

ATTI  
DELLA  
REALE ACCADEMIA DEI LINCEI

ANNO CCCXII.

1915

SERIE QUINTA

RENDICONTI

Classe di scienze fisiche, matematiche e naturali.

VOLUME XXIV.

1° SEMESTRE.



ROMA

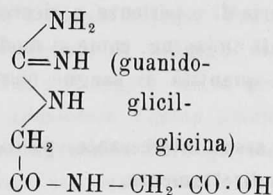
TIPOGRAFIA DELLA R. ACCADEMIA DEI LINCEI

PROPRIETÀ DEL DOTT. PIO BEFANI

1915

dopo annerimento, e alla analisi elementare dimostrano possedere la formula grezza  $C_5 H_{10} O_3 N_4$ .

Tale formula grezza corrisponde a quella della guanidoglicilglicina, a cui, dato il meccanismo per cui se ne è ottenuta la sintesi, spetta la seguente formula di costituzione:



La guanidoglicilglicina (glicociamilglicina) è il più semplice e il primo rappresentante, di tutta una nuova classe di polipeptidi, la cui sintesi e il cui studio biologico mi riserbo di condurre a termine.

*Chimica. — Sul metabolismo degli aminoacidi nell'organismo.*

Nota I: *Azione del tessuto muscolare sugli aminoacidi aggiunti al sangue circolante*, del dott. UGO LOMBROSO, presentata dal Socio L. LUCIANI.

Dopo che le nostre conoscenze sulla digestione delle sostanze proteiche sono venute, per opera particolarmente di Conheim ed Abderalden, a modificarsi così profondamente, è entrato nella convinzione della maggioranza degli studiosi il concetto che le sostanze proteiche vengano idrolizzate completamente sino allo stato di aminoacidi nel tubo digerente. Si sono quindi formulate varie ipotesi, tuttavia in discussione, rispetto al destino che tali aminoacidi avrebbero nel ricambio intermedio e finale delle sostanze azotate. Principalmente si dibattono le seguenti ipotesi: se avvenga cioè una ricostruzione della complessa sostanza proteica negli epitelii intestinali (similmente a quanto avviene nella digestione dei grassi), ovvero se gli aminoacidi penetrino in circolo serbando poi le loro ulteriori modificazioni (ricostituzione nelle albumine specifiche di ogni singolo organo, oppure combustione definitiva) in seno agli elementi dei vari tessuti dell'organismo.

Non entro in maggiori dettagli rispetto a questa ipotesi, tanto più che io non sottoscrivo, per ragioni che spiegherò in prossime pubblicazioni, al concetto fondamentale dell'idrolisi così completa delle sostanze proteiche, prima del loro assorbimento.

Ma ho voluto farne cenno, in quanto quest'ultima ipotesi è il punto di partenza di alcune ricerche che voglio ora menzionare, ricerche che furono dirette a risolvere il seguente problema :

Ammesso che, per via sanguigna, aminoacidi giungano a contatto di diversi tessuti, quale sarà il loro comportamento?

Per rispondere a questa domanda, apparentemente così semplice, già si richiede una complicata serie di esperienze e ricerche, la più elementare delle quali si rivolge alla seguente indagine: come si modifica il contenuto in aminoacidi di una determinata quantità di sangue circolante in un determinato organo?

A questo problema, assai interessante, pochi contributi furono portati: e buona parte soltanto indirettamente.

Nella numerosa serie di lavori eseguiti da Embden <sup>(1)</sup> e dai suoi collaboratori, facendo circolare nel fegato varie sostanze, e fra queste molti aminoacidi, indirettamente venne sfiorato tale problema. Infatti Embden dimostrò che, condizionatamente alla presenza di aminoacidi nel sangue usato per la circolazione artificiale del fegato, avvertivasi la produzione di acetone, acido lattico, ecc. Egli però non si preoccupò di determinare direttamente la diminuzione od eventuale scomparsa degli aminoacidi.

Altre notizie più dirette si possono trarre dalle interessanti comunicazioni del v. Slyke <sup>(2)</sup> e collaboratori. Questi studiosi, in una diligente serie di ricerche, verificarono il comportamento dei vari tessuti a varie distanze di tempo dopo iniezioni di soluzioni concentrate di aminoacidi o mescolanze di essi.

Da queste ricerche risultò che, più o meno, tutti i tessuti aumentano in tali condizioni il loro contenuto di aminoacidi, ed in modo particolare il fegato. Inoltre in queste esperienze constatarono che non soltanto il fegato è capace di raddoppiare e più il suo contenuto di aminoacidi, ma è anche quello che se ne libera più rapidamente di tutti gli altri organi.

Siccome quest'ultimo fenomeno è accompagnato da aumento di urea nel sangue, essi ritengono probabile che la scomparsa degli aminoacidi si debba alla loro ossidazione.

Negli altri organi gli aminoacidi assorbiti spariscono meno rapidamente; ed i muscoli che con minore quantità di aminoacidi raggiungono il punto di saturazione, se ne liberano più lentamente.

La sparizione degli aminoacidi in tutti gli organi avverrebbe, secondo v. Slyke, per opera del fegato, il quale, distruggendo rapidamente gli aminoacidi assorbiti, li sottrae continuamente alla circolazione e quindi ai tessuti che, non essendo capaci di utilizzarli, li riversano in circolo.

<sup>(1)</sup> Zeitschrift f. die gesammte Biochemie, VIII, Heft 3/4 1906.

<sup>(2)</sup> Journ. of. Biolog. Chem., XII, 399, 1913.

Quando la penetrazione degli aminoacidi in circolo è troppo rapida, il rene (che, come il fegato, è capace di assorbire la maggior copia di aminoacidi, ma da esso se ne differenzia perchè non atto a distruggerli) aiuta l'organismo a liberarsene, eliminandoli immutati.

Contrarii all'ipotesi di v. Slyke, della elettiva azione epatica nella disanimazione, sono Rattevos e Nelson <sup>(1)</sup>, i quali ritengono che tale proprietà sia comune a tutti i tessuti viventi. Per dimostrare questa tesi, gli autori citati praticarono iniezioni di miscugli di aminoacidi in animali ai quali avevano esportato tutto il fegato, salvo quel piccolo pezzo che circonda la cava; e videro aumentare l'azoto ammoniacale nelle urine, segno che la decomposizione era avvenuta. Però gli stessi autori dovettero riconoscere che le loro esperienze non erano conclusive, perchè si verificava anche un aumento nella eliminazione dell'urea tale da dimostrare non essere annullata l'azione del fegato.

Tutte le ricerche di cui abbiám fatto cenno, e particolarmente quelle dirette da v. Slyke, se hanno portato preziosi contributi alla conoscenza del metabolismo degli aminoacidi, lasciano però insoluto il quesito se e quanto i vari tessuti siano di per sè capaci di utilizzare gli aminoacidi circolanti nel sangue. E ciò perchè, essendo stati eseguiti nell'organismo *in toto*, nel quale viene mantenuta fra i diversi organi la possibilità di scambiarsi le varie sostanze nel sangue circolante, riesce impossibile di distinguere esattamente l'azione che si deve attribuire ai singoli organi in riguardo al metabolismo generale.

Indagini che sfuggirebbero a questa obiezione furono eseguite da due ricercatori il Buglia <sup>(2)</sup> e il Lanzillotti <sup>(3)</sup>.

Il Buglia sottopose all'esperimento una affermazione formulata in via di ipotesi dal Lussana, che avendo più volte fatto ricerche sul cuore isolato nutrito con liquidi a cui erano stati aggiunti aminoacidi, sosteneva che detti aminoacidi non erano ulteriormente metabolizzati.

Risultò, da tali ricerche del Buglia (eseguite facendo circolare in cuore isolato di coniglio una soluzione fisiologica cui erano stati aggiunti diversi aminoacidi) che, anche prolungando per molte ore l'esperimento, non si verifica mai una diminuzione di aminoacidi. Al contrario, in qualche caso si ha anche un aumento di aminoacidi, dovuto al riversarsi, nel liquido circolante, degli aminoacidi propri del tessuto muscolare.

Un risultato invece completamente positivo avrebbe avuto il Lanzillotti, sperimentando col rene di cane. In queste indagini, nelle quali l'autore, come il Buglia, per liquido circolante aveva usato soluzione fisiologica

<sup>(1)</sup> Journal of Biol. Chemistry, XIX, 229, 1914.

<sup>(2)</sup> Arch. di farmacol. speriment. e scienze affini, XVII, 277, 1914.

<sup>(3)</sup> Archivio di fisiologia, XII, 429, 1915.

del Ringer, si era verificata una diminuzione di aminoacidi che raggiunse perfino il 20 %.

\* \* \*

Volendo contribuire a tale complesso problema, io ho iniziato, in collaborazione anche di C. Artom, una serie di ricerche sistematiche sul comportamento dei vari tessuti in rapporto agli aminoacidi in essi circolanti.

In questa Nota riferisco le indagini eseguite sperimentando con tessuto muscolare. Io mi sono anzitutto proposto di rispondere a queste domande:

1) facendo circolare sangue unito a vari aminoacidi per il tessuto muscolare, quali variazioni si riscontrano nel suo contenuto di aminoacidi dopo un determinato periodo di circolazione?

2) e quale modificazione subisce il contenuto in aminoacidi del tessuto muscolare?

3) a una eventuale diminuzione degli aminoacidi nel sangue, corrisponde la presenza di sostanze ( $\text{NH}_3$ , acetone) che indichino la loro combustione?

4) infine (dopo il risultato ottenuto nelle prime ricerche) ho esteso anche al tessuto muscolare la determinazione dell' $\text{NH}_3$ .

Tutte queste varie ricerche apparivano ugualmente necessarie in quanto l'una coll'altra si completava ed integrava. Infatti, una diminuzione degli aminoacidi del sangue non ci dimostra di per sè sola una utilizzazione di essi, potendosi giustificare con un corrispondente loro aumento nel tessuto muscolare. E, d'altra parte, soltanto la dimostrazione diretta dei prodotti della loro ulteriore combustione può assicurarci che effettivamente di ossidazione si tratti e non di una sintesi di tali aminoacidi.

\* \* \*

Per eseguire le presenti ricerche, dissanguavo rapidamente l'animale di esperimento, e, liberato della cute un arto posteriore, lo ponevo nell'apparecchio per la circolazione Lind, che facevo funzionare usando il sangue defibrinato dell'animale stesso. Per ragione di praticità, non veniva l'apparecchio smontato dopo ogni esperienza, ma lavato *in toto* col passaggio di liquido di Ringer, piccola parte del quale rimane aderente alle palline di vetro dell'ossigenatore, ed al serpentino. Per ciò, per avere un esatto confronto fra le sostanze titolabili al formolo, prima e dopo la circolazione del muscolo, facevo circolare a vuoto, nell'apparecchio, il sangue a cui avevo aggiunto gli aminoacidi in modo che si mescolasse col liquido di Ringer rimasto; prelevavo un campione, e subito dopo procedevo all'innesto nell'arteria femorale.

Il dosaggio degli aminoacidi del sangue si eseguiva dopo aver trattato il sangue e gli estratti idroalcolici del tessuto con ferro colloidale, previa

estrazione dell' $\text{NH}_3$  col metodo del Sørensen. Ricerche di controllo mi dimostrarono che la precipitazione col ferro colloidale non disturba sensibilmente il dosaggio degli aminoacidi se questi sono disciolti in acqua. Invece una certa diminuzione si avverte quando gli aminoacidi sono sciolti nel sangue. Perciò i dati raccolti nelle osservazioni che riferisco hanno valore più comparativo che assoluto, ed io riporto semplicemente i cc.  $\text{Na OH } \frac{1}{10} n$  adoperati per la formoltitolazione.

I.

Cane maschio kg. 7,300. — L'arto posteriore pesa 560 gr. (di cui, 140 rappresentano tessuto osseo). Si inizia la circolazione con 420 cc. sangue + 4 gr. glicocolla sciolti in 80 cc. liquido di Ringer. La pressione vien tenuta fra 150-180 mm. mercurio. Dopo 3 ore di circolazione, l'arto pesa gr. 555.

Per 10 cc. sangue la formoltitolazione richiede . . . . .	9,1 cc. $\text{Na OH } \frac{1}{10} n$
" " dopo circolaz. la formoltitolazione richiede . . . . .	7,0 " "
Per 50 gr. muscolo la formoltitolazione richiede . . . . .	5,2 cc. $\text{Na OH } \frac{1}{10} n$
" " dopo circolaz. la formoltitolazione richiede . . . . .	12,2 " "
$\text{NH}_3$ per 100 cc. sangue. . . . .	2,8 $\text{H}_2 \text{SO}_4 \frac{1}{50} n$
" " " dopo circolazione . . . . .	19,6 $\text{H}_2 \text{SO}_4 \frac{1}{50} n$
$\text{NH}_3$ per 50 gr. muscolo. . . . .	22,4 $\text{H}_2 \text{SO}_4 \frac{1}{50} n$
" " " dopo circolazione . . . . .	14,8 $\text{H}_2 \text{SO}_4 \frac{1}{50} n$

Complessivamente sono mancanti nel liquido circolato tante sostanze titolabili col formolo, da richiedere 105,0 cc.  $\text{Na OH } \frac{1}{10} n$ . Se ne trovano in più nel muscolo tante da richiedere 81 cc.  $\text{Na OH } \frac{1}{10} n$ . Il deficit assoluto corrisponde quindi a 24 cc.  $\text{Na OH } \frac{1}{10} n$ .

II.

Cane maschio kg. 5. — L'arto posteriore pesa 380 gr. (dei quali, 94 rappresentano tessuto osseo). Si inizia la circolazione con 360 cc. sangue + 4 gr. glicocolla sciolti in 140 cc. liquido di Ringer. La pressione vien tenuta fra 140-180 mm. mercurio. Dopo 2 ore di circolazione, l'arto pesa 420 gr.

Per 15 cc. sangue la formoltitolazione richiede . . . . .	14,2 cc. $\text{Na OH } \frac{1}{10} n$
" " dopo circolaz. la formoltitolazione richiede . . . . .	11,2 " "
$\text{NH}_3$ per 100 cc. sangue. . . . .	3,6 cc. $\text{H}_2 \text{SO}_4 \frac{1}{50} n$
" " " dopo circolazione . . . . .	12,9 cc. $\text{H}_2 \text{SO}_4 \frac{1}{15} n$
Per 50 gr. muscolo la formoltitolazione richiede . . . . .	19,5 cc. $\text{Na OH } \frac{1}{10} n$
" " dopo circolaz. la formoltitolazione richiede . . . . .	20,4 " "
$\text{NH}_3$ per 50 gr. muscolo . . . . .	13 cc. $\text{H}_2 \text{SO}_4 \frac{1}{50} n$
" " " dopo circolazione. . . . .	16,2 " "

Complessivamente sono mancanti nel liquido circolato tante sostanze titolabili col formolo, da richiedere 99,9 cc.  $\text{Na OH } \frac{1}{10} n$ . Se ne trovano in più nel muscolo tanti da richiedere 61,3 cc.  $\text{Na OH } \frac{1}{10} n$ . Il deficit assoluto corrisponde quindi a 38,6 cc.  $\text{Na OH}$ .

III.

Cane maschio kg. 5,5. — L'arto posteriore pesa 390 gr. (di cui, 100 rappresentano tessuto osseo). Sangue, diluito con Ringer, cc. 520 + 4 gr. di  $\alpha$  alanina. La pressione vien tenuta fra 150-200 mm. mercurio. Dopo 1,45 ore, l'arto pesa 450 gr.

Per 15 cc. sangue la formoltitolazione richiede . . .	6 cc. Na OH $\frac{1}{10}$ n
"    "    "    dopo circolaz. la formoltitolazione richiede	5,5 "    "
Per 50 gr. muscolo normale la formoltitol. richiede . .	15,5 cc. Na OH $\frac{1}{10}$ n
"    "    "    dopo circolaz. la formoltitolazione richiede	17,0 "    "
NH <sub>3</sub> su 100 cc. sangue . . . . .	perduto
"    "    "    circolato. . . . .	8 cc. H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> $\frac{1}{30}$ n
NH <sub>3</sub> per 50 gr. muscolo . . . . .	22 cc. H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> $\frac{1}{30}$ n
"    "    "    dopo circolazione. . . . .	18 "    "

Compressivamente sono mancanti nel liquido circolante tante sostanze titolabili col formolo, da richiedere 39,3 cc. Na OH  $\frac{1}{10}$  n. Se ne trovarono in più nel muscolo tante da richiedere 29,1 cc. Na OH  $\frac{1}{10}$  n. Il deficit assoluto corrisponde quindi a 10,2 cc Na OH  $\frac{1}{10}$  n.

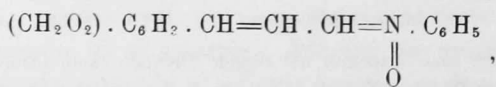
Dalle presenti ricerche risulta che:

Facendo circolare, nel muscolo di cane, sangue contenente in forte dose (sino all'1 %) aminoacidi, si avverte sempre una diminuzione degli aminoacidi dopo la circolazione. Di questi aminoacidi, una parte, la maggiore, si ritrova depositata immutata nel tessuto; della rimanente, una parte viene bruciata (come dimostra l'aumento dell'NH<sub>3</sub>), e un'altra deve venir utilizzata a formare corpi non titolabili col formolo.

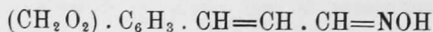
Sul significato e sulle deduzioni che da questi risultati si possono trarre, esporrò nella Nota che segue, allo scopo di poter fare gli opportuni raffronti coi risultati ottenuti usando, quale liquido circolante, la soluzione di Ringer, in luogo del sangue.

**Chimica.** — *Nuove ricerche intorno all'azione dei nitroso-derivati sui composti non saturi* (1). Nota del dott. LUIGI ALESSANDRI, presentata dal Socio A. ANGELI.

Lo studio intorno all'azione del nitrosobenzolo sui composti non saturi fu iniziato nel 1910 da A. Angeli, L. Alessandri e R. Pegna (2); e per i composti aromatici a catena laterale allilica, più precisamente per il safrolo, venne allora dimostrato come il prodotto cristallino, principale, della reazione, possiede la struttura seguente:



cioè di etere N-fenilico della ossima



(1) Lavoro eseguito nel Laboratorio di chimica farmaceutica del R. Istituto di studi superiori di Firenze.

(2) Questi Rendiconti, vol. XIX, 1° sem., pag. 650.