

169.751 6.

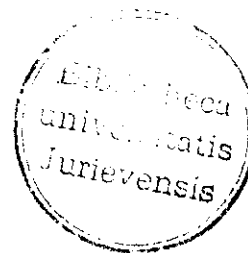
Изъ Юрьевского Фармакологическаго Института проф. Д. М. Лаврова.

Къ вопросу о дѣйстви разведенной соляной кислоты

на бѣлковыя вещества.



Диссертация на степень магистра фармаціи
Эд. И. Свирловскаго.



ЮРЬЕВЪ.

Типографія Эд. Бергмана, Рыцарская ул. 17.
1906.

Печатано съ разрѣшенія Медицинскаго факультета Императорскаго
Юрьевскаго Университета.

г. Юрьевъ, 13 февраля 1906 года.
№ 196.

Деканъ: **Евецкій.**

Б 182171

*Представляя настоящій трудъ на разсмотрѣніе
медицинскаго факультета Императорскаго Юрьев-
скаго Университета считаю пріятнымъ долгомъ вы-
разить сердечную благодарность тѣмъ изъ моихъ
академическихъ учителей, которые своимъ живымъ
словомъ сумѣли возбудить во мнѣ интересъ къ наукѣ.*

*Особенно же я обязанъ благодарить глубоко-
уважаемаго профессора **Давида Мелитоновича**
Лаврова, какъ за любезное позволеніе работать въ
лабораторіи фармакологическаго института, такъ
и за предложенную мнѣ тему, многочисленныя цѣн-
ныя указанія и благосклонное, неустойчивое руковод-
ство при исполненіи этой работы.*

Введение.

Естественныя науки, постепенно удаляясь отъ спекулятивного направленія, игравшаго въ свое время главную роль въ наукѣ, нашли твердую основу въ рациональномъ эмпиризмѣ. Избирая опытъ однимъ изъ своихъ главныхъ орудій для постиженія истины и въ то же время не пренебрегая нѣкоторыми гипотетическими предпосылками въ видѣ вспомогательныхъ средствъ, названныя науки въ сравнительно короткое время достигли своего высокаго современнаго развитія. Опытъ завоевалъ первенствующее значеніе не только въ естественныхъ наукахъ, но даже и такія отвлеченныя науки, какъ психологія, находятъ въ опытѣ, въ обширномъ смыслѣ этого слова, немалую поддержку и часто пользуются имъ. Поэтому неудивительно, что такъ наз. науки о духѣ (психологія, политическая экономія и пр.) причисляются нѣкоторыми философами, напр. Вундтомъ въ его классификаціи наукъ, къ наукамъ опытнымъ.

Химія, какъ одна изъ строго-опытныхъ наукъ, особенно быстро развилась на рационалистически-эмпирической почвѣ. Анализъ и синтезъ, произведенные надъ весьма сложными органическими соединеніями, свидѣтельствуютъ о высокой степени развитія самой трудной, какъ по многочисленности объектовъ, такъ и по сложности ихъ строенія, части химіи, именно органической. Уже давно отошло въ область преданій то мнѣніе, по которому органическія соединенія, образующіяся въ живыхъ организмахъ, нельзя синтетически добывать въ лабораторіяхъ. Послѣ перваго синтеза Wöhler'a (1828 г.) мочевины, появились синтезы безчисленныхъ другихъ орга-

нических соединений. Особеннаго вниманія по своей сложности заслуживаютъ синтезы нѣкоторыхъ алкалоидовъ: коніина, пиперина, атропина и кокаина, — послѣдніе два алкалоида синтезированы изъ ихъ продуктовъ расщепленія. Такимъ образомъ, выяснена конституція молекулы весьма многихъ органическихъ веществъ, включая сюда даже такую сложную молекулу, каковой является молекула нѣкоторыхъ алкалоидовъ.

Подобно другимъ отраслямъ знанія, и въ химіи встрѣчаются области, трудно поддающіяся изученію и потому мало разработанныя. Къ такимъ малоизслѣдованнымъ областямъ принадлежитъ фізіологическая химія. Мы имѣемъ въ виду особенно обширный классъ бѣлковыхъ или протениновыхъ веществъ. Вещества эти составляютъ самую существенную часть каждаго организма, являются носителями жизни; безъ нихъ послѣдняя не мыслима. Начиная съ самаго сложнаго организма и кончая простѣйшими одноклѣточными, всѣмъ имъ присущи эти вещества.

Такъ какъ бѣлковыя вещества возникаютъ въ живой клѣткѣ, то уловить условія ихъ образованія весьма затруднительно. Съ помощью разнаго рода энергій растенія — повидимому безъ особаго труда — синтезируютъ изъ элементовъ эту весьма сложную бѣлковую молекулу, служащую для поддержанія жизненныхъ функцій, не только у растеній, но и для поддержанія таковыхъ же функцій у животныхъ, неспособныхъ къ такого рода синтезамъ. Съ тою-же легкостью, съ которою растенія синтезируютъ бѣлковую молекулу, они разлагаютъ ее на болѣе или менѣе простыя, разнообразныя атомныя группы.

Анализъ и синтезъ бѣлковыхъ веществъ является одной изъ труднѣйшихъ задачъ современной химіи. Не смотря на приложеніе массы труда, разрѣшеніе этой проблемы въ скоромъ времени не предвидится. Если принять для химіи бѣлковыхъ веществъ тотъ-же самый циклъ

хода развитія, который замѣчается вездѣ въ химіи: изученіе общихъ свойствъ даннаго вещества, его химическое строеніе и, наконецъ, синтезъ его, — то приходится отмѣтить, что въ названной области химіи ни одна изъ этихъ стадій не можетъ въ общемъ считаться законченной. Последнюю стадію развитія, т. е. синтезъ, можно считать лишь начатой.

Главную причину столь медленнаго прогресса химіи бѣлковыхъ веществъ надо искать въ весьма сложномъ строеніи молекулы этихъ веществъ и въ другихъ неблагоприятныхъ для изслѣдованія обстоятельствахъ. Сложность молекулы бѣлковыхъ веществъ доказываютъ опыты *in vitro*. Расщепляя гидролитически бѣлковую молекулу различными агентами, о которыхъ рѣчь будетъ ниже, мы получаемъ болѣе или менѣе простыя атомныя группы, принадлежащія къ различнымъ рядамъ химическихъ соединений. Расщепленіе можетъ протекать болѣе или менѣе энергично. Продукты, возникающіе при разныхъ степеняхъ расщепленія, разнятся между собою. При менѣе энергичномъ расщепленіи бѣлковыхъ веществъ, какъ это имѣетъ мѣсто при непродолжительномъ дѣйствіи протеолитическихъ ферментовъ, слабыхъ кислотъ и т. д., ихъ сложная молекула распадается на болѣе или менѣе сложныя атомныя группы — разныя альбумозы, пептоны, полипептиды — сохраняющія до извѣстной степени характерныя общія свойства своего материнскаго вещества, причемъ особенно характернымъ является ихъ біуретовая реакція. При болѣе энергичномъ дѣйствіи расщепляющихъ агентовъ сцѣпленіе вышеуказанныхъ сложныхъ атомныхъ группъ не устоитъ противъ расщепляющаго дѣйствія этихъ агентовъ, и онѣ распадаются на болѣе простыя атомныя группы, какими являются разныя моноаминокислоты алифатическаго, ароматическаго и гетероциклическаго рядовъ, разныя діаминокислоты, производныя мочевины, индола, производныя оксикислотъ, гуминовыя вещества и др. Эти продукты совершенно утратили

бѣлковую природу; за очень не многими исключеніями (гистидинъ) имъ не присуща біуретовая реакція, и большинство ихъ обладаетъ способностью кристаллизоваться.

Слѣдствіемъ сложнаго устройства бѣлковой молекулы является ея высокій молекулярный вѣсъ. Надо замѣтить, что опредѣленіе послѣдняго у бѣлковыхъ веществъ представляетъ большія затрудненія, въ виду того, что лишь немногія изъ упомянутыхъ веществъ удастся получить въ болѣе или менѣе химически чистомъ видѣ, и что не всѣ способы опредѣленія молекулярнаго вѣса къ нимъ примѣнимы.

Такъ Сабанѣвъ и Александровъ,¹⁾ опредѣлившіе молекулярный вѣсъ яичнаго альбумина по способу Raoult'a, основанному на пониженіи точки замерзанія, нашли его равнымъ 14270. По первому²⁾ изъ названныхъ авторовъ молекулярный вѣсъ протальбумозы равенъ 2643—2467. Изъ числа бѣлковыхъ веществъ, молекулярный вѣсъ которыхъ опредѣленъ, укажемъ на гемоглобинъ, какъ на одинъ изъ бѣлковъ, полученныхъ въ наиболѣе химически чистомъ видѣ. Zinnofsky³⁾ и Hüfner,⁴⁾ основывая опредѣленіе молекулярнаго вѣса гемоглобина на процентномъ содержаніи въ немъ сѣры и желѣза, нашли его равнымъ minimum 16669. У біуретовыхъ продуктовъ расщепленія бѣлковыхъ веществъ молекулярный вѣсъ меньше. Какъ уже упомянуто, у протальбумозы онъ равенъ 2467—2643. У полученнаго Siegfried'омъ пептона глутекина молекулярный вѣсъ равенъ 545. Такимъ образомъ, опытные данныя относительно величины бѣлковой молекулы несомнѣнно указываютъ на то, что эта молекула является весьма большой.

1) Сабанѣвъ и Александровъ, Журналъ русск. ф.-хим. общ. 1891 стр. 7.

2) Sabanejeff, Ber. d. d. chem. Ges. 26 p. 385.

3) Zinnofsky, Zeitschr. f. physiol. Chem. 10 p. 16 (1885).

4) Hüfner, Arch. f. Anat. u. Physiol. 1894 p. 130.

Далѣе, значительное большинство бѣлковыхъ веществъ получается только въ видѣ аморфныхъ тѣлъ, такъ что является очень труднымъ установить — путемъ полученія ихъ въ кристаллическомъ состояніи — химическую индивидуальность этихъ тѣлъ. Въ кристаллическомъ видѣ получены лишь немногія бѣлковыя вещества, такъ напр., кромѣ гемоглобина, яичный альбуминъ, впервые полученъ Hofmeister'омъ,¹⁾ сывороточный альбуминъ Gürber'омъ²⁾ и Krieger'омъ.³⁾ Въ послѣднее время въ кристаллическомъ видѣ получены: мѣдь-содержащій протеидъ,—гемоцианинъ⁴⁾ и полученный Siegfried'омъ⁵⁾ пептонъ глютокиринъ. Въ природѣ кристаллическіе бѣлки встрѣчаются рѣдко, напр. нѣкоторые фитоглобулины въ сѣменахъ растений и вителлины въ икрѣ рыбъ.

Надо принять во вниманіе, что большинство полученныхъ въ кристаллическомъ состояніи бѣлковыхъ веществъ далеко не представляетъ химически индивидуальныхъ тѣлъ; такъ, химическая индивидуальность нѣкоторыхъ легко кристаллизующихся гемоглобиновъ до сихъ поръ твердо не установлена: напр., аналитическія данныя разныхъ авторовъ, относящіяся къ элементарному составу лошадиного гемоглобина, являются несогласными между собою, особенно относительно желѣза. Нѣкоторые полученные въ кристаллическомъ видѣ бѣлки содержатъ минеральныя соли, при помощи которыхъ они получены и отъ которыхъ ихъ трудно отдѣлить, напр. сывороточный альбуминъ. Сверхъ того, при повторныхъ перекристаллизаціяхъ кристаллизующихся бѣлковыхъ веществъ, послѣднія обыкновенно дѣлаются все болѣе

1) Hofmeister, Zeitschr. f. physiol. Chem. 14 p. 163 (1889).

2) Gürber, Sitzgsber. d. Würzb. Phys.-Med. Ges. 1894 p. 143.

3) H. Krieger, Dissert. Strassburg 1899.

4) M. Henze, Zeitschr. f. physiol. Chem. 33.

5) Siegfried, Ber. d. sächs. Ges. d. Wissensch. Leipzig 1903.

и болѣе трудно растворимыми, что весьма затрудняетъ химическую очистку ихъ подобнымъ путемъ.

Такимъ образомъ, даже путемъ кристаллизаціи бѣлковыхъ веществъ, полученіе этихъ послѣднихъ въ химически чистомъ видѣ все еще представляетъ рядъ трудностей, часто непреодолимыхъ.

Разные другіе методы, кромѣ кристаллизаціи, примененные для раздѣленія бѣлковыхъ веществъ и біуретовыхъ продуктовъ ихъ распада между собою далеко не могутъ считаться безукоризненными. Дробная перегонка, которая столь успѣшно примѣняется въ органической химіи, по общимъ свойствамъ бѣлковыхъ веществъ не можетъ быть примѣнима въ химіи этихъ веществъ и замѣняется способами дробнаго высаливанія и осажденія, — способами далеко не совершенными. Такъ, одинъ изъ способовъ дробнаго высаливанія продуктовъ перевариванія бѣлковъ, выработанный Kühne¹⁾ и его учениками (Hoimeister'омъ, Neumeister'омъ и др.) для отдѣленія альбумозъ отъ пептоновъ, — амфо- и антипептоновъ, — является не точнымъ: точнаго качественного и количественнаго отдѣленія названныхъ продуктовъ при немъ не достигается; напр., иныя дейтероальбумозы, будучи взяты въ болѣе или менѣе разведенныхъ растворахъ, не осаждаются $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ по способу Kühne. Таковымъ-же по существу является и способъ Pick'a²⁾ и Zunz'a,³⁾ — способъ отдѣленія разныхъ видовъ альбумозъ и пептоновъ другъ отъ друга съ помощью дробнаго осажденія сѣрнокислымъ аммоніемъ resp. цинкомъ.

Гораздо обстоятельнѣе, чѣмъ сами бѣлковые вещества и ихъ біуретовые продукты — альбумозы и пептоны — изу-

1) Kühne, Verhandl. d. naturhist. Ver. zu Heidelberg (N. F. 3).

2) Pick, Zeitschr. f. physiol. Chem. 24 и 28.

3) Zunz, Zeitschr. f. physiol. Chem. 28.

чены абіуретовые продукты ихъ расщепленія, преобладающее количество которыхъ составляютъ разныя моноаминокислоты. Этому способствовало то, что упомянутыя вещества имѣютъ болѣе простое строеніе, являются способными къ кристаллизаци, способными давать кристаллическія соли, летучіе сложные эфиры и т. д. Конституція почти всѣхъ моноаминокислотъ вполне выяснена; почти всѣ онѣ получены синтетически. При полученіи ихъ въ чистомъ видѣ, прежде, а отчасти и теперь, пользовались способомъ дробной кристаллизаци. Такъ какъ возникающія при разложеніи бѣлковыхъ веществъ моноаминокислоты находятся въ смѣси другъ съ другомъ, что особенно затрудняетъ ихъ кристаллизацию и вообще увеличиваетъ ихъ растворимость, то дробная кристаллизаци при подобныхъ смѣсяхъ не ведетъ къ вполне удовлетворительнымъ результатамъ, когда дѣло идетъ объ изолированіи ихъ въ химически чистомъ видѣ. Въ виду этого старались найти другіе способы выдѣленія и раздѣленія моноаминокислотъ. Для полученія ихъ въ видѣ болѣе или менѣе трудно растворимыхъ соединений переводятъ ихъ въ трудныя соли, или же въ труднорастворимые бензоилпродукты, получаемые по методу бензоилированія Schotten-Baumann'a, впервые примененному у моноаминокислотъ Baum'омъ¹⁾. Однимъ изъ существенныхъ неудобствъ бензоилированія является то, что образовавшаяся бензойная кислота весьма трудно удаляется изъ получаемой подкисленной смѣси съ помощью петролейнаго эфира, — единственно подходящаго растворителя, въ которомъ почти совершенно не растворяются бензоилпродукты аминокислотъ. Далѣе, продуктомъ бензоилированія какой-либо смѣси моноаминокислотъ обыкновенно является плохо кристаллизующаяся масса, и отдѣленіе между собою бензоилпродуктовъ въ такой смѣси обыкновенно

1) Baum, Zeitschr. f. physiol. Chem. 9 p. 465.

новенно не достигается. При бензоилированіи же химически чистыхъ моноаминокислотъ, взятыхъ по отдѣльности, бензоилированіе дастъ хорошо кристаллизующіеся продукты. Въмѣсто бензоилхлорида E. Fischer и P. Bergell¹⁾ примѣняютъ β -нафталинсульфохлоридъ, а M. Siegfried²⁾ 4-нитротолуол-2-сульфохлоридъ. Болѣе совершенный методъ, служащій кромѣ того для изолированія отдѣльныхъ моноаминокислотъ, выработанъ E. Fischer'омъ³⁾ и состоитъ въ томъ, что моноаминокислоты въ присутствіи этиловаго спирта и газообразной HCl превращаются въ ихъ этиловые сложные эфиры, которые могутъ быть отдѣлены другъ отъ друга дробной перегонкой. Омыленіемъ этихъ сложныхъ эфировъ получаютъ обратно отдѣльныя моноаминокислоты.

Что касается гексонбазъ, то онѣ теперь обычно изолируются изъ смѣсей, содержащихъ основные продукты бѣлковаго распада, съ помощью способа, выработаннаго Kossel'емъ и Kutscher'омъ⁴⁾, т. е. путемъ послѣдовательнаго осажденія азотнокислымъ серебромъ въ присутствіи ѣдкаго барита. При этомъ способѣ въ первую фракцію осажденія переходитъ гистидинъ, во вторую — аргининъ; въ фильтратѣ отъ серебряныхъ соединений аргинина находится лизинъ вмѣстѣ съ остальными основными продуктами распада бѣлковой частицы. Если имѣлось на лицѣ болѣе или менѣе энергичное расщепленіе бѣлковой частицы, то въ гистидиновой фракціи имѣется обыкновенно почти исключительно одинъ гистидинъ, въ аргининовой — почти исключительно одинъ аргининъ. При такихъ условіяхъ изолированіе лизина изъ фильтрата, полученнаго отъ аргининовой фракціи — изолированіе съ помощью пикриновой или пикролоновой кислоты — соверша-

1) E. Fischer u. P. Bergell, Ber. d. d. chem. Ges. 35 p. 3779 (1902).

2) M. Siegfried, Zeitschr. f. physiol. Chem. 43 p. 67.

3) E. Fischer, Ber. d. d. chem. Ges. 34 p. 433 (1901).

4) Kossel u. Kutscher, Zeitschr. f. physiol. Chem. 31, p. 165 (1900).

ется довольно легко. Если же имѣлось на лицо не особо энергичное расщепленіе бѣлковой частицы, какое наблюдается напр. при болѣе или менѣе продолжительномъ пептическомъ перевариваніи бѣлковъ, то означенныя фракціи гексонбазъ содержатъ примѣси другихъ продуктовъ распада основного характера; нѣкоторые изъ этихъ продуктовъ даютъ тѣ или другія характерныя реакціи бѣлковыхъ веществъ. Изолированіе гексонбазъ изъ подобныхъ смѣсей удастся съ трудомъ, а иногда и совсѣмъ не удастся изолировать ихъ при такихъ условіяхъ, въ особенности, если онѣ имѣются въ относительно незначительныхъ количествахъ.¹⁾

Для выясненія строенія сложной бѣлковой молекулы издавна старались расщеплять ее гидролитически разными агентами на менѣе сложныя атомныя группы и изучать эти послѣднія. Такими агентами, расщепляющими бѣлковыя вещества, обыкновенно служатъ: минеральныя кислоты, щелочи, протеолитическіе энзимы, окисляющія вещества, дѣйствіе гнилостныхъ бактерій и др.

Первыя попытки кислотнаго расщепленія бѣлковыхъ веществъ принадлежатъ Braconnot,²⁾ который въ 1820 г. при кипяченіи клея съ сѣрной кислотой получилъ гликоколль и лейцинъ. Подобной обработкой рога Liebig и Hinterberger³⁾ получили тирозинъ. Разлагая казеинъ кипяченіемъ съ соляной кислотой, Hlasiwetz⁴⁾ и Habermann⁵⁾ получили глутаминовую кислоту, лейцинъ, сѣроводородъ, амміакъ. E. Schulze и Barbieri⁶⁾ получили расщепленіемъ HCl бѣлковъ тыквенныхъ сѣмянъ фениль- α -амидопронионо-

1) D. Lawrow, Zeitschr. f. physiol. Chem, 43. p. 458 (1905).

2) Braconnot, Annal. d. Chem. Phys. Bd. 13 p. 114.

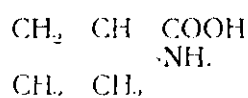
3) Liebig u. Hinterberger, Liebigs Annal. 71 p. 70 (1849).

4) Hlasiwetz, Anzeig. d. Wien. Akad. 1872 p. 114.

5) Habermann, Annal. Chem. Pharm. 169 p. 150.

6) Schulze u. Barbieri, Zeitschr. f. physiol. Chem. Bd. 9.

вую, аспарагиновую и др. моноаминокислоты. E. Fischer и Suzuki¹⁾, расщепляя съ помощью соляной кислоты казеинъ, фибринъ, яичный альбуминъ, глобинъ и др., получили пирролидинкарбоновую кислоту. Кислота эта представляетъ интересъ въ томъ отношеніи, что она является единственной, до сихъ поръ полученной при гидролитическомъ расщепленіи бѣлковыхъ веществъ имидокислотой, какъ это видно изъ ея структурной формулы :



Впослѣдствіи разные изслѣдователи продолжали расщеплять съ помощью минеральныхъ кислотъ и другія бѣлковыя вещества, получая при этомъ вышеуказанныя моноаминокислоты, чѣмъ и доказывается прямое участіе этихъ кислотъ при построеніи бѣлковой молекулы. Кромѣ моноаминокислотъ при этомъ расщепленіи получены и нѣкоторыя окси-аминокислоты. Такой окси-аминокислотой, а именно: α -амино- β -оксипропионовой кислотой, $\text{CH}_2\text{OH}-\text{CHNH}_2\text{COOH}$, является полученный E. Fischer'омъ и Skita²⁾ при гидролизѣ съ кислотами шелковаго фиброина, серинъ. Послѣдній, т. е. серинъ, полученъ E. Fischer'омъ и его сотрудниками впослѣдствіи и изъ клея, рогового вещества и казеина при ихъ гидролитическомъ расщепленіи. Въ послѣднее время H. Skraup'омъ³⁾ получена при расщепленіи казеина соляной кислотой окси-аминоянтарная кислота, и кислота состава $\text{C}_8\text{H}_{16}\text{N}_2\text{O}_6$, которую онъ называлъ діоксидіаминопробковой кислотой.

При другихъ способахъ гидролитическаго расщепленія бѣлковыхъ веществъ, если эти способы всецѣло не разру-

1) E. Fischer u. Suzuki, Ber. d. d. chem. Ges. 37 p. 2842 (1904).

2) Fischer u. Skita, Zeitsch. f. physiol. chem. 35 p. 223.

3) H. Skraup, Ber. d. d. Chem. Ges. 37 p. 1596.

шають послѣднихъ, получаютъ большею частью тѣ же продукты распада, какъ и при дѣйстви на нихъ кислоты.

При сплавленіи бѣлковыхъ веществъ съ щелочами получаютъ производныя индола и скатола и фенилоуксусная кислота. Эти продукты возникаютъ и при гніеніи бѣлковыхъ веществъ. Наличие тирозина между продуктами распада бѣлковой молекулы и возникновеніе вышеозначенныхъ продуктовъ при сплавленіи бѣлковыхъ веществъ съ щелочами, указываютъ на существованіе въ бѣлковой молекулѣ ароматической группы. — Кромѣ существованія въ бѣлковой молекулѣ оксифениловой группы, какъ это имѣетъ мѣсто у тирозина, Hlasiwetz и Habermann ¹⁾ доказали существованіе ароматической группы, которая имѣетъ въ бензольномъ ядрѣ амидогруппу. Это подтверждается полученіемъ трибромамидобензойной кислоты при дѣйстви брома на бѣлковыя вещества.

W. Kühne впервые замѣтилъ, что расщепленіе бѣлковыхъ веществъ съ образованіемъ абіуретовыхъ продуктовъ распада достигается не только воздѣйствіемъ на нихъ такихъ энергичныхъ агентовъ, каковыми являются кипящія крѣпкія кислоты и щелочи, но и дѣйствиемъ на нихъ фермента поджелудочной железы, которому онъ далъ названіе „трипсинъ“. По этому способу расщепленіе происходитъ медленно, что является удобнымъ для изученія особенно біуретовыхъ продуктовъ распада. Названный авторъ доказалъ, что при триптическомъ перевариваніи бѣлковыхъ веществъ возникаютъ сначала альбумозы, потомъ пептоны, и, наконецъ, абіуретовые продукты, — моноаминокислоты ²⁾. Касательно расщепленія бѣлковыхъ веществъ при помощи пептического перевариванія

1) Hlasiwetz u. Habermann, Annal. Chem. Pharm. 159.

2) W. Kühne, Verhandl. d. naturhist. med. Ver. zu Heidelberg, NF. Bd. I. Heft 3.

Kühne ¹⁾ утверждаетъ, что расщепленіе по этому способу не доходить до образованія моноаминокислотъ. Въ 1871 г. Любавинъ ²⁾ доказалъ, что и при пептическомъ расщепленіи возникаютъ моноаминокислоты. Результаты Любавина подтвердилъ и Hoppe-Seyler ³⁾. Къ этому мнѣнію присоединяется Hirschler ⁴⁾, основываясь однако лишь на томъ фактѣ, что при пептическомъ перевариваніи бѣлковыхъ веществъ образуются азотистые продукты распада, не осаждающіеся фосфорно-вольфрамовой кислотой. Изъ новѣйшихъ изслѣдователей, примкнувшихъ къ мнѣнію Любавина, укажемъ на Salaskin'a и K. Kowalewsky ⁵⁾, которые получили при долгомъ пептическомъ перевариваніи гемоглобина моноаминокислоты, на D. Lawrow'a ⁶⁾, получившаго упомянутыя кислоты при долгомъ самоперевариваніи свиныхъ желудковъ, и на L. Langstein'a ⁷⁾, получившаго кристаллическіе продукты — лейцинъ и др. — при подобномъ перевариваніи свернутыхъ сывороточныхъ бѣлковъ. Кромѣ того D. Lawrow, ⁸⁾ подвергая желатину продолжительному пептическому перевариванію, получилъ кристаллическіе продукты, — лейцинъ.

Такимъ образомъ, въ настоящее время можно считать вполне доказаннымъ, что и въ пептическомъ перевариваніи бѣлковыхъ веществъ мы имѣемъ средство для послѣдовательнаго гидролитическаго расщепленія бѣлковыхъ веществъ, ведущаго къ образованію моноаминокислотъ.

1) W. Kühne, l. c.

2) Ljubawin, Hoppe-Seyler, med. chem. Untersuch. Bd. IV. p. 463.

3) Hoppe-Seyler, Physiol. Chem. Bd. II. p. 228 (1878).

4) Hirschler, Zeitschr. f. physiol. Chem. 9 p. 30.

5) Salaskin etc., Zeitschr. f. physiol. Chem. 38 p. 567.

6) D. Lawrow, Zeitschr. f. physiol. Chem. 33.

7) L. Langstein, Hofmeisters Beiträge Bd. 1 p. 507, (1902).

8) D. Lawrow, Zt. f. physiol. Chem. 43. p. 449.

Е. Fischer и Abderhalden¹⁾ указываютъ, что часть продуктовъ расщепленія, возникающихъ при триптическомъ и пептическомъ перевариваніи бѣлковыхъ веществъ, Zunz²⁾-же Pick³⁾ и Pfaundler,⁴⁾ — при пептическомъ перевариваніи, является продуктами, стоящими по своему химическому характеру между пептонами и моноаминокислотами, и во многомъ походящими на синтетическіе полипептиды Е. Fischer'a.

Основываясь на только-что указанныхъ данныхъ, Е. Abderhalden⁵⁾ предлагаетъ для искусственнаго пептически-триптического перевариванія слѣд. схему:

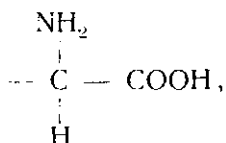
нативный бѣлокъ

пептонъ

полипептидъ α -амино и діаминокислоты,
 α -пирролидинкарбоновая кислота, триптофанъ и т. д.

Кромѣ того Е. Fischer⁶⁾ указываетъ, что при гидролизѣ шелкового фиброина возникаетъ дипептидъ, который, какъ полагаетъ авторъ, представляетъ комбинацію гликокола съ аланиномъ.

Преобладающее большинство абіуретовыхъ кристаллическихъ продуктовъ распада бѣлковой молекулы является въ видѣ α -моноаминокислотъ строенія:



1) E. Fischer u. Abderhalden, Zeitschr. f. physiol. Chem. 39 p. 81.

2) E. Zunz, Zeitschr. f. physiol. Chem. 28 p. 132 (1899).

3) Pick, Zeitschr. f. physiol. Chem. 28 p. 219.

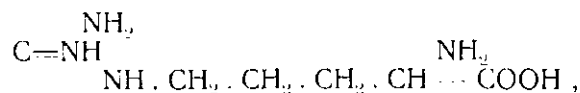
4) Pfaundler, Zeitschr. f. physiol. Chem. 30 p. 90 (1900).

5) E. Abderhalden, Zeitschr. f. physiol. Chem. 44 p. 28.

6) E. Fischer, Ber. d. d. chem. Ges. 36 p. 2094.

причемъ большинство изъ нихъ принадлежитъ къ алифатическому ряду, а именно, въ видѣ производныхъ низшихъ гомологовъ этого ряда, до 6. члена включительно (Schützenberger указываетъ и на существованіе производнаго 7 члена, — аминоксантинъ, — аминоксантинъ, возникающую при распадѣ бѣлковыхъ веществъ).

Выше перечисленными продуктами распада бѣлковыхъ веществъ не исчерпывается число менѣ сложныхъ атомныхъ группъ, входящихъ въ составъ бѣлковой молекулы. Кромѣ этихъ продуктовъ кислотнаго характера при расщепленіи бѣлковыхъ веществъ возникаютъ такыя основнаго характера. Впервые это было замѣчено Drechsel'емъ,¹⁾ который при расщепленіи бѣлковыхъ веществъ посредствомъ HCl и ZnCl₂ получилъ лизатининъ, лизинъ и діаминоуксусную кислоту, — вещества основнаго характера. Кромѣ того было найдено Schulz'емъ²⁾ въ этиолированныхъ сѣменахъ lupini вещество основнаго характера, именно аргининъ. Hedin³⁾ и Kossel нашли его при расщепленіи многихъ бѣлковыхъ веществъ. Hedin⁴⁾ показалъ, что лизатининъ Drechsel'я состоитъ изъ аргинина и лизина. Гистидинъ былъ открытъ Kossel'емъ, который по количеству углеродистыхъ атомовъ въ молекулѣ назвалъ эти три основанія, — гистидинъ, аргининъ и лизинъ, — гексонбазами. Строеніе аргинина и лизина окончательно выяснено E. Fischer'омъ,⁵⁾ который рассматриваетъ аргининъ, какъ гуанидинъ-α-амино валеріановую кислоту:



1) Drechsel, Ber. d. sächs. Akad. d. Wiss. 1892, p. 115.

2) E. Schulze, Zeitschr. f. physiol. Chem. 11.

3) Hedin, Zeitschr. f. physiol. Chem. 20 и 21.

4) Hedin, l. c. 21.

5) E. Fischer, Ber. d. d. chem. Ges. 34 p. 454 (1901).

а лизинъ, какъ α -діаминапроновую кислоту. Последняя получена E. Fischer'омъ и Weigert'омъ¹⁾ синтетически. При гніеніи, какъ это показаль Ellinger²⁾, лизинъ даетъ птомаинъ кадаверинъ, что подтверждаетъ строеніе лизина. Структура гистидина пока еще не выяснена окончательно. Какъ уже выше упомянуто, Kossel'емъ и Kutscher'омъ выработанъ методъ отдѣленія другъ отъ друга этихъ трехъ лексонбазъ.

При окисленіи яичнаго бѣлка посредствомъ KMnO_4 Lossen³⁾ получилъ гуанидинъ. Такъ какъ послѣдній принадлежитъ къ группѣ мочевины, являясь имидопроизводнымъ послѣдней, то открытіе Lossen'a показало, что въ бѣлковой молекулѣ должна содержаться группа мочевины. Дальнѣйшія изслѣдованія показали, что это дѣйствительно такъ, и что группа мочевины сконцентрирована въ аргининѣ. Оказалось, что при кипяченіи аргинина съ ѣдкимъ баритомъ получается мочевиная и орнитинъ.⁴⁾ Подобное же расщепленіе аргинина производитъ ферментъ „аргиназа“ открытый Kossel'емъ и Dakin'омъ⁵⁾. Kutscher⁶⁾, окисляя аргининъ KMnO_4 , получилъ гуанидинъ и гуанидинмасляную кислоту.

Какъ видно, способъ окисленія можетъ оказать немалую услугу въ дѣлѣ выясненія строенія бѣлковой молекулы. При окисленіи бѣлковыхъ веществъ процессъ ихъ разложенія происходитъ весьма энергично, вслѣдствіе чего разрывается углеродная цѣпь и болѣе сложныя атомныя группы бѣлковой

1) E. Fischer u. Weigert, Ber. d. d. chem. Ges. 35.

2) Ellinger, Zeitschr. f. physiol. Chem. 29 p. 334.

3) Lossen, Ann. Chem. u. Pharm. 201 (1880).

4) E. Schulze, Ber. d. d. chem. Ges. 24 (1891).

5) Kossel u. Dakin, Zeitschr. f. physiol. Chem. 41 p. 321 и 42 p. 185.

6) Kutscher, Zeitschr. f. physiol. Chem. 32 p. 278 и 413.

молекулы расщепляются на менее сложные соединения, какъ это мы видѣли напр. у аргинина.

Веществами, употребляемыми для окисленія бѣлковыхъ веществъ, служатъ главнымъ образомъ CrO_3 , MnO_2 , соли марганцевой кислоты и перекиси щелочныхъ и щелочно-земельныхъ металловъ. Продуктами распада бѣлковыхъ веществъ при окисленіи ихъ являются по преимуществу разныя кислоты ароматическаго и жирнаго рядовъ. Такъ Maly¹⁾ получилъ при дѣйстви KMnO_4 на желатину разныя кислоты жирнаго ряда, бензойную и янтарную кислоты.

Дѣйствиемъ $\text{MnO}_2 + \text{H}_2\text{SO}_4$ на казеинъ Guckelberger²⁾ получилъ: муравьиную, уксусную, пропионовую, масляную кислоты, альдегиды этихъ кислотъ и бензойную кислоту и т. д.

Liebig и Schlieper³⁾, окисляя лейцинъ CrO_3 , получили HCN , уксусную, валеріановую и бензойную кислоты.

J. Seemann⁴⁾, окисляя желатину $\text{Ca}(\text{MnO}_4)_2$, получилъ, кромѣ вышеуказанныхъ кислотъ жирнаго ряда, ещё щавелевую и янтарную кислоты.

Bechamp⁵⁾ получилъ окисленіемъ бѣлковыхъ веществъ посредствомъ KMnO_4 мочевины.

Давно уже было высказано разными авторами мнѣніе, что въ нѣкоторыхъ бѣлкахъ находится углеводная группа. Такъ Udransky⁶⁾, при перегонкѣ нѣкоторыхъ бѣлковыхъ веществъ получилъ фурфуролъ. Hammarsten нашелъ углеводъ въ муцинѣ, — при разложеніи этого послѣдняго изъ продуктовъ его распада могъ быть выдѣленъ осазонъ.

1) Maly, Monatshefte d. Chem. 10 p. 31.

2) Guckelberger, Liebigs Annal., Bd. 64 p. 39.

3) Liebig и Schlieper, Liebigs Annal., Bd. 59 p. 1.

4) J. Seemann, Zeitschr. f. physiol. Chem. 44.

5) Bechamp, Journ. d. Pharmacie, Serie III, Tome 21 et 31.

6) v. Udransky, Zeitschr. f. physiol. Chem. 12 p. 389.

P. Müller¹⁾ показалъ, что въ муцинѣ находится азотъ-содержащая гексоза, глюкозаминъ; эта амидогексоза по E. Fischer'у и Leuchs'у²⁾ является декстрозой, одинъ водородъ которой замѣщенъ амидогруппой. Дѣйствіемъ фенилгидразина на глюкозаминъ получается осазонъ, что ясно доказываетъ его углеводную природу.

За исключеніемъ протаминовъ и микопотеидовъ Ненцкаго³⁾, въ составъ бѣлковой молекулы входитъ сѣра. Какъ показалъ K. Mörner⁴⁾, главная масса сѣры сконцентрирована въ цистинѣ и въ цистеинѣ, сѣросодержащихъ продуктахъ расщепленія бѣлковыхъ веществъ. Изъ другихъ сѣросодержащихъ продуктовъ распада бѣлковыхъ веществъ нужно отмѣтить α -тіомолочную кислоту, которая однако по Mögner'у⁵⁾ является уже вторичнымъ продуктомъ распада.

Одинаковые результаты, получаемые при опредѣленіи азота по Kjeldahl'ю и по Dumas, заставляютъ предполагать, что въ бѣлковой частицѣ отсутствуютъ нитро-, нитрозо- и азогруппы.

Нѣкоторыя цѣнныя указанія для выясненія конституціи бѣлковыхъ веществъ даютъ присущія имъ цвѣтоты реакціи. Реакціи эти связаны съ наличностью извѣстныхъ атомныхъ группъ въ бѣлковой частицѣ. Такъ, доказано, что реакцію Миллона даютъ лишь тѣ бѣлковыя вещества, которые содержатъ оксифениловую группу⁶⁾, что имѣетъ мѣсто напр. при тирозинѣ. Реакціи Молиша⁷⁾ и Либермана, основанныя на образованіи фурфурола⁸⁾, указываютъ на присутствіе угле-

1) P. Müller, Deutsche med. Wochenschr. 1899.

2) E. Fischer etc., Ber. d. d. chem. Ges. 36 p. 24 (1903).

3) Nencki, Ber. d. d. chem. Ges. 17 p. 2605.

4) K. Mörner, Zeitschr. f. physiol. Chem. 28 p. 34.

5) K. Mörner, l. c. 42 p. 370 (1904).

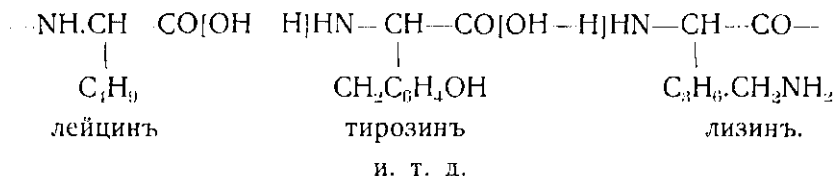
6) O. Nasse, Pflügers Arch. 83 (1901).

7) H. Molisch, Monatshefte f. Chem. 7 p. 198 (1888).

8) F. Hofmeister, Leitf. f. prakt.-chem. Unterricht d. Med. 1899 p. 80.

водной группы. Р-диметиламинобензальдегидъ и другіе ароматическіе альдегиды даютъ съ бѣлками цвѣтотыя реакціи. Такъ какъ реакція эта присуща исключительно индоловой группѣ, то этимъ подтверждается присутствіе послѣдней въ бѣлкахъ. Далѣе, реакція Адамкевича¹⁾ присуща индоловой группѣ; ксантопротеиновая реакція — группѣ феноловой и скатолу²⁾. Біуретовую реакцію даютъ вещества, содержащія двѣ CO-NH₂-группы при одномъ атомѣ углерода или азота, или, если вышеуказанныя группы соединены между собою³⁾.

Такъ какъ при гидролитическомъ расщепленіи бѣлковыхъ веществъ получаютъ по преимуществу аминокислоты, какъ моно-, такъ и діаминокислоты, то нѣкоторыми изслѣдователями было высказано мнѣніе, что бѣлковые вещества являются продуктомъ сочетанія разныхъ аминокислотъ. Мнѣніе это подтверждаютъ синтезы полипептидовъ E. Fischer'a. Сочетаніе аминокислотъ выражается по Hofmeister'y⁴⁾ слѣд. схемой :



Изъ приведенной схемы видно, что карбоксильная группа одной аминокислоты связана съ амидо-группой другой, причемъ отщепляется вода.

Полнаго выясненія конституціи бѣлковой молекулы, какъ и окончательнаго подтвержденія имѣющихъ по этому вопросу данныхъ, можно ожидать отъ синтеза этой молекулы. Если

1) Salkowski, Zeitschr. f. physiol. Chem. 12 p. 215.

2) Salkowski, l. c.

3) M. Schiff, Ann. Chem. Pharm. 299 p. 236 (1897).

4) Hofmeister. Ueber d. Bau. d. Eiweissmoleküls, Ergebn. d. Physiol. Jahrg. 1 Abt. 1 p. 759.

припомнить, что молекула бѣлковыхъ веществъ весьма сложна, и что атомныя группы, входящія въ составъ ея, очень разнообразны и многочисленны, и притомъ еще не всѣ вполне выяснены, то станетъ понятнымъ, что попытка, построить эту сложную молекулу, должна считаться одной изъ труднѣйшихъ проблемъ, разрѣшеніемъ которыхъ задалась современная химія.

Попытки синтеза бѣлковыхъ веществъ обыкновенно сводятся къ тому, что стараются сочетать разныя аминокислоты, или между собою, а именно, въ ихъ ангидридной формѣ, или съ другими соединеніями. Первымъ, попытавшимся вышеуказаннымъ путемъ получить бѣлковыя вещества синтетически, является французскій аптекарь Grimaux¹⁾. При сплавлении ангидрида аспарагиновой кислоты съ мочевиной, Grimaux получилъ коллоидальное вещество альбумознаго характера. Слѣдующимъ примѣру Grimaux, Schützenberger²⁾ соединялъ разныя другія аминокислоты (лейцинъ, лейциинъ) съ мочевиной при помощи ангидрида фосфорной кислоты. Lilienfeld³⁾ получилъ при дѣйствіи разныхъ конденсаторовъ, какъ-то: формальдегида и др., на смѣсь сложныхъ эфировъ аминокислотъ, вещества, обладающія нѣкоторыми свойствами пептоновъ.

Особый интересъ въ области синтеза бѣлковыхъ веществъ представляютъ работы E. Fischer'a⁴⁾. Соединяя ангидриды разныхъ аминокислотъ, E. Fischer получилъ весьма сложные соединенія, названныя имъ по ихъ нѣкоторому сходству съ пептонами, полипептидами. Извѣстно, что α-аминокислоты легко даютъ димолекулярные ангидриды, назв. діаципиперазинами. Простѣйшій изъ этихъ ангидридовъ, діангидридъ гликокола, названный глицинангидридомъ, служитъ E. Fischer'у

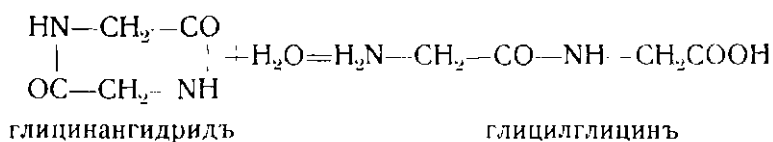
1) Grimaux, Compt. rend. 93 p. 77.

2) Schützenberger, Compt. rend. 106 p. 1407.

3) Lilienfeld, Dubois Arch. 1894 p. 383.

4) E. Fischer, Ber. d. d. chem. Ges. 34. 35, 36, 37, 38.

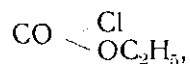
исходнымъ соединеніемъ при его синтезахъ. Кипяченіемъ глицинангидрида съ крѣпкой HCl, или взбалтываніемъ его съ щелочами, происходитъ разрывъ замкнутой цѣпи, причемъ образуется моноангидридъ гликоколла или глицина, названный глицилглициномъ. Слѣд. схема поясняетъ только-что сказанное :



Радикалъ $\text{H}_2\text{NCH}_2\text{CO}$ названъ E. Fischer'омъ глициломъ, откуда и соединеніе его съ глициномъ получило названіе „глицилглицинъ“. Подобно глицинангидриду, могутъ быть соединяемы и ангидриды другихъ аминокислотъ. Такъ, напр. изъ ангидрида лейцина полученъ лейциллейцинъ.

Кипяченіемъ глицилглицина съ помощью HCl съ этиловымъ спиртомъ, легко получается сложный эфиръ его, напр. $\text{NH}_2\text{CH}_2\text{CONHCH}_2\text{COOC}_2\text{H}_5$ — этиловый эфиръ глицилглицина.

Дѣйствіемъ хлороугольноэтиловаго эфира,



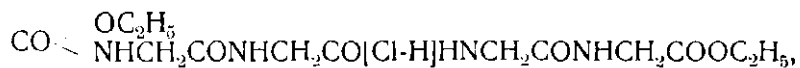
на упомянутый эфиръ глицилглицина, получается сложн. эфиръ карбэтоксилглицилглицина :



который съ амміакомъ образуетъ вещество, дающее біуретовую реакцію. Такъ какъ въ упомянутомъ эфирѣ легко реагирующая амидогруппа связана съ карбэтоксильной группой, COOC_2H_5 , то названный сложн. эфиръ является желаннымъ исходнымъ соединеніемъ для дальнѣйшихъ синтезовъ. Съ помощью сложн. эфира карбэтоксилглицилглицина E. Fischer'у удалось соединить ангидриды не только одинаковыхъ аминокислотъ, но и разныхъ. Такъ, кипяченіемъ сложн. эфира лейцина съ вышеупомянутымъ карбэтоксилглицилглициновымъ

эфиромъ получается соединеніе, въ которомъ сочетаны 3 молекулы ангидридовъ аминокислотъ, именно: 2 мол. ангидрида гликокола и 1 мол. ангидрида лейцина.

Примѣненіе только-что указаннаго способа синтеза съ помощью сложн. эфира карбэтоксилглицилглицина является затруднительнымъ при болѣе сложныхъ комбинаціяхъ аминокислотъ, потому что съ увеличеніемъ числа членовъ дѣйствующихихъ веществъ способность къ конденсаціи уменьшается. Во избѣжаніи этого затрудненія, E. Fischer видоизмѣнилъ указанный способъ въ томъ направленіи, что вмѣсто сложн. эфира карбэтоксилглицилглицина примѣнилъ его хлоридъ, легко получаемый дѣйствіемъ хлористаго тіоніла на названный эфиръ. Соединяя этотъ хлоридъ напр. съ эфиромъ глицилглицина,



получаютъ соединеніе, въ которомъ сочетаны между собою 4 молекулы глицина. Вмѣсто сложн. эфира моноаминокислотъ можно брать и таковыя діамино- и оксиаминокислоты и достигнуть весьма различныхъ комбинацій.

Какъ на новый и весьма удобный способъ синтеза полипептидовъ, примѣняемый съ успѣхомъ особенно при высшихъ полипептидахъ, слѣдуетъ указать на выработанный E. Fischer'омъ синтезъ съ помощью хлорацетилхлорида, ClCH_2COCl , который, дѣйствуя на эфиръ глицилглицина, даетъ эфиръ хлорацетилглицилглицина, $\text{ClCH}_2\text{CONHCH}_2\text{CONHCH}_2\text{COOC}_2\text{H}_5$. Омыленіемъ послѣдняго получается соотвѣтственная кислота, которая съ амміакомъ, замѣщающимъ Cl амидогруппой, даетъ трипептидъ диглицилглицинъ. Посредствомъ указаннаго способа E. Fischer получилъ разные ди-, три-, тетра- и въ одномъ случаѣ даже пентапептиды.

Полученные тѣмъ или другимъ способомъ полипептиды, особенно тѣ изъ нихъ, въ составъ которыхъ входятъ разныя аминокислоты, въ томъ или другомъ отношеніи напоминаютъ

естественные пептоны. Какъ и тѣ, они даютъ біуретовую реакцію, осаждаются фосфорно-вольфрамовой кислотой и нѣкоторыя изъ нихъ, подобно бѣлкамъ, расщепляются ферментами. Последнее ихъ свойство E. Fischer и его сотрудники замѣтили у дипептидовъ: глицилтирозина, лейцилаланина, аспаргилглицила и др. При дѣйствіи трипсина въ щелочной средѣ на глицилтирозинъ скоро выдѣляется трудно растворимый тирозинъ. Такъ какъ въ составъ молекулы бѣлковыхъ веществъ входятъ, кромѣ моноаминокислотъ, діамино- и оксиаминокислоты и др., то E. Fischer старался ввести и эти соединенія въ сложную молекулу полипептидовъ, причемъ имъ полученъ напр. діаланин-диглицилъ, диглицилцистинъ и т. д.

Какъ видно, синтезы полипептидовъ до нѣкоторой степени подвинули впередъ и вопросъ о синтезѣ бѣлковыхъ веществъ. Нѣтъ сомнѣнія, что при примѣненіи при дальнѣйшемъ изученіи продуктовъ распада бѣлковыхъ веществъ болѣе усовершенствованныхъ методовъ будутъ открыты еще новые продукты расщепленія, могущіе пролить новый свѣтъ на строеніе бѣлковой молекулы. Включая ихъ въ цѣль уже полученныхъ комбинацій, можно надѣяться на полученіе веществъ, тождественныхъ съ бѣлковыми веществами, по крайней мѣрѣ съ ихъ простѣйшими представителями.

Краткій литературный очеркъ.

Начиная съ классическихъ работъ Врасонпот'а, Нlasiwetz'а, Habermann'а и т. д. и кончая съ новѣйшими изслѣдованіями E. Fischer'а, H. Skaup'а и др., вопросъ о дѣйствіи кипящихъ минеральныхъ кислотъ на разныя бѣлковыя вещества былъ подвергнутъ многочисленнымъ и разностороннимъ изслѣдованіямъ. Методъ расщепленія бѣлковыхъ веществъ съ помощью болѣе или менѣе крѣпкихъ растворовъ минеральныхъ кислотъ сдѣлался однимъ изъ наиболѣе примѣнимыхъ. Вмѣстѣ съ тѣмъ и литература по данному вопросу разрослась до значительныхъ размѣровъ.

Далеко не такое вниманіе удѣлено вопросу о дѣйствіи болѣе или менѣе слабыхъ растворовъ минеральныхъ кислотъ на бѣлковыя вещества. Причину этого, по всей вѣроятности, надо искать въ томъ, что расщепленіе съ помощью слабыхъ растворовъ минеральныхъ кислотъ протекаетъ гораздо медленнѣе и результаты такого расщепленія являются менѣе рельефными, чѣмъ это имѣетъ мѣсто при расщепленіи съ помощью крѣпкихъ минеральныхъ кислотъ. Не смотря на большое значеніе изученія дѣйствія слабыхъ растворовъ упомянутыхъ кислотъ на разныя бѣлковыя вещества для выясненія протеолитическаго дѣйствія пепсина, работы по этому вопросу весьма немногочисленны. Прослѣдивъ имѣющуюся литературу по данному вопросу, можно замѣтить, что, начиная съ 1876 г. до 1885 г. т. е. въ промежуткѣ почти 10 лѣтъ, не появилось ни одной работы, имѣющей болѣе

или менѣе важное значеніе для выясненія вышеупомянутаго вопроса.

Всѣ работы по вопросу о дѣйствиі болѣе или менѣе слабыхъ растворовъ минеральныхъ кислотъ на бѣлковыя вещества ограничивались изслѣдованіемъ возникающихъ при этомъ біуретовыхъ продуктовъ расщепленія. Новое направленіе въ данномъ вопросѣ изчато Д. Лавровымъ, который поставилъ и старался выяснитъ вопросъ о возникновеніи изъ бѣлковыхъ веществъ аминокислотъ подѣ вліяніемъ слабыхъ растворовъ минеральныхъ кислотъ.

Въ своемъ учебникѣ химіи¹⁾ Berzelius отмѣчаетъ, что альбуминъ растворяется въ слабыхъ кислотахъ, и что крѣпкія кислоты осаждаютъ его изъ такихъ растворовъ. Дальнѣйшіе выводы этого автора имѣютъ лишь историческій интересъ.

Bouchardat²⁾, обрабатывая фибринъ разведенною соляною кислотою, нашелъ, что часть его растворяется въ ней, а часть остается безъ измѣненія. Растворимую его часть онъ именовалъ альбуминозой, называя другую часть эпидермозой.

Melsen³⁾, дѣйствуя на растворы бѣлковыхъ веществъ разведенными кислотами, въ присутствіи поваренной, или другой нейтральной соли, получилъ нерастворимый въ водѣ осадокъ. Онъ предполагаетъ, что осадокъ этотъ представляетъ естественный, неизмѣненный бѣлокъ.

Panum⁴⁾, изслѣдуя одновременно съ Melsen'омъ бѣлковый осадокъ, получаемый дѣйствіемъ разведенныхъ кислотъ на бѣлковыя вещества въ присутствіи нейтральныхъ солей,

1) Berzelius, Lehrb. d. Chem. Bd. 9. (1840.)

2) Bouchardat, Comt. rend. 1842. p. 962.

3) Melsen, Arch. de chim. et phys. 1851.

4) Panum, Virchows Arch. Bd. 4, 1852.

показаль, что такой осадокъ возникаетъ у всѣхъ бѣлковыхъ веществъ, и что онъ легко растворимъ въ водѣ и въ очень слабыхъ растворахъ кислотъ. Водный растворъ его при кипяченіи остается безъ измѣненія, -- осадокъ образуется лишь при прибавленіи къ нему извѣстнаго количества нейтральныхъ солей. Раппинъ назвалъ этотъ осадокъ ацидальбуминомъ и слѣлалъ изъ своихъ опытовъ заключеніе, что вышеназванный осадокъ не представляетъ естественный бѣлокъ, какъ это предполагалъ Melsen, но есть продуктъ денатурализаціи бѣлка.

Mulder¹⁾ изучалъ дѣйствіе слабыхъ минеральныхъ кислотъ на глютинъ, фибринъ, яичный бѣлокъ и казеинъ. При продолжительномъ настаиваніи легумина съ 0,5% HCl названный авторъ замѣтилъ образованіе пептона. Тоже самое онъ могъ и наблюдать у фибрина; часть фибрина при этомъ переходитъ въ пептонъ.

Kühne²⁾ получалъ ацидальбуминъ раствореніемъ міозина въ очень разведенной соляной кислотѣ (0,1% HCl).

Meissner³⁾ изслѣдуя дѣйствіе 0,2% HCl на растворъ яичнаго бѣлка, нашелъ, что при этомъ возникаютъ три осаждающіяся спиртомъ тѣла: 1) растворимое въ водѣ и свертывающееся при нагреваніи тѣло, — по всей вѣроятности неизмѣненный первоначальный бѣлокъ, 2) въ водѣ нерастворимое 3) въ водѣ растворимое, но не свертывающееся при нагреваніи тѣло, — по видимому альбумозы.

При пептическомъ перевариваніи бѣлковъ, вышеназванный авторъ нашелъ, что при этомъ перевариваніи возникаетъ вещество, выпадающее при нейтрализаціи его кислыхъ растворовъ; онъ назвалъ его парапептономъ (современный ацидальбуминъ).

1) Mulder, Schmidts Jahrbücher Bd. 101 (1858).

2) Kühne, Protoplasma u. Contractilität Leipzig 1864.

3) Meissner, Zeitschr. f. rat. Med. Bd. 8 (1860).

v. Wittich¹⁾, изслѣдуя дѣйствіе 0,2%, соляной кислоты на бѣлковыя вещества, указываетъ, что концентрація эта достаточна, чтобы въ отсутствіи пепсина перевести фибринъ въ парапептонъ. По его мнѣнію, присутствіе пепсина дѣйствуетъ лишь ускоряющимъ образомъ, какъ бы помогая кислотѣ при ея дѣйстви.

Brücke²⁾ получилъ парапептонъ (въ смыслѣ Meissner'a) дѣйствиемъ 0,1% HCl на фибринъ.

Дальнѣйшія изслѣдованія касательно дѣйствія различныхъ разведенныхъ минеральныхъ кислотъ, въ отсутствіи пепсина, на бѣлковыя вещества были произведены Wolfhügel'em³⁾.

Послѣдній пришелъ къ заключенію, что 0,4% соляная и азотная кислоты при 60° C, и медленнѣе при 40° C, растворяютъ, хотя медленно, прокипяченный фибринъ, при чемъ образуется пептонъ.

Schützenberger⁴⁾ кипятилъ яичный бѣлокъ въ продолженіе двухъ часовъ съ разведенной сѣрной кислотой и замѣтилъ, что часть этого бѣлка растворяется, а часть остается нерастворимой. Не растворившуюся часть Schützenberger назвалъ гемипротеиномъ, а часть растворившуюся при вышеуказанныхъ условіяхъ онъ наименовалъ геми-альбуминомъ. Это указаніе Schützenberger'a согласуется съ вышеприведенными опытными данными Bouchardat'a, обработавшаго фибринъ разведенной HCl при обыкновенной t. Ясно, что геми-альбуминъ Schützenberger'a соотвѣтствуетъ альбуминозѣ Bouchardat'a, а гемипротеинъ, — эпидермозѣ. Гемипротеинъ Schützenberger'a или эпидермоза Bouchardat'a соотвѣтствуютъ установленной впоследствии Kühne антигруппѣ.

1) v. Wittich, Centralbl. d. med. Wiss. 1870 n. 71.

2) Brücke, Sitzungsber. d. Wiener Akad. Bd. 37. (1859.)

3) Pflügers Arch. Bd. 7, p. 193. (1873.)

4) Schützenberger, Chem. Centralbl. 6. Jahrg. 1875.

На стойкость сывороточного альбумина по отношенію къ разведеннымъ кислотамъ было впервые указано Eichwald'омъ,¹⁾ а впоследствии Johansson'омъ.²⁾ Eichwald, дѣйствуя на сывороточный альбуминъ 1% HCl въ продолженіи недѣль, не замѣтилъ ни малѣйшаго измѣненія.

Johansson, производя эти опыты при комн. t и при 40° C, получилъ слѣд. результаты:

А. При комнатной t.

- 1) При дѣйствіи 0,25% HCl въ теченіе болѣе мѣсяца альбуминъ остается безъ измѣненія.
- 2) При дѣйствіи 0,5% HCl въ теченіе 16 дней — образуется небольшое колич. ацидальбумина.
- 3) При дѣйствіи 1% HCl въ теченіе 8 дней — образуется большое колич. ацидальбумина.

Б. При 40° C.

- 1) При дѣйствіи 0,25% HCl въ теченіе 14 дней — образуется небольшое колич. ацидальбумина.
- 2) При дѣйствіи 0,5% HCl въ теченіе 9 дней — образуется среднее колич. ацидальбумина.
- 3) При дѣйствіи 1 и 2% HCl въ теченіе 3 час. — образуется много ацидальбумина.

L. Langstein³⁾ отмѣчаетъ, что 1% растворъ сѣрной кислоты при 37° не въ состояніи растворять, даже въ продолженіи мѣсяцевъ, высушенный при 100° и превращенный въ мелкій порошокъ яичный альбуминъ.

F. Goldschmidt⁴⁾, изслѣдуя дѣйствіе слабой сѣрной и соляной кислотъ, взятыхъ въ разныхъ концентраціяхъ, на

1) Eichwald, Beiträge zur Chem. d. Gewebsbild. Subst. H. 1, Berlin 1873.

2) Johansson, Zeitschr. f. physiol. Chem. 9 (1885).

3) L. Langstein, Zeitschr. f. physiol. Chem. 31 p. 208.

4) F. Goldschmidt, Inaug. Dissert. Strassburg 1898.

растворы яичнаго и сывороточнаго альбуминовъ, приходитъ къ слѣдующему заключенію: дѣйствіе пепсина $+HCl$ при $40^{\circ} C.$ отличается отъ дѣйствія послѣдней безъ пепсина при $40^{\circ} C.$ только скоростью реакціи, но не качествомъ конечныхъ продуктовъ. Придерживаясь воззрѣнія, что продукты расщепленія при пептическомъ перевариваніи не доходятъ до образованія аминокислотъ, онъ и отрицаетъ образованіе ихъ изъ бѣлковыхъ веществъ при дѣйствіи на эти послѣднія минеральныхъ кислотъ, взятыхъ въ слабыхъ концентраціяхъ. При дѣйствіи $0,1\%$ HCl при комн. t и при 40° , расщепленіе названныхъ бѣлковыхъ веществъ доходитъ до образованія альбумозъ А и В; дейтероальбумозы же и лептонъ получаются лишь при $95^{\circ} C.$ Далѣе этотъ авторъ указываетъ, что дѣйствіе HCl проявляется немного энергичнѣе, чѣмъ дѣйствіе H_2SO_4 , и что концентрація и t являются рѣшающими факторами расщепляющаго дѣйствія кислотъ.

При дѣйствіи $12,5\%$ HCl при 30° на желатину, Siegfried¹⁾ получилъ пептонъ глютокиринъ.

По Neuberg'y, по сообщенію Langstein'a²⁾ при дѣйствіи, въ продолженіи года 10% сѣрной кислотой на желатину, образованіе, даже слѣдовъ, аминокислотъ не замѣчается.

Первымъ изслѣдователемъ дѣйствія слабыхъ кислотъ, (въ данномъ случаѣ HCl) на бѣлковыя вещества въ отсутствіи пепсина, а именно, для выясненія вопроса о возникновеніи при этомъ дѣйствіи моноаминокислотъ, является, какъ вышеуказанно, Д. Лавровъ³⁾. Этотъ авторъ подвергалъ продолжительному дѣйствію $0,5\%$ HCl желатину и гемоглобинъ при $37-38^{\circ} C.$; онъ приходитъ къ заключенію, что желатина, какъ и гемоглобинъ resp. глобинъ, пре-

1) Siegfried, Ber. d. sächs. Ges. d. Wiss. 1903 p. 63.

2) Langstein, Zeitschr. f. physiol. Chem. 31.

3) D. Lawrow, Zeitschr. f. physiol. Chem. 43 (1905).

терпѣваютъ при вышеуказанныхъ условіяхъ глубокое расщепленіе, образуя амфопептонъ К $\ddot{u}$ h n e, — по крайней мѣрѣ нѣкоторые изъ него основныхъ составныхъ частей, и азотсодержащіе продукты расщепленія, не осаждающіеся фосфорно-вольфрамовой кислотой, — по всей вѣроятности, какъ полагають авторъ, моноаминокислоты. При болѣе или менѣе продолжительномъ дѣйствіи 0,5% HCl не осаждающіеся ф.-в.¹⁾ кислотой продукты распада возникаютъ, по названному автору, въ болѣе или менѣе значительныхъ количествахъ.

Такимъ образомъ, касательно дѣйствія разведенныхъ минеральныхъ кислотъ, — соляной и сѣрной, — на бѣлковыя вещества, можно отмѣтить слѣдующее:

1) бѣлковыя вещества подъ вліяніемъ слабыхъ растворовъ означенныхъ кислотъ претерпѣваютъ измѣненіе, причемъ образуются ацидальбуминъ, рядъ первичныхъ и вторичныхъ альбумозъ и біуретовые продукты распада, не осаждающіеся сѣрнокислымъ аммоніемъ по К $\ddot{u}$ h n e.

2) Вопросъ о возникновеніи изъ бѣловыхъ веществъ, обрабатываемыхъ слабыми растворами означенныхъ минеральныхъ кислотъ, азотистыхъ продуктовъ распада, не осаждающихся ф.-в. кислотой, геср. моноаминокислотъ, равно какъ абіуретовыхъ продуктовъ распада основного характера, — гексонбазъ, — является спорнымъ.

1) Какъ здѣсь, такъ и по преимуществу въ остальныхъ случаяхъ я буду для краткости обозначать фосфорно-вольфрамовую кислоту черезъ „ф.-в. кислота“.

Экспериментальная часть.

Занявшись вопросом о дѣйстви разведенныхъ минеральныхъ кислотъ на бѣлковыя вещества, я поставилъ своею задачею выяснитъ дѣйстви 0,5% HCl на разныя бѣлковыя вещества при 36—38°C, особенно имѣя въ виду образованіе моноаминокислотъ, какъ таковыхъ. Соляная кислота въ означенномъ разведеніи мною была взята потому, что ею — въ 0,5%-номъ разведеніи — обычно пользуются при искусственномъ пептическомъ перевариваніи. Изслѣдуя съ одной стороны дѣйстви 0,5% HCl при 36—38°C на то или другое бѣлковое вещество въ отсутствіи пепсина, и съ другой стороны, изслѣдуя дѣйстви этой-же кислоты при означенныхъ концентраціи и температурѣ — на то-же самое бѣлковое вещество въ присутствіи пепсина, мы можемъ ближайше выяснитъ функцію пепсина, какъ фермента.

Для моихъ опытовъ служили слѣдующія бѣлковыя вещества:

- a) Желатина.
- b) Свернутые бѣлки лошадиной кровяной сыворотки, какъ влажные, такъ и высушенные при 103—105° C.
- c) Казеинъ коровьяго молока.
- d) Кристаллическій гемоглобинъ лошадиной крови.
- e) Альбумозы, выдѣленные изъ пептона Witte.

Желатина мною была взята для опыта по слѣдующему соображенію: хотя этотъ альбуминоидъ является такимъ бѣлковымъ веществомъ, которое довольно резистентно по отношенію къ протеолитическимъ ферментамъ, однако онъ подвергается протеолитическому расщепленію подъ вліяніемъ

0,5% HCl съ образованіемъ азотистыхъ продуктовъ распада, не осаждающихся ф—в. кислотой, какъ это показаль Д. Лавровъ¹⁾. Если только при этомъ расщепленіи образуются моноаминокислоты, какъ таковыя, то изслѣдованіе смѣси этихъ кислотъ представляетъ то удобство, что среди нихъ долженъ находиться гликоколль, который входитъ въ составъ частицы желатины въ относительно большомъ количествѣ и который сравнительно легко изолируется въ видѣ гиппуровой кислоты.

Свернутые бѣлки лошадиной кровяной сыворотки мною были использованы потому, что альбумины и глобулины этой сыворотки, будучи взяты въ свернутомъ состояніи, являются веществами, обнаруживающими довольно значительную резистентность по отношенію къ протеолитическимъ ферментамъ. Поэтому, если только 0,5% HCl вызываетъ болѣе или менѣе энергичное расщепленіе ихъ, — что является открытымъ вопросомъ, — то это обстоятельство могло бы наглядно демонстрировать энергичное дѣйствіе 0,5% HCl, какъ гидролитическаго расщепителя. — Часть этихъ свернутыхъ бѣлковъ мною была предварительно высушена при 103—105° C, что было сдѣлано съ ближайшею цѣлью параллельно выяснитъ значеніе высушиванія бѣлковыхъ веществъ касательно ихъ расщепляемости подѣ вліяніемъ 0,5% HCl.

Казеинъ коровьяго молока мною былъ использованъ для того, чтобы опредѣлить дѣйствіе 0,5% HCl при вышеуказанныхъ условіяхъ на этотъ нуклеоальбуминъ, являющійся сравнительно трудно перевариваемымъ подѣ вліяніемъ гидролитическихъ агентовъ.

Гемоглобинъ лошадиной крови, 2 раза перекристаллизованный, былъ взятъ для опытовъ мною съ цѣлью выяснитъ дѣйствіе 0,5% HCl при вышеозначенной *t* на нативный бѣлокъ,

1) D. Lawrow, Zeitschr. f. physiol. Chem. 43.

именно, глобинт, вообще легко подвергающийся протеолитическому расщепленію.

Альбумозы брались для опыта съ цѣлью выяснить, на сколько энергично дѣйствіе 0,5% HCl при означенныхъ условіяхъ на эти біуретовые продукты распада бѣлковыхъ веществъ. Съ этою цѣлью мною была взята смѣсь альбумозъ, полученныхъ изъ пептона Witte; эта смѣсь не содержала ни азотистыхъ продуктовъ, не осаждающихся ф.-в. кислотой, ни продуктовъ, не осаждающихся сѣрниокислымъ аммоніемъ по Kühne.

Желатина.

Однимъ изъ характерныхъ свойствъ желатины, какъ бѣлковаго вещества, является ея стойкость по отношенію къ протеолитическимъ ферментамъ. По Pick'y¹⁾ она является типичнымъ представителемъ антигруппы. При пептическомъ перевариваніи этого вещества расщепленіе его доходитъ до образованія альбумозъ, названныхъ у желатины желатозами, и пептоновъ; Д. Лавровъ²⁾ получилъ при продолжительномъ пептическомъ перевариваніи желатины моноаминокислоты (лейцинъ). Продуктовъ болѣе глубокаго распада не замѣчалось даже при триптическомъ перевариваніи желатины;³⁾ лишь Reich-Herzberger⁴⁾ указываетъ, что имъ получены при названномъ перевариваніи небольшія количества лейцина. При гидролитическомъ расщепленіи желатины съ помощью кипящихъ минеральныхъ кислотъ получены по E. Fischer'y:⁵⁾ гликоколъ до 16,5%, лейцинъ 2,1%, аланинъ и глутаминовая кислоты

1) Pick, Zeitschr. f. physiol. Chem. 28 p. 219 (1899).

2) D. Lawrow, l. c.

3) Kühne u. Ewald. Verh. d. naturh. med. Ver. zu Heidelberg N. F. I.

4) Reich-Herzberger, Zeitschr. f. physiol. Chem. 34.

5) E. Fischer, Zeitschr. f. physiol. Chem. 35 p. 79.

по 0,8%. Кромѣ указанныхъ продуктовъ распада желатины E. Fischer'омъ и его сотрудниками¹⁾ получены изъ желатины α -пирролидин-карбоновая кислота и фенилаланинъ. Въ виду отсутствія тирозина, фенилаланинъ является единственнымъ производнымъ ароматическаго ряда, входящимъ въ составъ молекулы желатины. Что касается распредѣленія азота въ молекулѣ желатины, то по Hausmann'у²⁾ 62,56% азота приходятся на долю моноаминокислотъ, 35,83% на діаминокислотъ и 1,6% на амміачный азотъ.

Такъ какъ гликоколлъ является въ преобладающемъ количествѣ среди продуктовъ гидролитическаго расщепленія желатины и, такъ какъ изолированіе его въ видѣ гиппуровой кислоты по способу Ch. Fischer'a³⁾ достигается довольно легко и надежно, то, чтобы убѣдиться въ томъ, дошло ли расщепленіе желатины при данныхъ условіяхъ до образованія амидокислотъ, является подходящимъ руководиться наличностью гликоколла между ся продуктами распада.

Въ виду того, что изолированіе моноаминокислотъ по способу эстеризаціи E. Fischer'a можетъ само по себѣ вести къ расщепленію бѣлковыхъ веществъ и тѣхъ или другихъ образующихся продуктовъ ихъ распада, то для выдѣленія гликоколла изъ нижеописанной смѣси продуктовъ, не осаждающихся ф.—в. кислотой, я пользовался вышеупомянутымъ способомъ Ch. Fischer'a.

Настаиваніе желатины съ 0,5% соляной кислотой и изслѣдованіе продуктовъ распада.

900 гр. лучшаго сорта французской желатины были изрѣзаны на мелкіе куски и смѣшаны въ объемистой бутылѣ съ 15 литр. 0,5% соляной кислоты (175 к. с. HCl уд. в. 1,19

1) E. Fischer, Zeitschr. f. physiol. Chem. 35 p. 70.

2) Hausmann, Zeitschr. f. physiol. Chem. 27 p. 95.

3) Ch. Fischer, Zeitschr. f. physiol. Chem. 19 p. 164.

на 15 литр.) съ избыткомъ хлороформа, послѣ чего смѣсь была поставлена въ термостатъ при $36-38^{\circ}$ С. Черезъ 2 дня полученный растворъ желатины былъ въ тепломъ видѣ профильтрованъ и поставленъ обратно (7.Х.904) въ термостатъ при вышеуказанной t съ значительнымъ избыткомъ хлороформа. Отъ времени до времени, періодически, изъ настаиваемаго раствора брались пробы для опредѣленія въ нихъ, какъ общаго, такъ и моноаминоваго азота. Повторное опредѣленіе общаго азота желатиноваго раствора я считалъ нужнымъ производить потому, что процентное содержаніе этого азота въ данномъ растворѣ могло, хотя и незначительно, измѣняться въ зависимости, какъ отъ испаренія жидкости во время продолжительнаго настаиванія, такъ и отъ прибавленія къ ней свободной соляной кислоты (см. ниже).

Осажденіе бѣлковыхъ веществъ, равно какъ разныхъ продуктовъ ихъ распада, съ помощью фосфорно-вольфрамовой кислоты въ присутствіи минеральныхъ кислотъ производится разными авторами при разныхъ концентраціяхъ этихъ кислотъ: иные осаждаютъ въ присутствіи $0,5\%$ той или другой кислоты, другіе берутъ 5% -ное и большее содержаніе этихъ кислотъ. Я, по указанію проф. Д. Лаврова, производилъ осажденіе изслѣдуемыхъ мною растворовъ ф.-в. кислотой въ присутствіи $0,5\%$ сѣрной кислоты, причемъ я прибавлялъ ф.-в. кислоту только до тѣхъ поръ, пока осаждаемый мною растворъ давалъ осадокъ съ этимъ реактивомъ.

Осажденіе я производилъ слѣдующимъ образомъ. Въ градуированную колбу вводилось точно отмѣренное пипеткой количество профильтрованного изслѣдуемаго раствора, послѣдній разбавлялся $0,5\%$ -ной сѣрной кислотой до $\frac{2}{3}$ объема колбы и къ жидкости прибавлялся осторожно, небольшими порціями 10% водный растворъ ф.-в. кислоты (pro analysi) до тѣхъ поръ, пока при дальнѣйшемъ прибавленіи реактива возникалъ осадокъ, resp. муть. По окончаніи осажденія, содер-

жимое колбы разбавлялось 0,5% сѣрной кислотой до мѣтки и тщательно взбалтывалось. На другой день, послѣ предварительнаго контроля на полноту осажденія, содержимое колбы профильтровалось и въ опредѣленномъ объемѣ фильтрата опредѣлился азотъ по Kjeldahl'ю. Для опредѣленія азота по этому способу, нѣсколько видоизмѣненному, я производилъ кипяченіе данной пробы съ 15 к. с. концентрированной сѣрной кислоты (pro analysi) съ прибавленіемъ сѣ. 1—2 гр. $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ и 3—5 гр. K_2SO_4 , до тѣхъ поръ, пока проба не становилась свѣтлозеленаго цвѣта, послѣ чего кипяченіе поддерживалось еще $\frac{1}{2}$ часа. При охлажденіи содержимое колбы представляется совершенно безцвѣтною. Обратное титрованіе дистиллата въ приѣмникѣ, содержащаго $\frac{n}{10} \cdot \text{H}_2\text{SO}_4$, производилось съ помощью $\frac{n}{10}$ ѣдкаго натрія. Индикаторомъ служила розоловая кислота.

Означенное настаиваніе желатины продолжалось сѣ 150 дней. Нужно отмѣтить, что съ 20. XII. 904 до 12. I. 905 г. растворъ держался не въ термостатѣ, а при комн. t.

Послѣ сѣ 2 $\frac{1}{2}$ мѣсячнаго стоянія раствора желатины въ термостатѣ, растворъ былъ количественно изслѣдованъ на свободную соляную кислоту путемъ титрованія его $\frac{n}{10} \cdot \text{NaOH}$, при флороглюцин-ваниллинѣ, какъ индикаторѣ. Оказалось, что растворъ содержалъ лишь 0,1% свободной соляной кислоты. Повторное опредѣленіе подтвердило результаты предшествовавшаго опредѣленія. Послѣ этого къ раствору желатины было добавлено (18. I. 905) соляной кислоты до первоначальнаго — 0,5%-наго — содержанія ея. Количественныя опредѣленія свободной соляной кислоты въ этомъ растворѣ были повторены 8. II. 905 г. и 10. IV. 905 г., причемъ при первомъ опредѣленіи растворъ содержалъ 0,43% свободной HCl , а при второмъ — 0,29%. Изъ этого опыта явствуется, что при настаиваніи желатины съ 0,5% HCl при 36—38° С происходитъ постепенное связываніе свободной соляной кислоты.

Настаиваемый растворъ желатины, ради контроля на присутствіе какого-либо протеолитическаго фермента, былъ изслѣдованъ по Метту. Цилиндрики (бѣлковые), поставленные 16.X.904 г. съ растворомъ, оказались при разсматриваніи ихъ 5.XI.904 г. не растворенными.

Таблица № 1 служитъ дополненіемъ къ таблицѣ № 2: въ ней приводятся аналитическія данныя касательно содержанія общаго азота въ настаиваемомъ растворѣ желатины.

Т а б л и ц а № 1.

	Пробы	Количество взятаго раствора желатины	Количество $n/_{10}$ H ₂ SO ₄ , связан- ной NH ₃ -омъ въ приёмникѣ	Количество азота въ 100 к. с. раствора желатины
7. X 904 г.	I	10 к. с.	53,8 к. с.	- 0,790 гр.
	II	10 к. с.	53,9 к. с.	
			} = 53,8 к. с.	
13. XI 904 г.	I	10 к. с.	54,1 к. с.	-- 0,796 гр.
	II	10 к. с.	54,3 к. с.	
			} = 54,2 к. с.	
14. XII 904 г.	I	10 к. с.	53,3 к. с.	== 0,799 гр.
	II	10 к. с.	53,5 к. с.	
			} = 53,4 к. с.	
14. I 905 г.	I	10 к. с.	54,6 к. с.	-- 0,797 гр.
	II	10 к. с.	54,6 к. с.	
4. II 905 г.	I	10 к. с.	53,2 к. с.	0,776 гр.
4. III 905 г.	I	10 к. с.	53,2 к. с.	0,776 гр.
27. III 905 г.	I	10 к. с.	52,8 к. с.	0,770 гр.

Примѣчаніе. Титръ 1 к. с. $n/_{10}$ H₂SO₄ по 13. XI. 904 г. соотвѣтствовалъ 0,00147 гр. азота; титръ 1 к. с. этой кислоты въ остальныхъ пробахъ соотв. 0,00146 гр. азота.

Касательно содержания таблицы № 2 укажу на слѣдующее. Въ рубрикѣ „пробы“ приводятся данныя относительно того, при какомъ разведеніи (0,5% сѣрной кисл.) изслѣдуемаго раствора желатины производилось осажденіе его съ помощью ф.-в. кислоты, такъ что, напр. обозначеніе „50 к. с. до 1000 к. с.“ указываетъ на то, что для осажденія было взято 50 к. с. настаиваемаго раствора желатины и осажденіе производилось при конечномъ разведеніи этого раствора до 1000 к. с. Сверхъ того въ этой рубрикѣ указывается, какое количество фильтрата, полученнаго при данномъ осажденіи, было взято для опредѣленія азота, — моноаминоваго. Послѣдняя графа таблицы содержитъ количественныя аналитическія данныя касательно моноаминоваго азота, (азота продуктовъ распада желатины, не осаждающихся ф.-в. кислотой) содержащагося въ каждыѣхъ 100 к. с. настаиваемаго раствора желатины; эти количественныя данныя выражены, кромѣ того, въ процентахъ, считая на общій азотъ, содержащійся въ 100 к. с. раствора желатины.

Т а б л и ц а № 2.

	П р о б ы	Количество $\frac{n}{10} \cdot \text{H}_2\text{SO}_4$, связанной NH_3 -омъ въ пріемникѣ	Количество моноаминоваго азота въ 100 к. с. раствора желатины	
8. X 904 г.	1-ая проба. 50 к. с. до 1000 к. с., для опредѣл. N взято 100 к. с.	0,35 к. с.	0,01 гр.	} = 0,009 гр., = 1,1% общаго азота
	2-ая проба. 50 к. с. до 500 к. с., для опредѣл. N взято 100 к. с.	0,54 к. с.	0,008 гр.	
	3-ья проба. 100 к. с. до 500 к. с., для опредѣл. N взято 100 к. с.	1,3 к. с.	0,009 гр.	

	П р о б ы	Количество $\frac{n}{10} \cdot \text{H}_2\text{SO}_4$ связанной NH_3 -омъ въ приемникъ	Количество моно-аминового азота въ 100 к. с. раствора желатины
13. XI 904 г.	1-ая проба. 50 к. с. до 500 к. с., для опредѣл. N взято 150 к. с.	7,7 к. с.	} — 0,076 гр., — 9,5% общаго азота
	2-ая проба. Какъ первая.	7,7 к. с.	
	3-ья проба. 100 к. к. до 514,3 к. с., для опредѣл. N взято 150 к. с.	9,9 к. с.	} — 0,052 гр., — 6,25% общаго азота
	4-ая проба. Какъ третья.	9,8 к. с.	
14. XII 904 г.	1-ая проба. 25 к. с. до 500 к. с., для опредѣл. N взято 150 к. с.	5,1 к. с.	0,099 гр., — 12,7% общаго азота
	2-ая проба. 50 к. с. до 500 к. с., для опредѣл. N взято 150 к. с.	9,3 к. с.	0,09 гр., — 11,5% общаго азота
	3-ья проба. 75 к. с. до 500 к. с., для опредѣл. N взято 150 к. с.	11,6 к. с.	0,075 гр., — 9,5% общаго азота
14. I 905 г.	50 к. с. до 500 к. с., для опредѣл. N взято 150 к. с.	10,5 к. с.	0,1 гр., — 12,5% общаго азота
4. II 905 г.	50 к. с. до 500 к. с., для опредѣл. N взято 150 к. с.	16,4 к. с.	0,16 гр., — 20,6% общаго азота
4. III 905 г.	50 к. с. до 500 к. с., для опредѣл. N взято 150 к. с.	20,6 к. с.	0,2 гр., — 25,8% общаго азота
27. III 905 г.	1-ая проба. 50 к. с. до 500 к. с., для опредѣл. N взято 150 к. с.	24,1 к. с.	0,23 гр., — 28,5% общаго азота
	2-ая проба. 75 к. с. до 500 к. с., для опредѣл. N взято 150 к. с.	33,1 к. с.	0,21 гр., — 27,2% общаго азота

Примѣчаніе. О титрѣ $\frac{n}{10} \cdot \text{H}_2\text{SO}_4$ см. прим. къ таблицѣ № 1.

Изъ данныхъ, приведенныхъ въ таблицѣ № 2, явствуетъ слѣдующее:

1) При продолжительномъ настаиваніи желатины съ 0,5% HCl при t 36—38° C, въ присутствіи избытка хлороформа, она претерпѣваетъ постепенное расщепленіе, причемъ возникаютъ азотсодержащіе продукты распада, не осаждающіеся ф.-в. кислотой.

2) По мѣрѣ продолжительности настаиванія желатины съ 0,5% HCl при вышеуказанныхъ условіяхъ, количество азотистыхъ продуктовъ ея распада, не осаждающихся ф.-в. кислотой прогрессивно увеличивается, и, въ данномъ случаѣ, послѣ сд. 150 дневнаго настаиванія, количество азота этихъ продуктовъ достигаетъ 27—29% общего азота испытуемаго раствора.

3) Количественные результаты касательно моноаминового азота, получаемые при осажденіи означеннаго раствора желатины ф.-в. кислотой при различныхъ степеняхъ его разведенія, различны: чѣмъ слабѣе было разведеніе названнаго раствора при осажденіи его ф.-в. кислотой, тѣмъ большее количество азотистыхъ веществъ переходило въ фильтратъ, и наоборотъ.

Итакъ, желатина при настаиваніи ея съ 0,5% HCl , при условіяхъ, исключаящихъ гніеніе, претерпѣваетъ послѣдовательное измѣненіе, относительно довольно энергичное, ведущее къ образованію веществъ типа моноаминокислотъ.

Это измѣненіе желатины въ данномъ случаѣ обнаруживается и тѣмъ, что вращеніе плоскости поляризаціи, производимое изслѣдуемымъ мною растворомъ желатины, по мѣрѣ продолжительности настаиванія этого раствора прогрессивно уменьшалась, какъ это показываетъ таблица № 3. Означенное вращеніе опредѣлялось мною съ помощью полутѣневаго поляризационнаго аппарата Laurent'a при $l=10$ см., и при употребленіи натріеваго пламени.

Таблица № 3.

Пробы.	$[\alpha]$ при 1 — 10 см.
15. XII. 904 г.	5° 8'
24. I. 905 „	5° 0'
1. II. 905 „	— 4° 37'
15. II. 905 „	— 4° 26'
4. III. 905 „	— 4° 2'
26. III. 905 „	4° 0'

Раздѣленіе продуктовъ расщепленія желатины.

Растворъ желатины, послѣ вышеописаннаго настаиванія въ термостатѣ, былъ подвергнутъ дальнѣйшему изслѣдованію для раздѣленія продуктовъ распада желатины. Взятый для этой цѣли изъ термостата (28. III. 905 г.) растворъ былъ прозраченъ и сильно пахнулъ хлороформомъ. Отдѣленный фильтрованіемъ отъ незначительнаго осадка растворъ содержалъ 0,77% азота. 8,3 литра профильтрованного раствора были разведены двумя частями дистиллированной воды и смѣсь подкислена сѣрной кислотой до 0,5%. Къ подкисленному раствору прибавлялся 20%-ный растворъ приготовленной по способу Drechsel'я ¹⁾ фосфорно-вольфрамовой кислоты до тѣхъ поръ, пока при дальнѣйшемъ прибавленіи реактива возникалъ осадокъ геср. муть. На другой день, послѣ предварительнаго контроля на полноту осажденія, обильный осадокъ былъ собранъ на фильтрѣ, растертъ вмѣстѣ съ бумагою

¹⁾ Drechsel, Ber. d. d. chem. Ges. XX. p. 1454.

въ ступкѣ и тщательно смѣшанъ съ 10 литр. дистиллированной воды, предварительно подкисленной сѣрной кислотой (— съ прибавленіемъ небольшого количества ф.-в. кислоты). Послѣ 3-часового стоянія, смѣсь была профильтрована, оставшійся на фильтрѣ осадокъ былъ фильтрованъ на нучѣ, вторично по прежнему смѣшанъ съ 8 литр. воды, собранъ на фильтрѣ и вторично фильтрованъ на нучѣ. Для разложенія осадка, онъ былъ растертъ съ 8 литр. дистиллированной воды и къ смѣси былъ прибавляемъ по частямъ насыщенный, теплый растворъ ѣдкаго барита до тѣхъ поръ, пока фильтратъ не сталъ реагировать съ угольной кислотой. Послѣ 6 часового стоянія при 40° смѣсь была профильтрована и осадокъ фосфo-вольфрамата барія тщательно промытъ водою. Первоначальный фильтратъ отъ разложеннаго ѣдкимъ баритомъ осадка, какъ и промывныя фильтраты этого осадка, были соединены вмѣстѣ, и смѣсь обрабатывалась угольной кислотой до тѣхъ поръ, пока проба не перестала реагировать съ послѣдней. Послѣ этого жидкость (вмѣстѣ съ осадкомъ) была сгущена на водяной банѣ до сѣ. 5 литровъ, отдѣлена отъ осадка (— BaCO_3), и оставшіеся въ ней слѣды барита были удалены окончательно съ помощью сѣрной кислоты, послѣ чего жидкость была дальнѣйше сгущена при сѣ. 40° С. до 2,66 литровъ. Этотъ сгущенный растворъ продуктовъ распада желатинны, осаждающихся ф.-в. кислотой я для краткости называю растворомъ В. Растворъ В содержалъ:

азота	1,5%	= 39,9	гр. въ 2,66 литр. раствора,
сухого остатка	6,76%	= 179,81	” ” ” ” ”
зола	0,01%	= 0,266	” ” ” ” ”
органическ. вещ.	6,75%	= 179,55	” ” ” ” ”

Продукты распада, не осаждающіеся ф.-в. кислотой.

Первоначальный фильтратъ отъ осадка, полученнаго обработкой раствора желатинны ф.-в. кислотой, какъ и промыв-

няя фильтраты этого осадка были соединены вмѣстѣ и, для удаленія сѣрной кислоты и связыванія свободной соляной кислоты, были обработаны ѣдкимъ баритомъ, взятымъ въ небольшомъ избыткѣ. Избытокъ барита былъ связанъ угольной кислотой, послѣ чего растворъ былъ сгущенъ на водяной банѣ до сѣ 4 литровъ. Для удаленія барита, къ сгущенному раствору была прибавлена сѣрная кислота въ избыткѣ, осадокъ $BaSO_4$ отфильтрованъ, вслѣдъ за чѣмъ соляная кислота была удалена въ присутствіи свободной сѣрной кислоты съ помощью свѣжеосажденной окиси серебра. Образовавшееся хлористое серебро было отфильтровано и избытокъ серебра удаленъ съ помощью сѣроводорода. Продолжительнымъ пропусканіемъ черезъ фильтратъ, полученный отъ Ag_2S , струи воздуха былъ удаленъ сѣроводородъ, послѣ чего содержащаяся въ растворѣ сѣрная кислота была точно осаждена баритомъ (не было взято избытка послѣдняго). Полученный такимъ образомъ растворъ былъ подвергнутъ сгущенію при сѣ 40° С. до 3 литровъ. Само собою разумѣется, что всѣ полученные при семъ осадки тщательно промывались дистиллированной водой, и промывные фильтраты были присоединяемы къ первоначальнымъ фильтратамъ. Сгущенный до 3 литровъ растворъ былъ отмѣченъ какъ растворъ М. Растворъ этотъ содержалъ:

азота	0,40%,	=12	гр.	въ 3	литр.	раствора.
сухого остатка	2,86%,	=85,8	„	„	3	„ „
зола	0,18%,	= 5,4	„	„	3	„ „
органич. веществъ	2,68%,	=80,4	„	„	3	„ „

Качественныя реакціи растворовъ М и В.

Съ растворами М и В были продѣланы, при возможно одинаковыхъ условіяхъ, нижеслѣдующія реакціи. Для этого растворъ В, содержавшій большее количество органическаго вещества, чѣмъ растворъ М, былъ разведенъ соотвѣтствующимъ

количествомъ воды до одинаковаго съ растворомъ М содержаія органическаго вещества (до 2,68%), — растворъ В'.

Растворъ М.

Растворъ В'.

Реактивъ: 10% водный растворъ ф.-в. кислоты.

1) 5 к. с. раствора М + 1 к. с. 20% H_2SO_4 , + вода до 40 к. с., + 1 к. с. реактива, прибавленнаго по каплямъ, — слабая опалесценція.

НВ. Прибавленіе къ этой смѣси 1 капли раствора В' производить обильную муть.

2) 5 к. с. раствора + 5 к. с. воды, + 1 к. с. 20% H_2SO_4 , + 1 к. с. реактива, — весьма незначительный, пылеобразный осадокъ, скоро оседающій на дно, спекающійся въ незначительный комокъ свѣтло-бураго цвѣта.

5 к. с. раствора + 1 к. с. 20% H_2SO_4 , + вода до 40 к. с., + 1 к. с. реактива, — обильный хлопч. осадокъ. При дальнѣйшемъ прибавл. реактива смѣсь превратилась въ густую кашеобразную — отъ обильнаго осадка — массу.

Біуретовая реакція.

1 к. с. раствора + 9 к. с. воды + 1 к. с. 10% $NaOH$ + 3 капли 5% $CuSO_4$: сначала очень слабое розово-красное окрашиваніе, принимавшее потомъ фіолетовый оттѣнокъ. При дальнѣйшемъ прибавленіи $CuSO_4$ окрашиваніе становится интенсивно-синимъ.

При условіяхъ раствора М, — розово-красное окрашиваніе средней степени. При дальнѣйшемъ прибавленіи $CuSO_4$ окрашиваніе дѣлается сине-фіолетовымъ.

Красная и синяя лакмусов. бумажки.

Слабо-кислая реакція.

Щелочная реакція.

Реактивъ Эсбаха.

Растворъ + реактивъ въ равныхъ объемахъ, — безъ измѣненія.		Растворъ + реактивъ въ равныхъ объемахъ, — обиль- ный, хлопч. осадокъ.
--	--	--

5% водный растворъ сулемы.

При прибавленіи по каплямъ реактива смѣсь остается безъ измѣненія. Осторожное при- бавленіе 10% NaOH, — по кап- лямъ, — производитъ хлопча- тый осадокъ.		Прибавленіе реактива по каплямъ къ раствору произво- дитъ обильный осадокъ.
---	--	---

Изъ только-что приведеннаго ряда качественныхъ реакцій видно, что растворы М и В рѣзко отличаются по своимъ реакціямъ между собою.

Растворъ М.

Выдѣленіе моноаминокислотъ.

Для достиженія этой цѣли, съ растворомъ М были произведены слѣдующія пробы:

- 1) выдѣленіе кристаллизующихся продуктовъ путемъ сгущенія раствора,
- 2) полученіе мѣдныхъ солей аминокислотъ,
- 3) обработка β -нафталинсульфохлоридомъ,
- 4) бензоилированіе по способу Ch. Fischer'a и
- 5) разложеніе съ помощью 20% HCl.

Выдѣленіе кристаллизующихся продуктовъ путемъ сгущенія раствора. 500 к. с. раствора М были сгущены, сначала на водяной банѣ, потомъ въ вакуумъ-эксиккаторѣ при комн. t до густоты жидкаго сиропа. Вынутый изъ эксиккатора и поставленный при комн. t растворъ послѣ 3-не-

дѣльнаго стоянія не закристаллизовался, т. е. никакого кристаллическаго осадка подъ микроскопомъ не наблюдалось. Послѣ этого къ сгущенному раствору было прибавлено небольшое количество воды и 20% сѣрная кислота до слабой реакціи съ конго. На другой день на днѣ чашечки замѣчался тяжелый минеральный осадокъ, состоящій изъ сѣрнокислой извести. Къ освобожденному отъ CaSO_4 и нагрѣтому до 60°C раствору былъ прибавленъ по частямъ 95° спиртъ. При смѣшиваніи со спиртомъ растворъ сначала остается прозрачнымъ, но при дальнѣйшемъ прибавленіи спирта возникала сильная муть, исчезающая при прибавленіи воды. Подъ микроскопомъ въ мутѣ наблюдалась масса маслообразныхъ шариковъ. Смѣшанный со спиртомъ до предѣловъ появленія мутѣ, растворъ былъ въ закрытой колбочкѣ оставленъ въ холодномъ мѣстѣ; послѣ стоянія въ продолженіи недѣли не возникло никакого кристаллическаго осадка.

Такимъ образомъ, полученіе изъ раствора М какихъ-либо кристаллизующихся продуктовъ посредствомъ сгущенія этого раствора, равно какъ черезъ сгущеніе и прибавленіе спирта, не удалось.

Полученіе мѣдныхъ солей. 180 к. с. раствора М были сгущены до сѣ 100 к. с., и къ сгущенному раствору былъ прибавленъ при нагрѣваніи на водяной банѣ свѣжеосажденный гидратъ окиси мѣди въ нѣкоторомъ избыткѣ. Смѣсь была профильтрована, оставшійся на фильтрѣ осадокъ (— избытокъ гидрата окиси мѣди) промытъ горячей водой и фильтратъ, какъ и промывныя воды соединены вмѣстѣ и сгущены при $45-50^\circ$. Даже послѣ 6 недѣльнаго стоянія при комн. т не возникло никакого кристаллическаго осадка.

Такимъ образомъ, изъ раствора М не удалось получить никакихъ кристаллическихъ продуктовъ распада въ видѣ

болѣе или менѣе трудно растворимыхъ кристаллизующихся мыльных солей.

Обработка β -нафталинсульфохлоридомъ. Попытка выдѣлить аминокислоты въ видѣ β -нафталинсульфо-продуктовъ производилась мною по способу E. Fischer'a и P. Bergell'a, незначительно видоизмѣненнаго A. Ignatowsk'имъ¹⁾, слѣд. обр.: 500 к. с. раствора М были сгущены до сà 100 к. с., сгущенный растворъ былъ подщелоченъ ѣдкимъ натріемъ до ясно-щелочной реакціи, къ нему былъ прибавленъ растворъ 5 гр. β -нафталинсульфохлорида въ 50 гр. эфира, и смѣсь взбалтывалась въ продолженіи 3 часовъ, при соблюденіи щелочной реакціи смѣси. Послѣ этого къ смѣси было прибавлено 2 раза по 3 гр. β -нафталинсульфохлорида, раствореннаго въ 30 гр. эфира, причемъ послѣ каждого прибавленія реактива смѣсь по прежнему взбалтывалась втеченіи 3 час. при поддерживаніи щелочной реакціи. Послѣ этой операціи смѣсь отстаивалась, причемъ верхній, эфирный слой былъ слитъ. Нижній, водный слой былъ профильтрованъ, къ прозрачному фильтрату прибавлена соляная кислота до ясной реакціи съ конго, причемъ появилась молочнаго цвѣта, съ желтоватымъ оттѣнкомъ, муть. Мутная, кислой реакціи жидкость взбалтывалась въ продолженіи 3 часовъ съ равнымъ объемомъ эфира, послѣ чего эфирный слой былъ отдѣленъ и водная жидкость вторично взбалтана съ равнымъ объемомъ эфира. Эфирныя вытяжки соединялись вмѣстѣ и по удаленіи эфира получилось небольшое количество прозрачной, смолистой, густо-сиропообразной массы β -нафталинсульфо-продуктовъ. Отношеніе остатка къ рѣстворителямъ оказалось слѣдующее: 1) остатокъ отчасти растворимъ въ кипящей водѣ, давая при охлажденіи молочнаго цвѣта муть. 2) Остатокъ растворяется,

1) A. Ignatowsky, Zeitschr. f. physiol. Chem. 42 p. 371.

хотя трудно, въ горячемъ 20% спиртѣ, образуя прозрачный растворъ, который при охлажденіи мутнѣетъ. 3) Въ крѣпкомъ спиртѣ, хлороформѣ и уксусномъ эфирѣ легко растворимъ, въ этиловомъ эфирѣ труднѣе.

Означенная смѣсь β -нафталинсульфо-продуктовъ была растворена въ небольшомъ количествѣ горячаго 20% спирта. Прозрачный растворъ при охлажденіи сильно замутился, превращаясь въ бѣлаго цвѣта эмульсію. Послѣ 10-дневнаго стоянія на холоду этотъ 20%-ный растворъ не далъ никакого кристаллическаго осадка.

Итакъ, растворъ М даетъ смѣсь β -нафталинсульфо-продуктовъ, которая по отношенію къ вышеуказаннымъ растворителямъ весьма походитъ на таковыя продукты моноаминокислотъ, но существенно отличается отъ послѣднихъ тѣмъ, что является некристаллизующеюся, аморфной массой.

Бензоилированіе. 500 к. с. раствора М, содержащія сѣ. 13 гр. органическ. веществъ или 2 гр. азота, были сгущены на водяной банѣ до сѣ. 100 к. с. Сгущенный растворъ былъ сильно подщелоченъ ѣдкимъ натріемъ, и къ нему прибавлялся по частямъ бензоилхлоридъ до тѣхъ поръ, пока запахъ послѣдняго исчезалъ. Во время бензоилированія смѣсь по мѣрѣ надобности охлаждалась холодной водою, для избѣжанія болѣе или менѣе сильнаго нагрѣванія ея. Послѣ каждаго прибавленія бензоилхлорида смѣсь тщательно взбалтывалась. Поочередно съ прибавленіемъ бензоилхлорида, къ объекту добавлялся, для поддерживанія щелочной реакціи, крѣпкій растворъ ѣдкаго натрія. Въ 1½ часа бензоилированіе было окончено. Изъ смѣси выдѣлились комки липкой, свѣтло-желтаго цвѣта, смолистой аморфной массы и аморфный хлопчатый осадокъ. Для выдѣленія бензойной кислоты и растворенныхъ въ щелочи бензоилпродуктовъ къ этой смѣси была прибавлена крѣпкая соляная кислота до ясной реакціи съ конго.

Для извлеченія только-что указанныхъ продуктовъ объектъ повторно взбалтывался въ дѣлительной воронкѣ съ уксуснымъ эфиромъ до тѣхъ поръ, пока уксусноэфирная вытяжка при испареніи на часовомъ стеклышкѣ не давала замѣтный остатокъ. Названныя вытяжки были профильтрованы и уксусный эфиръ отогнанъ, послѣ чего получился смолистый, свѣтложелтаго цвѣта остатокъ. Для удаленія бензойной кислоты этотъ остатокъ былъ обработанъ въ колбѣ съ обратнымъ холодильникомъ кипящимъ петролейнымъ эфиромъ. Извлеченіе продолжалось до тѣхъ поръ, пока выпаренная на часовомъ стеклышкѣ проба вытяжки петролейнаго эфира стала оставлять на стеклышкѣ лишь слабый налетъ. Послѣ обработки петролейнымъ эфиромъ, по удаленіи послѣдняго, получилась твердая при комн. t , смолистая, аморфная масса. Отношеніе этой массы къ растворителямъ слѣдующее: 1) легко растворима безъ остатка въ хлороформѣ, что, безъ всякаго сомнѣнія, указываетъ на отсутствіе въ этой смѣси бензоилпродуктовъ гиппуровой кислоты. 2) Растворяется легко въ уксусномъ эфирѣ. 3) Отчасти, хотя весьма трудно, растворима въ кипящей водѣ, причемъ растворъ при охлажденіи давалъ молочнаго цвѣта муть, исчезающую при нагрѣваніи его. Муть растворялась и въ щелочи; по прибавленіи къ такому раствору раствора сѣрно-кислой мѣди получалась ясная біуретовая реакція. 4) Въ холодномъ этиловомъ эфирѣ весьма трудно растворима, въ кипящемъ, — замѣтно легче. 5) Растворима въ 90° спиртѣ.

Горячій водный растворъ бензоилпродуктовъ былъ подкисленъ сѣрною кислотой; при прибавленіи къ такому раствору ф.-в. кислоты возникъ пылеобразный осадокъ, осѣвшій на дно пробирки въ видѣ очень тонкаго, желтовато-бураго слоя.

Итакъ, вещества раствора М, не осаждающіяся ф.-в. кислотой, способны бензоилироваться по вышеуказанному

методу. Смѣсь бензоилпроизводныхъ этихъ продуктовъ является, какъ упомянуто, аморфной. Горячіе водные растворы этой аморфной смѣси бензоилпродуктовъ давали такіе же аморфные осадки. Весьма характернымъ для этой смѣси является то, что она не содержала гиппуровой кислоты. Если принять во вниманіе, что гликоколль является однимъ изъ главныхъ продуктовъ распада желатины и что онъ легко бензоилируется и изолируется въ видѣ гиппуровой кислоты по вышеуказанному способу изъ смѣсей бензоилпроизводныхъ различныхъ моноаминокислотъ, получаемыхъ при расщепленіи желатины, то на основаніи моего вышеприведеннаго опыта съ бензоилированіемъ веществъ раствора М приходится заключить, что этотъ растворъ не содержалъ гликоколля, какъ такового.

Итакъ, всѣ мои вышеописанныя попытки, изолировать изъ раствора М какую-либо моноаминокислоту при помощи тѣхъ обычныхъ методовъ, какіе примѣняются для изолированія этихъ продуктовъ распада бѣлковыхъ веществъ — способъ эстеризаціи аминокислотъ по E. Fischer'у въ данномъ случаѣ не могъ быть примѣненъ по выше приведенному соображенію — дали отрицательные результаты.

Такимъ образомъ, приходится заключить, что при продолжительномъ настаиваніи желатины съ 0,5% HCl, при вышеприведенныхъ условіяхъ, этотъ альбуминоидъ расщепляется съ образованіемъ азотистыхъ продуктовъ, не осаждающихся ф.-в. кислотой. Моноаминокислоты при данномъ настаиваніи не возникли.

Естественно было предположить, не содержитъ ли растворъ М такіе азотистые продукты распада желатины, которые представляютъ собою какія-либо комбинаціи моноаминокислотъ, до нѣкоторой степени аналогичныя полипептидамъ E. Fischer'a и E. Abderhalden'a¹⁾.

1) E. Fischer, etc. Zeitschr. f. physiol. Chem. 39 p. 81 u. 40 p. 215.

Исходя изъ этого предположенія, я подвергалъ продукты раствора М дальнѣйшему расщепленію при помощи кипящей 20% HCl .

Разложеніе раствора М 20% соляной кислотой. Часть раствора М была сгущена на водяной банѣ до 300 к. с.; 200 к. с. сгущеннаго раствора, содержащаго 19,28% органическаго вещества, кипятились 35 часовъ на песчаной банѣ въ колбѣ, съ обратнымъ холодильникомъ, съ 20% HCl , въ присутствіи небольшого количества SnCl_2 . Свѣтло-бурого цвѣта содержимое колбы было профильтровано, изъ фильтрата соляная кислота удалена съ помощью окиси серебра въ присутствіи свободной H_2SO_4 . Фильтратъ, полученный отъ хлористаго серебра, обрабатывался сѣроводородомъ. Сѣрная кислота была удалена изъ фильтрата ѣдкимъ баритомъ при избѣганіи избытка послѣдняго и, послѣ удаленія сѣрнокислаго барита, фильтратъ былъ сгущенъ до 1 литра и отмѣченъ для краткости подъ названіемъ раствора R. Послѣдній содержалъ 0,5% азота. Изъ раствора R взято:

- а) 250 к. с. для полученія кристаллическихъ продуктовъ,
- б) 250 к. с. „ „ мѣдныхъ солей и
- в) 250 к. с. „ бензоилированія.

Примѣчаніе. Въ каждахъ 250 к. с. раствора R содержалось 1,25 гр. азота.

а) Полученіе кристаллическихъ продуктовъ. 200 к. с. раствора R были сгущены до консистенціи сиропа. Послѣ 15 час. стоянія въ прохладномъ мѣстѣ изъ объекта выдѣлился органическій осадокъ, состоящій изъ массы микроскопическихъ лейцинообразныхъ шариковъ съ радіально исчерченностію, и отдѣльныхъ тонкихъ иглочекъ.

Итакъ, вещества раствора М даютъ при кипяченіи съ 20% HCl массу легко кристаллизующихся продуктовъ.

б) Полученіе мѣдныхъ солей. Для обработки гидратомъ окиси мѣди 250 к. с. раствора R были сгущены до сѧ 60 к. с. Къ сгущенному, нагрѣтому на водяной банѣ раствору прибавлялся свѣжеосажденный гидратъ окиси мѣди до нѣкотораго избытка. Послѣ $\frac{1}{2}$ час. нагрѣванія на водяной банѣ смѣсь была профильтрована и оставшійся избытокъ гидрата окиси мѣди на фильтрѣ былъ промытъ горячей водой. Первоначальный, какъ и промывные фильтраты были соединены вмѣстѣ и сгущены на водяной банѣ при сѧ. 50° до консистенціи жидкаго сиропа, послѣ чего смѣсь была оставлена на стояніе при комн. t. На другой день изъ сгущеннаго раствора выдѣлился, въ среднемъ количествѣ, осадокъ, состоящій изъ мелкихъ шариковъ и изъ отдѣльныхъ мелкихъ иглочекъ.

Такимъ образомъ, вещества раствора M, при расщепленіи ихъ съ помощью 20% HCl переходятъ въ продукты распада, которые даютъ легко кристаллизующіяся мѣдныя соли.

с) Бензоилированіе. Убѣдившись въ присутствіи кристаллизующихся продуктовъ въ растворѣ R, я подвергъ его бензоилированію по вышеописанному способу Ch. Fischer'a. Для этой цѣли 250 к. с. раствора были сгущены до $\frac{1}{5}$ первоначальнаго объема и обрабатывались, при соблюденіи щелочной реакціи, бензоилхлоридомъ, какъ это описано при бензоилированіи раствора M, причемъ израсходовано 38 к. с. реагента. Послѣ подкисленія полученной смѣси соляной кислотой, извлеченія бензоилпродуктовъ и бензойной кислоты уксуснымъ эфиромъ и удаленія послѣдняго отгонкой, получился свѣтло-желтаго цвѣта, отчасти смолистый, отчасти кристаллическій остатокъ. Остатокъ былъ высушенъ и обработанъ хлороформомъ, причемъ часть его легко растворилась въ немъ, а часть не растворилась, образуя бѣлый порошокъ, собравшійся на поверхности хлороформнаго раствора, — по-

видимому гиппуровая кислота. Послѣ 15 часового стоянія хлороформнаго раствора въ холодномъ мѣстѣ, не растворившійся осадокъ былъ собранъ на фильтрѣ, тщательно промытъ хлороформомъ и высушенъ въ вакуумъ-эксиккаторѣ при комн. t. Получилось 3,65 гр. вещества съ точкою плавленія при 182° С. Вещество это было растворено съ прибавленіемъ угля при кипяченіи въ возможно маломъ количествѣ воды, и горячій растворъ профильтрованъ. Послѣ охлажденія изъ фильтрата выдѣлились кристаллы, которые были собраны на фильтрѣ, нѣсколько разъ промыты небольшимъ количествомъ холодной воды и высушены при комн. t. въ вакуумъ-эксиккаторѣ. Точка плавленія очищеннаго такимъ образомъ вещества, — было произведено 3 опредѣленія, — колебалась между 186,5—187,5° С., что совпадаетъ съ точкой плавленія гиппуровой кислоты.

Для полного отождествленія этого вещества, выдѣленнаго изъ раствора R и перекристаллизованнаго по вышеуказанному способу, съ гиппуровой кислотой, было произведено опредѣленіе въ немъ азота.

Проба I, — взято 0,682 гр. вещества.

Израсходовано 36 к. с. $\frac{n}{10}$ H₂SO₄ = 0,00146 × 36 = 0,0525 гр. азота.

Найдено 7,69% N, —

слѣдуетъ по расчету для C₉H₉NO₃ — 7,82% N.

Проба II, — взято 0,5315 гр. вещества.

Израсходовано 28 к. с. $\frac{n}{10}$ H₂SO₄ = 0,00146 × 28 = 0,0408 гр. азот.

Найдено 7,67% N.

Изъ опредѣленія точки плавленія и только-что приведенныхъ аналитическихъ данныхъ слѣдуетъ, что означенное вещество есть гиппуровая кислота.

Въ пробѣ раствора R, которая подвергалась бензоилированію, было опредѣлено количество азота продуктовъ, не перешедшихъ въ уксусно-эфирную вытяжку. Оказалось, что количество этого азота равнялось 0,07 граммамъ.

Хлороформный растворъ, содержащій бензоилпродукты и бензойную кислоту, послѣ отфильтрованія гиппуровой кислоты былъ разбавленъ хлороформомъ до 245 к. с., и въ этомъ разбавленномъ растворѣ было произведено опредѣленіе азота; оказалось, что растворъ содержитъ 0,9187 гр. N.

Такъ какъ первоначальный растворъ R, въ взятомъ для бензоилированія объемѣ, содержалъ 1,25 гр. азота, то изъ только-что приведенныхъ аналитическихъ данныхъ относительно азота слѣдуетъ, что на долю гликоколла приходится $1,25 - (0,918 + 0,07) = 0,262$ гр. азота, что соотвѣтствуетъ по расчету 1,4 гр. гликоколла, или 3,34 граммамъ гиппуровой кислоты. Какъ изъ предыдущаго видно, мною было выдѣлено 3,65 гр. сырой гиппуровой кислоты, что подходитъ очень близко къ вышеприведенному теоретическому расчету (3,34 гр.). Надо принять во вниманіе, что эта сырая гиппуровая кислота заключала въ себѣ примѣси, на что указываетъ пониженная точка плавленія ея.

По Hausmann'у (l. c.) въ частицѣ желатины приходится на долю моноаминоваго азота $62,5\%$ общаго азота, — желатина содержитъ 18% общаго азота; по E. Fischer'у частица желатины содержитъ maximum $16,5\%$ гликоколла. Изъ этихъ данныхъ слѣдуетъ, что на каждые 100 гр. моноаминоваго азота желатины приходятся 27,2 гр. гликоколловаго азота.

Изъ моихъ вышеприведенныхъ аналитическихъ данныхъ слѣдуетъ, что въ процессъ бензоилированія поступило $1,25 \text{ гр.} - 0,07 \text{ гр.} = 1,18 \text{ гр.}$ азота, изъ которыхъ 0,262 гр. азота были выдѣлены въ видѣ гиппуровой кислоты. Такимъ образомъ, растворъ M содержалъ такіе продукты распада желатины, азотъ которыхъ заключаетъ въ себѣ 22% гликоколловаго азота. Изъ этого слѣдуетъ, что *вещества раствора M являются состоящими главнымъ образомъ resp.*

почти исключительно изъ моноаминовыхъ производныхъ, входящихъ въ составъ желатины.¹⁾

Основываясь на вышеизложенныхъ испытаніяхъ раствора М можно сдѣлать слѣд. выводы:

1) гликоколъ, какъ таковой, и, очевидно, другія моноаминокислоты, какъ таковыя, въ растворъ М не находились.

2) Въ растворъ М содержатся вещества, которыя обладаютъ слѣдующими свойствами:

a) ф.—в. кислота осаждаетъ ихъ изъ болѣе или менѣе не разведенныхъ растворовъ (1 : 75) въ видъ своеобразнаго осадка, описаннаго при изложеніи реакцій раствора М, — при болѣе сильныхъ разведеніяхъ (1 : 300) указанный реактивъ производитъ лишь весьма слабую опалесценцію.

b) Онѣ даютъ біуретовую реакцію,

c) не осаждаются реактивомъ Эсбаха и сулемою,

d) растворяютъ гидратъ окиси мѣди,

e) даютъ β-нафталинсульфо-продукты и бензоиль-продукты, обладающіе вышеописанными свойствами и

f) реагируютъ кисло съ лакмусомъ.

3) Растворъ М состоитъ, повидимому, изъ продуктовъ бѣлаго распада, типа моноаминокислотъ, — вѣроятно моноаминокислоты въ этомъ растворѣ находились въ видѣ какихъ-то соединеній, аналогичныхъ до нѣкоторой степени полипептидамъ E. Fischer'a. Эти соединенія resp. комби-

¹⁾ Надо принять во вниманіе, что растворъ М не могъ не содержать, какъ примѣси, и основные продукты распада желатины: фосфорно-вольфрамовыя соединенія этихъ послѣднихъ очень трудно растворимы въ подкисленной минеральными кислотами водѣ, но все-таки, въ тѣхъ или въ другихъ количествахъ, хотя и незначительно, онѣ растворяются.

нации легко расщепляются на отдельные составные группы — свободные моноаминокислоты при кипячении их с 20% соляной кислотой.

4) При разрушении веществ раствора М с 20% HCl получается почти теоретическое количество гликоколда. — очевидно, что раствор М содержит почти исключительно комбинации различных моноаминокислот, входящих в состав частицы желатины.

5) Желатина, при продолжительном настаивании с 0,5% HCl при 36—38° С. претерпевает расщепление до образования веществ раствора М.

6) 0,5% HCl играет довольно выдающуюся роль при пептическом переваривании желатины; конечно, в присутствии пепсина разложение ее идет гораздо энергичнее.

Бѣлки лошадиной кровяной сыворотки.

Главную, почти исключительную составную часть бѣлковъ лошадиной кровяной сыворотки составляютъ глобулинъ и альбуминъ. Какъ первый, такъ и второй не представляютъ химически-индивидуальнаго бѣлковаго вещества, но являются смѣсью разныхъ бѣлковыхъ тѣлъ, называемыхъ глобулинами и альбуминами. Въ преобладающемъ количествѣ въ лошадиной сывороткѣ являются глобулины, именно, около 3,8%¹⁾; альбумины содержатся въ количествѣ около 2,4%¹⁾. По отношенію къ разведеннымъ кислотамъ, равно какъ и по отношенію къ протеолитическимъ ферментамъ — пепсину и трипсину — сывороточные альбумины и глобулины являются весьма стойкими, какъ это видно изъ работъ Eichwald'a, Johansson'a, Goldschmidt'a (см. литературную ч.) и Umber'a²⁾. Главными кристаллическими продуктами, получаемыми при гидролитическомъ расщепленіи сывороточныхъ бѣлковъ являются: гликоколлъ, лейцинъ, тирозинъ, глутаминовая кислота, фенилаланинъ и др.

Для опытовъ были мною взяты, какъ влажные, такъ и высушенные свернутые бѣлки лошадиной кровяной сыворотки.

1) Hoppé-Seyler, цит. по Goussier-Besanez, *Lehrb. d. physiol. Chem.* 4. Aufl. p. 346.

2) Umber, *Zeitschr. f. physiol. Chem.* 25 p. 258.

Влажные свернутые бѣлки лошадиной кровяной сыворотки.

Полученіе препарата.

15 литровъ свѣжей, дефибринированной лошадиной крови были поставлены на отстаиваніе на 2 сутокъ въ прохладномъ мѣстѣ, послѣ чего сыворотка (сѣ 6 литр.) была снята сифономъ, разведена 4 частями воды и при подкисленіи уксусной кислотой нагрѣта, при постоянномъ помѣшиваніи, на водяной банѣ до 75—80° С., при каковой t держалось въ продолженіи 15 минутъ. Свернувшіеся бѣлки были отцѣжены черезъ марлевый мѣшокъ, смѣшаны съ 40 литрами водопроводной воды и послѣ нѣсколькихъ часового стоянія были по прежнему отцѣжены на марлѣ. Такого рода промываніе съ помощью 40 литровъ водопроводной воды было еще разъ повторено, послѣ чего отдѣленные и отжатые бѣлки были промыты 2 раза горячею дистиллированою водою и собраны на марлѣ. Промытые такимъ образомъ и отжатые бѣлки были растерты въ ступкѣ, смѣшаны съ 12 литрами 0,5% соляной кислоты (на 12 литр. 140 к. с. HCl уд. в. 1,19) и при избыткѣ хлороформа поставлены 26. X 904 г. при 36—38° С. въ термостатъ, въ бутылѣ, закупоренной парафинированной пробкой. Нужно отмѣтить, что настаиваемая смѣсь стояла отъ 20. XII 904 г. до 10. I 905 г. и отъ 27. IV 905 г. до 3. IX 905 г. при комнатной t; 12. XII 904 г. 10 литровъ настаиваемой смѣси были смѣшаны съ 5 литр. 0,5% соляной кислоты и такая смѣсь поставлена обратно въ термостатъ для дальнѣйшаго разложенія.

Отъ времени до времени, періодически, брались отдѣльныя пробы поставленной смѣси, которыя фильтровались и въ фильтрахъ которыхъ былъ опредѣляемъ какъ общій, такъ и моноаминовый азотъ, какъ это раньше описано при подобныхъ опредѣленіяхъ у желатины. Результаты этихъ опредѣленій усматриваются изъ нижеприведенныхъ таблицъ № 4 и 5,

причемъ первая изъ этихъ таблицъ относится къ общему азоту фильтратовъ, а вторая къ моноаминовому.

Т а б л и ц а № 4.

	Количество испытываемаго фильтрата	Количество $\frac{n}{10} \cdot H_2SO_4$ связанной NH_3 -омъ въ приёмникъ	Количество азота въ 100 к. с. испыт. фильтрата.
26. X 904 г.	50 к. с.	2,6 к. с.	0,0076 гр.
	20 к. с.	1 к. с.	0,0073 гр.
5. XI 904 г.	50 к. с.	15,7 к. с.	0,046 гр.
	50 к. с.	15,6 к. с.	
18. XI 904 г.	25 к. с.	18 к. с.	0,105 гр.
	25 к. с.	18 к. с.	
30. XI 904 г.	20 к. с.	21 к. с.	0,15 гр.
	10 к. с.	10,3 к. с.	
14. XII 904 г.	10 к. с.	11,4 к. с.	0,167 гр.
	10 к. с.	11,5 к. с.	
14. I 905 г.	10 к. с.	18,2 к. с.	0,265 гр.
29. I 905 г.	10 к. с.	18,2 к. с.	0,265 гр.
18. II 905 г.	10 к. с.	18,2 к. с.	0,265 гр.
16. III 905 г.	10 к. с.	18,3 к. с.	0,266 гр.
27. IV 905 г.	10 к. с.	18,2 к. с.	0,265 гр.

Примѣчаніе. Титръ 1 к. с. $\frac{n}{10} \cdot H_2SO_4$ по 18. XI 904 г. равнялся 0,00147 гр. азота; титръ 1 к. с. этой кислоты въ остальныхъ пробахъ = 0,00146 гр. азота.

Изъ данныхъ, приведенныхъ въ таблицѣ № 4, слѣдуетъ, что:

1) свернутые бѣлки лошадиной кровяной сыворотки при настаиваніи ихъ при 36—38° С. съ 0,5% соляной кислотой, въ присутствіи хлороформа, постепенно переходятъ въ растворъ, что совершается довольно медленно.

2) Означенные бѣлки при настаиваніи ихъ съ 0,5% соляной кислотой при вышеупомянутыхъ условіяхъ, спустя болѣе или менѣе продолжительное время — въ данномъ случаѣ спустя съ 54 дня — совершенно растворяются.

Т а б л и ц а № 5.

	П р о б ы	Количество $\frac{n}{10} \cdot \text{H}_2\text{SO}_4$, связанной NH_3 -омъ въ приемкѣ	Количество моноамин. азота въ 100 к. с. испытуем. раствора
27. X 904 г.	1-ая проба. 200 к. с. до 250 к. с., для опред. N взято 50 к. с.	0 к. с.	0 гр.
	2-ая проба. 200 к. с. до 250 к. с., для опред. N взято 100 к. с.	0 к. с.	0 гр.
15. I 905 г.	1-ая проба. 50 к. с. до 500 к. с., для опред. N взято 150 к. с.	1,7 к. с.	0,016 гр., 6% общаго азота
	2-ая проба. 100 к. с. до 500 к. с., для опред. N взято 150 к. с.	2,8 к. с.	0,013 гр., 4,9% общаго азота
29. I 905 г.	50 к. с. до 500 к. с., для опред. N взято 150 к. с.	2,9 к. с.	0,028 гр., 10,5% общаго азота
18. II 905 г.	50 к. с. до 500 к. с., для опред. N взято 150 к. с.	3,4 к. с.	0,033 гр., 12,45% общаго азота
16. III 905 г.	50 к. с. до 500 к. с., для опред. N взято 150 к. с.	4,2 к. с.	0,04 гр., 15% общаго азота
27. IV 905 г.	25 к. с. до 250 к. с., для опред. N взято 150 к. с.	5,5 к. с.	0,053 гр., 20% общаго азота

Примѣчаніе. О титрѣ $\frac{n}{10} \cdot \text{H}_2\text{SO}_4$ смотри примѣчаніе къ таблицѣ № 4.

Данныя, приводимыя въ таблицѣ № 5 указываютъ, что, по мѣрѣ растворенія данныхъ сывороточныхъ бѣлковъ при настаиваніи ихъ съ 0,5% HCl при 36—38° С., происходитъ постепенное расщепленіе ихъ, съ образованіемъ азотистыхъ продуктовъ распада, не осаждающихся ф.-в. кислотой; въ теченіи 160 дней расщепленіе это достигло такой степени, что количество азота вышеуказанныхъ продуктовъ распада достигло съ 20% общего азота раствора этихъ бѣлковъ.

8. II 905 г. и 26. IV 905 г. въ растворѣ сывороточныхъ бѣлковъ было опредѣлено количество свободной соляной кислоты по способу, указанному у желатины. Въ первомъ случаѣ испытуемый растворъ содержалъ 0,27% свободной HCl , во второмъ 0,23%.

Такимъ образомъ оказалось, что при этомъ настаиваніи происходитъ подобное же связываніе свободной HCl , продуктами гидролиза взятыхъ здѣсь бѣлковыхъ веществъ, — какое наблюдается при пептическомъ перевариваніи бѣлковыхъ веществъ.

Для убѣжденія въ отсутствіи протсолитического фермента смѣсь сывороточныхъ бѣлковъ была изслѣдована по Метту (28. X 905 г.). Содержимое цилиндриковъ Метта, послѣ 10 дневнаго настаиванія съ смѣсью, не измѣнилось. Опытъ былъ повторенъ 15. I 905 г. При осматриваніи цилиндриковъ этого опыта 8. II 905 г., 1. III 905 г. и 2. IV 905 г. растворенія содержимаго цилиндриковъ не замѣчалось; при послѣднемъ осматриваніи цилиндриковъ содержимое ихъ было найдено совершенно прозрачнымъ. 23. IV 905 г. содержимое цилиндриковъ было вполне растворено. — Одновременно съ описанною пробой этого послѣдняго опыта такіе-же цилиндрики Метта настаивались съ 0,5% соляной кислотой; результаты этого послѣдняго опыта согласовались вполне съ таковыми

предыдущаго, т. е. къ 23 апрѣлю содержимое цилиндриковъ растворилось.

Такимъ образомъ, эта настаиваемая смѣсь не содержала никакого протеолитическаго фермента, способнаго растворять свернутые бѣлки лошадиной сыворотки такъ, какъ это производитъ пепсинъ.

Раздѣленіе продуктовъ настаиванія.

Растворъ свернутыхъ влажныхъ сывороточныхъ бѣлковъ, послѣ сѣ 160 дневнаго вышеописаннаго настаиванія съ 0,5% соляной кислотой былъ 3. X 905 г. подвергнутъ дальнѣйшему изслѣдованію для раздѣленія продуктовъ распада названныхъ бѣлковъ; взятый изъ термостата растворъ имѣлъ сильный запахъ хлороформа. Растворъ былъ профильтрованъ, 10 литровъ фильтрата были разведены равнымъ объемомъ дист. воды и въ присутствіи 0,5% сѣрной кислоты осаждены ф.-в. кислотой, какъ это описано у желатины. Послѣ предварительнаго контроля на полноту осажденія, полученный осадокъ на другой день былъ собранъ на фильтрѣ, вмѣстѣ съ фильтрованной бумагой тщательно смѣшанъ съ сѣ 10 литрами дист. воды, подкисленной сѣрной кислотой, съ прибавленіемъ небольшого количества ф.-в. кислоты, и на другой день отдѣленъ, сначала на фильтрѣ, потомъ окончательно на нучѣ. Промываніе осадка было произведено еще разъ, а именно съ 5 литр. дист. воды, послѣ чего осадокъ попрежнему отфильтрованъ. Вслѣдъ за этимъ осадокъ былъ смѣшанъ съ 10 литр. воды и разложенъ теплымъ, насыщеннымъ растворомъ ѣдкаго барита, какъ это указано при желатинѣ. Образовавшійся осадокъ фосфовольфрамата барія былъ отфильтрованъ и промытъ тщательно дистил. водою. Желтаго цвѣта, прозрачный первоначальный фильтратъ былъ смѣшанъ съ промывными фильтрами и полученная смѣсь насыщена углекислотою, послѣ

чего она выпаривалась на водяной банѣ до половиннаго объема. Осадокъ углекислаго барія былъ отфильтрованъ, остатокъ барія окончательно удаленъ посредствомъ сѣрной кислоты, — не было взято избытка этой послѣдней. Послѣ удаленія сѣрнокислаго барія жидкость была сгущена при сѣ 40° С до 3,4 литровъ и сгущенный растворъ обозначенъ растворомъ В. Само собою разумѣется, что для избѣжанія потерь, всѣ осадки, полученные при описанныхъ операціяхъ, были тщательно промыты дест. водою.

Относительно продуктовъ настаиванія сывороточныхъ бѣлковъ, не осаждающихся ф.—в. кислотой см. стр. 63.

Растворъ В содержалъ:

азота	0,372 ⁰ / ₀ =12,65	гр. въ 3,4	литр. раствора.
сухого остатка	2,48 ⁰ / ₀ =84,32	„ „ 3,4	„ „
зола	0,032 ⁰ / ₀ = 1,088	„ „ 3,4	„ „
орг. веществъ	2,448 ⁰ / ₀ =83,232	„ „ 3,4	„ „

Растворъ В.

Выдѣленіе и количественное опредѣленіе продуктовъ расщепленія, не осаждающихся (NH₄)₂SO₄ (по Kühne).

2043 к. с. раствора В, содержащихъ 50 гр. орган. вещества или 7,5 гр. азота были сгущены на водяной банѣ до $\frac{1}{2}$ первоначальнаго объема. Сгущенная жидкость насыщалась сѣрнокислымъ аммоніемъ при нагреваніи, сначала на водяной, потомъ на песчаной банѣ при сѣ 102° С, при очень слабомъ подкисленіи объекта сѣрной кислотой и при соблюденіи избытка (NH₄)₂SO₄. Образовавшаяся липкая масса (альбумозы) была отдѣлена фильтрованіемъ смѣси въ горячемъ видѣ при помощи воронки Plantamour'a и растворена въ водѣ; полученный растворъ вновь насыщался по прежнему при 102° С (NH₄)₂SO₄, и осадокъ былъ собранъ на фильтрѣ. Перво-

начальный фильтрат имѣлъ соломенно-желтый цвѣтъ, второй былъ почти безцвѣтенъ. Оставшаяся на фильтрѣ липкая масса, — альбумозы и часть выкристаллизовавшагося сѣрно-кислаго аммонія, — была растворена въ соотвѣтствующемъ количествѣ теплой воды, и для удаленія сѣрно-кислаго аммонія растворъ былъ обработанъ ѣдкимъ баритомъ, прибавленнымъ къ раствору постепенно, до незначительнаго избытка. Возникающій при этомъ амміакъ удаленъ былъ сгущеніемъ раствора на водяной банѣ; осадокъ сѣрно-кислаго барія былъ отдѣленъ фильтрованіемъ и 2 раза тщательно промытъ дист. водою. Фильтратъ, какъ и промывныя воды были соединены и выпарены до объема 500 к. с. Полученный растворъ содержалъ 4,95 азота. Такъ какъ взятый для опыта объемъ раствора В содержалъ всего 7,5 гр. азота, то на долю веществъ, не осаждающихся сѣрно-кислымъ аммоніемъ приходится $7,5 - 4,95 = 2,55$ гр. азота, т. е. 34% всего азота.

Итакъ, при продолжительномъ настаиваніи данныхъ бѣлковъ съ $0,5\%$ соляной кислотой возникаютъ не только альбумозы, но и вещества основнаго характера, входящія въ составъ пептона Кѣппе, — продукты болѣе или менѣе глубокаго распада бѣлковыхъ веществъ.

Продукты распада, не осаждающіеся ф.-в. кислотой.

Первоначальный фильтратъ, какъ и промывныя воды осадка, полученнаго при осажденіи настаиваемаго раствора сывороточныхъ бѣлковъ ф.-в. кислотой, были обработаны, какъ это указано у желатины, слѣд. образомъ: свободныя HCl и H_2SO_4 были связаны посредствомъ ѣдкаго барита, взятаго въ небольшомъ избыткѣ, избытокъ послѣдняго связанъ углекислотой, и жидкость выпарена до сѣ 3 литровъ. Баритъ изъ раствора былъ удаленъ сѣрной кислотой; соляная кислота удалена съ помощью окиси серебра въ присутствіи

небольшого количества сѣрной кислоты, послѣдняя затѣмъ удалена ѣдкимъ баритомъ, и образовавшійся сѣрнокислый барій отфильтрованъ. Полученный послѣ такой обработки фильтратъ былъ сгущенъ при 40—45° С. до 2,26 литровъ и обозначенъ растворомъ М. Растворъ этотъ содержалъ:

азота	0,2 %	=	4,52	гр. въ 2,26 литр. раствора,
сухого остатка . .	1,5 %	=	33,9	" " " " "
зола	0,07%	=	1,58	" " " " "
органич. вещества	1,43%	=	32,32	" " " " "

Качественныя реакціи растворовъ В и М.

Съ растворами В и М были продѣланы нижеслѣдующія качественныя реакціи. Растворъ В, содержавшій большее количество органическаго вещества, чѣмъ растворъ М, былъ разбавленъ водою до одинаковаго съ растворомъ М содержанія (1,43%) въ немъ органическихъ веществъ и обозначенъ растворомъ В'.

Растворъ В'.

Растворъ М.

Реактивъ: 10% водный растворъ ф.-в. кислоты.

10 к. с. раствора + 1 к. с.	10 к. с. раствора + 10 к. с.
20% H_2SO_4 + 3 к. с. реактива,	20% H_2SO_4 + 3 к. с. реактива,
прибавленнаго по каплямъ, —	прибавленнаго по каплямъ, —
обильный хлопчатый осадокъ;	возникъ, хлопчатый, превра-
послѣ разбавленія смѣси во-	тившійся потомъ въ пылеоб-
дою до 50 к. с. осадокъ послѣ	разный, тяжелый осадокъ;
24 час. стоянія смѣси занялъ	послѣ разбавленія смѣси водою
сѣ 11 к. с. объема.	до 50 к. с., осадокъ занялъ по
	истеченіи 24 час. объемъ сѣ
	0,5 к. с.

Біуретовая реакція.

10 к. с. раствора + 1,5 к. с. 10% NaOH + 5% CuSO ₄ , прибавленнаго по каплямъ, — сначала слабо-розовое окрашивание, потомъ розово-красное, каковымъ оно остается при незначит. избыткѣ CuSO ₄ .	10 к. с. раствора + 1,5 к. с. 10% NaOH + 5% CuSO ₄ по каплямъ, — сначала розово-красное окрашивание средней степени, переходящее помѣру при прибавленіи CuSO ₄ въ синее.
---	--

Реакція Миллона

10 к. с. раствора + 5 капель реактива дасть осадокъ, окрашивающійся при нагреваніи въ кирпично-красный цвѣтъ.	10 к. с. раствора + 5 капель реактива дасть при нагреваніи кирпично-красное окрашивание и такого цвѣта осадокъ
---	--

Сѣрниокислый аммоній in substantia.

Реактивъ въ избыткѣ: обильный хлопчатый осадокъ; при кипяченіи образуется комокъ.	Реактивъ въ избыткѣ: весьма слаб. опалесценц.; при прибавл. къ смѣси уксусн. кислоты, — безъ измѣненія. При кипяченіи смѣсь остается безъ измѣненія.
---	--

Реактивъ Эсбаха.

Реактивъ въ равныхъ объемахъ съ растворомъ производитъ обильный осадокъ.	Реактивъ въ равныхъ объемахъ не производитъ никакого измѣненія раствора.
--	--

5% водн. растворъ сулемы.

Прибавленный къ раствору по каплямъ реактивъ производитъ обильный, хлопчатый осадокъ. При кипяченіи часть растворяется и при охлажденіи вновь выпадаетъ въ видѣ хлопч. осадка.	Прибавленный къ раствору по каплямъ реактивъ не производитъ никакого измѣненія въ растворѣ; при прибавленіи къ смѣси 10% NaOH (по каплямъ) возникаетъ хлопч. осадокъ въ средн. количествѣ.
--	--

Красная геср. синяя лакмусовая бумажка.

Довольно рѣзкая щелочная реакція.		Слабо кислая реакція.
--------------------------------------	--	-----------------------

Изъ ряда вышеприведенныхъ реакцій ясно вырисовывается рѣзкое различіе между растворомъ В и М. Растворъ В даетъ всѣ характерныя реакціи, присущія бѣлкамъ и ихъ біуретовымъ продуктамъ распада — альбумозамъ и пептонамъ; для раствора же М эти реакціи являются или совершенно отрицательными, — какъ напр. реакція Эсбаха и реакція съ сулемой, — или же онѣ выражены очень слабо, какъ напр. реакція ф.-в. кислоты.

Растворъ М.

Выдѣленіе кристаллич. продуктовъ черезъ сгущеніе раствора М. 500 к.с. раствора были сгущены, сначала на водяной банѣ, потомъ при комн. t въ вакуумъ-эксиккаторѣ до консистенціи жидкаго сиропа. Растворъ реагировалъ ясно кисло съ лакмусомъ, но не давалъ реакціи съ конго. Даже послѣ мѣсячнаго стоянія при комн. t (предотвращалось высыханіе раствора тѣмъ, что, по мѣрѣ надобности, къ объекту была прибавляема вода) никакой кристаллизаціи раствора не произошло.

Полученіе мѣдныхъ солей. 500 к. с. раствора М, содержащаго 7,15 гр. органическаго вещества, были сгущены до сѣ. 50 к. с. и, при нагрѣваніи на водяной банѣ, насыщены свѣжесосажденнымъ гидратомъ окиси мѣди, взятымъ въ избыткѣ. Растворяя болѣе или менѣе значительное количество этого гидрата, объектъ окрашивался въ интенсивно-синій, съ зеленоватымъ оттѣнкомъ, цвѣтъ. Нагрѣваніе объекта продолжалось $\frac{1}{2}$ часа, послѣ чего горячій растворъ былъ профильтрованъ и оставшійся не раствореннымъ на фильтрѣ избытокъ $\text{Cu}(\text{OH})_2$ былъ тщательно промытъ горячей водою. Первоначальный и промывные фильтраты были соединены

вмѣстѣ и при сѣ. 50° С. сгущены до $\frac{1}{3}$ объема. Послѣ 5 дневнаго стоянія при комн. t. изъ раствора выкристаллизовался осадокъ, состоящій (при разсматриваніи его подъ микроскопомъ) изъ длинныхъ волокновидныхъ образований, похожихъ на гифы грибовъ. Осадокъ былъ отфильтрованъ, промытъ холодною водою и растворенъ — не сполна — въ сѣ. 200 к. с. кипящей воды. Остатокъ оказался очень трудно растворимымъ даже въ кипящей водѣ; онъ состоялъ почти исключительно изъ шаровъ, образованныхъ изъ радіально расположенныхъ иглъ. Полученный при кипяченіи растворъ мѣдныхъ солей былъ въ горячемъ видѣ профильтрованъ; уже изъ теплаго раствора начиналъ выпадать кристаллическій осадокъ, который, послѣ суточнаго стоянія раствора на холоду, былъ отфильтрованъ и промытъ холодной водою. Этотъ осадокъ состоялъ изъ длинныхъ тонкихъ иглъ, отдѣльных или собранныхъ въ пучки, и изъ рѣдкихъ, шарообразныхъ кристалловъ, состоящихъ, повидимому, изъ радіально сгруппированныхъ короткихъ иглъ. Промытый кристаллическій осадокъ былъ высушенъ въ вакуумъ-эксиккаторѣ. Определенное количество высушеннаго осадка было дальнѣйше просушено при $110-115^{\circ}$ С. до постояннаго вѣса, причемъ объектъ при этой послѣдней сушкѣ потерялъ около 17% своего вѣса, — повидимому онъ содержалъ кристаллизационную воду. Въ высушенномъ до постояннаго вѣса этомъ мѣдномъ соединеніи были определены азотъ и мѣдь. Для определения азота взято 0,216 гр. вещества; израсходовано 10,1 к. с. $\frac{1}{10} \cdot \text{H}_2\text{SO}_4 = 0,00146 \times 10,1 = 0,01474$ гр. азота. —

найдено: $6,82\%$ N.

Для определения мѣди взято 0,2205 гр. вещества. — Прокаливаніе вещества производилось въ открытомъ фарфоровомъ тиглѣ. Послѣ взвѣшиванія прокаленного остатка, послѣдній былъ растворенъ въ незначительномъ количе-

ствѣ азотной кислоты при нагрѣваніи, кислота выпарена на водяной банѣ и сухой остатокъ прокаливался вторично. Послѣ этого послѣдняго прокаливанія остатокъ (окись мѣди) вѣсилъ 0,081 гр., —

найдено: 36,7⁰/₀ CuO или 29,3⁰/₀ Cu.

Только-что приведенныя аналитическія данныя больше всего походятъ къ таковымъ даннымъ безводной мѣдной соли глутаминовой кислоты = $\text{CuC}^5\text{H}^7\text{NO}^4$, а именно:

Найдено:	Вычислено: для $\text{CuC}_5\text{H}_7\text{NO}_4$
6,82 ⁰ / ₀ N	6,7 ⁰ / ₀ N
29,3 ⁰ / ₀ Cu	30,4 ⁰ / ₀ Cu.

Судя по болѣе низкому, по сравненію съ безводной мѣдной солью глутаминовой кислотой, содержанію мѣди и болѣе высокому содержанію азота въ этомъ анализированномъ мною веществѣ слѣдуетъ допустить, что выдѣленная мною изъ раствора и одинъ разъ перекристаллизованная мѣдная соль содержитъ примѣсъ таковой соли какой-нибудь другой моноаминокислоты, по всей вѣроятности лейцина. Въ пользу возможности такой примѣси говорить то, что мѣдная соль лейцина, растворяясь гораздо труднѣе таковой соли глутаминовой кислоты въ кипящей водѣ, растворяется лишь немногимъ легче этой кислоты въ холодной, т. е. растворившееся при кипяченіи незначительное количество мѣдной соли лейцина, могла выпасть при охлажденіи разведеннаго раствора этой соли вмѣстѣ съ мѣдной солью глутаминовой кислоты. Вообще надо принять во вниманіе, что путемъ дробной кристаллизаціи мѣдныхъ солей моноаминокислотъ эти послѣднія изолируются въ совершенно химически чистомъ видѣ только съ большимъ трудомъ, такъ что для этой цѣли требуется повторная кристаллизація какой либо смѣси мѣдныхъ солей этихъ кислотъ.

Такъ какъ количество полученной послѣ перекристаллизаціи мѣдной соли не было достаточнымъ для произведенія провѣрочнаго анализа, то мною было выдѣлено новое количество мѣдной соли изъ другой части раствора М. Для этой цѣли 800 к. с. раствора были попрежнему обработаны свѣжеосажденнымъ гидратомъ окиси мѣди. Выкристаллизовавшаяся мѣдная соль была разъ перекристаллизована. Вслѣдствіе небольшого выхода перекристаллизованной соли, я долженъ былъ отказаться отъ дальнѣйшаго очищенія его. При высушиваніи этого препарата до постояннаго вѣса при 110—115° С., замѣчалась потеря вѣса около 16%. Для опредѣленія азота было взято 0,267 гр. вещества; израсходовано 12,7 к. с. $\frac{1}{10} \cdot \text{H}_2\text{SO}_4 = 0,00146 \times 12,7 = 0,01854$ гр. азота, —

найдено: 6,94% N.

Для опредѣленія мѣди было взято 0,306 гр. вещества. Послѣ вторичнаго прокаливанія вещества получилось 0,114 грам. остатка (окиси мѣди), —

найдено: 37,2% CuO, или 29,7% Cu.

Аналитическія данныя этого повторнаго опыта согласуются съ таковыми данными предыдущаго.

Итакъ, растворъ М содержалъ глутаминовую кислоту, какъ таковую. Изъ этого слѣдуетъ заключить, что свернутые бѣлки лошадиной кровяной сыворотки при настаиваніи ихъ съ 0,5% HCl при 36—38° С. претерпѣли расщепленіе до возникновенія моноаминокислотъ, по крайней мѣрѣ, до возникновенія глутаминовой кислоты.

Въ данномъ случаѣ мнѣ удалось выдѣлить въ почти химически чистомъ видѣ только одну моноаминокислоту, да и то въ сравнительно незначительномъ количествѣ, но надо принять во вниманіе, что изолированіе моноаминокислотъ изъ смѣсей ихъ, сопряжено съ болѣе или менѣе значительными потерями.

Я полагаю, что раствор М содержалъ и другія, по крайней мѣрѣ нѣкоторыя, моноаминокислоты, кромѣ глутаминовой: вышеописанный кристаллическій осадокъ мѣдныхъ солей состоялъ изъ кристалловъ, по меньшей мѣрѣ, двухъ родовъ, — отдѣльныхъ, длинныхъ, тонкихъ иголокъ и короткихъ, болѣе толстыхъ иголокъ, собранныхъ въ шары.

Разрушеніе раствора М съ помощью 20% H_2SO_4 . Первоначальные маточные растворы мѣдныхъ солей, полученные отъ вышеописанныхъ кристаллическихъ осадковъ, были соединены вмѣстѣ и оставлены при комнатн. t для дальнѣйшей кристаллизаціи. Растворъ послѣ двухнедѣльнаго стоянія не закристаллизовался, послѣ чего онъ былъ, при подкисленіи его сѣрной кислотой, обработанъ сѣроводородомъ, и осадокъ сѣрнистой мѣди отфильтрованъ. Полученный соломенно-желтаго цвѣта фильтратъ (200 к. с.), дающій ясную, розово-краснаго цвѣта біуретовую реакцію, былъ подвергнутъ 3 часовому кипяченію на песчаной банѣ въ колбѣ съ обратнымъ холодильникомъ съ 20% H_2SO_4 . По окончаніи кипяченія сѣрная кислота была удалена изъ раствора ѣдкимъ баритомъ, причемъ избѣгался избытокъ послѣдняго. Отфильтрованная отъ сѣрнокислаго барія жидкость уже не давала никакой біуретовой реакціи. При сгущеніи фильтрата, послѣдній закристаллизовался, образуя густую кристаллическую кашу темно-бураго цвѣта. Подъ микроскопомъ осадокъ состоялъ изъ большихъ и весьма маленькихъ лейцинообразныхъ шаровъ и тирозиноподобныхъ пучковъ.

Отсюда слѣдуетъ, что растворъ М, кромѣ моноаминокислотъ, какъ таковыхъ, содержитъ, вѣроятно по преимуществу, такіе азотистые продукты распада бѣлковыхъ веществъ, которые весьма легко расщепляются при кипяченіи ихъ съ 20% H_2SO_4 съ образованіемъ свободныхъ моноаминокислотъ: даже 3 часов. кипяченія было вполне достаточно,

чтобы произвести полное исчезновение біуретовой реакціи и расщепить названнаго вещества до образованія легко кристаллизующихся продуктовъ. Значить, при вышеописанномъ настаиваніи свернутыхъ бѣлковъ лошадиной сыворотки возникаютъ какіе-то комплексы моноаминокислотъ, очень легко распадающіеся на ихъ составныя части при кипяченіи съ 20% H_2SO_4 . Надо отмѣтить, что эти комплексы моноаминокислотъ отличаются отъ полипептидовъ E. Fischer'a тѣмъ, что они не осаждаются resp. очень плохо осаждаются ф.-в. кислотой.

Итакъ, 0,5% соляная кислота играетъ довольно важную роль при продолжительномъ пептическомъ перевариваніи свернутыхъ бѣлковъ лошадиной кровяной сыворотки: подъ вліяніемъ этой кислоты самой по себѣ эти вещества подпадаютъ не только растворенію, но и подвергаются расщепленію съ образованіемъ простѣйшихъ продуктовъ распада.

Высушенные свернутые бѣлки лошадиной кровяной сыворотки.

Чтобы выяснитъ до нѣкоторой степени вопросъ, какъ относятся высушенные свернутые бѣлки къ дѣйствию 0,5% соляной кислоты при 36—38° С. мною были продѣланы нѣкоторые опыты съ таковыми бѣлками, причемъ параллельно съ ними производились опыты и съ влажными бѣлками.

Для намѣченной мною цѣли было взято 2 литра свѣжей лошадиной кровяной сыворотки; они были разведены двумя частями воды и нагрѣты $\frac{1}{2}$ час. при 70—90° С. Собранные на марлѣ свернувшіеся бѣлки были дважды нагрѣваемы, при постоянномъ помѣшиваніи, водою при 90° С, каждый разъ по 20 минутъ, собраны на марлѣ, промыты 3 раза дист. водою при 50° С. и вторично собраны и отжаты на марлѣ. 150 гр. этихъ влажныхъ бѣлковъ были поставлены для настаиванія (22. VIII. 905 г.) съ 1,5 литрами 0,5% HCl

при 36—38° С. Остальная часть этих бѣлковъ была высушена, сначала на водяной банѣ, потомъ въ продолженіи 12 часовъ при 103—105° С.; 40 гр. высушенныхъ такимъ образомъ бѣлковъ были въ свою очередь поставлены на настаиваніе (26. VIII 905) съ 2 литрами 0,5 % соляной кислотой при 36—38° С. Между тѣмъ, какъ послѣ сѣ мѣсячнаго настаиванія влажныхъ бѣлковъ, фильтратъ ихъ давалъ весьма слабую біуретовую реакцію фіолетоваго цвѣта, біуретовая реакція фильтрата, полученнаго съ высушенными бѣлками, была явственная, красно-фіолетоваго цвѣта, гораздо интенсивнѣе, чѣмъ таковая реакція у влажныхъ свернутыхъ бѣлковъ. Послѣ двухмѣсячнаго настаиванія влажныхъ и высушенныхъ бѣлковъ, біуретовая реакція фильтрата первыхъ бѣлковъ была ясна, красно-фіолетоваго цвѣта, реакція вторыхъ — интенсивнаго малиново-краснаго цвѣта. Если судить по біуретовой реакціи, то надо полагать, что высушенные бѣлки при вышеуказанныхъ условіяхъ легче растворялись, чѣмъ влажные. Послѣ 3-мѣсячнаго настаиванія, какъ влажные, такъ и высушенные бѣлки перешли въ растворъ, причемъ растворъ первыхъ былъ окрашенъ въ темносоломенно-желтый цвѣтъ, а растворъ вторыхъ въ темнобурый. Въ обоихъ этихъ растворахъ былъ опредѣленъ какъ общій, такъ и моноаминовый азотъ.

Растворъ влажныхъ бѣлковъ. Для опредѣленія общаго азота въ этомъ растворѣ взято 10 к. с. раствора; израсходовано 15,8 к. с. $\frac{n}{10} \cdot \text{H}_2\text{SO}_4 = 0,23$ гр. азота въ каждомъ 100 к. с. раствора.

Для опредѣленія моноаминоваго азота было взято 50 к. с. раствора, которые были разведены водою и осаждены ф.-в. кислотой въ присутствіи 0,5% сѣрной кислоты. По окончаніи осажденія смѣсь была доведена 0,5% H_2SO_4 до 500 к. с. и профильтрована. 150 к. с. фильтрата были взяты для опредѣленія азота; израсходовано 2,4 к. с. $\frac{n}{10} \cdot \text{H}_2\text{SO}_4 = 0,023$ гр. моноаминоваго азота въ 100 к. с. испытуемаго раствора (не

фильтрата), что составляет 10%, общего количества азота в названном растворе.

Растворъ высушенныхъ бѣлковъ. Для опредѣленія въ немъ общего азота было взято 10 к. с. раствора; израсходовано 25,3 к. с. $\frac{1}{10}$ $\text{H}_2\text{SO}_4 = 0,369$ гр. азота въ каждомъ 100 к. с. раствора

Для опредѣленія моноаминового азота, 50 к. с. раствора были разведены и осаждены ф.-в. кислотой, какъ это описано у предыдущаго раствора. 150 к. с. фильтрата, полученнаго отъ осадка ф.-в. кислоты, были взяты для опредѣленія азота; израсходовано 3,9 к. с. $\frac{1}{10}$ $\text{H}_2\text{SO}_4 = 0,038$ гр. моноаминового азота въ 100 к. с. испытуемаго раствора, что составляет 10,2% общего количества азота въ названномъ растворе.

Итакъ, 1) высушенные при 103—105° С. послѣ предварительнаго свертыванія бѣлки лошадиной кровяной сыворотки при настаиваніи ихъ съ 0,5% соляной кислотой при 36—38° С., растворяются и подвергаются постепенному расщепленію съ образованіемъ азотистыхъ продуктовъ, не осаждающихся resp. плохо осаждающихся ф.-в. кислотой.

2) Раствореніе свернутыхъ бѣловыхъ веществъ лошадиной кровяной сыворотки въ 0,5% HCl совершается, повидимому, легче тогда, когда они подвергнуты высушиванію при болѣе или менѣе высокой t , чѣмъ за отсутствіемъ этого высушиванія.

3) Расщепленіе высушенныхъ, предварительно свернутыхъ, бѣловыхъ веществъ лошадиной кровяной сыворотки подъ вліяніемъ 0,5% соляной кислоты при вышеуказанныхъ условіяхъ протекаетъ, повидимому, не интенсивнѣе, чѣмъ это наблюдается у не высушенныхъ, — по крайней мѣрѣ это можно отмѣтить относительно продуктовъ распада типа моноаминокислотъ.

Казеинъ.

Казеинъ принадлежитъ къ нуклеоальбуминамъ — къ группѣ бѣлковъ, отличающихся содержаніемъ фосфора въ своей частицѣ. Вслѣдствіе этой послѣдней особенности нуклеоальбумины примыкаютъ къ нуклеопротеидамъ, съ которыми они часто смѣшивались. Однако, между тѣмъ, какъ нуклеопротеиды при расщепленіи даютъ пуриновыя основанія, нуклеоальбумины ядромъ пуриновой группы не обладаютъ. По Pick'у¹⁾ казеинъ является типичнымъ представителемъ гемигруппы, содержащей много моноаминокислотъ, особенно тирозина, но не содержащей гликоколла. При пептическомъ перевариваніи казеинъ расщепляется на фосфорсодержащую альбумозу, изъ которой отщепляется псевдонуклеинъ, причемъ часть органически связаннаго фосфора отщепляется въ видѣ ортофосфорной кислоты. Кромѣ указанныхъ продуктовъ, полученныхъ при пептическомъ перевариваніи казеина, Salkowski²⁾ выдѣлилъ фосфорсодержащую кислоту, названную имъ парануклеиновой кислотой.

Для своего опыта я пользовался казеиномъ, выдѣленнымъ мною изъ коровьяго молока.

Приготовленіе препарата.

3 ведра центрифугированнаго свѣжаго коровьяго молока были разведены равнымъ объемомъ воды. Для осажденія казеина, къ отдѣльнымъ порціямъ разведеннаго молока прибавлялась слабая уксусная кислота то тѣхъ поръ, пока даль-

1) Pick, Zeitschr. f. physiol. Chem. 28 p, 219.

2) Salkowski, Zeitschr. f. physiol. Chem. 32.

нѣйшее прибавленіе послѣдней не производило появленія осадка. Полученные изъ всѣхъ порцій обильные осадки были собраны на рѣдкій холстъ, промыты на немъ водою и отжаты; осадокъ былъ смѣшанъ съ водою и нагрѣтъ на водяной банѣ при $70-75^{\circ}$ С. въ продолженіи 10 мин. Отдѣленный и отжатый послѣ нагрѣванія осадокъ растирался въ ступкѣ, былъ смѣшанъ съ 10 литр. воды, смѣсь нейтрализована ѣдкимъ натріемъ, послѣ чего этотъ послѣдній былъ прибавленъ въ избытокъ до $0,15\%$ содержанія, вслѣдъ за чѣмъ смѣсь держалась при комн. t съ 4 часа до почти полного растворенія казеина. Полученный щелочный растворъ казеина былъ фильтрованъ черезъ бумагу и фильтратъ нейтрализованъ соляной кислотой до полного выдѣленія казеина. Осадокъ очищеннаго такимъ образомъ казеина былъ собранъ въ марлевомъ мѣшкѣ, промытъ 3 раза 10 литрами воды, причемъ послѣднее промываніе было произведено перегнанной водою, и осадокъ былъ окончательно отжатъ на марлѣ. Получилось 1500 гр. влажнаго казеина, который былъ мелко растертъ въ ступкѣ, смѣшанъ въ объемистой бутылѣ съ 12 литрами $0,5\%$ HCl (140 к. с. HCl уд. в. 1,19), и, въ присутствіи избытка хлороформа, поставленъ 1. X 904 г. въ термостатъ при $36-38^{\circ}$ С.

Одновременно съ этимъ, смѣсь была испытана по Метту на присутствіе протеолитическихъ ферментовъ; эти контрольные пробы держались въ термостатѣ съ 8. X 904 г. по 5. XI 904 г., причемъ содержимое цилиндриковъ оказалось, не раствореннымъ.

Черезъ извѣстные промежутки времени въ фильтратѣ получаемомъ отъ настаиваемой смѣси, былъ опредѣленъ, по указаннымъ при желатинѣ способамъ, какъ общій, такъ и моноаминовый азотъ. Результаты усматриваются изъ таблицъ № 6 и 7, причемъ первая таблица относится къ общему азоту, а вторая — къ моноаминовому.

При семъ долженъ отмѣтить, что отъ 20. XII 904 г. до 14. I 905 г. смѣсь казеина стояла при комнатной t.

Т а б л и ц а № 6.

	Количество фильтрата	Количество $\frac{n}{10} \cdot \text{H}_2\text{SO}_4$ связанной NH_3 -омъ въ приемникѣ	Количество азота въ 100 к. с. фильтрата
16. X 904 г.	50 к. с.	30,3 к. с.	0,089 гр.
	50 к. с.	30,3 к. с.	
22. X 904 г.	50 к. с.	35,3 к. с.	0,103 гр.
	50 к. с.	35,3 к. с.	
16. XI 904 г.	50 к. с.	37,3 к. с.	0,110 гр.
	25 к. с.	18,3 к. с.	
18. XI 904 г.	25 к. с.	19,2 к. с.	0,115 гр.
	25 к. с.	19,2 к. с.	
1. XII 904 г.	20 к. с.	16,7 к. с.	0,124 гр.
	20 к. с.	16,5 к. с.	
14. XII 904 г.	10 к. с.	8,6 к. с.	0,126 гр.
	10 к. с.	8,6 к. с.	
14. I 905 г.	10 к. с.	9,0 к. с.	0,131 гр.
	10 к. с.	9,1 к. с.	
1. II 905 г.	10 к. с.	9,2 к. с.	0,134 гр.

Примѣчаніе. Титръ 1 к. с. $\frac{n}{10} \cdot \text{H}_2\text{SO}_4$ по 18. XI 904 г. = 0,00147 гр. азота; титръ 1 к. с. этой кислоты въ остальныхъ пробахъ = 0,00146 гр. азота.

Т а б л и ц а № 7.

П р о б ы		Количество $\frac{n}{100} \cdot \text{H}_2\text{SO}_4$, связанной NH_3 -омъ въ пріёмникѣ.	Количество моноамин. азота въ 100 к. с. испыт. фильтрата.
15. I 905 г.	1-ая проба 35 к. с. до 250 к. с. взято для опредѣл. N 100 к. с.	4,3 к. с.	0,045 гр., 34,6% об- щого азота въ филт.
	2-ая проба 35 к. с. до 250 к. с. взято для опредѣл. N 100 к. с.	4,2 к. с.	
1. II 905 г.	50 к. с. до 250 к. с. взято для опредѣл. N 100 к. с.	6,9 к. с.	0,05 гр., 37,3% об- щого азота въ филт.

Изъ данныхъ, приводимыхъ въ таблицахъ № 6 и № 7 явствуется, что:

1) Казеинъ коровьяго молока при настаиваніи его съ 0,5% соляной кислотой при 36—38° С. постепенно, медленно растворяется.

2) Разсматриваемый казеинъ при вышеуказанныхъ условіяхъ не только растворяется, но и претерпѣваетъ расщепленіе: въ возникающемъ раствѣ казеина констатируются азотсодержащіе продукты распада, не осаждающіеся ф.-в. кислотой; относительное количество азота этихъ продуктовъ достигло послѣ 95 дневнаго настаиванія казеина сѣ. 37%, считая на общій азотъ раствореннаго казеина.

Въ фильтратѣ казеина 20. I 905 г. была опредѣлена свободная соляная кислота такъ-же, какъ это производилось у желатины. Количество послѣдней оказалось равнымъ 0,3%. Для возстановленія первоначальнаго (0,5%) содержанія свободной соляной кислоты, къ смѣси казеина въ термостатѣ 21. I 905 г. было прибавлено соляной кислоты до 0,5%.

Такимъ образомъ, при настаиваніи казеина при вышеуказанныхъ условіяхъ происходитъ такое же связываніе свободной соляной кислоты въ настаиваемой смѣси, какое

наблюдается, конечно, въ гораздо болѣе сильной степени, при пептическомъ перевариваніи этого бѣлковаго вещества.

Раздѣленіе продуктовъ настаиванія.

7. II 905 г. настаиваніе казеина въ термостатѣ при 36—38° С. было прервано, и смѣсь казеина была профильтрована, причемъ на фильтрѣ осталась густая масса набухшаго казеина; нужно отмѣтить, что смѣсь имѣла явный запахъ хлороформа. 10 литровъ фильтрата были подкислены сѣрной кислотой до 0,5% содержанія этой кислоты и обработаны ф.-в. кислотой, какъ это указано при подобномъ осажденіи продуктовъ настаиванія желатины. Образовавшійся осадокъ былъ отфильтрованъ, 2 раза промытъ при смѣшиваніи его съ 5 и 3 литрами воды, подкисленной сѣрной кислотой въ присутствіи небольшого количества ф.-в. кислоты, причемъ послѣ каждого промыванія собранный на фильтрѣ осадокъ подвергался еще фильтрованію на нучѣ. Промытый такимъ образомъ осадокъ былъ смѣшанъ съ 4 литрами воды и разложенъ ѣдкимъ баритомъ, взятымъ въ незначительномъ избыткѣ. Образовавшійся тяжелый осадокъ фосфо-вольфрамата барія былъ отфильтрованъ и тщательно промытъ водою. Первоначальный, какъ и промывные фильтраты были соединены вмѣстѣ, насыщены углекислотой и выпарены до 3 литровъ, углекислый баритъ былъ отфильтрованъ, остатокъ барита окончательно удаленъ сѣрной кислотой, сѣрноокислый барій отфильтрованъ, и полученный такимъ образомъ фильтратъ сгущенъ при сѣ. 40° С. до 1 литра, — растворъ В. Произведенныя опредѣленія въ растворѣ В азота и сухого остатка дали слѣд. результаты:

азота	1,1%	=	11 гр. въ 1 литрѣ раствора
сухого остатка	7,16%	=	71,6 гр. " " "
зола	0,04%	=	0,4 гр. " " "
органич. веществъ	7,12%	=	71,2 гр. " " "

Продукты расщепленія, не осаждающіеся ф.-в. кислотой.

Фильтратъ, полученный отъ осадка ф.-в. кислоты, былъ соединенъ съ промывными водами этого осадка и, для связыванія свободныхъ кислотъ, соляной и сѣрной, обработанъ ѣдкимъ баритомъ, взятымъ въ незначительномъ избыткѣ, насыщенъ углекислотой и выпаренъ на водяной банѣ до 5 литровъ. Для удаленія барита къ сгущенному раствору была прибавлена сѣрная кислота и возникшій сѣрнокислый барій отфильтрованъ. Для предварительнаго удаленія соляной кислоты къ полученному отъ BaSO_4 фильтрату былъ прибавленъ гидратъ окиси свинца. На другой день смѣсь была профильтрована, фильтратъ обработанъ сѣроводородомъ и сѣрнистый свинецъ отфильтрованъ. Для окончательнаго удаленія соляной кислоты, къ подкисленному сѣрной кислотой фильтрату была прибавлена окись серебра, осадокъ хлористаго серебра отфильтрованъ, и изъ полученнаго фильтрата серебро удалено сѣроводородомъ, а сѣрная кислота баритомъ. Послѣ отфильтрованія полученныхъ осадковъ, фильтратъ былъ сгущенъ на водяной банѣ до 1 литра, — растворъ М. Сгущенный растворъ сильно пожелтѣлъ. Оказалось, что приготовленный изъ азотнокислаго свинца гидратъ содержалъ азотную кислоту, разрушающую органическое вещество раствора М. Въ виду этого обстоятельства дальнѣйшее изслѣдованіе раствора было прекращено. Производилось лишь опредѣленіе въ немъ органическаго вещества. Найдено:

сухого остатка $2,3\% = 23$ гр. въ 1 литрѣ раствора

зола $0,45\% = 4,5$ „ „ „ „ „

орган. вещества $1,85\% = 18,5$ „ „ „ „ „

Растворъ М не давалъ біуретовой реакціи.

Такимъ образомъ, изъ опытовъ, произведенныхъ съ представленнымъ съ $0,5\%$ HCl казеиномъ коровьяго молока, при вышеуказанныхъ условіяхъ, слѣдуетъ, что это бѣлковое

вещество при упомянутыхъ условіяхъ постепенно растворяется и подвергается расщепленію, что указываетъ на относительно значительное гидролитическое дѣйствіе соляной кислоты, какъ таковой, при пептическомъ перевариваніи этого бѣлка.

Гемоглобинъ.

Вслѣдствіе своей способности легко кристаллизоваться гемоглобинъ можетъ считаться однимъ изъ наиболѣе опредѣленныхъ въ химическомъ отношеніи бѣлковыхъ индивидовъ. По своему составу гемоглобинъ принадлежитъ къ группѣ протеидовъ, характеризующихся тѣмъ, что молекула принадлежащихъ къ этой группѣ веществъ содержитъ, кромѣ бѣлковой части, еще безбѣлковую часть, связанную съ первой. Такая безбѣлковая боковая группа названа Kossel'емъ простетической группой. При пептическомъ или триптическомъ перевариваніи гемоглобина, — расщепленіе котораго по F. Schulz'у¹⁾ легко достигается этими ферментами, — среди первыхъ продуктовъ расщепленія его является глобинъ, гистонъ²⁾, — бѣлковая часть молекулы гемоглобина, и гематинъ, — простетическая ея часть. Эта послѣдняя содержитъ желѣзо. Продуктами болѣе глубокаго распада гемоглобина, геср. глобина являются: лейцинъ, тирозинъ, глутаминовая кислота, аспарагиновая кислота и т. д.^{3) 4)} Гликоколъ между продуктами распада гемоглобина до сихъ поръ не найденъ. По Hausmann'у⁵⁾ распределеніе азота въ гемоглобинѣ слѣдующее: 6,18% въ видѣ амміачнаго азота, 63,26% моноамино- и 23,5% діамино азота. Для своего опыта я пользовался гемоглобиномъ лошадиной крови.

1) F. Schulz, Zeitschr. f. physiol. Chem. 24 p. 449.

2) F. Schulz, l. c.

3) D. Lawrow, Ber. d. d. chem. Ges. 34.

4) E. Abderhalden, Zeitschr. f. physiol. Chem. 37 p. 484.

5) W. Hausmann, Zeitschr. f. physiol. Chem. 29 p. 136.

Приготовление препарата.

3 литра красныхъ кровяныхъ тѣлецъ, полученныхъ отъ стаиваніемъ свѣжей лошадиной крови, были смѣшаны съ 6 литрами дест. воды. Полученная такимъ образомъ лаковая кровь была профильтрована, постепенно смѣшана при частомъ помѣшиваніи съ $\frac{1}{4}$ объемомъ охлажденнаго 98° спирта и оставлена для кристаллизаціи гемоглобина на холоду при $s_{\text{а}}$ — 5° до — 8° С. Послѣ двухдневнаго стоянія выкристаллизовавшійся гемоглобинъ былъ отфильтрованъ на холоду, отжать при t ниже 0° между листами фильтровальной бумаги, отжатая масса снята съ бумаги шпателью, растворена въ 7 литрахъ дест. воды при 35° и растворъ профильтрованъ. Охлажденный растворъ былъ по прежнему смѣшанъ съ $\frac{1}{4}$ объемомъ 98° спирта и оставленъ на холоду для кристаллизаціи. Собранный кристаллическій осадокъ еще разъ былъ перекристаллизованъ по вышеуказанному способу и растворенъ въ 10 литрахъ дест. воды. Къ раствору было прибавлено 2 литра воды, смѣшанной съ соляной кислотой (134 к. с. HCl уд. в. 1,19), такъ что вся смѣсь — 12 литровъ — содержала $0,5\%$ HCl. Этотъ растворъ гемоглобина, содержащій $0,5\%$ HCl былъ 28. I 905 г. поставленъ, съ избыткомъ хлороформа, въ термостатъ при $36-38^{\circ}$ С.

Нужно отмѣтить, что растворъ гемоглобина отъ 1. V 905 г. до 20. VIII 905 г. стоялъ при комн. t . Прозрачный, жидкій растворъ началъ постепенно густѣть вслѣдствіе разложенія гемоглобина на глобинъ и гематинъ, причемъ образовался бураго цвѣта осадокъ.

Далѣе, настаиваемый растворъ былъ испытанъ по Метту. Содержимое цилиндриковъ, наставленныхъ 29. I 905 г. съ испытуемой смѣсью при $36-38^{\circ}$ С. до 2. III 905 г. не растворялось.

Въ настаиваемомъ растворѣ было 5. V 905 г. и 2. V 905 г. опредѣлено, по вышеуказанному способу съ реактивомъ

Günzberg'a, количество свободной соляной кислоты. При первом опредѣленіи количество названной кислоты оказалось равнымъ 0,27%, а при второмъ — 0,23%.

Такимъ образомъ, при настаиваніи гемоглобина лошадиной крови съ 0,5% соляной кислотой при вышеупомянутыхъ условіяхъ происходитъ постепенное, довольно энергичное, связываніе свободной соляной кислоты, — тотъ же процессъ, какой наблюдается при гидролитическомъ расщепленіи гемоглобина, производимомъ 0,5% HCl въ присутствіи пепсина.

Черезъ извѣстные промежутки времени изъ настаиваемой смѣси брались пробы, которыя фильтровались и въ фильтратѣ опредѣлялся общій и моноаминовый азотъ, какъ это описано выше у желатины. Результаты этихъ опредѣленій усматриваются изъ таблицъ № 8 и № 9, причемъ первая изъ нихъ относится къ общему, а вторая къ моноаминовому азоту.

Т а б л и ц а № 8.

	Количество фильтрата.	Количество н/10. H ₂ SO ₄ , связанной NH ₃ -омъ въ приёмникѣ.	Количество азота въ 100 к. с. фильтрата
28. I 905 г.	10 к. с.	20,5 к. с.	0,3 гр.
10. III 905 г.	10 к. с.	17,7 к. с.	0,258 гр.
13. IV 905 г.	10 к. с.	12,8 к. с.	0,186 гр.
1. X 905 г.	10 к. с.	13,7 к. с.	0,2 гр.
1. XI 905 г.	10 к. с.	5,1 к. с.	0,074 гр.
	10 к. с.	5,3 к. с.	0,077 гр.

Примѣчаніе. Титръ 1 к. с. н/10. H₂SO₄ = 0,00146 гр. азота.

Данныя пробы отъ 1. XI 905 г. относятся къ разведен-

ному фильтрату настаиваемой смѣси: фильтратъ былъ разведенъ для осажденія его ф.-в. кислотой.

Таблица № 9.

	П р о б ы	Колич. $\frac{n}{10}$ H_2SO_4 , свя- занной NH_3 въ приемникъ	Колич. моноаминов. азота въ 100 к. с. фильтрата
10. III 905 г.	50 к. с. до 500 к. с. для опредѣл. N взято 150 к. с.	2,5 к. с.	0,024 гр., 9,3% общаго N въ фильтратѣ.
13. IV 905 г.	25 к. с. до 250 к. с. для опредѣл. N взято 150 к. с.	4,1 к. с.	0,04 гр., = 21,6% общаго N въ фильтратѣ.
1. X 905 г.	25 к. с. до 250 к. с. для опредѣл. N взято 150 к. с.	6,0 к. с.	0,058 гр., — 29% общаго N въ фильтратѣ.
1. XI 905 г.	1-ая проба. 200 к. с. до 500 к. с. для опредѣл. N взято 150 к. с.	10,7 к. с.	0,026 гр., — 35% общаго N въ фильтратѣ.
1. XI 905 г.	2-ая проба. 200 к. с. до 500 к. с. для опредѣл. N взято 150 к. с.	10,8 к. с.	0,026 гр., — 35% общаго N въ фильтратѣ.

Примѣчаніе. О титрѣ $\frac{n}{10}$ H_2SO_4 см. таблицу № 8.

Итакъ, данныя таблицъ № 8 и № 9 показываютъ, что

1) гемоглобинъ лошадиной крови, при настаиваніи его съ 0,5% соляной кислотой при вышеуказанныхъ условіяхъ, расщепляется. Расщепленіе это доходитъ до возникновенія азотистыхъ продуктовъ, не осаждающихся ф.-в. кислотой; послѣ сѣ 160 дневнаго настаиванія гемоглобина количество азота этихъ азотистыхъ продуктовъ составляло сѣ 35% общаго азота веществъ, имѣвшихся тогда въ растворѣ.

2) При указанномъ настаиваніи гемоглобина наблюдается, между прочимъ то, что по мѣрѣ расщепленія его

происходит постепенное уменьшение общего азота въ фильтратъ (см. табл. 8), что находится въ связи съ упомянутымъ бурымъ осадкомъ, выпадающимъ изъ раствора гемоглобина при этомъ настаиваніи.

Раздѣленіе продуктовъ настаиванія.

Послѣ сѣ 160 дневнаго стоянія въ термостатѣ настаиваніе гемоглобина было 1. XI 905 г. окончательно прервано и гемоглобиновая смѣсь подвергнута дальнѣйшей обработкѣ, съ цѣлью раздѣленія возникшихъ продуктовъ настаиванія. Густоватая, темно-бурого цвѣта сильно пахучая хлороформомъ смѣсь была разведена половиннымъ объемомъ дест. воды и профильтрована; на фильтрѣ остался липкій осадокъ темно бурого цвѣта. Для промыванія осадка послѣдній былъ 2 раза смѣшанъ съ водою и каждый разъ отфильтрованъ. Первоначальный фильтрѣтъ — темно-соломенно желтаго цвѣта — и промывные фильтраты осадка были соединены вмѣстѣ, что дало 20 литровъ раствора. Въ отдѣльной пробѣ этого раствора былъ опредѣленъ какъ общій, такъ и моноаминовый азотъ. Результаты даннаго изслѣдованія усматриваются изъ таблицъ № 8 и 9, — опредѣленія отъ 1. XI 905 г. 19 литровъ этого раствора, подкисленнаго до 0,5% содержанія сѣрной кислоты, были обработаны, какъ это описано у желатины. Растворъ былъ осажденъ ф.-в. кислотой, образовавшійся осадокъ отдѣленъ, и 2 раза смѣшанъ съ 6 и 4 литрами дест. воды при тщательномъ помѣшиваніи и послѣдовательномъ фильтрованіи. Промытый такимъ образомъ осадокъ былъ смѣшанъ съ 5 литр. воды и смѣсь была разложена при 40—45° С. теплымъ, насыщеннымъ растворомъ ѣдкаго барита. Образовавшійся послѣ этого осадокъ фосфо-вольфрамата барія былъ отфильтрованъ, промытъ дест. водою, фильтраты соединены вмѣстѣ, насыщены углекислотою и выпарены на водяной банѣ до $\frac{1}{3}$ объема.

Углекислый барій былъ отфильтрованъ, и остатки барія окончательно удалены сѣрной кислотой, взятой безъ избытка; полученный послѣ отфильтрованія BaSO_4 фильтратъ былъ сгущенъ при сѣ 40°C . до 1,5 литра и обозначенъ растворомъ В — растворъ продуктовъ гидролиза гемоглобина основного характера.

Относительно продуктовъ гидролиза гемоглобина, не осаждающихся ф.-в. кислотой см. стр. 86.

Растворъ В содержалъ:

азота	$0,48\%$	$= 7,32$ гр. въ 1,5 литр. раствора
сухого остатка. . .	$2,93\%$	$= 43,95$ " " 1,5 " "
зола	с л ѣ д ы	
органич. вещества	$2,93\%$	$= 43,9$ " " 1,5 " "

Растворъ В.

Выдѣленіе и количественное опредѣленіе продуктовъ расщепленія, не осаждающихся сѣрно-кислымъ аммоніемъ (по Kühne).

346,5 к. с. раствора В, содержащіе 1,69 гр. азота, насыщались $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$, взятымъ въ избытокъ, сначала на водяной банѣ, потомъ на песчаной банѣ при сѣ 102°C . Послѣ этого объектъ былъ профильтрованъ въ горячемъ видѣ при помощи воронки Plantamour'a. Оставшаяся на фильтрѣ тягучая, липкая масса — альбумозы — была растворена въ горячей водѣ, полученный растворъ вновь осажденъ вышеописаннымъ образомъ $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$, взятымъ въ избытокъ, послѣ чего смѣсь по предыдущему профильтрована въ горячемъ видѣ. Оба фильтрата, полученные отъ осадка альбумозъ, доведены разбавленіемъ водою до 500 к. с. — растворъ Р. 250 к. с. этого амфопептоноваго раствора Р были обработаны ѣдкимъ баритомъ, и подконецъ углекислымъ баритомъ, взятымъ

въ незначительномъ избыткѣ; вытѣсненный при этомъ амміакъ былъ удаленъ сгущеніемъ раствора на водяной банѣ. Осадокъ барита былъ отфильтрованъ и тщательно промытъ водою; фильтратъ, какъ и промывные фильтраты этого осадка были соединены вмѣстѣ, и полученный растворъ амфопептона доведенъ до 500 к. с. — растворъ R. Изъ этого раствора R было взято для опредѣленія азота 20 к. с.; израсходовано 9,2 к. с. $\frac{1}{10} \cdot \text{H}_2\text{SO}_4 = 0,335$ гр. азота въ 500 к. с. раствора R; но такъ какъ эти 500 к. с. раствора R соответствуютъ 250 к. с. первоначальнаго раствора P, то въ 500 к. с. этого послѣдняго содержится $0,335 \times 2 = 0,67$ гр. азота. Такъ какъ въ объемѣ раствора B, взятомъ для опыта (346,5 к. с.) содержалось 1,69 гр. общаго азота, то слѣдуетъ, что 0,67 гр. азота $= 39,6\%$ этого общаго азота въ растворѣ B, т. е. 39,6% азота, приходится на долю продуктовъ распада, не осаждающихся сѣрнокислымъ аммоніемъ по Kühne.

Изъ только-что описаннаго опредѣленія слѣдуетъ, что при продолжительномъ настаиваніи гемоглобина съ растворомъ 0,5% HCl при 36—38° C. возникаютъ, не только альбумозы, но и вещества основнаго характера, входящія въ составъ пептона Kühne, а именно въ относительно значительномъ количествѣ.

Продукты настаиванія, не осаждающіеся ф.-в. кислотой.

Фильтратъ, какъ и промывныя воды отъ вышеописаннаго осадка, полученнаго съ помощью осажденія фильтрата гемоглобина ф.-в. кислотой, были соединены вмѣстѣ и обработаны, какъ это описано у желатины слѣд. образомъ: для связыванія свободной соляной и сѣрной кислотъ къ раствору былъ прибавленъ ѣдкій баритъ, взятый въ незначительномъ избыткѣ, избытокъ ѣдкаго барита связанъ углекислотой, и

смѣсь выпарена на водяной банѣ до 5 литровъ. Послѣ удаленія углекислаго барія изъ раствора была удалена соляная кислота окисью серебра въ присутствіи небольшого количества сѣрной кислоты, и эта послѣдняя удалена ѣдкимъ баритомъ, взятымъ безъ избытка. Послѣ отфильтрованія сѣрнокислаго барія фильтратъ былъ сгущенъ при сѣ 40° С. до 3 литровъ и обозначенъ растворомъ М. Растворъ этотъ содержалъ:

азота	0,4 % =	12 гр. въ 3 литрахъ раствора,
сухого остатка . . .	2,86% =	85,8 гр. " " "
зола	0,18% =	5,4 гр. " " "
органич. веществъ .	2,68% =	80,4 гр. " " "

Качественныя реакціи растворовъ В и М.

Съ растворами В и М были продѣланы нижеслѣдующія реакціи. Растворъ В, содержавшій большее количество органич. веществъ, чѣмъ растворъ М, былъ разведенъ соотвѣтствующимъ количествомъ воды до одинаковаго съ растворомъ М содержанія органич. веществъ (2,68%) и названъ растворомъ В'.

Растворъ В'.

Реактивъ: 10% водный растворъ ф.-в. кислоты.

5 к. с. раствора + 10 к. с. воды + 1 к. с. 20% H_2SO_4 + 2 к. с. реактива, прибавленнаго по каплямъ, — возникаетъ весьма обильный хлопчат. осадокъ, превратившій пробу въ густую кашу.

Растворъ М.

5 к. с. раствора + 10 к. с. воды + 1 к. с. 20% H_2SO_4 + 2 к. с. реактива, прибавленнаго по каплямъ, — возникъ хлопчатый осадокъ, быстро осѣдающій на дно пробирки въ видѣ пылеобразнаго, очень незначительнаго слоя.

Біуретовая реакція

5 к. с. раствора + 1 к. с. 10% NaOH + 5% CuSO ₄ 2 капли,	5 к. с. раствора + 1 к. с. 10% NaOH + 5% CuSO ₄ 2 капли,
— образуется розово-красное окрашивание средн. степени. При дальнейшей прибавлении CuSO ₄ окрашивание становится фиолетово-краснымъ.	ли, — появилось розово-красное окрашивание, переходящее отъ избытка CuSO ₄ въ интенсивно синее.

Реакція Миллона

5 к. с. раствора + 5 капель реактива, — возникаетъ обильный осадокъ, окрашивающійся при нагреваніи въ кирпично-красный цвѣтъ.	5 к. с. раствора + 5 капель реактива, — слабая опалесценція; при нагреваніи ярко-кирпично-краснаго цвѣта осадокъ.
---	---

Реакція Эсбаха

5 к. с. раствора + 5 к. с. реактива, — возникаетъ обильный осадокъ.	5 к. с. раствора + 5 к. с. реактива, — растворъ остается безъ измѣненія.
---	--

Сѣрноокислый аммоній in substantia

Реактивъ, взятый въ избытокъ, производитъ обильный хлопчат. осадокъ.	Реактивъ, взятый въ избытокъ, производитъ лишь слабую опалесценцію.
--	---

5% водный растворъ сулемы

Прибавленіе реактива къ раствору по каплямъ производитъ обильный хлопчатый осадокъ.	При прибавленіи реактива къ раствору по каплямъ, послѣдній остается безъ измѣненія. При осторожномъ прибавленіи къ смѣси раствора NaOH по каплямъ образуется весьма незначительный осадокъ.
---	---

Красная и синяя лакмусовыя бумажки
Рѣзко щелочная реакція. Слабо кислая реакція.

Изъ ряда приведенныхъ реакцій растворовъ М и В' resp. В явствуетъ, что:

1) эти растворы рѣзко отличаются между собою рядомъ вышеприведенныхъ реакцій, столь характерныхъ для нативныхъ бѣлковъ, альбумозъ, пептоновъ и простѣйшихъ основныхъ продуктовъ ихъ гидролиза: растворъ В даетъ всѣ эти реакціи, растворъ М или совсѣмъ въ этомъ отношеніи не реагируетъ, или же реакція очень слабо выражена, какъ напр. съ ф.-в. кислотой.

2) Растворъ В содержитъ такіе продукты гидролиза гемоглобина, которые по своему отношенію къ вышеприведеннымъ реактивамъ походятъ на моноаминокислоты resp. вещества типа этихъ кислотъ.

Растворъ М.

Выдѣленіе кристаллич. продуктовъ путемъ сгущенія раствора М. 342 к. с. раствора М были сгущены, сначала на водяной банѣ, потомъ въ вакуумъ-эксиккаторѣ. Послѣ 7 дневнаго стоянія сгущеннаго раствора при комн. т образовался, въ среднемъ количествѣ, осадокъ, состоящій изъ массы маленькихъ шариковъ и меньшаго количества большихъ, лейцинообразныхъ шаровъ съ концентрическою полосатостью. По мѣрѣ сгущенія количество осадка увеличивалось. — Очевидно, что въ растворѣ М находились легко кристаллизующіеся продукты распада гемоглобина — по всей вѣроятности тѣ или другія моноаминокислоты, какъ таковыя. Для изолированія этихъ моноаминокислотъ я прибѣгъ къ приготовленію ихъ мѣдныхъ солей.

Приготовление мѣдныхъ солей: 1027 к. с. раствора М, содержавшаго сѣ 14 гр. органич. веществъ, были сгущены на водяной банѣ. Къ сгущенному раствору, при дальнѣйшемъ пагрѣваніи его на водяной банѣ, былъ прибавленъ свѣже-осажденный гидратъ окиси мѣди въ нѣкоторомъ избыткѣ. Послѣ сѣ $1\frac{1}{2}$ час. стоянія на водяной банѣ, окрашенный въ интенсивный синій цвѣтъ растворъ былъ профильтрованъ, и осадокъ — избытокъ $\text{Cu}(\text{OH})_2$ — на фильтрѣ промытъ горячею водою. Соединенные фильтраты были поставлены на холоду, причемъ на другой день изъ раствора выпалъ значительный кристаллическій, голубого цвѣта осадокъ, состоящій изъ шариковъ и изъ пучковъ иглъ, сгруппированныхъ въ видѣ хвоевъ. Собранный на фильтрѣ, промытый холодной водою и высушенный при комн. t . въ вакуумъ-эксиккаторѣ осадокъ вѣсилъ 3 гр. Высушенный осадокъ былъ растворенъ въ кипящей водѣ, причемъ часть его осталась не растворенной, — повидимому, она была весьма трудно растворима въ водѣ. Полученный горячій растворъ былъ отфильтрованъ отъ осадка. Еще въ тепломъ фильтратѣ началъ выдѣляться кристаллическій осадокъ. На другой день осадокъ былъ отфильтрованъ, промытъ холодною водою, по прежнему перекристаллизованъ и высушенъ, сначала въ вакуумъ-эксиккаторѣ, потомъ до постоянного вѣса при $110\text{--}115^\circ \text{C}$. При послѣдней сушкѣ замѣчалось около 20% потери вѣса вещества. Въ высушенной до постоянного вѣса мѣдной соли было произведено опредѣленіе мѣди и азота. Для опредѣленія мѣди было взято 0,2355 гр. вещества. Прокаливаніе было произведено по способу, указанному при анализѣ мѣдной соли сывороточныхъ бѣлковъ. Послѣ вторичнаго прокаливанія остатокъ — окись мѣди — вѣсилъ 0,0885 гр., —

найдено: $37,5\% \text{ CuO}$, $= 29,95\% \text{ Cu}$.

Определение азота производилось съ 0,203 гр. вещества; израсходовано 9,5 к. с. $\frac{1}{10} \cdot \text{H}_2\text{SO}_4 = 0,00146 \times 9,5 = 0,01387$ гр. азота, —

найдено: 6,83% N.

Итакъ, по приведеннымъ аналитическимъ даннымъ эта мѣдная соль походить на безводную соль глутаминовой кислоты,

Оставшаяся послѣ перваго растворенія описываемыхъ мѣдныхъ солей не растворившаяся ихъ часть была смѣшана съ подкисленной сѣрной кислотой водой и разложена сѣроводородомъ. Послѣ отфильтрованія сѣрнистой мѣди и удаленія H_2S и сѣрной кислоты, фильтратъ былъ сгущенъ на водяной банѣ до незначительнаго объема. На другой день изъ раствора выдѣлился осадокъ въ видѣ бѣлыхъ, тонкихъ, чешуйчатыхъ листочковъ. Въ виду относительно незначительнаго количества этого осадка было выгодно для аналитическихъ цѣлей обратно его перевести въ мѣдную соль, для чего осадокъ былъ растворенъ въ водѣ и полученный растворъ при нагреваніи на водяной банѣ обработанъ $\text{Cu}(\text{OH})_2$. Скоро послѣ прибавленія $\text{Cu}(\text{OH})_2$, растворъ, будучи еще нагрѣтымъ, закристаллизовался. На другой день осадокъ былъ отфильтрованъ, промытъ холодной водой, перекристаллизованъ изъ горячаго воднаго раствора, промытъ и высушенъ, сначала въ вакуумъ-эксиккаторѣ, потомъ при 110—115° С.; при послѣдней сушкѣ замѣчалась потеря вѣса вещества съ 23%, — слѣдовательно, имѣющаяся въ обработкѣ мѣдная соль содержала кристаллизационную воду. Высушенное вещество было мною анализировано на содержаніе мѣди и азота,

Для определения мѣди взято для прокаливанія 0,2625 гр. вещества. Послѣ вторичнаго прокаливанія остатокъ вѣсилъ 0,099 гр., —

найдено: 37,7% $\text{CuO} = 30,1\frac{1}{10}\%$ Cu.

Определение азота производилось съ 0,2475 гр. вещества; израсходовано 11,6 к. с. $\frac{1}{10}$ H₂SO₄ = $0,00146 \times 11,6 = 0,01693$ гр. азота, —

найдено : 6,84 $\frac{1}{10}$ N.

Изъ только что приведенныхъ аналитическихъ данныхъ, относящихся къ выдѣленной изъ раствора М мѣдной соли, слѣдуетъ, что содержаніе въ ней мѣди и азота совпадаетъ съ содержаніемъ этихъ элементовъ въ мѣдной соли безводной глутаминовой кислоты, CuC₅H₇NO₄, а именно:

Найдено :	Вычислено : для CuC ₅ H ₇ NO ₄
30,1 $\frac{1}{10}$ Cu	30,4 $\frac{1}{10}$ Cu
6,84 $\frac{1}{10}$ N	6,7 $\frac{1}{10}$ N.

Какъ выше сказано, выдѣленная мною при разложеніи мѣдной соли сѣроводородомъ свободная глутаминовая кислота имѣла форму тонкихъ листочковъ, между тѣмъ, какъ обыкновенно эта кислота кристаллизуется въ формѣ тетраэдровъ. Подобнаго рода явленіе отмѣчаетъ E. Schulze¹⁾; онъ заявляетъ, что при разложеніи мѣдной соли глутаминовой кислоты эта послѣдняя кислота получена имъ всегда въ видѣ листочковъ, — образованіе тетраэдрическихъ кристалловъ онъ при полученіи этой кислоты изъ ся мѣдныхъ солей никогда не наблюдалъ.

Итакъ, растворъ М оказался содержащимъ глутаминовую кислоту, какъ таковую. По всей вѣроятности онъ содержалъ и другія какія либо моноаминокислоты, какъ таковыя : кристаллическій осадокъ, полученный путемъ сгущенія раствора М, содержалъ, между прочимъ, такіе шары, въ какихъ обычно кристаллизуется лейцинъ.

1) E. Schulze, Zeitschr. f. physiol. Chem. 9 p. 109.

Разрушеніе раствора М съ помощью 20% сѣрной кислоты. Первоначальный маточный растворъ послѣ выдѣленія изъ него кристаллическихъ мѣдныхъ солей былъ выпаренъ до консистенціи сиропа. При стояніи въ продолженіи 1½ недѣли при комн. t растворъ этотъ не закристаллизовался послѣ чего онъ былъ разбавленъ водою и при подкисленіи сѣрной кислотой разложенъ сѣроводородомъ; фильтратъ отъ отдѣленнаго осадка сѣрнистой мѣди, давшій явную біуретовую реакцію, былъ кипяченъ на песчаной банѣ съ 20% H_2SO_4 въ колбѣ съ обратнымъ холодильникомъ въ продолженіи 6 часовъ, послѣ чего изъ содержаемаго колбы была удалена сѣрная кислота ѣдкимъ баритомъ. Фильтратъ отъ сѣрноокислаго барія не давалъ уже біуретовой реакціи. При сгущеніи его до консистенціи сиропа, фильтратъ закристаллизовался; кристаллическій осадокъ состоялъ изъ массы крупныхъ, лейцинообразныхъ шаровъ.

Изъ вышеописанныхъ опытовъ надъ растворомъ М слѣдуетъ, что:

1) лошадиный гемоглобинъ, при настаиваніи его, въ присутствіи хлороформа, съ 0,5% соляной кислотой при 36—38° С. претерпѣваетъ расщепленіе, съ возникновеніемъ свободныхъ моноаминокислотъ, — по крайней мѣрѣ глутаминовой кислоты. Кроме того возникаютъ какія-то соединенія resp. комбинаціи моноаминокислотъ, очень легко расщепляющіяся съ 20% сѣрной кислотой на свободныя моноаминокислоты.

2) При пептическомъ перевариваніи гемоглобина лошадиной крови въ присутствіи соляной кислоты, эта послѣдняя играетъ довольно видную роль гидролитическаго агента.

Альбумозы.

Для получения альбумозъ я пользовался пептономъ Witte. Послѣдній, какъ извѣстно, состоитъ по преимуществу изъ разнаго рода альбумозъ и, сверхъ того, нѣкотораго количества пептоновъ.

Приготовление препарата.

Полученіе альбумозъ ихъ пептона Witte производилось слѣдующимъ образомъ: 1 килограммъ пептона Witte, изъ котораго была предварительно выдѣлена, путемъ діализа раствора этого пептона, для особыхъ цѣлей гетероальбумоза, былъ растворенъ въ водѣ при 75—80° С. на водяной банѣ. Для удаленія могущихъ содержаться въ пептонѣ Witte азотистыхъ веществъ, не осаждающихся ф.-в. кислотой, растворъ былъ профильтрованъ, доведенъ до 10 литровъ, подкисленъ сѣрной кислотой до 0,5% и обработанъ растворомъ ф.-в. кислоты до тѣхъ поръ, пока отъ дальнѣйшаго прибавленія его еще возникалъ осадокъ. Полученный осадокъ былъ отфильтрованъ и тщательно промытъ, два раза 40 литрами водопроводной воды и разъ 30 литрами дистиллированной воды, причемъ осадокъ послѣ каждого промыванія былъ собранъ на фильтрѣ. Промытый такимъ образомъ осадокъ былъ смѣшанъ съ 5 литрами воды (дест.) и разложенъ теплымъ насыщеннымъ растворомъ ѣдкаго барита. Возникшій осадокъ фосфо-вольфрамата барія былъ отфильтрованъ и промытъ водою. Первоначальный, какъ и промывные фильтраты были соединены вмѣстѣ и, послѣ удаленія барита съ помощью сѣрной кислоты, смѣсь была сгущена на водяной банѣ до

са 2,5 литр. Для высаливанія альбумозъ, сгущенный растворъ былъ насыщенъ на водяной банѣ при 75—80° С. сѣрнокислымъ аммоніемъ въ избыткѣ. Выдѣлившаяся липкая масса альбумозъ была отфильтрована, растворена въ горячей водѣ, вторично означеннымъ образомъ высалена $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ и выдѣлившаяся масса альбумозы — растворена въ водѣ. Для удаленія изъ раствора сѣрнокислаго аммонія къ раствору былъ прибавленъ ѣдкій баритъ и, по окончаніи, углекислый баритъ; возникающій при этомъ амміакъ былъ удаляемъ сгущеніемъ смѣси на водяной банѣ и образовавшійся осадокъ (BaSO_4) отфильтрованъ. Къ полученному послѣ такой обработки фильтрату прибавлялась соляная кислота до тѣхъ поръ, пока взятая изъ него проба начала слабо реагировать съ флороглюцинь-ваниллиномъ. Въ обработанномъ такимъ образомъ растворѣ было произведено опредѣленіе общаго и моноаминоваго азота; результаты опредѣленій усматриваются изъ пробъ отъ 29. XI. 904 г. въ таблицахъ № 10 и 11. Только что упомянутый растворъ былъ разведенъ до 10 литровъ водою, къ разведенному раствору прибавлена соляная кислота до 0,5% — на 10 литр. взято 112,9 к. с. HCl . уд. в. 1,19, — и, при избыткѣ хлороформа, растворъ былъ 1. XII 904 г. поставленъ въ термостатъ при 36—38° С.

Нужно отмѣтить, что растворъ альбумозъ отъ 20. XII. 904 г. до 15. I. 905 г. и отъ 1 V. 905 г. до 20 VIII. 905 г. стоялъ при комн. t.

Отъ времени до времени въ отдѣльныхъ пробахъ настаиваемаго раствора былъ опредѣленъ какъ общій, такъ и моноаминовый азотъ. Результаты этихъ опредѣленій усматриваются изъ таблицъ № 10 и № 11, причемъ первая относится къ общему азоту, а вторая къ моноаминовому. Касательно содержанія рубрикъ этихъ таблицъ смотри соответствующія разъясненія таблицъ № 1 и 2.

Т а б л и ц а № 10.

	Количество раствора, взятого для опредѣл. азота	Количество $\frac{n}{10} \text{H}_2\text{SO}_4$, связан- ной NH_3 -омъ въ пріемникѣ	Количество азота въ 100 к. с. испытуемого раствора
29. XI 904 г.	10 к. с. 10 к. с.	45,9 к. с. 46,2 к. с.	0,68 гр.
20. I 905 г.	10 к. с.	17,6 к. с.	0,256 гр.
20. II 905 г.	10 к. с.	17,4 к. с.	0,254 гр.
27. IV 905 г.	10 к. с.	17,6 к. с.	0,256 гр.
23. IX 905 г.	10 к. с.	17,6 к. с.	0,256 гр.

Т а б л и ц а № 11.

П р о б ы	Количество $\frac{n}{10} \text{H}_2\text{SO}_4$, связанной NH_3 -омъ въ пріемникѣ	Количество моно- аминового азота въ 100 к. с. раствора
29. XI 904 г.	1-ая проба. 20 к. с. до 151,5 к. с., для опредѣл. N взято 100 к. с.	1,9 к. с. 0,022 гр., 3,2% общаго N въ растворѣ.
	2-ая проба. 25 к. с. до 300 к. с., для опредѣл. N взято 100 к. с.	1,6 к. с. 0,027 гр., 3,9% общаго N въ растворѣ.
20. I 905 г.	100 к. с. до 500 к. с., для опредѣл. N взято 150 к. с.	9,9 к. с. 0,048 гр., 18,8% общаго N въ растворѣ.
22. II 905 г.	100 к. с. до 500 к. с., для опредѣл. N взято 150 к. с.	13,5 к. с. 0,065 гр., 25,5% общаго N въ растворѣ.
27. IV 905 г.	40 к. с. до 200 к. с., для опредѣл. N взято 150 к. с.	18,7 к. с. 0,09 гр., 35,1% общаго N въ растворѣ.
23. IX 904 г.	50 к. с. до 250 к. с., для опредѣл. N взято 150 к. с.	18,8 к. с. 0,09 гр., 35,1% общаго N въ растворѣ.

Примѣчаніе. Титръ 1 к. с. $\frac{n}{10} \text{H}_2\text{SO}_4$ въ таблицахъ № 10
и № 11 соотвѣтствуетъ 0,00146 гр. азота.

Изъ данныхъ, приводимыхъ въ таблицѣ № 11, явствуетъ, что при продолжительномъ настаиваніи вышесозначенныхъ альбумозъ съ 0,5% HCl при 36—38° С. и при устраненіи гніенія онѣ перетерпѣваютъ постепенное расщепленіе, причемъ возникаютъ азотсодержащіе продукты распада, не осаждающіеся ф.-в. кислотой. По мѣрѣ продолжительности настаиванія, количество этихъ азотистыхъ продуктовъ распада альбумозъ прогрессивно увеличивается, и въ данномъ случаѣ, послѣ сѣ 150 дневнаго настаиванія при 36—38° С. азотъ этихъ продуктовъ достигаетъ сѣ 35% общаго азота даннаго раствора альбумозъ.

По произведеннымъ 11. II 905 г. и 23. IX 905 г. опредѣленіямъ въ настаиваемомъ растворѣ альбумозъ свободной соляной кислоты, оказалось, что растворъ этотъ содержалъ въ первомъ случаѣ 0,41%, а во второмъ 0,3% свободной соляной кислоты.

Такимъ образомъ и этотъ настаиваемый съ 0,5% HCl растворъ претерпѣвалъ разложеніе, сопряженное съ связываніемъ свободной HCl , — явленіе, наблюдаемое при пептическомъ перевариваніи бѣлковыхъ веществъ.

Раздѣленіе продуктовъ настаиванія альбумозъ.

Растворъ альбумозъ, послѣ сѣ 150 дневнаго его настаиванія въ термостатѣ при 36—38° С. съ 0,5% соляной кислотой, былъ 4. X 905 г. подвергнутъ дальнѣйшей обработкѣ съ цѣлью раздѣленія возникшихъ продуктовъ расщепленія; взятый изъ термостата растворъ пахнулъ сильно хлороформомъ. 8,5 литровъ профильтрованного раствора альбумозъ были разбавлены 1,5 литр. воды и въ присутствіи 0,5% сѣрной кислоты обработаны, какъ это указано у желатины, ф.-в. кислотой. Образовавшійся осадокъ былъ на другой день отфильтрованъ, тщательно промытъ дистилл. водою и разложенъ фдкимъ баритомъ. Образовавшійся осадокъ ф.

вольфрамата барія былъ отфильтрованъ, фильтратъ насыщенъ углекислотой и сгущенъ на водяной банѣ до 3 литровъ; углекислый баритъ былъ предварительно удаленъ фильтрованіемъ и изъ фильтрата остатки барія окончательно удалены съ помощью сѣрной кислоты. Незначительныя количества сѣрнокислаго барія были отфильтрованы, и фильтратъ сгущенъ при сѣ 40° до 1 литра. Этотъ сгущенный, содержащій основные продукты распада альбумозъ, растворъ былъ обозначенъ растворомъ В.

Относительно продуктовъ распада, не осаждающихся ф.-в. кислотой см. стр. 104.

Растворъ В содержалъ :

азота	0,95%	=	9,5	гр. въ 1 литрѣ раствора
сухого остатка . .	5,76%	=	57,6	" " 1 " "
зола	0,02%	=	0,2	" " 1 " "
органич. веществъ	5,74%	=	57,4	" " 1 " "

Растворъ В былъ изслѣдованъ на гексонбазы.

Выдѣленіе гексонбазъ по способу Kossel'я и Kutscher'a¹⁾.

Къ 800 к. с. раствора В прибавлялся осторожно водный растворъ азотнокислаго серебра (1 : 4) до тѣхъ поръ, пока капля смѣси, осторожно нанесенная на насыщенный растворъ ѣдкаго барита не стала давать тотчасъ же бураго осадка окиси серебра. При этомъ прибавленіи раствора AgNO_3 возникъ обильный, свѣтло желтаго цвѣта осадокъ, который былъ отфильтрованъ (этотъ осадокъ не могъ содержать гексонбазъ: таковыя при подобныхъ условіяхъ не осаждаются названнымъ реагентомъ). Послѣ контроля на избытокъ AgNO_3 въ фильтратѣ, къ послѣднему постепенно прибавлялся растворъ ѣдкаго барита до тѣхъ поръ, пока фильтратъ смѣси

1) Kossel etc., Zeitschr. f. physiol. Chem. 31 p. 169.

при прибавленіи къ нему разведеннаго раствора амміака не пересталъ давать осадка, гесп. мути (эта проба указываетъ на полноту осажденія гистидина). Возникшій осадокъ — гистидиновая фракція — былъ отфильтрованъ и тщательно промытъ водою. Насчетъ дальнѣйшей обработки осадка см. „гистидиновая фракція“.

Фильтратъ отъ гистидиновой фракціи и промывные фильтраты этой фракціи были соединены вмѣстѣ и смѣшаны съ теплымъ, насыщеннымъ растворомъ ѣдкаго барита, взятаго въ небольшомъ избыткѣ; отъ прибавленія ѣдкаго барита выпалъ довольнозначительный хлопчатый осадокъ буроватаго цвѣта, — осадокъ аргининовой фракціи. Этотъ осадокъ былъ отфильтрованъ и промытъ водою до тѣхъ поръ, пока послѣдняя промывная вода не перестала реагировать на азотную кислоту. О дальнѣйшей обработкѣ промытаго осадка см. „аргининовая фракція“. Фильтратъ отъ осадка аргининовой фракціи былъ соединенъ вмѣстѣ съ двумя первыми промывными фильтратами этого осадка. Дальнѣйшая обработка смѣси изложена у лизиновой фракціи.

Гистидиновая фракція. Къ промытому осадку этой фракціи была прибавлена, для разложенія даннаго серебряннаго соединенія, соляная кислота до слабой реакціи съ конго. Спустя 3 часа смѣсь была профильтрована и осадокъ, — AgCl , — тщательно промытъ дестиллированной водою. Полученные фильтраты были соединены вмѣстѣ, и барій изъ нихъ удаленъ сѣрной кислотой; фильтратъ отъ сѣрнокислаго барія былъ сгущенъ, сначала на водяной банѣ, потомъ въ вакуумъ-эксиккаторѣ при комн. t до консистенціи густого сиропа. Растворъ реагировалъ сильно щелочно и давалъ біуретовую реакцію. Наличие сильной щелочной реакціи этой фракціи заставляетъ предполагать, что эта фракція, кромѣ могущаго быть въ ней гистидина (водные растворы гистидина реаги-

руютъ нейтрально resp. слабо щелочно), содержала еще другіе щелочно реагирующіе продукты распада. Растворъ послѣ 8-дневнаго стоянія при комн. t не далъ никакого кристаллическаго осадка; таковой не былъ полученъ и послѣ сильнаго подкисленія этого сиропообразнаго раствора крѣпкой HCl , равно какъ послѣ прибавленія къ сильно кислой смѣси крѣпкаго спирта и эфира. При стояніи даннаго раствора, сильно подкисленнаго соляной кислотой, при комн. t онъ значительно потемнѣлъ. Послѣ этого проба была подвергнута бензоилированію. Для этой цѣли растворъ былъ сильно подщелоченъ ѣдкимъ натріемъ. Къ щелочному раствору прибавлялся, при частомъ взбалтываніи, въ порціяхъ по 5—10 к. с., бензоилхлоридъ до тѣхъ поръ, пока запахъ послѣдняго исчезалъ. Въ общемъ было прибавлено 45 к. с. бензоилхлорида. Во все время бензоилированія поддерживалась щелочная реакція смѣси; нагреваніе смѣси умѣрялось обливаніемъ колбы холодной водой. По окончаніи бензоилированія, которое продолжалось $1\frac{1}{2}$ часа, смѣсь была подкислена сѣрной кислотой и выдѣлившаяся при этомъ бензойная кислота была извлечена неоднократнымъ взбалтываніемъ смѣси съ этиловымъ эфиромъ. Изъ смѣси выдѣлились комки липкой, смолистой, аморфной массы бензоилпродуктовъ; эта масса была отдѣлена и промыта водою. Отношеніе этой смѣси бензоилпродуктовъ къ растворителямъ слѣдующее: а) въ кипящей водѣ незначительная часть ея растворяется, давая при охлажденіи молочную муть; б) въ этиловомъ эфирѣ смѣсь эта почти нерастворима в) смѣсь растворяется въ слабыхъ растворахъ ѣдкаго натрія. Эта аморфная масса бензоилпродуктовъ была 2 раза прокипячена на песчаной банѣ съ водою, причемъ горячія водныя вытяжки были отдѣльно профильтрованы. Послѣ охлажденія оба фильтрата слабо замутились. При стояніи фильтратовъ муть осѣла на дно колбы въ видѣ аморфнаго, пылеобразнаго тонкаго слоя;

полученный осадокъ не обнаруживалъ ни малѣйшей склонности къ кристаллизаціи. Точно также совершенно аморфнымъ пребывалъ и остатокъ, полученный послѣ двукратнаго извлеченія описанной смѣси бензоилпродуктовъ горячею водою.

Изъ вышеприведеннаго изслѣдованія можно заключить, что въ растворѣ гистидиновой фракціи не находился гистидинъ, какъ таковой: мнѣ не удалось выдѣлить изъ данной фракціи эту базу въ видѣ тѣхъ соединеній — дихлорида и бензоилпроизводнаго — въ формѣ которыхъ она болѣе или менѣе легко изолируется.

Надо принять во вниманіе, что выдѣленіе гистидина изъ смѣсей, содержащихъ незначительныя количества этой базы и относительно значительныя количества другихъ основныхъ продуктовъ бѣлковаго распада, переходящихъ въ эту гистидиновую фракцію (такіе основные продукты распада возникаютъ при слабомъ, герр. не полномъ расщепленіи бѣлковыхъ веществъ, какъ напр. при пептическомъ перевариваніи ихъ), не рѣдко не удастся, какъ при изолированіи этой базы въ формѣ дихлорида или бензоил-производнаго, такъ и въ видѣ другихъ производныхъ.

Въ виду только что сказаннаго приходится полагать, что *вопросъ объ возникновеніи гистидина при разсматриваемомъ расщепленіи альбумозъ остается открытымъ.*

Аргининовая фракція. Промытый осадокъ аргининовой фракціи былъ разложенъ сѣрною кислотой, профильтрованъ и остатокъ на фильтрѣ промытъ тщательно водою; фильтратъ давалъ явственную біуретовую реакцію. Первоначальный и промывные фильтраты были соединены вмѣстѣ, обработаны сѣроводородомъ, осадокъ сѣрнистаго серебра отфильтрованъ, изъ фильтрата сѣрная кислота удалена ѣдкимъ баритомъ, — избѣгался избытокъ послѣдняго, — и, послѣ удаленія BaSO_4 , фильтратъ былъ сгущенъ на водяной

банъ до сѧ 50 к. с. Сгущенный растворъ реагировалъ сильно щелочно. Къ этому сгущенному раствору была прибавлена соляная кислота до реакціи съ конго, послѣ чего жидкость дальнѣйше была сгущена въ вакуумъ-эксиккаторъ до консистенціи сиропа. Такъ какъ при такой обработкѣ по истеченіи 3 дней растворъ не закристаллизовался, то къ нему добавлялся небольшой избытокъ соляной кислоты. Впродолженіи 5 дневнаго стоянія раствора при комн. t. никакой кристаллизаціи не наблюдалось. Послѣ этого изъ раствора была удалена соляная кислота, предварительно съ помощью окиси свинца, потомъ окончательно въ присутствіи сѣрной кислоты съ помощью окиси серебра. Освобожденный такимъ образомъ отъ соляной кислоты и не содержащій сѣрной кислоты растворъ реагировалъ сильно щелочно; щелочный растворъ былъ нейтрализованъ азотной кислотой и при нагреваніи на водяной банѣ обработанъ гидратомъ окиси мѣди, взятымъ въ нѣкоторомъ избыткѣ; растворившій замѣтное количество $\text{Cu}(\text{OH})_2$ объектъ окрасился въ синій цвѣтъ. Горячій растворъ былъ профильтрованъ, осадокъ на фильтрѣ промытъ горячей водой и полученные фильтраты соединены вмѣстѣ и сгущены при сѧ 45° С. до консистенціи сиропа. Послѣ 5 дневнаго стоянія раствора при комн. t. онъ не закристаллизовался, послѣ чего растворъ былъ разложенъ сѣроводородомъ при подкисленіи его сѣрной кислотой. По удаленіи сѣрнистой мѣди и сѣрной кислоты растворъ былъ подвергнутъ бензоилированію. Бензоилированіе, какъ и дальнѣйшая обработка полученныхъ бензоилпродуктовъ было произведено по схемѣ, описанной при предыдущей фракціи. Полученные конечные результаты бензоилированія совпали съ такими-же результатами изслѣдованія предыдущей фракціи: мнѣ не удалось получить никакихъ кристаллизующихся бензоилпродуктовъ.

Относительно аргининовой фракціи надо прежде всего отмѣтить, что она содержала какіе-то продукты распада альбу-

мозъ, дающіе явственную біуретовую реакцію; это несомнѣнно указываетъ на то, что рассматриваемая фракція, кромѣ могущаго быть въ ней аргинина, содержала какія-то основныя соединенія. Изъ этой фракціи мнѣ не удалось изолировать аргинина ни въ видѣ монохлорида, ни въ видѣ мѣднаго соединенія его нитрата, ни въ видѣ бензоилпроизводнаго въ видѣ соединеній, легко кристаллизующихся.

Касательно изолированія аргинина изъ смѣсей продуктовъ бѣлковаго распада, осаждаемыхъ азотнокислымъ серебромъ въ присутствіи $\text{Ba}(\text{OH})_2$, надо отмѣтить то-же, что было выше сказано относительно изолированія гистидина: незначительныя количества его въ присутствіи преобладающаго количества вышеуказанныхъ продуктовъ изолируются съ большимъ трудомъ и еспр ускользаютъ отъ изолированія.

Принимая во вниманіе это обстоятельство *приходится считать вопросъ о возникновеніи аргинина при рассматриваемомъ расщепленіи альбумозъ открытымъ.*

Лизиновая фракція. Фильтратъ и промывныя воды осадка аргининовой фракціи были соединены вмѣстѣ и осажжены ф.-в. кислотой. Обильный осадокъ былъ промытъ и разложенъ по обычному способу ѣдкимъ баритомъ, послѣ чего образовавшійся фосфо-вольфраматъ барія былъ отфильтрованъ, фильтратъ обработанъ угольной кислотой и сгущенъ до $\frac{1}{2}$ объема; углекислый барій былъ отфильтрованъ, остатокъ барія окончательно удаленъ сѣрной кислотой и полученный послѣ отдѣленія BaSO_4 фильтратъ сгущенъ до сѣ 50 к. с. Сгущенный растворъ давалъ явственную біуретовую реакцію и реагировалъ сильно щелочно. Къ сгущенному раствору былъ прибавленъ насыщенный алкогольный растворъ пикриновой кислоты и смѣсь нагрѣвалась на водяной банѣ до полного удаленія алкоголя. На другой день замѣчался въ растворѣ весьма незначительный мелкій осадокъ, состоя-

щій изъ короткихъ, тупыхъ палочекъ. При стояніи количество осадка незначительно увеличилось, не измѣняя своей формы. Послѣ 4 дневнаго стоянія смѣси при комн. t осадокъ былъ отфильтрованъ, промытъ холодной водой и растворенъ въ небольшомъ количествѣ кипящей воды; профильтрованный растворъ при охлажденіи началъ кристаллизоваться, образуя мелкій, желтаго цвѣта осадокъ, имѣющій видъ шариковъ, звѣздъ, состоящихъ изъ короткихъ иглочекъ и вѣрообразно сгруппированныхъ иглъ. Кристаллическій осадокъ былъ отфильтрованъ, смѣшанъ съ водою, подкисленной сѣрной кислотой и вытѣсненная пикриновая кислота удалена извлеченіемъ раствора эфиромъ. Полученный безцвѣтный водный растворъ давалъ осадокъ съ ф.-в. кислотой и явственную біуретовую реакцію. Дальнѣйшее изслѣдованіе вещества, вслѣдствіе весьма незначительнаго количества его, не было произведено.

Фильтратъ отъ первоначальнаго незначительнаго осадка, возникшаго послѣ обработки раствора пикриновой кислотой, не далъ при дальнѣйшемъ сгущеніи его никакого кристаллическаго осадка.

Итакъ, изъ разсматриваемой фракціи мнѣ не удалось выделить кристаллизующагося пикрата лизина.

Такимъ образомъ, изъ вышеприведенныхъ изслѣдованій раствора В на гексонбазы можно сдѣлать выводъ, что въ названномъ растворѣ гексонбазы, какъ таковыя или вовсе не находились, или, можетъ быть, — что, конечно, требуетъ прямого доказательства, — находились въ весьма незначительныхъ количествахъ въ смѣси съ другими продуктами гидролиза альбумозъ, имѣющими основной характеръ.

Продукты распада альбумозъ, не осаждающіеся ф.-в. кислотой.

Первоначальный и промывные фильтраты осадка, полученнаго обработкой раствора альбумозъ ф.-в. кислотой, были

обработаны, какъ это описано при подобныхъ растворахъ предыдущихъ препаратовъ, слѣд. образомъ. Для связыванія свободной соляной и сѣрной кислотъ къ раствору прибавлялся ѣдкій баритъ, взятый въ незначительномъ избыткѣ, послѣдній нейтрализованъ углекислотой и жидкость сгущена на водяной банѣ до 4 литр. Осадокъ углекислаго барія былъ отфильтрованъ, остатокъ барія удаленъ изъ раствора сѣрной кислотой, $BaSO_4$ отфильтрованъ и изъ полученнаго фильтрата удалена соляная кислота посредствомъ окиси серебра. Послѣ отдѣленія хлористаго серебра изъ полученнаго фильтрата были удалены, въ присутствіи H_2SO_4 , сѣроводородомъ остатки серебра, а сѣрная кислота ѣдкимъ баритомъ, взятымъ безъ избытка. Полученный отъ $BaSO_4$ фильтратъ былъ сгущенъ при $40^\circ C.$ до 1 литра и обозначенъ „растворъ М.“ Означенный растворъ содержитъ:

азота	0,457%	= 4,57	гр. въ 1 литрѣ раствора,
сухого остатка	3,45 %	= 34,5	„ „ „ „ „
зола	0,1 %	= 1	„ „ „ „ „
органич. веществъ	3,35 %	= 33,5	„ „ „ „ „

Качественныя реакціи растворовъ В и М.

Съ растворами В и М были продѣланы при одинаковыхъ условіяхъ нижеслѣдующія реакціи. Растворъ В, содержащій большее количество органическихъ веществъ, чѣмъ растворъ М, былъ разведенъ соотвѣтствующимъ количествомъ воды до одинаковаго съ растворомъ М содержанія органическихъ веществъ, — растворъ В'

Растворъ В'

Растворъ М.

Реактивъ: 10%-водный растворъ ф.-в. кислоты.

5 к. с. раствора + 10 к. с. | 5 к. с. раствора + 10 к. с.
 воды + 1 к. с. 20% H_2SO_4 + | воды + 1 к. с. 20% H_2SO_4 +

2 к. с. реактива, — обильный хлопчатый осадокъ. При разведеніи смѣси водою до 40 к. с. осадокъ, послѣ 24 час. стоянія смѣси, занимаетъ объемъ въ сѣ 12 к. с.

Біуретовая реакція.

5 к. с. раствора $\div$ 1 к. с. 10% NaOH $\div$ 2 капли 5% CuSO₄, — розово-красное окрашиваніе, переходящее при избыткѣ CuSO₄ въ фіолетово-красное.

5 к. с. раствора $\div$ 1 к. с. 10% NaOH $\div$ 2 капли 5% CuSO₄, — розово-фіолетовое окрашиваніе, переходящее отъ дальнѣйшаго прибавл. CuSO₄ въ синее.

Реакція Миллона.

По прибавленіи къ раствору нѣсколькихъ капель реактива возникаетъ обильный осадокъ, окрашивающійся при нагреваніи въ кирпично-красн. цвѣтъ.

По прибавленіи къ раствору нѣсколькихъ капель реактива возникаетъ муть средней степени; при кипяченіи смѣси образуется незначительный кирпично-красный осадокъ.

Реактивъ Эсбаха.

Растворъ, взятый въ равныхъ объемахъ съ реактивомъ, — обильный, хлопч. осадокъ.

Растворъ, взятый въ равныхъ объемахъ съ реактивомъ, остается безъ измѣненія,

5%-водный растворъ сулемы.

Реактивъ, прибавленный по каплямъ къ раствору, производитъ обильный хлопч. осадокъ.

Растворъ отъ прибавленія по каплямъ реактива остается безъ измѣненія. Осторожное прибавленіе къ смѣси 10% раствора NaOH по каплямъ производитъ небольшой, хлопч. осадокъ.

Красная и синяя лакмусовыя бумажки.
 Ясная щелочная реакція. Слабо-кислая реакція.

Изъ вышеприведенныхъ реакцій слѣдуетъ, что вещества раствора М рѣзко отличаются отъ веществъ раствора В: первыя являются, повидимому, продуктами гидролиза альбумозъ, принадлежащими къ типу моноаминокислотъ, вторыя, — продуктами основного характера, дающими типичную біуретовую реакцію.

Растворъ М.

Выдѣленіе кристаллизующихся продуктовъ путемъ сгущенія раствора. 750 к. с. раствора М, содержащихъ съ 25 гр. органич. веществъ были сгущены до консистенціи сиропа, сначала на водяной банѣ, потомъ въ вакуумъ-эксиккаторѣ. Сгущенный растворъ реагировалъ слабо кисло съ лакмусомъ. Спустя одной недѣли растворъ превратился въ желеобразный студень. Подъ микроскопомъ была видна масса лейцинообразныхъ шариковъ и пучковъ мелкихъ, тонкихъ игolocекъ. При дальнѣйшемъ стояніи раствора при комн. t кристаллическій осадокъ замѣтно увеличился, не измѣняя существенно своей кристаллической формы.

Изъ только что описаннаго опыта можно сдѣлать предварительное заключеніе, что *растворъ М содержалъ кристаллизующіеся продукты распада альбумозъ, не осаждающіеся ф.-в. кислотой.*

Выдѣленіе кристаллизующихся продуктовъ въ видѣ мѣдныхъ солей. 200 к. с. раствора М были выпарены до съ 50 к. с. и обработаны при нагрѣваніи раствора на водяной банѣ свѣжеосажденнымъ гидратомъ окиси мѣди, взятымъ въ нѣкоторомъ избыткѣ. Послѣ съ $\frac{1}{2}$ час. нагрѣванія раствора на водяной банѣ онъ былъ въ горячемъ состояніи

профильтрованъ, оставшійся на фильтрѣ осадокъ избытка $\text{Cu}(\text{OH})_2$ тщательно промытъ горячей водой, и полученный фильтратъ сгущенъ до половиннаго объема. На другой день, при стояніи раствора на холоду онъ закристаллизовался, образуя осадокъ, состоящій изъ отдѣльныхъ иглъ, собранныхъ въ хвособразныя пучки, и шариковъ съ радіальной полосатостью. Послѣ двухдневнаго стоянія при комн. t растворъ превратился въ густой, желеобразный студень; этотъ послѣдній былъ разбавленъ холодной водой и профильтрованъ. Кристаллическій остатокъ на фильтрѣ былъ повторно промытъ холодной водой, растворенъ въ кипящей водѣ до незначительнаго остатка и полученный горячій растворъ профильтрованъ. На другой день изъ раствора выпалъ кристаллическій осадокъ, состоящій какъ изъ длинныхъ отдѣльныхъ, такъ и изъ собранныхъ въ видѣ колосковъ иглъ. Осадокъ былъ отфильтрованъ, промытъ холодной водой, высушенъ, сначала въ вакуумъ-эксиккаторѣ, потомъ до постояннаго вѣса при $110-115^\circ \text{C.}$; при послѣдней сушкѣ замѣчалась потеря въ вѣсѣ вещества.

Для анализа были взяты двѣ пробы съ высушенной мѣдной соли, причемъ въ первой пробѣ опредѣлены азотъ и мѣдь, а во второй мѣдь.

1-ая проба. 0,2692 гр. высушенной до постояннаго вѣса мѣдной соли были растворены въ подкисленной сѣрной кислотой водѣ и разложены сѣроводородомъ. Образовавшаяся сѣрнистая мѣдь была отфильтрована и тщательно промыта сѣроводородной водой. Фильтратъ, какъ и промывныя воды были сгущены на водяной банѣ и излѣдованы на содержаніе азота по Kjeldahl'ю. Израсходовано 12,4 гр. H_2SO_4 , = 0,0181 гр. азота, —

найдено: 6,72% N.

Оставшаяся на фильтрѣ промытая сѣрнистая мѣдь была

вмѣстѣ съ бумагою помѣщена въ колбу Kjeldahl'я, нагрѣта, сначала съ незначительнымъ количествомъ азотной, затѣмъ, — для полнаго разрушенія бумаги — сѣрной кислотой. Прозрачное содержимое колбы было перенесено въ стаканъ, разведено водою и, для осажденія мѣди, нейтрализовано ѣдкимъ натріемъ въ незначительномъ избыткѣ при нагрѣваніи раствора на водяной банѣ. Осадокъ окиси мѣди былъ отфильтрованъ, тщательно промытъ водою, высушенъ и вмѣстѣ съ фильтромъ прокаленъ въ фарфоровомъ тиглѣ. Полученная окись мѣди была растворена въ незначительномъ количествѣ азотной кислоты, растворъ выпаренъ до суха на водяной банѣ и сухой остатокъ вторично прокаленъ. Остатокъ этотъ вѣсилъ 0,096 гр., —

найдено : $35,6\% \text{ CuO} = 28,4\% \text{ Cu}$.

II-ая проба. 0,0935 гр. вещества дали послѣ вторичнаго прокаливанія 0,0335 гр. CuO , —

найдено : $35,6\% \text{ CuO} = 28,5\% \text{ Cu}$.

Итакъ, анализируемая мною мѣдная соль есть, по всей вѣроятности, мѣдная соль глутаминовой кислоты, именно:

Найдено:	Вычислено: для $\text{CuC}_5\text{H}_7\text{NO}_4$
$28,4\% \text{ Cu}$	$30,4\% \text{ Cu}$
$6,72\% \text{ N}$	$6,7\% \text{ N}$

Незначительное количество мѣдной соли, полученной при означенной обработкѣ даннаго объема — 200 к. с. — раствора М заставило меня отказаться отъ дальнѣйшей очистки ея путемъ перекристаллизаціи. Поэтому, для произведенія контрольнаго анализа, а именно, съ болѣе химически-чистымъ веществомъ, мною было выдѣлено новое количество мѣдныхъ солей. Для этой цѣли я употребилъ ту часть раствора М, — 750 к. с., — которая была взята для выдѣленія

кристаллизующихся продуктовъ путемъ сгущенія. Эта сгущенная, закристаллизовавшаяся часть раствора М была разбавлена водою и нагрѣта на водяной банѣ, причемъ кристаллическій осадокъ почти весь растворился — не растворенной осталась лишь весьма незначительная часть его, которая состояла изъ характерныхъ тирозиноподобныхъ пучковъ. Означенный незначительный остатокъ былъ отфильтрованъ, промытъ холодной водою и растворенъ при кипяченіи въ водѣ. Профильтрованный растворъ давалъ весьма интенсивную реакцію Миллона. Кристаллическая форма этого остатка и только что указанная реакція заставляютъ предполагать, что онъ представляетъ собою тирозинъ. Вслѣдствіе весьма незначительнаго количества этого продукта аналитическія изслѣдованія его не могли быть произведены.

Фильтратъ отъ этого тирозиноваго осадка былъ обработанъ гидратомъ окиси мѣди, какъ указано выше. Образовавшійся осадокъ кристаллическихъ мѣдныхъ солей былъ на другой день отфильтрованъ, промытъ холодной водою, потомъ 2 раза перекристаллизованъ изъ горячаго воднаго раствора и высушенъ, сначала въ вакуумъ-эксиккаторѣ, затѣмъ до постоянного вѣса при 110—115° С.; замѣчалась потеря въ вѣсъ — слѣдовательно, названная соль содержала кристаллизационную воду. Изъ высушеннаго вещества взято:

a. для опредѣленія азота 0,2495 гр.;
израсходовано 11,4 к. с. $\frac{1}{10}$ N. H₂SO₄, = 0,0166 гр. азота, —
найденно: 6,65% N.

b. Для опредѣленія мѣди взято 0,247 гр. вещества;
послѣ вторичнаго прокаливанія получилось 0,0935 гр. CuO, —
найденно: 37,8% CuO или 30,1% Cu.

Изъ только что приведенныхъ аналитическихъ данныхъ взятой для анализа два раза перекристаллизованной мѣдной

соли, вытекаетъ, что эта соль представляетъ собою мѣдную соль глутаминовой кислоты, именно:

Найдено :	Вычислено : для $\text{CuC}_5\text{H}_7\text{NO}_4$
30,1% Cu	30,4% Cu
6,65% N	6,7% N.

Изъ вышеописанныхъ опытовъ съ растворомъ М — получение кристаллизующихся продуктовъ путемъ сгущенія раствора М и выдѣленіе кристаллическихъ мѣдныхъ солей — слѣдуетъ, что *растворъ М содержитъ моноаминокислоты, какъ таковыя, по крайней мѣрѣ, глутаминовую кислоту и, по всей вѣроятности, тирозинъ.*

Такимъ образомъ, несомнѣнно оказывается, что альбумозы при болѣе и менѣе продолжительномъ настаиваніи ихъ съ 0,5% соляной кислотой при 36—38° С претерпѣваютъ глубокое гидролитическое расщепленіе, включительно до образованія моноаминокислотъ, какъ таковыхъ.

Разрушеніе раствора М путемъ кипяченія съ 20% сѣрной кислотой.

Первоначальный маточный растворъ отфильтрованныхъ выкристаллизовавшихся мѣдныхъ солей былъ разведенъ водою, подкисленъ сѣрной кислотой, разложенъ сѣроводородомъ, образовавшаяся CuS отфильтрована и фильтратъ освобожденъ отъ H_2S нагрѣваніемъ. Полученный растворъ, дающій ясную біуретовую реакцію, былъ подвергнутъ кипяченію на песчаной банѣ въ колбѣ съ обратнымъ холодильникомъ съ 20% сѣрной кислотой. Изъ кипящаго раствора черезъ извѣстные промежутки времени брались пробы, съ которыми продолжалась біуретовая реакція. Этотъ опытъ далъ слѣд. результаты:

Проба, взятая послѣ 15 минутнаго кипяченія дала ясную біуретовую реакцію.

„ „ „ 30 минутнаго кипяченія дала ясную біуретовую реакцію.

„ „ „ 1 часового кипяченія дала очень слабую біуретовую реакцію.

„ „ „ 2 часового кипяченія дала слѣды біуретовой реакціи.

„ „ „ 3 часового кипяченія не давала біуретовой реакціи.

Послѣ 3-хъ часового кипяченія изъ раствора была удалена ѣдкимъ баритомъ сѣрная кислота и растворъ сгущенъ до консистенціи сиропа. На другой день изъ сгущеннаго раствора выкристаллизовался осадокъ, состоящій исключительно изъ характерныхъ тирозинообразныхъ пучковъ. Отфильтрованные кристаллы были промыты холодной водой и растворены въ водѣ при кипяченіи. Растворъ давалъ интенсивную реакцію Миллона. Способность давать реакцію Миллона и типичная кристаллическая форма заставляютъ принять, что весъ выдѣлившійся трудно растворимый осадокъ состоялъ изъ тирозина.

По отфильтрованіи вышеупомянутаго тирозиноваго осадка растворъ былъ далѣе сгущенъ въ вакуумъ-эксиккаторѣ, послѣ чего на другой день онъ, имѣя консистенцію густого сиропа, весь закристаллизовался. Подъ микроскопомъ видны были по преимуществу лейцинообразные гомогенные шарики и рѣдкія иголочки.

Итакъ, растворъ М, кромѣ моноаминокислотъ, какъ таковыхъ, содержалъ какія-то соединенія resp. комбинаціи моноаминокислотъ, очень легко расщепляющіяся при кипяченіи съ 20% сѣркой кислотой на свободныя моноаминокислоты.

*Закончивъ изложеніе своей работы воспользуюсь
случаемъ выразить благодарность своему другу и
товарищу по университету Л. Бейкману за дѣль-
ное участіе при корректурѣ настоящей работы во
время ея печатанія.*

Общее заключеніе.

Для даннаго изслѣдованія мною были употреблены различныя бѣлковыя вещества :

- 1) *нативное бѣлковое вещество, --- лошадинъй гемоглобинъ, два раза перекристаллизованный,*
- 2) *свернутыя бѣлковыя вещества, --- свернутые альбумины и глобулины лошадиной кровяной сыворотки,*
- 3) *альбумозные продукты перевариванія бѣлковыхъ веществъ, --- альбумозы, полученныя изъ пептона Witte,*
- 4) *казеинъ коровьяго молока и*
- 5) *продукты гидратациі альбуминоида коллагена, --- желатина.*

При продолжительномъ настаиваніи этихъ бѣлковыхъ веществъ съ 0,5% соляной кислотой при 36- 38° С., въ условіяхъ, исключающихъ гніеніе этихъ веществъ, и при отсутствіи какихъ-либо протеолитическихъ энзимъ, развивающихъ свое специфическое дѣйствіе въ присутствіи свободной соляной кислоты,

эти бѣлковыя вещества въ той или въ другой степени подвергаются такому же гидролитическому расщепленію, какое въ общихъ чертахъ наблюдается при гидролизѣ этихъ бѣлковыхъ веществъ, производимомъ съ помощью пепсина въ присутствіи 0,5% соляной кислоты, а именно, съ возникновеніемъ въ итогѣ простѣйшихъ продуктовъ бѣлковаго распада, какъ напр. моноаминокислотъ.

Такой гидролизъ бѣлковыхъ веществъ, производимый 0,5% соляной кислотой, можетъ вообще достигать болѣе или менѣе значительной степени: свернутые альбуминъ и глобулинъ лошадиной кровяной сыворотки послѣ вышеописаннаго съ 160 дневнаго настанванія съ 0,5% соляной кислотой дали такое количество продуктовъ распада типа моноаминокислотъ, что количество азота этихъ послѣднихъ достигло съ 20% общаго азота веществъ гидролизуемаго раствора; гемоглобинъ лошадиной крови при вышеописанномъ настанваніи съ соляною кислотой такой-же концентрации далъ съ 35% моноаминоваго азота, и т. д.

Подобное гидролитическое расщепленіе бѣлковыхъ веществъ, вызываемое 0,5% соляной кислотой, совершается гораздо быстрѣе тогда, когда оно протекаетъ въ присутствіи пепсина.

Заслуживающимъ вниманіе касательно разсматриваемаго дѣйствія 0,5% соляной кислоты на бѣлковыя вещества является, между прочимъ, то обстоятельство,

что при этомъ гидролизѣ возникаютъ какія-то соединенія гесп. комбинаціи моноаминокислотъ, не осаждающіяся гесп. очень плохо осаждающіяся ф.-в. кислотой (- - въ противоположность полипептидамъ E. Fischer'a) и очень легко расщепляющіяся, съ образованіемъ свободныхъ моноаминокислотъ, при кипяченіи ихъ съ 20% сѣрной- или соляной кислотой.

Гидролитическое дѣйствіе 0,5% соляной кислоты на различныя бѣлковыя вещества является по интенсивности различнымъ: напр. вышеописанный гидролизъ желатины, продолжавшійся съ 150 дней, не привелъ къ образованію свободныхъ моноаминокислотъ, — среди азотистыхъ продуктовъ распада ея, не осаждающихся гесп. очень плохо осаждающихся ф.-в. кислотой, не удалось констатировать какой-либо моноаминовой кислоты, какъ таковой.

Высушиваніе свернутыхъ бѣлковыхъ веществъ, какъ напр. свернутые альбумины и глобулины лошадиной сыворотки, способствуетъ болѣе быстрому растворенію ихъ въ 0,5% соляной кислотѣ; дальнѣйшій гидролизъ ихъ, повидимому, совершается въ количественномъ отношеніи такъ же, какъ и гидролизъ не высушенныхъ свернутыхъ бѣлковъ.

При пептическомъ перевариваніи бѣлковыхъ веществъ въ присутствіи соляной кислоты эта послѣдняя является самостоятельнымъ гидролитическимъ агентомъ, причемъ гидролитическое дѣйствіе ея въ данномъ ферментативномъ процессѣ усиливается въ высокой степени катализаторомъ --- ферментомъ.

Такимъ образомъ, мои вышеприведенные опыты подтверждаютъ основныя заключенія Fr. Goldschmidt'a¹⁾ и Д. Лаврова²⁾ касательно дѣйствія 0,5% соляной кислоты при сà 40° С. на бѣлковыя вещества и значенія ея при пептическомъ перевариваніи этихъ веществъ.

1) Fr. Goldschmidt, l. c.

2) D. Lawrow, l. c.

Положенія.

1. Отъ ближайшаго изученія полипептидообразныхъ веществъ, получаемыхъ при гидролизѣ бѣлковъ, можно ожидать весьма важныя данныя, способствующія выясненію строенія молекулы бѣлковыхъ веществъ.
2. Однимъ изъ главныхъ препятствій, затрудняющихъ объясненіе явленій жизни въ физико-химическомъ направленіи, нужно считать незнаніе строенія бѣлковой молекулы.
3. Мутаціонная теорія de Vries'a по малочисленности данныхъ, говорящихъ въ пользу ея, не можетъ пока опровергнуть или замѣнить эволюціонную теорію.
4. Въ виду значительной потребности въ лекарственныхъ растеніяхъ, разведенію ихъ въ Россіи слѣдовало бы удѣлить болѣе серьезное вниманіе, какъ со стороны правительства, такъ и со стороны земскихъ и частныхъ учрежденій.
5. Болѣе цѣлесообразнымъ было-бы при экзаменахъ на степень магистра фармаціи, вмѣсто всѣхъ проходящихъ фармацевтами предметовъ, требовать знанія лишь только спеціальныхъ фармацевтическихъ предметовъ, но въ самомъ широкомъ объемѣ.

6. При предстоящихъ реформахъ фармацевтическаго образованія въ Россіи необходимо требовать отъ поступающаго въ университетъ фармацевта однолѣтней или двухлѣтней аптечной практики.