

ATTI
DELLA
REALE ACCADEMIA DEI LINCEI

ANNO CCXCVIII.

1901

SERIE QUINTA

RENDICONTI

Classe di scienze fisiche, matematiche e naturali.

VOLUME X.

1° SEMESTRE.



ROMA

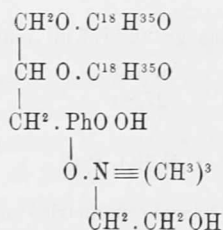
TIPOGRAFIA DELLA R. ACCADEMIA DEI LINCEI

PROPRIETÀ DEL CAV. V. SALVIUCCI

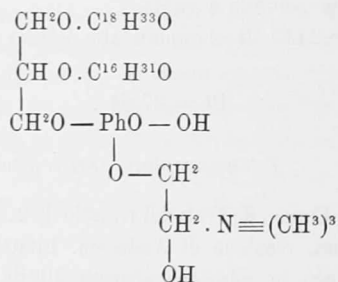
1901

Chimica. — *Attività ottica della lecitina*. Nota I di C. ULPANI, presentata dal Socio PATERNÒ.

La costituzione della lecitina non è ancora dilucidata in tutti i suoi punti. Se fu possibile per un composto a peso molecolare così elevato, malgrado le difficoltà della preparazione e della purificazione, giungere fin dal 1869 alla formola di struttura, si deve alla facilità con cui la lecitina, così ricca di legami eteri, si decompone in costituenti di facile identificazione come l'acido glicero-fosforico, gli acidi grassi e la colina, per cui, attaccando come nei grassi naturali i radicali degli acidi grassi agli idrossili liberi della glicerina, non rimase di controverso che la maniera di aggrupparsi della colina all'acido fosforico, e da Diakonow (1) e da Strecker (2) primi investigatori della costituzione della lecitina, furono appunto emesse due formole che, prescindendo da alcune divergenze sulla natura degli acidi grassi, non differivano che per la maniera di legarsi della colina all'acido fosfo-glicerico. Diakonow ammise il legame salino, Strecker quello etero:



(Formola di Diakonow)



(Formola di Strecker)

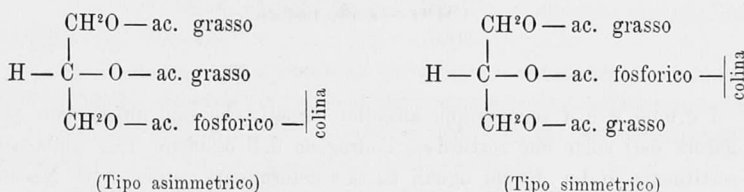
La sintesi del distearil-glicero-fosfato di colina, fatta da Hundeshagen (3) nel 1883, dimostrò falsa la formola di Diakonow, in quanto questo sale sintetico preparato sul tracciato di Diakonow dava un cloroplatinato affatto insolubile in etere, mentre il cloroplatinato della lecitina naturale è facilmente solubile in questo solvente. Rimaneva così « per esclusione » dimostrata vera la formola di Strecker, che veniva accettata senza discussione in tutti i trattati, benchè, nello stesso lavoro di Hundeshagen, si accennasse alla possibilità dell'esistenza di due isomeri acidi glicero-fosforici e rispettivamente di

(1) Diakonow, Centr. med. Niss. 18, 68, pag. 2, pag. 97, pag. 434.

(2) Strecker, Ann. Liebig. 148, pag. 77.

(3) Hundeshagen, Journ. für prakt. Chemie, 29, pag. 219.

due distearine una a tipo simmetrico, l'altra a tipo asimmetrico e rimanesse quindi aperta la questione: se la lecitina naturale appartenesse al tipo asimmetrico assegnatole da Strecker, in cui l'etere fosforico della colina si attacca ad un carbonio terminale della glicerina, oppure al tipo simmetrico:



A risolvere questa questione sono state dirette le seguenti ricerche. A me è sembrato che la ricerca del potere rotatorio della lecitina, fin'oggi non tentata, dovesse essere risolutiva in questa questione di costituzione, e che, solo dalla constatazione della sua attività ottica, potesse trovare dimostrazione la formula asimmetrica adottata generalmente; a meno che la lecitina non costituisca l'unica eccezione alla legge di Pasteur, secondo la quale ogni prodotto del metabolismo cellulare, che abbia un carbonio, asimmetrico deve esistere nella cellula allo stato di enantiomorfo.

Veramente la questione, anche dal punto di vista chimico, è complessa. Fino al 1895, prima cioè dei lavori di Walden⁽¹⁾ che riuscì a preparare l'acido cloro-succinico attivo dall'ordinario acido levo-malico, e l'acido α -cloropropionico attivo dal-l-lattico ecc., si dubitava perfino se la sostituzione di un alogeno ad un ossidrilico in una molecola asimmetrica implicasse necessariamente la distruzione dell'attività ottica, o, in senso più generale, se per la produzione del potere rotatorio bastasse semplicemente che i quattro radicali legati al carbonio fossero comunque differenti o, non piuttosto, entrassero in giuoco altri fattori quali soprattutto la natura di questi radicali.

Hantzsch⁽²⁾, nel suo trattato poneva appunto in questi termini la questione e la diceva non risolta: Easterfield⁽³⁾ negava che radicali negativi come il cloro ed il bromo potessero dare asimmetria, ed anche E. Fischer⁽⁴⁾ notava che nei derivati alogenici non era ancora stato osservato potere rotatorio.

In ordine a queste idee, per la generalizzazione della teoria del carbonio asimmetrico, va discusso il caso della lecitina. Può dirsi « a priori »

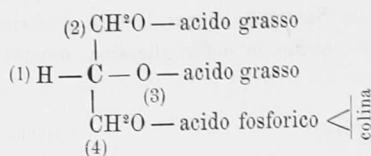
(1) Walden, Ber. 28, pag. 1296.

(2) Hantzsch, Grundriss der Stereochemie, pag. 46.

(3) Easterfield, Journ. of Chemical Soc.

(4) E. Fischer, Ber. 24, pag. 2687.

che la molecola della lecitina contenga un atomo di carbonio asimmetrico?



I gruppi 2 e 4 sono gruppi alcoolici, uguali, che solo differiscono per la natura dell'acido che sostituisce l'idrogeno dell'ossidrile. Tale differenza di sostituyente in due gruppi uguali basta a determinare asimmetria? Nessun caso di eteri composti misti o di sali misti è stato finora a mia conoscenza studiato sotto questo punto di vista. La legge di Oudermann (1) secondo cui il potere rotatorio delle basi attive in soluzione acquosa diluita non viene influenzato dalla natura dell'acido cui la base è legata, è stata recentemente da Walden (2) messa su basi sperimentali in stretto rapporto colla teoria della dissociazione elettrolitica. La proprietà essenzialmente costitutiva del potere rotatorio diventa negli elettroliti (basi, sali, acidi) poco a poco additiva, mano a mano che, col crescere della diluizione, va parallelamente crescendo la dissociazione ionica, e nel caso di un elettrolita binario con due ioni attivi (sale di morfina dell'acido α -bromo-canfo-sulfonico (Walden)) diventa uguale alla somma algebrica delle rotazioni molecolari dell'anione e del catione. Quindi paragonando, per prendere il caso più semplice, il sale monopotassico e l'etere monoetilico dell'acido tartronico:



se è facile prevedere che il sale non avrà mai, in soluzione diluita, potere rotatorio malgrado la differenza dei 4 gruppi legati al carbonio centrale, perchè la dissociazione dell'H e del K renderà uguali i gruppi 2 e 4; non è altrettanto facile prevedere per il caso dell'etere in cui il gruppo $\text{C} \cdot \text{OOC}^2\text{H}^5$ non si dissocia e quindi resta differente del gruppo COO, se il carbonio centrale si comporterà come carbonio asimmetrico. La lecitina, aggruppamento eterico, asimmetrico, non elettrolita, rientra in questo ultimo caso, e, poichè ripeto, a mia conoscenza questa questione non è mai stata posta nè teori-

(1) Oudermann, Liebig Ann. 197, pag. 66.

(2) Walden, Zeitschr. für Phys. Ch., 15, pag. 196.

camente nè sperimentalmente, non è possibile « a priori » prevedere il suo comportamento alla luce polarizzata.

Dirò subito che le ricerche seguenti hanno dimostrato che la lecitina naturale è otticamente attiva. Se si fosse dimostrata inattiva, sarebbero rimaste indecise tutte le questioni sollevate in questa introduzione, ossia:

se la lecitina ha l'acido fosforico attaccato al carbonio centrale della glicerina o al terminale;

se la lecitina, pur possedendo un carbonio asimmetrico, esista nella cellula allo stato racemico o si racemizzi nelle manipolazioni della preparazione;

se negli eteri asimmetrici del tipo della lecitina siano realizzate le condizioni per deviare il piano delta luce polarizzata.

Il risultato positivo della ricerca assegna alla lecitina la formola asimmetrica e dimostra che, mentre essa da una parte non si sottrae alla legge generale dell'Enantiomorfismo della materia vivente, dall'altra contribuisce all'allargamento della teoria del carbonio asimmetrico quale primo esempio di un etere composto misto dotato di potere rotatorio.

Preparazione del composto di lecitina e cloruro di cadmio.

Il materiale da me scelto per la preparazione della lecitina fu il giallo d'uovo. Seguendo il metodo di Strecker la lecitina venne isolata sotto forma di composto doppio di lecitina e cloruro di cadmio, eliminando soltanto la distillazione a cui Strecker sottopone il liquido alcoolico etereo adoperato per l'estrazione per allontanare l'etere. Invero tutti coloro che si sono occupati della lecitina non hanno tenuto conto del calore quale causa di racemizzazione. Diakonow e Hoppe-Seyler ⁽¹⁾ estraggono la lecitina dal giallo d'uovo con alcool a 50° e 60° e svaporano a caldo la soluzione ottenuta. Strecker estrae con alcool ed etere e distilla quest'ultimo. Gilson ⁽²⁾ estrae con alcool e svapora a 50° e 60°; Schultze ⁽³⁾ estrae con alcool a 60° ed infine recentemente; Bergell ⁽⁴⁾ tratta addirittura il giallo d'uovo con alcool all'ebollizione. Per eliminare ogni causa possibile di racemizzazione, io ho evitato ogni riscaldamento nella preparazione della lecitina e, come si vedrà in seguito, l'esperienza ha pienamente confermato il mio modo di vedere, dimostrando che la lecitina rapidamente si racemizza o, almeno, s'idrolizza sotto l'influenza del calore.

Venti tuorli d'uova erano in un separatore agitati con mezzo litro di alcool ed etere nella medesima proporzione del 75 % di alcool e del 25 % di etere. L'estrazione durava due ore. Dopo filtrazione la massa era di nuovo

(1) Hoppe-Seyler, Zeitschr. für. Phys. Ch. I, pag. 347.

(2) Gilson, Zeitschr. für Phys. Ch. 12, pag. 585.

(3) Schultze e Likiernik, Ber. 24, pag. 71.

(4) Peter Bergell, Ber. 33, pag. 2584.

trattata con un altro mezzo litro di alcool ed etere nelle medesime proporzioni. Dopo altre due ore si filtrava, si succhiava la massa residua alla pompa e si mescolavano insieme i liquidi ottenuti. Per allontanare la massima parte dell'etere, si faceva gorgogliare per circa un'ora una rapida corrente d'aria attraverso al liquido, ottenendo così la separazione di una massa oleosa che in discreta quantità si depositava in fondo.

Sul liquido filtrato si versava poco a poco una soluzione satura a freddo di cloruro di cadmio in alcool a 95°. Le prime gocce di questa soluzione determinano un intorbidamento che scompare per agitazione: seguitando ad aggiungerne, l'intorbidamento aumenta, diventa persistente e per agitazione si determina un precipitato che si raccoglie in fiocchi voluminosi nel fondo del recipiente. Questo precipitato, filtrato dalle acque madri, viene sospeso e lavato ripetutamente prima con alcool e poi con etere per liberarlo completamente dal cloruro di cadmio dai grassi e dalla colesterina.

Il composto di lecitina e cloruro di cadmio così ottenuto si presenta sotto forma di una massa perfettamente bianca che al microscopio risulta formata da sferule molto rifrangenti. Dopo essiccamento completo nel vuoto, il composto si presenta come una massa compatta, dura e traslucida come la cera, che si lascia facilmente ridurre nel mortaio in polvere fine e perfettamente bianca. Il rendimento oscilla fra gr. 0,50-0,60 per uovo. Una ulteriore estrazione della massa dai gialli d'uovo non produce un sensibile aumento di rendimento.

Il composto di lecitina e cloruro di cadmio fonde a 199°-200°. È solubile incompletamente negli ordinari solventi: dà soluzioni torbide cogli acidi diluiti: si scioglie abbastanza bene in una mescolanza di glicerina ed alcool: è perfettamente solubile, circa il 7%, in condizioni, che in seguito saranno dettagliatamente esposte, in una mescolanza di solfuro di carbonio ed alcool o di solfuro di carbonio ed etere.

Attività ottica della Lecitina.

Da questo composto di lecitina e cloruro di cadmio preparato secondo Strecker e che le analisi dimostrano identico a quello di Strecker, io ho tentato di ottenere la lecitina per farne l'esame polarimetrico.

Il primo mezzo tentato fu quello usato da Strecker, ossia la demolizione con idrogeno solforato del composto doppio di cadmio e lecitina ridotto in polvere e sospeso in alcool. I risultati non mi sembrarono soddisfacenti. Prima di tutto la decomposizione non è totale, poichè si formano dei grumi collosi che non si sciolgono e non reagiscono quindi con l'idrogeno solforato; si ha anche produzione di un puzzo disgustosissimo che non scompare neanche portando a secco. Inoltre sembra che l'idrogeno solforato eserciti in queste condizioni una azione saponificante e produca la decomposizione di buona

parte della lecitina libera. In una esperienza in questo senso si ebbero perdite molto forti: da 9 gr. di composto, dopo demolizione con idrogeno solforato ed eliminazione di questo, non si riottennero più che due grammi del composto primitivo. In ogni modo anche con questo metodo si ottengono soluzioni limpide che danno al polarimetro deviazioni destrogire e che svaporate nel vuoto lasciano un residuo colloso giallastro che però non sono riuscito ad ottenere secco e pesabile.

Provai allora altri metodi. Ottenni buoni risultati trattando il composto di cadmio e lecitina in sospensione alcoolica con idrato di piombo a freddo per tre ore circa. Si ottiene così una soluzione ben limpida, destrogira, esente di cadmio ma che contiene però sempre tracce di cloro. La presenza della lecitina in questa soluzione è provata, perchè dà il composto con cloruro di cadmio. Migliori risultati si hanno sostituendo all'idrato di piombo l'ossido d'argento. La soluzione di lecitina che si ottiene è ben limpida, esente di cadmio e di cloro, dà deviazioni destrogira e svaporata nel vuoto lascia la lecitina sotto forma di cera bianca solubilissima nell'alcool, ma che non sono mai riuscito ad ottenere secca e pesabile. L'idrato di piombo e l'ossido di argento debbono determinare una considerevole decomposizione parziale delle soluzioni di lecitina, perchè da queste si riottiene una quantità del composto col cloruro di cadmio molto inferiore all'originaria.

Tentai di ottenere la lecitina non alterata da queste soluzioni per cristallizzazione, usando il raffreddamento a bassissima temperatura. In diverse prove fatte su soluzioni di lecitina molto concentrate, usando l'acido carbonico solido e l'aria limpida ho ottenuto sempre formazione di fiocchi bianchi voluminosi di lecitina che restano in sospensione nel liquido. Però, quando si cerca di filtrare, questi fiocchi si depositano sulle pareti del filtro impedendo la filtrazione anche se aiutata da forte aspirazione. Siccome poi i fiocchi di lecitina si sciolgono con grande rapidità col crescere della temperatura, non sono riuscito che a raccoglierne quantità trascurabili.

Quantunque non abbia potuto ottenere la lecitina allo stato pesabile in modo da fare determinazione di potere rotatorio specifico per la lecitina pura, basta il fatto di aver ottenuto da tutte le soluzioni di lecitina deviazione destrogira per togliere ogni dubbio sulla sua attività ottica. Mi risolsi allora a studiare il potere rotatorio del composto cadmico e le ricerche furono coronate da successo, perchè dopo lunghe prove riuscii finalmente a trovare per il composto cadmico un solvente adatto.

Se si mette in un separato del solfuro di carbonio e poi poco a poco si aggiunge alcool, agitando, si ha un intorbidamento e si separano due strati torbidi. Si continua ad aggiungere alcool, a poco a poco finchè i due strati si separano presto e perfettamente limpidi. Lo strato superiore scioglie poco il composto cadmico e la soluzione s'intorbida facilmente, lo strato inferiore lo scioglie presto e bene fino a concentrazioni di circa il 7%; la soluzione

è limpida, non si intorbida, filtra bene e svaporata lascia depositare il composto cadmico col medesimo punto di fusione.

Le determinazioni polarimetriche furono fatte con questo solvente pesando un palloncino da 25 cm³ vuoto e poi con la sostanza, quindi aggiungendo il liquido, agitando e portando a volume. La soluzione limpida veniva filtrata rapidamente nel tubo del polarimetro.

Sostanza (in 25 cm ³)	Deviazione ottenuta	Temperatura
gr. 0.2492	+ 0°,15	24°
" 0.4984	+ 0,30	26°
" 0.7556	+ 0,45	24°
" 0.9978	+ 0,48	26°
" 1.5006	+ 0,59	24°

Il potere rotatorio specifico per le prime tre determinazioni è:

$$\begin{aligned}
 1^a [\alpha]_D^{24} & (c = 0.9968) = 11.41 \\
 2^a [\alpha]_D^{26} & (c = 1.9936) = 11.41 \\
 3^a [\alpha]_D^{24} & (c = 3.0224) = 11.29
 \end{aligned}$$

Col crescere della concentrazione il potere rotatorio specifico diminuisce. Mi riservo in un'altra serie di esperienza di stabilire con esattezza il rapporto che passa fra la concentrazione delle soluzioni ed il potere rotatorio specifico.

Nella Nota che segue, descriverò i metodi analitici seguiti per dimostrare che la sostanza portata al polarimetro era effettivamente il composto doppio di lecitina e cloruro di cadmio; accennerò intanto ad un'esperienza istituita per dimostrare l'azione racemizzante del calore sulla soluzione di lecitina.

A tale scopo, svaporate nel vuoto le soluzioni di composto cadmico portate al polarimetro, ottenni gr. 3.5 di composto indubbiamente attivo e lo trattai con ossido d'argento. La soluzione di lecitina ottenuta era attiva e deviava di + 1°, 3' T 23°.

Raccolta con ogni cura la soluzione portata al polarimetro fu svaporata a 50°-60°. La massa collosa di lecitina ottenuta fu portata al polarimetro sciolta in alcool. Essa era attiva ma dava una deviazione di + 0°, 32' t, 23° molto minore dunque della prima.

Raccolta ancora con ogni cura questa soluzione fu tenuta a ricadere per quattro ore e portata al polarimetro. Essa era inattiva.

Raccolto finalmente il liquido e trattato con cloruro di cadmio, si ebbe abbondante precipitato che diminuì sensibilmente nei lavaggi con alcool ed etere. Il residuo insolubile che era di gr. 0.7, era composto di cadmio puro e fondeva a 199°-200° come il primitivo composto attivo.

Dai risultati di questa esperienza credo poter affermare che la lecitina libera in soluzione, per prolungata azione del calore, si decompone in parte e la parte non decomposta perde la sua attività ottica. E mi sembra così spiegabile come ai chimici che prima di me ebbero ad occuparsi della lecitina, sia sfuggita la sua attività ottica.

PERSONALE ACCADEMICO

Il Segretario CERRUTI comunica che alle condoglianze inviate all'Accademia per la morte del Presidente senatore MESSDAGLIA, e delle quali venne dato annuncio nella seduta del 14 aprile 1901, debbonsi aggiungere quelle dei Soci stranieri Maspero, Röttgen e Schmiedeberg, della R. Accademia di scienze ed arti di Barcellona, e dell'Istituto farmacologico della Università di Strasburgo.

Il Socio Foà legge la seguente *Commemorazione* del defunto accademico prof. GIULIO BIZZOZERO.

L'8 aprile 1901 si spegneva in Torino la nobile esistenza del Senatore Giulio Bizzozero, professore di Patologia generale in quella Università.

Avea sortito i natali a Varese il 20 marzo 1846, onde da poco egli aveva compiuto il suo 55° anno di età. Percorse a Milano gli studi classici e fu sempre tra i più distinti della scuola; indi passò all'Università di Pavia, ove dopo un breve dubbio se avesse dovuto consacrarsi alle lettere, elesse gli studi di Medicina.

Ebbe la laurea a soli 20 anni, e nello stesso anno prestò servizio durante la campagna di guerra come medico nell'esercito regolare.

Passò alcuni mesi a Zurigo presso il Frey onde impadronirsi della tecnica istologica; indi fu alcuni mesi a Berlino presso il Virchow, quando ancora fresca era la grande impressione che aveva fatto nel mondo scientifico la « Patologia cellulare » e quando erano ancora sul divenire le giovani forze di un Recklinghausen e di un Cohnheim.

Durante la sua vita universitaria Pavese era stato allievo di Eusebio Ohl da poco assunto a maestro di fisiologia sperimentale, quale vigoroso rampollo della scuola di Vienna, e respirava, a così dire, l'aria del nuovissimo ambiente che con mirabile convergenza di forze e di intenti andavano creando in Pavia, Salvatore Tommasi, Arnaldo Cantani e Paolo Mantegazza.

Era uno schiudersi a novella vita, dell'anima scientifica italiana; era un sintomo precursore di ciò che avrebbe potuto divenire la Nazione intera. Bizzozero fu allievo e assistente di Mantegazza e lo sostituì nell'insegnamento