

ESTUDIS SOBRE EL METABOLISME
INTERMEDIARI ANIMAL I VEGETAL
DELS HIDRATS DE CARBON

per

C. PI-SUÑER I BAYO

Les meves modestes recerques sobre aquest tema es prolonguen avui a uns quatre anys, i malgrat haver estat portades a cap en tres Instituts diferents, crec que presenten una unitat de conjunt per a poder reunir-les en un sol cos de doctrina. No obstant, n'hi ha una part que pel seu caràcter més biològic o, per així dir-ho, menys químic, haurà de quedar-ne fora; em refereixo als estudis sobre el metabolisme hepàtic i muscular dels animals durant l'exercici, efectuats en col·laboració amb Collazo i Liss (1), Liss (2) i Liss i Osuka (3), i els més recents sobre l'acció del complex vitamínic B (4), i especialment de la vitamina B-2 (5) sobre el metabolisme dels hidrats de carbon i l'òxido-reducció dels teixits, portades a cap al costat de Collazo. Sacrificant aquests treballs, crec que aquesta exposició guanyarà unitat i presentarà un lligam més perfecte entre les seves dues parts, en desaparèixer les solucions de continuïtat que d'altra forma podrien originar-se.

En conseqüència, constarà de dos capítols princi-

pals i un subcapítol final. En el primer, hom tractarà de les meves experiències més recents sobre la possible formació de glucogen a partir de l'àcid làctic en la cèl·lula hepàtica, o sigui la formació de la molècula polímera complexa, a partir de la de sis o de tres àtoms de carbon; i en la segona, dels meus estudis, vells de dos anys, sobre el metabolisme intermediari, pròpiament dit, dels hidrats de carbon : aïllament del metilglixal, dismutació d'aquest cos a àcid làctic, etc. En el subcapítol següent vull ocupar-me d'un tema d'interès cada dia més gran, malgrat no haver efectuat experiències personals sobre d'ell : les íntimes relacions existents entre el metabolisme dels hidrats de carbon i els del fòsfor i de l'amoníac; i, finalment, establir les moltes coincidències i identitats que presenta aquest metabolisme en els animals i en els vegetals i veient fins a quin punt és inexistent i supèrflua la línia divisòria que entre ambdós volgué establir-se.

V. Furt, en el seu magnífic *Tractat de química fisiològica i patològica*, que tant hauré d'esmentar en la redacció d'aquest treball, diu, en començar a estudiar els hidrats de carbon, després d'haver dedicat ja la seva atenció a les proteïnes : «Encara que el camí sigui llarg, el començo amb una sensació de descans; sensació semblant a la que experimenta l'excursionista que, després de pujar durant llarg temps per una muntanya esquerra, travessant la selva sofocadora, en un dia de calor, arriba finalment al límit dels arbres. Per molt cansat que sigui encara el camí que li queda per fer, sempre serà menys cansat si la seva vista por estendre's lliurement i no està limitada, per totes bandes, pel clar-obscur del dens boscatge. En efecte; és una llum crepuscular la que ens envolta mentre estem en el cap de les proteïnes. I com podria ésser d'una altra manera? Essent

encara tan obscura llur naturalesa química, no es pot esperar gaire llum de les nostres investigacions sobre llur destinació en l'organisme. En canvi, en ocupar-nos dels hidrats de carbon, estudiem almenys substàncies químicament definides...» (6). Ens sembla un xic excessiu l'optimisme del mestre; podran ésser ben clars i indiscutibles — que no ho són — els nostres coneixements actuals sobre les substàncies hidrocarbonades existents en l'organisme i els darrers productes de llur descomposició, però sense cap dubte, i malgrat l'obra gegantina portada a cap en els darrers anys, no es pot dir el mateix pel que es refereix al metabolisme intermediari, o sigui per a les intrincades i complexes sèries de transformacions que han de sofrir aquelles substàncies en l'organisme, abans d'ésser eliminades sota forma de productes excrementicis.

Encara que el coneixement més o menys empíric dels sucres data ja de temps, se'ls començà a donar la importància que actualment tenen en biologia, a partir dels històrics estudis de Claudi Bernard sobre la funció hepàtica i el cicle glucosa-glucogen. Com que aquest no és el punt més indicat per a intentar una monografia química dels diferents hidrats de carbon, amb llurs propietats, síntesis, descomposició, etc., em remeto a la lectura dels nombrosíssims treballs publicats en aquests darrers decennis per Fischer, Pringsheim, Bertrand, Tollens, Willstätter, etc., tan ben reunits, per exemple, en els tractats de Química orgànica dels professors Fernández i Giral i del professor Torres. Per tant, em contentaré en assenyalar que el vell concepte al qual devien llur nom, de cossos ternaris on l'hidrogen i l'oxigen es trobaven en la mateixa proporció que en l'aigua no, es prou exacte — com ho demostra, entre altres, el cas de la ramnosa o metilpentosa — $C_6H_{12}O_5$ — i que ho és

molt més definir-los com a *derivats aldehídics o cetònics d'alcohols polivalents o, en altres paraules, com a polioxialdèhids i polioxicetones amb els àtoms de carbon units en línia recta.*

En començar l'estudi d'aquesta primera part, és ineludible esmentar de seguida i repetir després amb freqüència, un nom immortal : el de Claudi Bernard. És ell que l'any 1848, en una comunicació a l'Acadèmia de Ciències (7), relacionà per primera vegada el funcionalisme hepàtic amb el metabolisme de la glucosa i ell mateix qui descobrí, després, que aquesta glucosa procedeix d'una substància existent en el mateix fetge, a la qual es deu l'opalescència de l'aigua de rentat, que es converteix en glucosa, i s'aclareix la solució per l'acció de la saliva filtrada. En diverses comunicacions posteriors, dóna a aquesta substància el nom de glucogen, i ja descriu un procediment d'obtenció que, lleugerament modificat després per Pflüger, s'ha anat emprant fins ara (8). Com diu Fischler (9), «aquest fet, o millor dit, aquesta sèrie de fets transcendents, ens sorprèn i ens meravella, sobretot quan recordem que les seves afirmacions es trobaven en oposició diametral amb les hipòtesis regnants aleshores sobre la destinació dels hidrats de carbon en el metabolisme animal, el qual tan sols es creia capaç de destrucció, reservant la formació a les plantes, i en imaginar-nos l'estat dels coneixements sobre la química dels hidrats de carbon aleshores i les dificultats de tot ordre que acompanyaven llur identificació».

Més tard, Wittich (10) i Pavy (11) pogueren demostrar la naturalesa diastàsica de la producció de glucosa a partir del glucogen, obtenint el material diastàsic per extracció del fetge sec, humit o prèviament tractat amb alcohol, amb aigua o glicerina. De la mateixa manera,

Salkowsky (12) aconseguí novament descartar la possible acció de les bactèries en el procés glucogenolític, tractant el fetge prèviament amb cloroform i digerint després el trinxat. En aquestes condicions, el trinxat bullit prèviament no presenta sucre, mentre que el que no ho havia estat, presentava una formació evident, amb desaparició simultània del glucogen, demostrant que la seva descomposició era deguda a ferments existents en el mateix fetge i no a substàncies exteriors d'origen bacterià.

Els estudis sobre el glucogen foren continuats per Pflüger (13) i els seus deixebles, insistint sobretot en l'estudi de la possibilitat de la polimerització de la glucosa o del glucogen. Això durà fins que K. Grube (14) veié, anys després, que el contingut del parènquima hepàtic en glucogen, en els diferents lòbuls, era molt regular, essent degudes solament les diferències observades en les determinacions, a la major o menor quantitat de teixit conjuntiu. Ideà, aleshores, un mètode senzill que li permetia la circulació artificial a través del fetge de la granota, dividit en dos circuits completament independents i tancats, per un dels quals circulava la solució fisiològica que contenia la substància l'efecte glucogènic de la qual volia comprovar-se, i per l'altre, la mateixa solució sense aquella substància. J. Meyer (15) aplicà poc després aquest mètode als mamífers, i aconseguí comprovar la capacitat que tenia la glucosa de transformar-se quantitativament en glucogen. C. Voit (16) demostrà després la mateixa capacitat en el cas de la levulosa — molt més que la galactosa — essent diverses i contradictòries les opinions per als diferents dissacàrids. Un fet d'interès indubtable en l'estudi de les possibilitats de transformació de les proteïnes en hidrats de carbon, és la incapacitat de formar glucogen a partir

de la glucosamina per simple canvi del radical amino en radical hidroxil, establerta per F. Rogozinsky (17).

Paral·lelament a aquests estudis biològics de polimerització de la glucosa a glucogen, s'ha treballat també amb intensitat, en els darrers anys, en la diversificació i aïllament químic dels diferents estadis consecutius originats en la hidrolisi del midó o del glucogen; han estat especialment importants en aquest terreny els treballs de Pringsheim i dels seus deixebles. Reprodueixo un esquema tret d'una de les seves nombroses publicacions (18):

Descomposició química

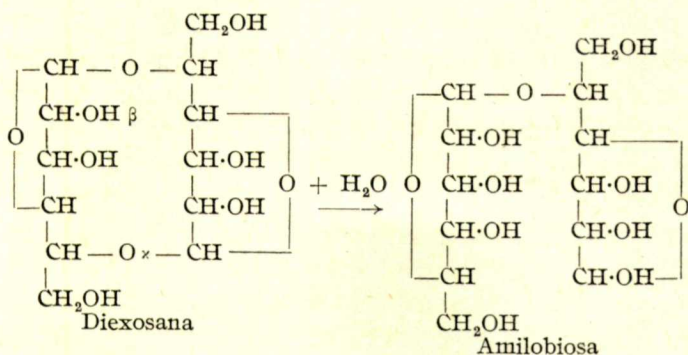


Descomposició fermentativa



Efectivament, Pringsheim i els seus col·laboradors han vist que, escalfant el component del midó, l'amilosa, amb glicerina a 200°, s'obté un dissacàrid d'anell tancat, la diexosana; mentre que l'altre component, l'amilopectina, en les mateixes condicions origina un trissacàrid, la triexosana. Atacant amb CIH concentrat en fred, també s'obté, a partir de la primera, un dissacàrid, i de la segona, un trissacàrid, anomenats, res-

pectivament, amilobiosa i amilotriosa, i dels quals aïllaren les osazones respectives. Suposant dos radicals de glucosa, les fórmules corresponents a la diexosana i a l'amilobiosa serien les següents:



Tenint en compte l'importantíssim paper que des de sempre s'ha atribuït a l'àcid làctic en el metabolisme intermediari dels hidrats de carbon, es comprèn que interessés de seguida saber si posseïa, per la seva banda, aquesta funció glucogènica, i que hagin estat molts els investigadors que han dedicat llur activitat a contestar aquesta pregunta, negativament o afirmativa. Al principi s'utilitzaren els mètodes de perfusió, els únics que aleshores es coneixien, però després s'han emprat els micromanomètrics de Barcroft, que, perfeccionats per Warburg i Meyerhof, i aplicats al metabolisme cel·lular, han donat resultats tan esplèndids. Però el més interessant del tema és que, mentre, per una banda, investigadors de tanta anomenada com Weiske i Flechsig (19), Araqui (20), Mandel i Lusk (21), Embden (22), Parnas (23), Meyerhof i Lohmann (24), Takane (25), etc., etc., sostenen la possibilitat d'aquesta transformació, la neguen, en canvi, sobretot en els darrers temps, Barrenscheen (26),

Abramson i Eggleton (27), Jansen i Jost (28), Carruthers (29), etc. (Vegeu notícies més detallades sobre la literatura en un treball nostre recent) (30). Profundament interessats per aquestes discrepàncies, i com a continuació de vells estudis sobre el metabolisme hepàtic de les rates, hem portat a cap una nombrosa sèrie d'investigacions que s'han publicat en aquests mateixos TREBALLS, i que ens evidenciaren una síntesi de glucogen, al mateix temps que minvava paral·lelament el contingut en àcid làctic del Ringer de perfusió. Els nostres experiments foren efectuats sempre amb fetge de rates blanques sacrificades per decapitació. S'extreia ràpidament i es col·locava en caixes de Petri, sobre gel; es pesava a la balança de torsió i es tractava després amb el líquid que contenia lactat en un model de tub descrit anteriorment.

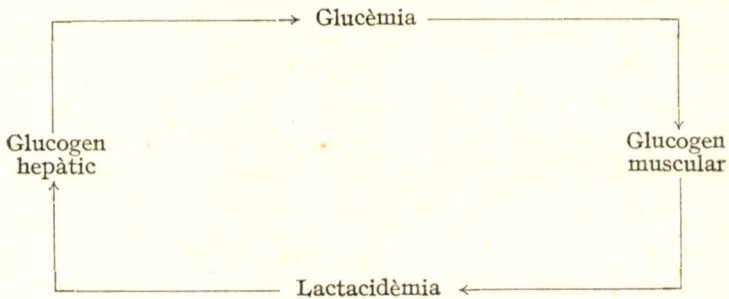
Un cop comprovat el resultat positiu d'aquests assaigs, i tenint en compte les idees actuals sobre el cicle àcid làctic-glucogen segons Meyerhof i els seus deixebles (32), que sostenen que la síntesi podria tan sols tenir lloc en aerobiosi, per ésser un procés oxidatiu, mentre que la descomposició seria anaeròbia, se'ns va ocórrer repetir-les tractant el fetge, no en una atmosfera d'oxigen, com la vegada anterior, sinó en una de nitrogen o d'anhídrid carbònic, per veure si, efectivament, en aquestes condicions se suspenia la síntesi. Si bé el nombre d'experiments que hem portat a cap encara és massa escàs per a poder contestar d'una manera absoluta a una qüestió tan interessant, sembla ésser que la síntesi també tindria lloc en l'atmosfera d'aquests gasos, sobretot del primer, almenys en les condicions en què nosaltres operàvem. La sèrie experimental que actualment tenim en marxa, en col·laboració amb J. Folch i Pi, en la qual fem una tècnica perfeccionada — subs-

titució dels tubs per Erlenmeyers, d'agitació i de maneig més fàcil; escalfament previ del nitrogen en una estufa d'anàlisi elemental amb espiral de coure, per a eliminar els possibles indicis d'oxigen; refrigeració en serpentí; col·locació dels Erlenmeyers en bateria; introducció de l'extrem final del tub de conducció del gas en un matràs d'aigua destil·lada, etc. — ha d'ésser la que decideixi definitivament aquesta qüestió. Però, en tot cas, per què no explicar teòricament el fet? Essent ja nombrosos i coneguts els mecanismes d'òxido-reducció que poden tenir lloc en absència d'oxigen — darrerament Quastel i Weatley (33) han vist la capacitat que tenen certes bactèries anaeròbies d'efectuar el cicle de l'òxido-reducció de l'àcid succínic —, per què no admetre o, almenys, discutir la possibilitat de la síntesi? No seria possible que l'energia necessària provingués d'alguna reacció simultània del complex químic hepàtic, encara no ben coneguda? N'hi ha prou a recordar l'existència de les deshidrases làctiques, obtingudes ja a partir de certes bactèries [Berheim (34) i Stephenson (35)] en l'organisme, i especialment en el fetge, per admetre la possibilitat que per llur acció, i en absència d'oxigen, l'àcid làctic s'oxidés — per deshidrogenació — a àcid pirúvic i aquest es polimeritzés per a formar molècules més complexes, seguint l'esquema de Neuberg.

No insistint massa en les experiències d'Embden i dels seus col·laboradors (36), que sostenen haver observat la desaparició anaeròbia de l'àcid làctic en presència de fluorur, i la síntesi paral·lela d'hidrats de carbon, opinió refutada per Lipmann (37), el qual atribueix les pèrdues observades en l'àcid làctic a què aquest es trobi parcialment emmascarat pel fluorur, existeix sempre el fet interessantíssim, observat per Hahn, Fishbach i Haarmann (38), de la transformació en el buit de l'àcid làctic

a àcid pirúvic, en presència de blau de metilèn, com a acceptor d'hidrogen. Si això és possible en aquestes condicions, per què no ho ha d'ésser en el fetge, on es troben tantes substàncies — glutathion, citocrom, etc. — susceptibles d'actuar com a donadors o acceptors d'hidrogen? Aquest tema, tan ple de suggerències i possibilitats, ha d'ésser objecte de nombroses experiències complementàries que pensem portar a cap, moltes d'elles ja planejades, i de les quals esperem obtenir resultats convincents. Per tant, no hem d'insistir més sobre aquest particular. (Vegeu la literatura sobre els fenòmens d'òxido-reducció en presència i en absència d'oxigen, en la tesi doctoral de J. Pi-Suñer i Bayo) (39).

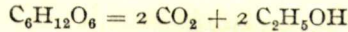
Abans d'abandonar, però, aquest tema, creiem interessant de reproduir, d'un treball recent de Cori (40), el següent cicle, en el qual tan clarament es descriuen les destinacions respectives de la glucosa i de l'àcid làctic que circulen per l'organisme:



En començar aquest segon apartat, ja hem dit que ens ocuparem de les etapes del metabolisme intermediari dels hidrats de carbon, consistents en la degradació de

la glucosa fins als seus darrers productes d'oxidació, considerant al principi, per separat, dos processos interessantíssims : la fermentació alcohòlica i la glucolisi, per a intentar, després, destacar d'una manera breu els nombrosos punts de contacte que presenten, sobretot a la llum de les investigacions recents.

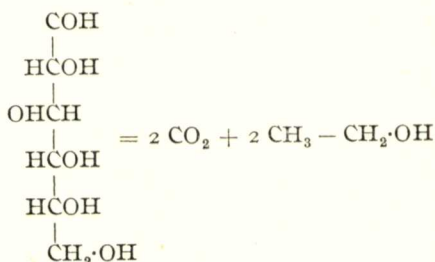
En el que a la fermentació alcohòlica es refereix, si bé coneguda empíricament des de les èpoques més llunyanes, el seu procés íntim quedà ignorat fins que Gay Lussac, seguint els pasos del seu genial mestre Lavoisier (41), enuncià per primera vegada l'equació



admesa després fins als nostres temps. Poc després comencen els meravellosos estudis de Pasteur (1822-1895), demostrant que la fermentació és un fenomen biològic — «la fermentation est la vie sans oxigène» —, i que indubtablement constitueixen el punt de partida per al desenvolupament de l'estudi de la química fisiològica vegetal. És aleshores que s'inaugurà la llarga lluita entre els vitalistes, per un costat, amb Pasteur al cap, i els materialistes, presidits per Liebig, en el camp contrari, i que acabà a favor dels primers en el moment que Pasteur demostrà que una solució ensucrada continguda en un Erlenmeyer, la boca del qual està tapada amb cotó fluix, no presentava cap fermentació, i, per tant, «que no hi havia fermentació sense microorganismes». Havien de passar uns anys, el 1903, fins que E. Buchner, en col·laboració amb H. Buchner i Hahn (42), descobrí l'existència de la fermentació sense cèl·lules, en observar com els sucus resultants de premsar intensament amb sorra les cèl·lules del llevat — sucus absolutament lliures de tot element figurat — fermentaven

de la mateixa manera que les cèl·lules íntegres. La fermentació alcohòlica es podia aconseguir en un tub d'assaig mitjançant el suc del llevat, i començava amb això l'era de la teoria zimàsica, que s'havia d'estendre, més o menys ampliada o corregida, fins als nostres dies.

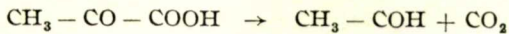
Ara bé; referint-nos al problema estrictament químic de la fermentació, n'hi ha prou a observar l'equació



per a comprendre immediatament la impossibilitat d'una transformació directa de la glucosa en alcohol i anhídrid carbònic; degut a això, es va pensar ja des del principi en la formació de compostos intermediaris. Com que aquests compostos han d'ésser d'aïllament extraordinàriament difícil, ja que en el complicat quimisme zimàsic havien de reaccionar de seguida, per a donar lloc a noves etapes del procés, s'assajaren els compostos de molècula més petita que la glucosa que podrien originar-se en la seva descomposició, i que fossin susceptibles, per altra banda, d'ésser ulteriorment transformats pel llevat. Indubtablement aquest era el bon camí, i fou el que, seguit sobretot per Neuberg i la seva escola, donà excel·lents resultats.

Eren moltes les circumstàncies que indicaven que els compostos que s'havien d'estudiar s'havien de trobar principalment entre els de tres àtoms de carbon; per exemple, el pas comprovat de totes les hexoses i els

sucres d'altres sèries, a àcid làctic, per l'acció dels àlcalis; la síntesi de les hexoses a partir de les trioses, portada a cap per Fischer; les observacions de Kermak, Lambie i Slater, relatives a com aquestes trioses passaven més ràpidament al torrent circulatori que les mateixes glucosa o levulosa; les d'Isaak i Adler, que sostenien la seva major capacitat de formar glucogen que la glucosa quan s'administraven per via peritoneal; llur acumulació en l'organisme dels animals superiors amb un subministrament insuficient d'oxigen, etc., etc. Assajant sistemàticament aquests compostos, i després d'haver obtingut amb alguns d'ells resultats poc satisfactoris, Neuberg i Karčzag (43) en trobaren un que explicava d'una manera senzillíssima, i per primera vegada, el fet fins aleshores incompreensible de l'alliberament d'anhidrid carbònic a partir directament de la glucosa : l'àcid pirúvic. Efectivament, n'hi havia prou amb una senzilla descarboxilació d'aquest àcid perquè es desprengués anhidrid carbònic, transformant-se aquell cos en aldehyd acètic, tan estretament relacionat amb l'alcohol:



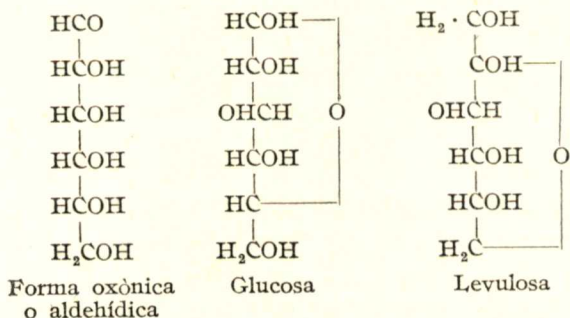
Per altra banda, només reduint-lo, se'l transformava en àcid làctic, un dels compostos que tenen major importància en el metabolisme intermediari dels hidrats de carbon:

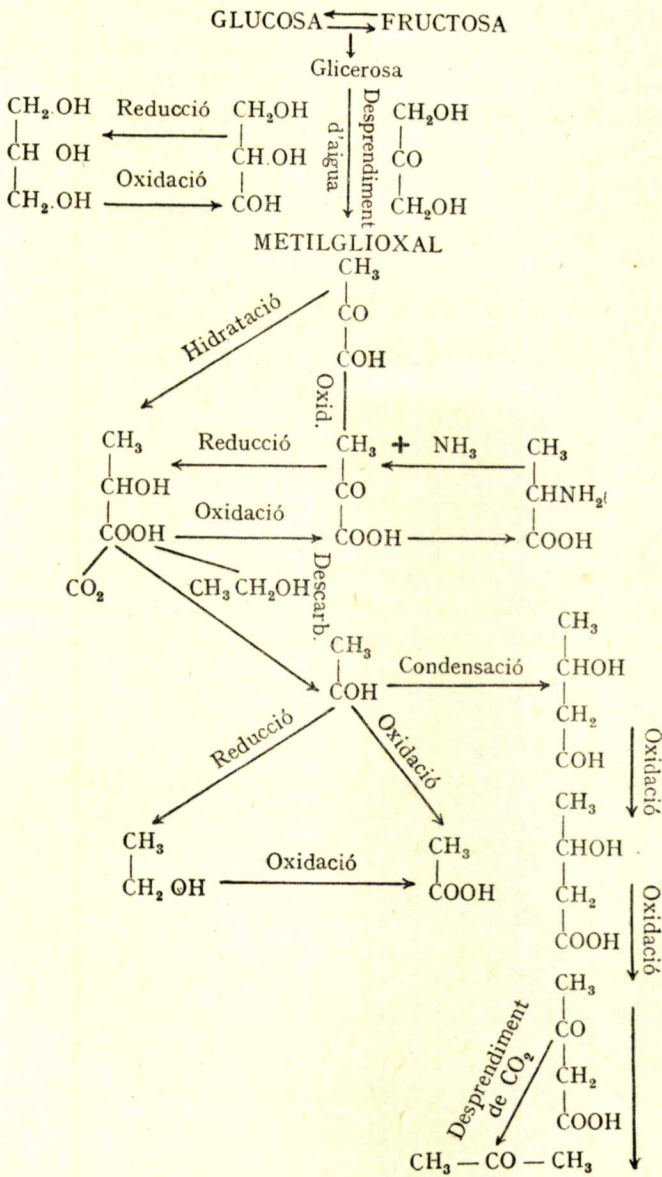


Seguint ja aquest camí, es fixà després l'atenció en l'aldèhid d'aquest àcid o metilglixal $\text{CH}_3 - \text{CO} - \text{COH}$ — obtingut per Pinkus (44), en calentar la glucosa amb sosa o potassa càustiques; per Wohl (45), atacant de la mateixa manera l'aldèhid glicèric, i per Neuberg i

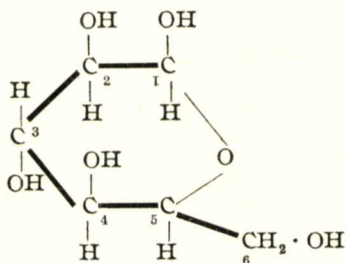
Kansky (46), en tractar aquests cossos en solució àcida —, de manera que després se li ha anat concedint cada dia més importància, fins a acabar col·locant-lo en el punt mitjà del conegut esquema de la fermentació. (L'esquema o quadre sinòptic (vegeu pàgina següent) ha estat copiat del capítol «Der Zuckerumsatz der Zelle», del *Handbuch der Biochemie*, d'Oppenheimer, 2.^a edició, vol. II, pàg. 483; 1925).

Ara bé; abans de tot, quines són les hexoses atacades? És ben sabut que en els darrers anys s'ha exposat repetidament l'opinió que no podia admetre's ja l'antiga fórmula oberta de les hexoses, per haver-se vist que no presenten moltes de les reaccions típiques dels aldehids o del grup carbonil. Tenint en compte aquest fet, i la propietat dels aldehids i de les cetones, d'unir-se amb els alcohols per a formar acetals, Tollens va exposar l'opinió que en les molècules de les hexoses també tindria lloc una acetalització del grup carbonil amb el quart grup hidroxil, comptat a partir d'ell, de manera que les veritables fórmules de la glucosa i de la levulosa serien les següents, en les quals hi ha un nucli hexagonal heterocíclic, format per cinc àtoms de carbon i un d'oxigen:

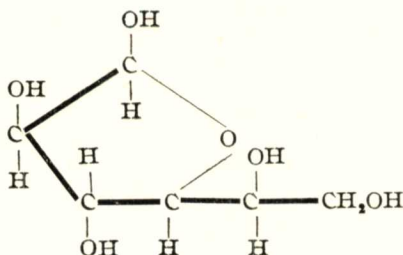




Aquestes fórmules es comprenen millor de la manera següent, en la qual es veu la situació respectiva dels àtoms d'hidrogen i dels hidròxils a un i altre costat del pla format per l'anell heterocíclic:



Com que el carbon és asimètric, hauran d'haver-hi les dues formes òptiques α i β segons la respectiva situació de H i OH, i són també coneguts llurs respectius derivats α i β , glucòsids. Finalment, en els darrers temps, s'ha sostingut que ha d'existir una altra forma, a més d'aquestes estables, extraordinàriament làbil, que seria la fisiològica — la que es trobaria en la sang, la qual s'esterificaria amb l'àcid fosfòric per a l'atac fermentatiu, etc. —, i a la qual s'atribueix una configuració amb un anell pentagonal de quatre àtoms de carbon i un d'oxigen, anomenada glucosa alaio-morfa o am-glucosa, i susceptible, per la seva banda, de configuracions α i β :



És molt possible que en totes les solucions s'estableixi un equilibri com el següent, fet que ens explicaria la capacitat de reacció múltiple de la glucosa:

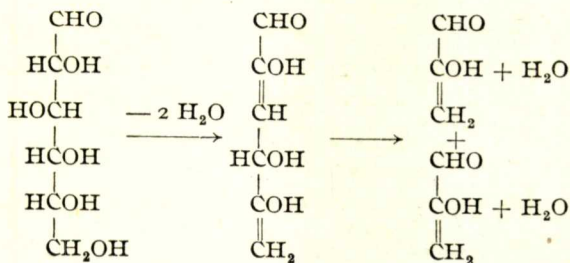
Forma cíc. estable \rightleftharpoons Forma oxònica oberta \rightleftharpoons Forma cíc. làbil



(Vegeu, sobre aquest punt, *Organisch-Chemisches Praktikum*, pels doctors L. Orthner i L. Reichel, pàg. 191 i ss. (Berlín, 1929). L'edició castellana, traduïda per l'autor d'aquest treball i editada per Editorial Labor, S. A., és d'aparició imminent.)

Sobre el mecanisme de formació de les am-hexoses a partir de les α i β , és molt interessant un treball recentíssim de Fromageot i Roux (47), els quals suposen que el temps d'inducció que presenten totes les hexoses abans de començar a fermentar, representaria potser llur pas a la forma làbil.

Es a partir d'aquesta am-glucosa, i per alliberament de dues molècules d'aigua, que Neuberg i Wohl expliquen la formació de l'aldol, del metilglixal i després la seva descomposició en dues molècules d'aquest darrer:



Referint-nos al punt concret de l'aïllament del metilglixal format intermediàriament, com que es dismutava immediatament per l'acció de la ceto-aldehido-mutasa, que després estudiarem, estava ple de dificultats, de

manera que era impossible demostrar d'una manera evident la seva formació, prevista teòricament des de tant de temps. Per fi, després d'assaigs prolongats, Neuberg i Kobel (48) aconseguiren aïllar-lo, l'any 1928, amb un rendiment de fins el 100 per 100, gràcies a un enginyós procediment. Se sap de molt de temps, sobretot des dels estudis d'Euler i la seva escola, que el complex zimàsic del llevat consta de dues parts: l'apozimasa o porció no dialitzable i sensible al calor, que la destrueix, i la cozimasa, dialitzable i resistent a l'acció del calor. Per altra banda, a partir dels estudis sobre els èsters fosfòrics de les hexoses, del qual ens ocuparem després breument, s'ha posat també en clar que, per al primer atac de l'hexosa, es requereix una fosforilització prèvia, obtinguda gràcies al coferment. Un cop constituït l'èster, l'atac de la molècula de sis àtoms de carbon i la seva destrucció fins a la de tres ja és possible, àdhuc sense disposar de cozimasa o coferment, car n'hi ha prou amb l'apozimasa. És tan sols després, un cop obtingut el metilglioxal, que es torna a necessitar una cozimasa per a la seva aldehydomutació i la descomposició ulterior. Per tant, si l'atac parteix de l'èster hexosafosfòric sintetitzat artificialment — o millor dit, de la seva sal magnèsica —, n'hi haurà prou amb una solució de apozimasa per a aconseguir la formació de metilglioxal, el qual, degut a la manca de cozimasa, no podrà ésser dismutat, i així s'aconseguirà aïllar-lo en totalitat, amb un rendiment de fins a un 100 per 100. Ara bé; Neuberg i Kobel demostraren, i nosaltres amb els nostres experiments vàrem confirmar, que per això no es necessita destruir el coferment, per exemple, dialitzant-lo, sinó que és suficient alterar la relació entre les quantitats d'apozimasa i de cozimasa existents en un complex zimàsic, per dilució en aigua. Si això es deu a una alteració de la

porció col·loïdal de la zimasa, a una variació dels substratum sobre el qual s'adsorbeix, a una disminució de la difusió, etc., és una qüestió que continua oberta i sobre la qual es trobaran més detalls en el nostre treball ja esmentat (49).

En començar les nostres experiències en el *Kaiser Wilhelm Institut für Biochemie*, de Berlín-Dahlem, dirigit pel professor Neuberg, ja s'havia aconseguit aïllar quantitativament el metilglixal gràcies a aquest procediment, aleshores recentíssim, en la fermentació del sucre per diferents ferments figurats : llevat de cervesa (Neuberg i Kobel, bacils làctics (Neuberg i Kobel) (50), bacterium lactis aerogenes (Neuberg i Scheurer) (51), algunes cèl·lules animals (Vogt) (52), etc., etc. Tenint en compte que en aquell temps Kostichew i Chomitsch (53) discutien l'existència de la fermentació acèl·lular, i opinaven que el que aleshores s'havia considerat com a tal per Buchner i els seus deixebles no era més que una fermentació deguda a impurificacions amb ferments figurats dels sucus de llevat obtinguts per premsat, trobant-se aquests ferments en quantitat molt petita i exercint una acció excitant de la fermentació, mentre que si s'hi trobessin en massa quantitat l'evitarien, essent deguts a aital cosa els resultats negatius dels experimentadors anteriors, creguérem interessant observar si, de la mateixa manera que en la fermentació dels èsters hexosafosfòrics pels ferments figurats, podia aïllar-se el metilglixal, en tractar aquests èsters amb el suc resultant de macerar el llevat i, per tant, lliure de cèl·lules. Efectivament, tal com suposàvem, i aplicant el mètode proposat per Neuberg, del qual ens ocuparem breument en la part pràctica, vàrem obtenir en aquestes condicions rendiments del 100 per 100 de metilglixal, demostrant, a més, l'anàlisi elemental, que la hidrazona precipitada

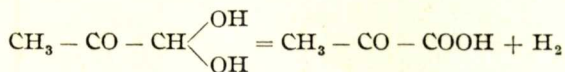
amb 2-4-dinitrofenilhidracina era veritablement la del metilglioxal o, millor dit, del seu hidrat.

Per a acabar-nos de cerciorar de la falta de base de les afirmacions de Kostichew, vàrem començar, al mateix temps, una sèrie d'investigacions en les quals el suc de llevat obtingut, segons Ledebew, i centrifugat després, es dialitzava durant vint-i-quatre hores, en front d'aigua, contenint ambdós líquids, l'exterior i l'interior toluol com antisèptic. Si, com sostenien aquells autors, la fermentació era purament i exclusivament deguda a ferments figurats que impurificaven el suc, era evident que, en dialitzar-se aquests ferments, havien de passar al líquid exterior com el coferment, o mantenir-se en l'interior, com el complexe zimàsic o apozimasa. Ara bé; les experiències de fermentació en eudiòmetres, portades a cap amb el líquid interior i l'exterior aïllats, ens donaren sempre un resultat negatiu, mentre n'hi havia prou de reunir novament tots dos líquids — si bé un xic concentrats al buit, ja que la cozimasa en solució era inactiva, degut a la gran dilució — perquè reaparegués la fermentació en tota la seva intensitat, mai no menor a la del suc de llevat no dialitzat. Aquestes darreres experiències, que malauradament vàrem haver d'interrompre amb motiu d'una malaltia que ens obligà tornar a Barcelona, són continuades actualment pel professor Neuberg, segons ens comunica en una carta recent.

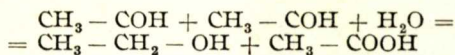
Abans de començar a estudiar les transformacions ulteriors d'aquest metilglioxal, creiem d'interès recordar com, simultàniament amb les nostres experiències, Widmann (54) aconseguí aïllar-lo en els glòbuls rojos; M. Kobel i H. Laser (55), en la glucolisi dels teixits embrionaris i dels tumors malignes, etc., etc., i molt recentment, Vogt-Moller (56) arribà a atribuir-li l'origen de l'avitaminosi B, que no seria més que una intoxicació

pel metilglioal, a conseqüència d'una falta de mutases susceptibles de transformar-lo en àcid làctic. Finalment, A. Pi Suñer i M. Farran (57) semblen haver aconseguit aïllar-lo de l'orina de diferents individus sans i malalts, sense que fins ara els sigui possible de deduir-ne cap conseqüència. Ultra això, la literatura d'aquests darrers anys és particularment extensa, sobretot per part de les escoles de Neuberg, de Barrenscheen, d'Ariyama, de Friedemann, etc., i s'ha facilitat tant el seu estudi gràcies a nombrosos mètodes colorimètrics, que renunciem a resumir-la. N'hi ha prou amb dir que la situació central de l'aldehid pirúvic en el metabolisme dels hidrats de carbon, sostinguda teòricament per Neuberg des de fa molts anys, s'ha vist confirmada en la pràctica.

Examinem ara el següent estadi fermentatiu : la formació de l'àcid pirúvic per oxidació del metilglioal o per deshidrogenació del seu hidrat:



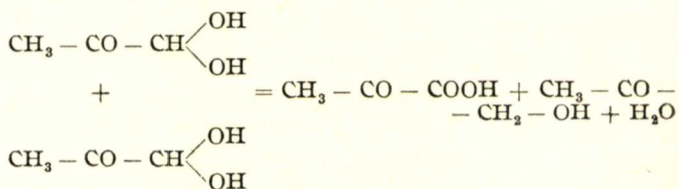
L'àcid pirúvic format és impossible d'aïllar en la fermentació normal perquè es descarboxila de seguida, desprenent-se CO_2 i donant lloc a la formació d'una molècula d'acetaldehid, el qual, per la seva banda, mitjançant una reacció de Cannizzaro entre dues molècules, es redueix a alcohol etílic i s'oxida a àcid acètic:



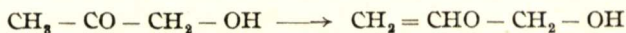
Ara bé; Fernbach i Schoen (58) foren els primers en veure que l'àcid pirúvic s'acumulava quan es neutralitzava acuradament la reacció del medi de cultiu, francament àcida, mitjançant guix. Aquest fet s'ha compro-

vat després per nombrosíssims investigadors (Grab, Kayser, Traetta-Mosca, etc.) i fou explicat finalment per Haegglund i els seus col·laboradors (59) en demostrar que la carboxilasa era molt més sensible a les alteracions en el nombre d'hidrogenions del medi que el restant del complex zimàsic. Neuberg i Kobel ho comprovaren posteriorment (*loc. cit*), i veieren com la seva acumulació s'aconseguia també per la presència de trifosfat o d'òxid de magnesi.

Paral·lelament a aquesta acumulació artificial d'àcid pirúvic, s'observà aleshores una formació de glicerina. Tenint en compte que la formació d'àcid pirúvic a partir del metilglioxal s'explica solament per l'alliberament simultani d'hidrogen, que en la fermentació normal es fixa sobre l'aldehid acètic originat per descarboxilació, per tal de reduir-lo a alcohol, és natural i comprensible que en no descomposar-se l'àcid pirúvic, l'hidrogen posat en llibertat ataquí al metilglioxal, transformant-lo en glicerina. Woker i Blum-Sapas (60) intenten explicar aquest fet suposant que, per reacció de Cannizzaro entre dues molècules d'hidrat de metilglioxal, una d'elles s'oxida a àcid pirúvic, mentre l'altra es redueix a l'alcohol o a l'acetol corresponent:



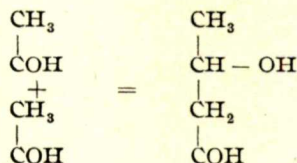
enolitzant-se després aquest acetol,



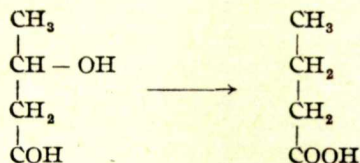
i transformant-se, finalment, en glicerina per fixació d'una molècula d'aigua.

L'aparició de l'aldehid acètic com a compost intermediari en la fermentació alcohòlica, fou també demostrada per Neuberg i Reinfurth (61) gràcies a la utilització dels sulfits neutres, amb els quals ja se sap que reaccionen els aldehids, formant complexos orgànics estables. De la mateixa manera que en l'acumulació de l'àcid pirúvic, també es produeix en aquest cas glicerina, com a reacció secundària, i Alemanya s'aprofità d'això durant la gran guerra, per a la preparació industrial de la glicerina. Efectivament, en fixar-se l'aldehid amb el bisulfit, s'impedeix el pas a alcohol per l'acció de l'hidrogen alliberat, el qual, aleshores, actua sobre el metilgloxal, originant glicerina.

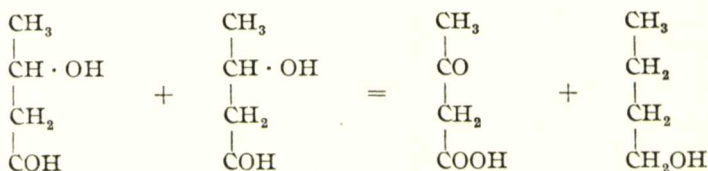
Pel que a la fermentació butírica lateral fa referència, solament podrà tenir lloc quan, després d'haver-se inactivat l'hidrogen per formació d'una molècula, totes les transformacions ulteriors tan sols tinguin lloc sobre l'aldehid acètic. Aleshores les dues molècules d'aquest es polimeritzen per l'acció de la carboligasa, i donen lloc al seu aldol:



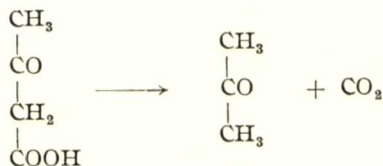
el qual en medi neutre, per la seva banda, sofreix un procés d'òxido-reducció intra molecular, i origina àcid butíric:



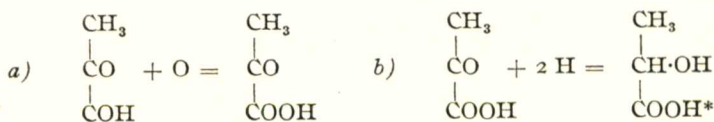
mentre que si el medi és àcid, l'òxido-reducció té lloc entre dues molècules d'aldol, una de les quals s'oxida a àcid acetil-acètic i l'altra es redueix a alcohol butílic:



Finalment, l'àcid acetil-acètic format es descarboxila, es desprèn CO_2 i es forma acetona:



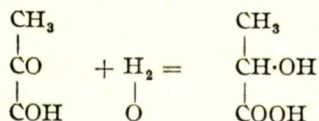
Veiem també una transformació lateral, molt interessant, de la fermentació: l'estabilització del metilglioxal a àcid làctic per hidratació directa o per oxidació i reducció successives a través de l'àcid pirúvic:



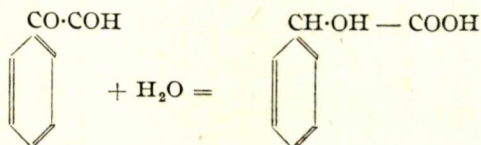
Aquesta reacció de Cannizzaro o dismutació entre dues molècules distintes d'aldehid, una de les quals s'oxida a àcid i l'altra es redueix a alcohol, pot tenir lloc, de la mateixa manera, en l'interior de la molècula d'un aldehid cetònic — metilglioxal, fenilglioxal, etc. —, de

* Vegeu Schoen, *Compt. Rend. X Congrès de Chimie Industrielle, Chimie et Industrie*, 1931.

forma que el seu grup aldehyd s'oxida a àcid, i el cetònic es redueixi a alcohol:



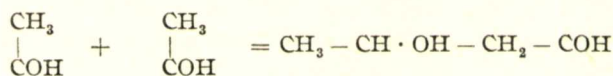
La possibilitat d'aquesta dismutació interna fou descoberta simultàniament per Dakin i Dudley (62), els quals denominaren glioxalasa al ferment, i Neuberg (63), que l'anomenà ceto-aldehido-mutasa; ambdós observaren que presentava moltes analogies cinètiques amb la dismutació senzilla de dues molècules d'aldehyd. No obstant, té sobre d'ella un gran avantatge, i és que per disposar d'un àtom de carbon asimètric, la dismutació va dirigida estereoquímicament, resultant un procés asimètric lateral i presentant el cos resultant activitat òptica. Això s'observa especialment amb el fenilglioxal, a partir del qual s'ha obtingut sempre àcid amigdàlic òpticament actiu:



La capacitat de transformació directa per dismutació interna fou demostrada per nombrosos autors [Neuberg i Gorr (64), Kuhn i Heckscher (65), Binder-Kotrba (66), Klar (67), etc.], observant-se la presència de la zimasa en nombroses cèl·lules animals i vegetals.

Poc abans de la nostra arribada a l'Institut de Bioquímica, Bodnar i Bernauer (68) sostenien que la dismutació de l'aldehyd acètic en les plantes no es devia sempre necessàriament a un procés zimàsic, sinó que

podia molt bé ésser ocasionada per una condensació aldòlica de causes purament químiques i sense cap relació amb els biocatalitzadors. Efectivament, aquests autors havien observat que, afegint aldehid acètic al puré de pèsols, desapareixia totalment al cap de poc temps, sense que, malgrat això, es pogués observar la presència de l'alcohol etílic i de l'àcid acètic a què havia de donar lloc per la reacció de Cannizzaro, sinó tan sols una formació de l'aldol acètic:



i que aquest fet tenia lloc de la mateixa manera si es sotmetia el puré de pèsols a l'acció del calor. Per a comprovar si era un fenomen general, vàrem creure interessant de portar a cap una sèrie experimental, emprant com a material zimàsic les fulles verdes de til·ler (*Tilia grandifolia*). En aquestes experiències (69), vàrem comparar l'acció del complex zimàsic fresc, i després d'escalfar-lo fins a ebullició, i veiérem que un cop bullit era incapaç d'originar la dismutació del metil- o del fenilglioxal. Sense bullir-lo prèviament, vàrem aconseguir, en canvi, un rendiment en àcid amigdàlic levògir del 83 per 100 del teòricament calculat, mentre que amb el metilglioxal obteníem un àcid làctic que, d'acord amb el que sostenien Neuberg i els seus col·laboradors, demostrà la falta de poder rotatori, tant en el polarímetre com per la determinació de la seva aigua de cristal·lització.

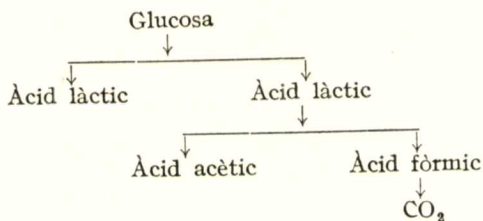
És molt interessant de recordar en aquest lloc el recentíssim treball de Girsavicius (70), el qual, estudiant l'acció de la glioxalasa pel mètode manomètric de Warburg, ha vist com el metil- i el fenilglioxal reaccionen amb les proteïnes i els seus derivats, desprenent-se gasos,

i sosté, en conseqüència, que solament les experiències de dismutació en les quals s'ha determinat l'àcid làctic o l'amigdàlic formats, tenen algun valor, i no en tenen en absolut les més recents, basades en la desaparició del glioxal, que podria molt bé haver-se combinat amb les proteïnes.

Acabada aquesta ràpida revisió, ens ocuparem sumàriament dels principals fenòmens que tenen lloc en els animals, per tal de comprovar les analogies entre fets que semblaven allunyats. A principi de segle es creia que la fermentació alcohòlica o producció d'alcohol no tenia lloc en l'organisme animal en el qual es trobaria substituïda per un altre fenomen anaerobi tan interessant com aquella : la glucolisi. No obstant, Stoklasa i els seus deixebles creieren haver aconseguit aïllar dels teixits animals més diferents — múscul, fetge, pàncreas, etc. — zimases susceptibles de portar a cap la fermentació. Aquesta hipòtesi, rebuda aleshores amb gran hostilitat, ha estat després confirmada per nombrosos fets; de manera que avui ja quasi es considera l'alcohol, per gairebé tots els investigadors, com una de les substàncies produïdes en el metabolisme intermediari dels hidrats de carbon, essent després oxidat en els seus darrers productes de descomposició : aigua i anhídrid carbònic.

Efectivament, Aoki (71) ha vist com la sang i els teixits de l'home i dels animals produeixen alcohol, de manera que durant l'asfíxia, al mateix temps que hiper glucèmia, s'observa l'acumulació d'alcohol en la sang. També Heilner (7) creu haver trobat petites quantitats d'alcohol en l'orina dels psicòpates amb una alimentació d'on aquesta substància estava absolutament exclosa. Tots aquests nombrosos fets parlen d'un procés primitivament anàleg en els organismes animals i en els ve-

getals, de manera que l'alcohol produït anaeròbicament s'oxida o es resintetitza, posteriorment, a termes superiors. Però, indubtablement, el fenomen més interessant del metabolisme animal dels hidrats de carbon és la glucolisi; fenomen considerat també des de molt de temps com anaeròbic i lligat a l'absència o a la insuficiència d'oxigen. Recordem que ja l'any 1847 deia Liebig : «El sucre i el midó es transformen, en la sang, en sals làctiques, que es descomposen novament d'una manera tan ràpida com es formaren, i s'acumulen tan sols allà on la quantitat d'oxigen és insuficient». (Citat per Furth, *loc. cit.*, pàg. 291.) Claudi Bernard sosté, trenta anys després, la intervenció dels ferments sanguinis en la glucolisi, i més tard, Lepine i Arthus, la seva relació amb els leucocits. És Slose qui l'any 1911, en una nombrosa sèrie de treballs, creu haver aclarit completament el problema de la glucolisi, sostenint la seva completa independència de la fermentació alcohòlica : una molècula de glucosa es descomposaria en dues d'àcid làctic, les quals, per altra banda, segurament ho farien després en àcid acètic i fòrmic, i aquest, finalment, en anhidrid carbònic:



Observeu que aquest esquema és molt semblant al de la descomposició de la glucosa en presència d'àlcals, fet molt interessant, sobretot si es té en compte que Kawashima (73) va observar, ja fa temps, l'augment

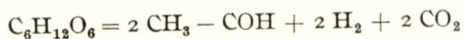
de glucolisi en presència de fosfats, i que Löb (74), veié que la glucolisi era molt feble en solucions de poca concentració d'hidroxilions, i que augmentava en augmentar aquesta.

El poder glucolític s'ha observat després en diferents teixits, fins que Warburg i els seus col·laboradors (75) aconseguiren demostrar que està intensament augmentat en les cèl·lules carcinomatoses. Com que ulteriorment s'ha observat un fet semblant en el teixit embrionari, es creu que aquesta propietat, més que exclusiva dels carcinomes, és característica de tots els teixits joves. Fou precisament gràcies a aquest major poder glucolític dels carcinomes que es pogué veure, per primera vegada, com la glucolisi no era, com fins aleshores s'havia cregut, un procés purament anaerobi, sinó que també podia tenir lloc en presència d'oxigen.

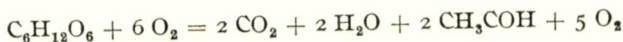
I això ens porta, naturalment, a dedicar uns moments la nostra atenció a la respiració i a les seves relacions amb la fermentació. Fou Pasteur (76) el primer a sostenir l'íntima relació existent entre la fermentació — fenomen anaerobi — i la respiració — fenomen d'oxidació —, arribant a establir la hipòtesi que sempre una acompanyaria a l'altra, de manera que estarien sobreposades, exterioritzant-se l'una en detriment de l'altra, segons les condicions del medi. Aquesta idea ha estat després brillantment demostrada per Warburg i Meyerhof en els seus nombrosos treballs, i es valeren d'enginyosos procediments per a aïllar ambdós fenòmens. Un d'ells és l'atac amb àcid cianhídric, que, sense influir en el més mínim la fermentació, impedeix en absolut la respiració cel·lular. La seva acció és explicada per Warburg (77) per una desionització del ferro, en presència del cianhídric inactivant-se el ferment respiratori, i així la cèl·lula, àdhuc davant d'oxigen, es comporta

com en anaerobiosi absoluta. En els darrers temps, per altra banda, Lundsgaard (78) ha observat l'acció inversa de l'àcid monoiodoacètic, el qual impediria la fermentació sense atacar la respiració, i són nombrosos els autors que sostenen el mateix per l'àcid fluorhídric. No obstant, tant uns com altres, semblen exagerar en excés llurs conclusions, de les quals voldrien deduir l'absoluta independència d'ambdós fenòmens, sobretot si es té en compte que l'acció d'aquestes substàncies depèn, en gran part, de llur concentració, com ha estat observat per Nilsson, Zeile i v. Euler (79).

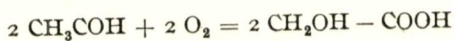
El més segur és que la destrucció per oxidació de la molècula de glucosa segueixi, en principi, el mateix camí que la fermentació, almenys fins a arribar a la descomposició de l'àcid pirúvic en aldehid acètic i CO_2 . El que tingui lloc des d'aquest moment pot explicar-se per diferents hipòtesis, i per creure-la molt interessant, volem reproduir la proposada recentment per Schön (*loc. cit.*) Aquest autor suposa que si es té en compte l'hidrogen que es desprèn en transformar-se l'hidrat de metilglioxal en àcid pirúvic, el balanç provisional de la respiració seria el següent:



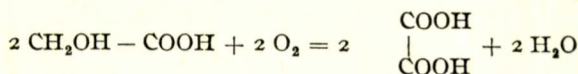
Com a primera transformació, creu que s'oxidaran els hidrògens amb una molècula d'oxigen, i encara ens en restaran cinc de les sis molècules que intervenen en l'oxidació total d'una molècula de glucosa:



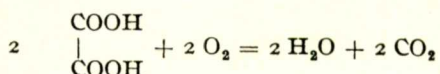
Aleshores s'oxidaria l'aldehid acètic a àcid glicòlic per acció de dues molècules d'oxigen més:



Aquest àcid glicòlic passaria, per la seva banda, a oxàlic amb dues molècules més d'oxigen, mentre se'n desprendrien dues d'aigua:



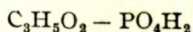
Finalment, la molècula restant d'oxigen atacaria una de les dues d'àcid, i s'originaria la combustió final:



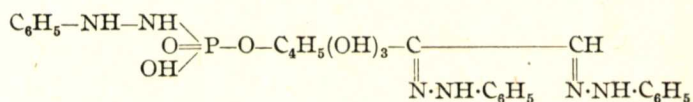
Aquesta hipòtesi està confirmada, en part, per la producció d'àcid oxàlic per diferents microorganismes — acumulació davant de la manca d'oxigen i de la consegüent incapacitat d'oxidació ulterior — observada per Molliard (80), i potser també per l'oxalèmia i l'oxalúria descrites repetidament en nombroses infeccions.

Com ja hem anunciat de bon començ, ens ocuparem ara, per uns instants, d'un tema interessantíssim en connexió amb tot el ja estudiat: les íntimes relacions existents entre el metabolisme intermediari dels hidrats de carbon i els de l'àcid fosfòric i de l'amoníac.

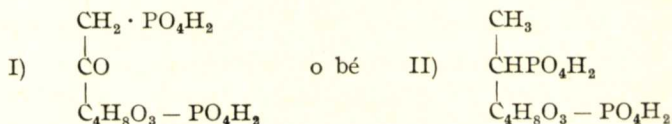
Fou Ivanoff, l'any 1905 (81), el primer a observar que, en fermentar una barreja de sucre amb fosfats alcalins, s'originava un compost orgànic de fòsfor, no precipitable per la mescla magnesiàna, i aquest fet fou comprovat, el mateix any, per Harden i Young (82). Fins passats dos anys no pogué Ivanoff aïllar el compost resultant en forma d'una sal cúprica, donant-li la fórmula



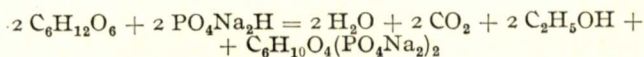
i suposant-lo un àcid triosafosfòric. Lebedew (83) va sostenir posteriorment que, en realitat, es tractava d'un àcid hexosafosfòric, del qual pogué sintetitzar l'osazona, de fórmula



corresponent, per tant, solament una molècula d'àcid fosfòric a cada una d'hexosa. Finalment, Young pogué aclarir aquesta contradicció aparent (84) en veure que, en reaccionar el compost amb la fenilhidracina, es despenia una molècula d'àcid fosfòric; de manera que la veritable fórmula de l'èster era:

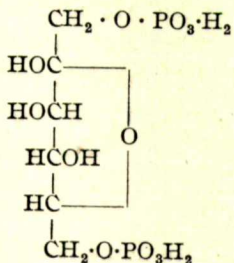


En el que a la cinètica de la fermentació es refereix, recordem que fou Wroblowski (25) el que observà com s'accelerava el procés fermentatiu per l'addició de fosfats alcalins. Temps després, Harden i Young (86) arribaren a la conclusió que cada addició d'una quantitat determinada de fosfat alcalí originava la formació de tant anhídrid carbònic i alcohol etílic com corresponia a la meitat del sucre desaparegut, transformant-se l'altra meitat en l'èster hexosafosfòric, segons l'equació:

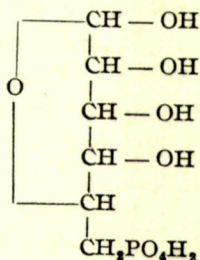


Ivanoff va atribuir l'esterificació del sucre — independent de la fermentació pròpiament dita — a una diastasa sintetitzant : la sintéasa. Aquesta hipòtesi fou combatuda per Harden i Young, fins que Euler i els seus col·laboradors la confirmaren, anomenant fosfatesa a la diastasa sintetitzant, en contraposició a la fosfatasa hidrolítica.

Segons treballs recents de Morgan i Robison (87) i de Levène i Raimond (88), la fórmula que correspondria a l'èster hexosadifosfòric de Harden i Young seria la següent:

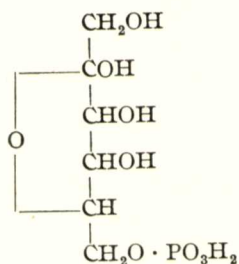


o sigui una γ -fructosa-1-6-àcid difosfòric. Per a l'èster hexosamonofosfòric de Robison, aïllat l'any 1914, la fórmula seria:



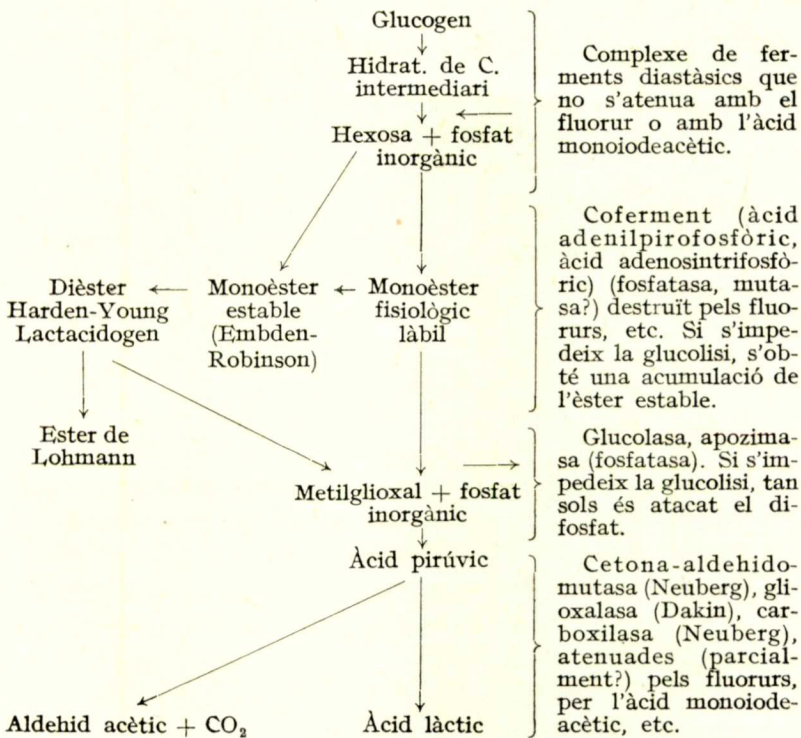
Per la seva banda, Neuberg, l'any 1918, va obtenir un altre èster hexosamonofosfòric (èster de Neuberg) en

la fermentació i per hidrolisi àcida de l'èster difosfòric, de fórmula:



L'any 1925, Embden, juntament amb Zimmermann, aïllà un altre èster hexosamonofosfòric (èster d'Embden), del múscul, èster químicament molt semblant al de Robison, segons demostren les experiències de Lohmann, però no idèntic. Finalment, en aquests darrers anys, Lohmann i Kleimann han pogut aïllar del múscul dos nous èsters hexosadifosfòrics, anomenats, respectivament, èsters I i II de Lohmann, i diferents del de Harden i Young. El primer s'obté deixant actuar un fluorur alcalí sobre el trinxat muscular, i el segon abandonant extracte muscular, poc actiu o molt diluït amb l'èster de Harden-Young. Si bé les fórmules respectives no són encara ben conegudes, les diferències que presenten llurs constants físiques i químiques ja ens ensenyen que llur estructura és un xic diferent, encara que no molt. Ambdós es diferencien del de Young per llur major estabilitat davant dels àcids, llur poder reductor molt més petit i la major solubilitat de llurs sals de Ba i de Pb. Com pot veure's, són molts els èsters avui dia ja ben coneguts i un xic distinta llur composició, segons que es presentin en el metabolisme muscular o en la fermentació pel llevat. S'ha de tenir en compte, a més, que en la sang són tan sols atacats per les fosfatases els èsters monofosfòrics làbils, mentre els difosfòrics romanen inalterats (89).

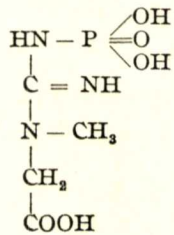
A continuació, reproduïm una taula d'un treball recent de Barrenscheen (90), en la que creiem que s'exposa clarament el paper de cada un d'aquests èsters, i que haurà d'orientar-nos molt en la determinació de llurs funcions fisiològiques específiques. També s'hi estableixen quines són les parts que componen el complexe zimàsic l'acció de les quals s'atenua o queda completament suprimida per l'addició de fluorur o d'àcid monoideacètic.



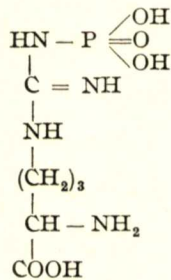
Però no són solament aquests èsters, malgrat ésser molt interessants, els únics compostos de fòsfor relacio-

nats amb el metabolisme dels hidrats de carbon. Efectivament, P i G. Eggleton (91), l'any 1929, i poc després Fiske i Subbarow (92), descobriren l'existència en el muscle dels vertebrats d'un compost de creatina i àcid fosfòric al qual denominaren fosfagen; després, Meyerhof i Lohmann trobaren el seu equivalent en el muscle dels invertebrats, de constitució anàloga, però en lloc de creatina contenia arginina. La sola excepció d'aquesta llei general és l'*Amphioxus*, el qual, malgrat no ésser vertebrat, disposa del compost de creatina. La fórmula respectiva d'ambdós fosfàgens seria la següent:

Àcid creatinofosfòric



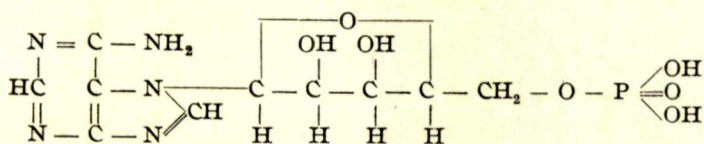
Àcid argininofosfòric



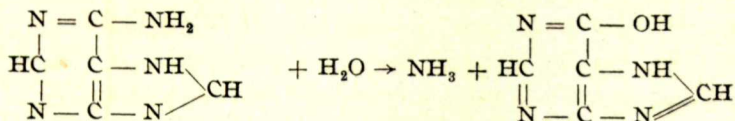
Com que en tots dos el radical fosfòric es troba unit al grup guanidínic, s'acordà anomenar-los amb la denominació comú d'àcid guanidinfosfòric. Amb el seu descobriment s'explicava per primera vegada la presència — observada des de tant de temps — de la creatina en el muscle dels vertebrats. Les experiències actuals semblen confirmar la hipòtesi, ja emesa pels seus descobridors, de la descomposició del fosfagen durant el treball muscular, amb alliberament d'àcid fosfòric — que serviria per a esterificar les hexoses — i que es resintetitzaria durant el repòs. D'aquesta manera, l'àcid fosfòric preformat, considerat avui dia com inorgànic, s'originaria

en la seva major part o potser totalment, de la descomposició del fosfagen, i el seu alliberament seria del tot independent de la formació simultània d'àcid làctic. (Per a més detalls sobre aquesta tan interessant qüestió, vegeu *Die Chemischen Vorgänge im Muskel*, d'O. Meyerhof, Berlín, 1930.)

Encara hi ha en el múscle un altre compost d'àcid fosfòric al qual es dóna cada dia més importància : l'àcid adenílic o adenosin-ribose-fosfòric, descobert per Embden i Zimmermann l'any 1927 (93), i constituït, com diu el seu nom, per una molècula d'adenina, una de *d*-ribose i una altra d'àcid ortofosfòric:



Per desprendiment d'amoníac, la molècula d'adenina es transforma en hipoxantina — o l'àcid adenílic total es converteix en àcid inosínic, fet observat ja per Liebig en el múscul dels animals — de la següent manera:



Parnas ha comprovat que l'amoníac després pel múscul en activitat correspon exactament a la desaparició del nucleòtid adenínic i la formació de l'hipoxantínic.

Seguint cada dia més atentament les observacions sobre aquest compost, Euler i Myrbach (94), per una banda, i Lohmann (95, per l'altra, han arribat a creure, en els darrers temps, que podria identificar-se amb el

coferment de la glucolisi i amb el de la fermentació alcohòlica. El primer segurament seria la sal magnèsica de l'àcid adenosin-trifosfòric, mentre que en el segon seria l'àcid adenosin-fosfòric simple. Aquestes suposicions han estat recentment confirmades pel mateix Euler, en veure que per, separació del radical fosfòric s'inactiva completament el coferment, i després per Barrenscheen (96), i demostren que per hidrolisi de l'àcid fosfòric dels eritrocits també s'aconsegueix la inactivació del coferment. En els seus darrers treballs, Lohmann (97) sosté que el sistema de coferment necessari per a la formació de l'àcid làctic en el múscul està constituït per tres components:

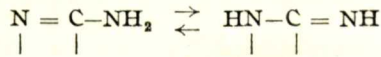
Fosfat inorgànic + adenilpirofosfat + magnesi

Solament es diferencia del de la fermentació pel llevat, en la seva part orgànica. En efecte, la idea anterior de la possible substitució d'un coferment per l'altre s'ha vist fa poc que tan sols era certa en part. Així, mentre el coferment del llevat substitueix al del múscul escalfat, no pot ja fer-ho amb el dialitzat durant tres hores o més, i, al contrari, aquell és més actiu que aquest en determinades condicions. El que els dos coferments tindrien de comú seria segurament l'anar lligada llur acció a la presència de magnesi en llur complexe zimàsic.

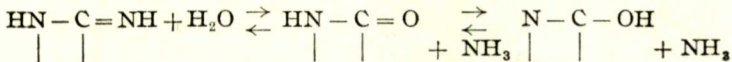
Finalment, alguns intenten avui concedir tanta importància per al metabolisme intermediari dels hidrats de carbon, al radical amònic que es troba en la molècula de l'àcid adenílic, com al mateix àcid fosfòric. Així, veiem que, a part de les experiències ja esmentades de Parnas i Embden, Barrenscheen (*loc. cit*), observa un augment en l'alliberament d'amoniac quan es posen obstacles a la hidrolisi, així com un paral·lelisme entre aquest desprendiment d'amoniac i el de la fracció de pirofosfat de Lohmann, i arriben a suposar la interessant hipòtesi

següent, per explicar el mecanisme de transformació de la molècula de sis àtoms de carbon de la glucosa en la de tres del metilglioxal.

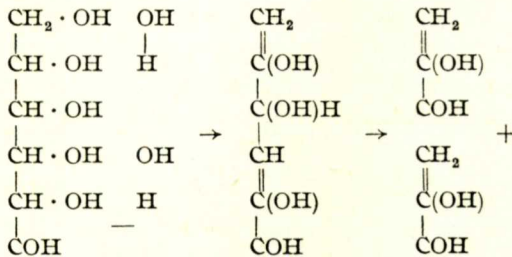
Barrenscheen suposa que en l'àcid adenílic del co-ferment, el radical hidrocarbonat està unit al nucli purínic, d'una manera similar a la que Levene suposa per als nucleòtids, i queda, per tant, lliure el grup NH_2 de l'adenina. Indubtablement, aquest grup NH_2 es pot transformar en el seu tautòmer de forma i mida:



Per tant, és possible que en la descomposició de l'hexosa, aquesta forma imídica absorbeixi una molècula d'aigua de la molècula d'aquella, segons l'esquema:

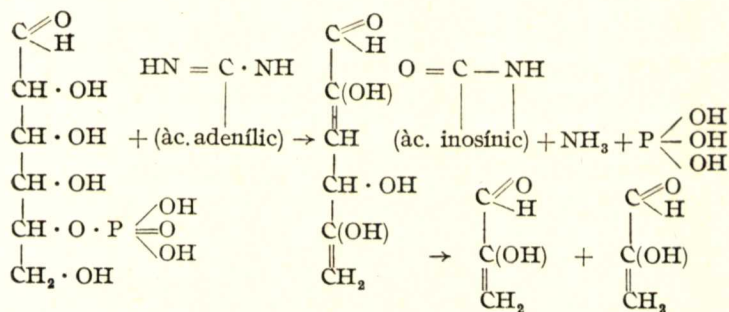


Recordem, per altra banda, que Neuberg sosté que el primer pas de la descomposició de les hexoses és la formació de l'aldol del metilglioxal, per pèrdua de dues molècules d'aigua:



Basant-se en això, Barrenscheen creu en la possibilitat que d'aquestes dues molècules d'aigua, una fos

absorbida pel radical fosfòric, alliberant-se àcid fosfòric, i la restant per la forma imídica, formant-se amoníac:



A favor d'aquesta hipòtesi, tan interessant, hem de recordar les clàssiques experiències de Batelli i Stern (98), els quals veieren que, per addició de parafanilenodiamina, es podia renovar la capacitat de respiració del múscul, i la de metabolitzar els hidrats de carbon, perduda en eliminar el coferment, per rentats successius; la qual cosa ens demostraria la possibilitat de substituir l'àcid adenílic del coferment per un compost capaç d'adoptar una forma imídica tautòmera; les de Spoehr i Strain (99), observant la capacitat de tota una sèrie d'ànimes aromàtiques, amb possible forma imídica, de transformar l'aigua; i, finalment, les de Zuckerkandl i Klebermass-Kessiner (99 bis), aconseguint anul·lar l'acció nociva de l'àcid monoideacètic sobre el coferment, per l'addició de parafenilenodiamina, tirosina i aminotriazol.

Institut de Fisiologia.
Facultat de Medicina. Barcelona.

La part experimental d'aquesta memòria ha estat ja publicada en els Treballs de 1930-31.

BIBLIOGRAFIA

1. J. A. Collazo, C. Pi-Suñer Bayo i G. Liss, Revista Médica de Barcelona, 14, 84, 468. Biochem Zeitschr., 227, 326; 1930.
2. C. Pi-Suñer Bayo i G. Liss, Anal. Soc. Esp. Fis. Quim., 29, 200; 1931. Z. f. Physiol. Chemie, 193, 103; 1930.
3. C. Pi-Suñer Bayo, G. Liss i T. Osuka, Anal. Soc. Esp. Fis. Quim., 29, 193; 1931. Z. f. d. ges. experim. Med., 74, 750; 1930.
4. J. A. Collazo i C. Pi-Suñer Bayo, Revista Médica de Barcelona, 8, 105; 1931. Biochem. Zeitschr., 238, 335; 1931.
5. J. A. Collazo i C. Pi-Suñer Bayo, Revista Médica de Barcelona, 92, 99; 1931.
6. O. Fürth, Lehrbuch der Physiologischen u. Pathologischen Chemie, Leipzig, 1927; t. II, pàg. 184.
7. Cl. Bernard, Compt. Rend. hebdom. d. seances de l'Acad. des Sciences, 27, 14; 1846.
8. Cl. Bernard, Leçons sur la physiologie et la pathologie du système nerveux. t. I, pàg. 467.
9. F. Fischler, Physiologie u. Pathologie der Leber, Berlin, 1925, segona ed., pàg. 43.
10. Wittich, Pflügers Archiv., 7, 28; 1873.
11. Pavy, The Physiology of the Carbohydrates. An Epicriticism, Londres, 1895, pàg. 76.
12. Salkowsky, Archiv. f. Physiol., 554; 1890.
13. Pflüger, Das Glykogen, Bonn, 1905, segona edició i nombrosos treballs en el Pflügers Archiv.
14. K. Grube, Pflügers Archiv., 107, 483; 1905.
15. J. de Meyer, Arch. Intern. de Physiol., 8, 204; 1909.
16. C. Voit (Citat per Fürth, l. c., pàg. 202).
17. F. Rogozinski, Compt. rend., 153, 211; 1911.
18. H. Pringsheim, Berichte, 59, 3013; 1925.
19. Weiske i Flechsig, J. Landw., 199; 1889.
20. Araqui, Z. f. Physiol. Chem., 442; 1894.
21. Mandel i Lusk, Amer. Journ. of Physiol., 16, 129; 1906.
22. Embden, Handbuch d. normale u. pathol. Physiol., 9, 369, 1925.
23. Parnas i Baer, Biochem. Zeitschr., 41, 386; 1912.
24. Meyerhof i Lohmann, Biochem. Zeitschr., 171, 381; 1926.
25. Takane, Biochem. Zeitschr., 171, 403; 1926.
26. Barrenscheen, Biochem. Zeitschr., 58, 277; 1914.
27. Abramson i Eggleton, Journ. Biol. Chem., 75, 763; 1927.

28. *Jansen i Jost*, Z. f. Physiol. Chem., 148, 41; 1925.
29. *Carruthers*, Chinese Journ. of Physiol., 4, 65; 1930.
30. *C. Pi-Suñer Bayo i J. Folch*, Anal. Soc. Esp. Fis. Quim., 29, 560; 1931. Biochem. Zeitschr., 242, 306; 1931.
31. *A. Pi Suñer i C. Pi-Suñer Bayo*, Compt. Rend. Soc. Biol., 106, 1008; 1931.
32. *Meyerhof*, Die Chemische Vorgänge im Muskel, Berlin, Springer, 1929.
33. *Quastel i Wrattley*, Biochem. Journ., 25, 117; 1931.
34. *Bernheim*, Biochem. Journ., 22; 1928.
35. *Stephenson*, Biochem. Journ., 22; 1928.
36. *Embden*, Handbuch d. normalen u. pathol. Physiol., 8, 369; 1925.
37. *Lippmann*, Biochem. Zeitschr., 191, 442; 1927.
38. *Fischbach i Haarmann*, Z. f. Biol., 88, 616; 1929.
39. *J. Pi-Suñer Bayo*, El equilibrio de óxidorreducción de los tejidos. Barcelona, 1929.
40. *Cori*, Physiol. Review, 11, 143; 1931.
41. *Gay-Lussac*, Annal. de Chimie et Phys., 245; 1810.
42. *Buchner i Hahn*, Die Zymasegärung, Munich y Berlin, 1903.
43. *Neuberg i Karczag*, Biochem. Zeitschr., 36, 60, 68, 76, 1911. Id. id. 37, 176; 1912.
44. *Pinkus*, Chem. Berichte, 31, 31; 1898.
45. *Wohl*, Biochem. Zeitschr., 5, 66; 1907.
46. *Neuberg i Kansky*, Biochem. Zeitschr., 20, 461; 1909.
47. *Promageot i Roux*, Biochem. Zeitschr., 243, 175; 1931.
48. *Neuberg i Kobel*, Biochem. Zeitschr., 203, 463; 1928.
49. *C. Pi-Suñer Bayo*, Anal. Soc. Esp. Fis. Quim., 28, 270; 1930. Biochem. Zeitschr., 213, 489; 1929.
50. *Neuberg i Kobel*, Biochem. Zeitschr., 207, 232; 1928.
51. *Neuberg i Scheuer*, Sitz. d. Wiener Akad. d. Wiss. We-gacheider-Festschrift, 1929.
52. *Vogt*, Biochem. Zeitschr., 211, 17; 1929.
53. *Kostyschew i Chomitsch*, Z. f. Physiol. Chem., 176; 1929.
54. *Widmann*, Biochem. Zeitschr., 216, 479; 1929.
55. *Kobel i Laser*, Z. f. Krebsforschung, 32, 92; 1930.
56. *Vogl-Möller*, Biochem. Journ., 25, 419; 1931.
57. *A. Pi-Suñer i M. Ferran*, Comunicació a la Societat de Biologia de Barcelona. En publicació.
58. *Fernbach i Schoen*, Compt. Rend. Acad. d. Sciences, 157, 1478; 1913.
59. *Haegglund*, Biochem. Zeitschr., 170, 102; 1926 i següents.
60. *Woker i Blum-Sapas*, Biochem. Zeitschr., 217, 236; 1930.
61. *Neuberg i Reinfurth*, Biochem. Zeitschr., 89, 365; 1918.
62. *Dakin i Dudley*, Journ. Biol. Chem., 14, 155; 1913.
63. *Neuberg*, Biochem. Zeitschr., 49, 502; 1913.
64. *Neuberg i Gorr*, Biochem. Zeitschr., 171, 475; 1926.
65. *Kuhn i Heckscher*, Z. f. Physiol. Chem., 160, 116; 1926.
66. *Binder-Kotrba*, Biochem. Zeitschr., 174, 443; 1926.
67. *Klar*, Biochem. Zeitschr., 186, 327; 1927.

68. *Bodnar i Bernauer*, Biochem. Zeitschr., 209, 458; 1929.
69. *C. Pi-Suñer Bayo*, Anal. Soc. Esp. Fis. Quím., 28, 371; 1930. Biochem. Zeitschr., 213, 495; 1929.
70. *Girsavicius*, Biochem. Journ., 25, 1807; 1931.
71. *Aoki*, Tokyo Biochem. Journ., 5, 70; 1925.
72. *Heilner*, Münch. Med. Woch., 1442; 1924.
73. *Kawashima*, Tokyo Journ. of Biochem., 152, 309; 1924.
74. *Löb*, Biochem. Zeitschr., 32, 43; 1911.
75. *Warburg*, Biochem. Zeitschr., 152, 309; 1924.
76. *Pasteur*, Oeuvres, t. v, pàg. 341.
77. *Warburg*, Biochem. Zeitschr., 152, 479; 1924.
78. *Lundsgaard*, Biochem. Zeitschr., 220, 1; 1930.
79. *Nilson, Zeile i Euler*, Z. f. Physiol. Chem., 194, 53; 1931.
80. *Molliard*, Compt. Rend. Acad. d. Sciences, 178, 161; 1924.
81. *Ivanoff*, Travaux Soc. d. Naturalistes, St. Petersburg, 34, 1905.
82. *Harden i Young*, Proc. Chem. Soc., 21, 189; 1905.
83. *Lebedew*, Biochem. Zeitschr., 20, 114; 1909.
84. *Young*, Biochem. Zeitschr., 32, 188; 1911.
85. *Wroblowski*, JI. prakt. Chem., 64, 1; 1901.
86. *Harden i Young*, Proc. Royal Soc., 80, 299; 1908.
87. *Morban i Robison*, Biochem. Journ., 22, 1270; 1928.
88. *Levene i Raimond*, Journ. of Biol. Chem., 80, 633; 1928.
89. *Roche*, Biochem. Journ., 25, 1725; 1931.
90. *Barrenscheen*, Biochem. Zeitschr., 240, 381; 1931.
91. *Eggleton*, Physiol. Review, 9, 432; 1929.
92. *Fiske i Subbarow*, Journ. of Biol. Chem., 81, 629; 1929.
93. *Embden i Zimmermann*, Z. f. Physiol. Chem., 14, 167; 1927.
94. *Euler i Myrbach*, Z. f. Pyisiol. Chem., 183, 60; 1929.
95. *Lohmann*, Biochem. Zeitschr. Nombrosos treballs publicats en 1931, per exemple, en les pàg. 50 i 67 del t. 241.
96. *Barrenscheen*, Biochem. Zeitschr., 231, 144; 1931.
97. *Lohmann* (l. c.).
98. *Battelli i Stern*, Biochem. Zeitschr., 46, 317; 1912.
99. *Söpehr i Strain*, Journ. of Biol. Chem., 89, 527; 1930.
- 99 bis. *Zuckerhandl i Klebermas*, Bioch, Zeitschr., 239, 172; 1931.
100. *Cori i Cori*, Journ. of Biol. Chem., 81, 389; 1929.
101. *Meyerhof i Lohmann*, Biochem. Zeitschr., 171, 381; 1926.
102. *Seegen*, Pflügers Archiv., 25, 165; 1888.
103. *Burn i Marks*, Journ. of Biol. Chem., 61, 497; 1926.
104. *Carruthers*, Proc. Soc. Exp. Biol. Med., 25, 850; 1928.
105. *Lehmann i Jendrassik*, Biochem. Zeitschr., 178, 418; 1926.
106. *McKenzie*, Chem. Zentralblatt, 1048, 11; 1899.