acidez pronunciada impide su acción. — Según Harlay (1) la pepsina en condiciones convenientes de acidez destruye la tripsina y la papaína. — También Kühne, Baginski, Fermi y Pernossi confirmaron que la pepsina puede destruir la tripsina. — Viceversa, Mees afirma que la tripsina á su vez puede destruir la pepsina en medio de alcalino. — Sería conveniente saber si esa destrucción es tan rápida como para poder efectuarse durante su permanencia en el estómago, y si así fuera, la pancreatina perdería parte de su valor terapéutico por pasar por dicho órgano.

(1) Harlay. De l'application de la tyrosinase à l'étude des ferments proteolytiques. Thèse. Paris, 1900.

CONCLUSIONES

Las experiencias efectuadas demuestran que la mayor parte de los medicamentos ensayados poseen influencia sobre la proteólisis péptica artificial. — Casi todos actúan retardando la licuación de la albúmina coagulada, siendo la aceleración, cuando la pepsina ya se encuentra en buenas condiciones de actividad, un caso raro. — Así, entre las numerosas sustancias experimentadas, solo la cafeína resultó un activante bien manifiesto.

La intensidad de dicha influencia varía con la concentración de la sustancia en cuestión, y se observa á veces, para ciertos límites, aproximadamente una proporcionalidad directa entre ellas.

Cuando un ácido ejerce sobre la proteólisis producida por una solución de pepsina convenientemente acidulada con ácido clorhídrico, cierta inhibición, sus sales la ejercen en general mayor, porque á la acción propia perjudicial del ácido, se une el efecto de la neutralización parcial ó total del ácido clorhídrico, cuando éste lo reemplaza en gran parte en la combinación salina.

La presencia de cuerpos divididos indisueltos ejerce en general también su acción desfavorable sobre el líquido digestivo; probablemente algunos, como el carbón vegetal ensayado, actúan fijando la pepsina.

La mayor crítica que puede hacerse al uso del procedimiento de Mett para apreciar la actividad péptica, con objetos análogos al de esta tesis, es que la licuación de la albúmina coagulada representa solo en parte la proteólisis, y bajo ese concepto son superiores los métodos que consisten en medir el progreso de la transformación de la albúmina hacia el término peptonas. — De todas maneras, se siente la necesidad de uniformar los procedimientos empleados, con lo cual se rendirían más comparables y quizás más concordantes los resultados obtenidos por distintos experimentadores.

Si las diastasas presiden muchos fenómenos vitales, el estudio de la acción que sobre cada una de ellas y su actividad ejerce la presencia de diversas sustancias, es conveniente en la fisiología y la medicina para el mejor entendimiento de la acción farmacodinámica de muchos medicamentos.

Mauricio Canónica

Buenos Aires, Septiembre 5 de 1912

Pase á la Comisión examinadora Núm. 22 para que se sirva estudiar la presente tesis.

JUAN F. SARHY

DECANO

PEDRO J. CONI

SECRETARIO

Los miembros de la Comisión examinadora Núm. 22 que subscriben, han examinado la presente tesis y resuelven aceptarla.

Eduardo L. Holmberg — Jacinto T. Raffo — Julio J. Gatti — Guillermo F. Schaefer — Luciano Hauman Merck — Horacio Damianovich — Enrique Herrero Ducloux — Angel Gallardo — Angel Sabatini — Atilio A. Bado.
