

ATTI
DELLA
REALE ACCADEMIA DEI LINCEI

ANNO CCCXIII.

1916

SERIE QUINTA

RENDICONTI

Classe di scienze fisiche, matematiche e naturali.

VOLUME XXV.

1° SEMESTRE.



ROMA

TIPOGRAFIA DELLA R. ACCADEMIA DEI LINCEI

PROPRIETÀ DEL DOTT. PIO BEFANI

1916

Avviene, invero, che l'autoinduzione e la capacità distribuite lungo l'avvolgimento della bobinetta danno origine in questa, a causa delle rapide variazioni della corrente che la traversa, a oscillazioni proprie interne, risultandone una azione magnetica complessiva, sul tubo di Braun, che non è più corrispondente alla legge di variazione della corrente secondaria esaminata. Il fenomeno si accentua se della bobinetta si utilizza solo una parte dell'avvolgimento, mentre la rimanente, connessa con la parte utilizzata, ne aumenta la capacità.

Per lo studio di correnti così rapidamente variabili non esiste, a nostro parere, mezzo più sicuro che l'esame della legge di variazione della differenza di potenziale esistente agli estremi di una resistenza non induttiva. Questo esame può farsi per mezzo dello stesso tubo Braun, munito delle laminette per la deviazione elettrostatica dei raggi catodici, secondo i suggerimenti di Wehnelt. Procedendo in questo modo, e servendoci, come resistenza, di un tubetto con soluzione di ioduro di cadmio, noi abbiamo potuto ottenere la vera forma della corrente secondaria, e confermare, in massima, anche coi grandi rocchetti i risultati ottenuti da uno di noi (1), e cioè la unilateralità delle correnti, e la loro forma rettilinea, in funzione del tempo, quando la corrente traversa una scintilla o un tubo a scarica; lungo la retta si svolgono le oscillazioni unilaterali del sistema primario-secondario, quando si ricorre agli interruttori meccanici.

I risultati da noi ottenuti, insieme con uno studio complesso degli elementi elettrici da cui dipende la produzione dei raggi X, verranno comunicati in una Memoria di prossima pubblicazione.

Chimica. — *Anidridi della tirosina* (2). Nota di F. GRAZIANI, presentata dal Corrispondente L. BALBIANO.

Lo studio del comportamento di alcuni acidi α -amidati riscaldati con glicerina o con altri agenti moderatori del calore (3), mi portò a constatare, per il caso della tirosina riscaldata con glicerina a 175°-185°, la formazione di due composti principali, uno solubile in alcool assoluto bollente, e l'altro insolubile: il primo corrispondeva, all'analisi, ad un'anidride della tirosina; del secondo non mi occupai per allora, pure osservando che probabilmente esso era un'altra anidride, forse identica alla sostanza che il Löw ottenne da un latte conservato per 8 anni, e che si presentava in globetti duri,

(1) O. M. Corbino, *Ricerche teoriche e sperimentali sul rocchetto di Ruhmkorff*. N. Cimento, tom. 15, pp. 202-203 (1908).

(2) Lavoro eseguito nel Laboratorio di chimica organica del R. Politecnico di Torino.

(3) Questi Rendiconti, 1915, I, 822 e 936.

insolubili in acqua bollente ed in alcool, e che bollita con potassa caustica dava tirosina: il L \ddot{o} w la ritenne un'anidride della tirosina⁽¹⁾.

Soltanto ora ho potuto condurre a termine questo studio, e ne rendo noti qui i risultati.

Per la preparazione delle sostanze che mi interessavano ho lavorato in tutto gr. 11 di tirosina. Il procedimento era quello già descritto nelle due Note citate: in tubi di vetro aperti, lunghi circa 30 cm. e del diametro di 20-22 mm., si riscaldava la tirosina, 1 gr. per volta con 15 cc. di glicerina $d=1.26$. In circa 1 ora si raggiungeva la temperatura di 180°, e si manteneva fra i 180° e i 190° (solo eccezionalmente, per le variazioni della pressione del gas, si è giunti ai 200°) fino a completa soluzione della tirosina: per ciò occorrevano circa 2 ore.

Si otteneva così un liquido limpido, di colore giallo alle volte leggermente brucicco, sempre con fluorescenza rossastra, che dopo raffreddamento si diluiva con 3-4 volumi di acqua, lasciandolo poi per 24 ore alla temperatura esterna invernale (circa 0°): si formava un precipitato bruno, fioccoso, assai leggero, che rimaneva sospeso nel liquido: raccolto su filtro, veniva lavato con acqua fredda fino a completa eliminazione della glicerina, poi si seccava in istufa a 100° sino a peso costante.

Otteni così un totale di gr. 4,18 di sostanza solida secca, costituita da una polvere grigio-bruna, che esaurii, in apparecchio Soxhlet, con alcool assoluto bollente. L'estrazione fu ripetuta tre volte, ogni volta bollendo per alcune ore 100 cc. di alcool: alla terza estrazione, dopo 2 ore di ebollizione, 10 cc. del liquido evaporati a secco lasciarono appena tracce di residuo. Si sospese allora l'operazione, e il residuo indisciolto rimasto nel cartoccio venne raccolto e seccato a 100°. Ammontava a gr. 1,24, corrispondenti a circa il 30 % del prodotto totale solido di anidrifcazione: rendimento concordante con quello già riportato nelle Note accennate. La maggior parte (gr. 2,94) della sostanza precipitata dall'acqua nella soluzione glicerica è quindi stata disciolta dall'alcool assoluto bollente, con colorazione bruna dovuta alle impurezze.

Anidride cristallizzata.

I liquidi delle due prime estrazioni vennero riuniti: dal primo, già a caldo, si era separata abbondantemente l'anidride cristallizzata: il terzo liquido d'estrazione non fu unito agli altri perchè conteneva appena tracce di sostanza disciolta, forse di anidride cornea (praticamente insolubile). Con tre cristallizzazioni dall'alcool si ottennero gr. 2.35 del prodotto puro, in aghetti bianchi finissimi, soffici, di splendore sericeo. Riscaldato in tubicino aperto aumentando rapidamente la temperatura, a 260° incomincia ad im-

(¹) Ber. d. d. chem. Gesell., 15, 1488.

brunire leggermente, e a 278°-279° (non corr.) fonde nettamente, senza sviluppo gassoso, in un liquido bruniccio. Riscaldato su lamina di platino, dapprima fonde in un liquido appena colorato, che poi va imbrunendo fino a completo annerimento e carbonizzazione, mentre si svolgono vapori che odorano leggermente di peli e di corna bruciati.

Si scioglie nell'alcool assoluto bollente, circa gr. 1,5 in 100 gr. di solvente: a freddo è quasi insolubile. Presso a poco nelle stesse proporzioni si discioglie nell'acqua bollente: per raffreddamento cristallizza benissimo anche da questo solvente. La sua soluzione acquosa, bollita con ossido di rame precipitato, non accenna affatto a colorirsi in azzurro: ciò che dimostra non esservi catene carbossiliche, e che quindi deve trattarsi di anidride ciclica.

Inoltre la sua soluzione acquosa si colora in rosso col reattivo del Millon, dimostrando la permanenza del gruppo ossifenilico libero.

All'analisi:

gr. 0,1554 di sostanza diedero gr. 0,3756 di CO₂ e gr. 0,0788 di H₂O.

In una determinazione di N col metodo di Kjeldahl, gr. 0,1394 di sostanza richiesero cc. 8,4 di HCl $\frac{N}{10}$.

	Trovato	Calcolato per (C ₉ H ₉ O ₂ N) _x
C %	65,91	66,22
H %	5,63	5,56
N %	8,44	8,59

I dati analitici corrispondono perfettamente ad un'anidride ciclica della tirosina. Non fu possibile determinarne la grandezza della molecola, poichè la sua poca solubilità in alcool, in acqua, e meno ancora negli altri solventi neutri, non permetterebbe che troppo piccole variazioni del punto di congelamento o del punto di ebollizione, insufficienti a determinazioni esatte.

Una conferma che si tratta veramente di un'anidride della tirosina l'ho avuta facendone l'idrolisi. Gr. 0,3 di sostanza vennero bolliti a ricadere per 1 ora e mezza con cc. 20 di HCl $d=1,10$. La soluzione, limpida, si concentrò a piccolo volume, si aggiunse poi di ammoniaca diluita fino a neutralizzazione, e si portò a secco. Il residuo, raccolto e lavato con acqua fredda, si cristallizzò dal minimo di acqua bollente, aggiungendo, dopo la soluzione, un poco di alcool. Si ottennero degli aghetti bianchi, raggruppati nel modo caratteristico della tirosina.

I. gr. 0,1399 di questa sostanza seccata diedero gr. 0,3084 di CO₂ e gr. 0,0776 di H₂O.

II. gr. 0,1814 diedero gr. 0,3952 di CO₂ e gr. 0,1014 di H₂O.

	Trovato		Calcolato per C ₉ H ₁₁ O ₂ N
	I.	II.	
C %	60,12	59,41	59,63
H %	6,16	6,21	6,12

Anidride cornea.

È costituita dalla parte rimasta indisciolta nell'estrazione con alcool assoluto bollente. Per la sua insolubilità, oltrechè nell'alcool, anche in tutti gli altri solventi neutri (ne furono provati numerosissimi), non fu possibile un'ulteriore purificazione del composto, nè si poté determinarne il peso molecolare. Si presenta sotto forma di una polvere di colore bianco sporco, amorfa: esaminata al microscopio, anche ai più forti ingrandimenti, non si riscontrò affatto struttura cristallina. Riscaldata rapidamente in tubicino aperto, incomincia ad imbrunire soltanto a 270°, e a 279° fonde con leggera decomposizione in un liquido bruno: presenta quindi lo stesso P. F. dell'altra anidride, e, data la decomposizione che accompagna la fusione stessa, non è da escludersi che intorno a quella temperatura vi sia un punto di trasformazione di un'anidride nell'altra.

Riscaldata su lamina di platino, fonde in un liquido bruniccio, che poi va carbonizzandosi con svolgimento di vapori che hanno l'odore caratteristico di sostanze cornee bruciate, assai più pronunciato di quello dell'altra anidride.

Sospesa nell'acqua (in cui forse è, sia pure in tracce, un poco solubile), reagisce col liquido del Millon, dando la caratteristica colorazione rossa, che dimostra la permanenza dell'aggruppamento ossifenilico anche in quest'anidride cornea.

All'analisi:

gr. 0,1274 di sostanza diedero gr. 0,3082 di CO₂ e gr. 0,0634 di H₂O;
" 0,151 di sostanza, sottoposta al metodo di Kjeldahl, richiesero cc. 9,2

di HCl $\frac{N}{10}$.

	Trovato	Calcolato per (C ₉ H ₉ O ₂ N) _x
C %	65,97	66,22
H %	5,53	5,56
N %	8,53	8,59

L'analisi ci dice dunque che anche questo composto è un'anidride della tirosina: anche in questo caso si è avuto una conferma dalla sua idrolisi, il cui prodotto è la tirosina.

Gr. 0,3 di anidride vennero bolliti a ricadere con cc. 20 di HCl $d=1,10$: in 2 ore si ottenne la soluzione completa. Il liquido, concentrato a piccolissimo volume, si neutralizzò con ammoniaca diluita, poi si portò a secco. Il residuo, ripreso con acqua fredda e lavato fino ad eliminazione del cloruro d'ammonio, si cristallizzò dall'acqua bollente, aggiungendo un poco d'alcool: si ottennero degli aghetti bianchi, dell'aspetto della tirosina.

Gr. 0,1203 del prodotto dell'idrolisi diedero gr. 0,2641 di CO_2 e gr. 0,0658 di H_2O .

	Trovato	Calcolato per $\text{C}_9\text{H}_{11}\text{O}_3\text{N}$
C %	59,87	59,63
H %	6,07	6,12

Trasformazione reciproca delle due anidridi.

La supposizione fatta nel determinare il punto di fusione dell'anidride cornea, cioè di una probabile trasformazione di quest'anidride nell'altra cristallizzata, mi venne confermata dalla seguente esperienza.

Gr. 0,1 di anidride amorfa vennero bolliti a ricadere per 6 ore con 8 cc. di difenilmetano: la temperatura era di 257° - 258° , cioè una ventina di centigradi inferiore al punto di fusione. Il liquido andò a mano a mano inscurendo, fino a diventare giallo-bruno, e l'anidride si disciolse per la maggior parte: per raffreddamento si ebbe di nuovo separazione di sostanza solida, che riempiva quasi completamente il liquido. Tutto si versò sopra un filtro, lavando con benzolo bollente fino a completa eliminazione del difenilmetano: rimase aderente al fondo del palloncino una piccolissima quantità di sostanza nera, peciosa. La soluzione benzolica del difenilmetano aveva colore giallo-bruno con fluorescenza rossastra. La sostanza raccolta sul filtro era una polvere gialliccia, che seccata a 100° superava i gr. 0,09: bollita con alcool assoluto si disciolse quasi completamente con colore giallognolo, lasciando un piccolissimo residuo costituito di una polverina grigia amorfa, che all'aspetto appariva anidride cornea inalterata. La soluzione alcoolica, portata a secco, lasciava un residuo cristallino di gr. 0,09: ripreso con alcool bollente, decolorato con carbone animale, filtrato e concentrato, cristallizzò in aghetti prismatici bianchi, fondenti a 277° - 278° : osservati al microscopio apparivano identici a quelli dell'anidride cristallizzata. Dunque conducendo l'esperienza nel modo descritto, il 90% dell'anidride cornea insolubile si è trasformata in quella cristallizzata solubile.

D'altra parte l'anidride cristallizzabile può trasformarsi parzialmente in quella cornea. Quando infatti si fa la cristallizzazione dall'alcool, si osserva sempre nella concentrazione della soluzione, alle volte già durante il riscaldamento ed in ogni caso prima che incominci la cristallizzazione, la separazione di una piccola quantità di polvere bianca. Ne ho raccolto diverse porzioni sopra un filtro: esaminata al microscopio appare amorfa come l'anidride cornea: come questa non è più solubile in alcool: fonde però, sempre con decomposizione, un poco più alto, a 284° - 285° , forse perchè con questo procedimento è venuta a subire una purificazione, cui non si era potuto sottoporre quella che si ottiene direttamente dall'anidrifazione con glicerina.

Le piccole quantità di sostanza che avevo a disposizione non mi hanno permesso di seguire coll'analisi queste trasformazioni di un'anidride nell'altra.

I fatti sperimentali sopra riportati stanno dunque a dimostrare che nel riscaldamento della tirosina con glicerina a 180°-190° si formano due anidridi, una cristallizzata ed una amorfa, analogamente a quanto già era stato osservato per la glicocola; e mostrano inoltre la possibile trasformazione dell'una anidride nell'altra.

La loro formazione si è avuta non già facendo il riscaldamento in tubi chiusi, cioè nelle condizioni in cui Balbiano e Trasciatti, operando con la glicocola, avevano ottenuto principalmente anidride cornea: ma bensì in tubi aperti, cioè in quelle condizioni che il Maillard ritiene le più favorevoli alla disidratazione degli acidi α -amidati⁽¹⁾ e che nel caso della glicocola portavano alla formazione fino dell'86% del teorico di anidride cristallizzata bimolecolare e di tracce appena dell'anidride cornea più complessa⁽²⁾: fatto, questo, che sembrò al Maillard potesse autorizzarlo a diminuire di molto l'importanza dei fatti precedentemente resi noti dal Balbiano. A pag. 20 del suo volume ricorda come la glicerina produca delle condensazioni *regolari* nella serie degli aminoacidi: e il fatto che per la glicocola, per la sarcosina, per la leucina, per l'alanina ottiene come prodotti principali le corrispondenti anidridi cicliche bimolecolari, ha condotto il Maillard alla conclusione che, quando si compia la reazione in modo da permettere all'acqua formatasi di andarsene liberamente nel corso del riscaldamento, si debba formare quasi esclusivamente l'anidride bimolecolare, mentre quella cornea sarebbe un prodotto tutt'affatto secondario e di pochissima importanza. Tuttavia quest'anidride più complessa potrebbe formarsi in quantità maggiore diminuendo di molto la proporzione della glicerina (loc. cit., pp. 186-192): e così spiegherebbe come Balbiano e Trasciatti ottenevano quasi esclusivamente anidride cornea: questi Autori infatti riscaldavano in tubi chiusi 20 gr. di glicocola con 10 gr. di glicerina. Pure ammettendo che l'interpretazione che il Maillard dà dell'influenza della quantità della glicerina in queste disidratazioni sia, per il caso della glicocola, corrispondente al vero, essa non è tuttavia generalizzabile, poichè per il caso della tirosina vediamo che con una diluizione grandissima (gr. 1 di tirosina in circa 20 di glicerina) e pure operando in tubi aperti, si ottiene con rendimento notevole l'anidride cornea accanto a quella cristallizzata. Si avrebbe dunque, per la tirosina, un comportamento in qualche modo diverso da quello della glicocola: fatto che per lo meno contrasta col senso di regola generale che dovrebbe sovrastare alle disidratazioni di tutti questi acidi α -amidati, come traspare da tutta l'opera del chimico francese.

(¹) L. C. Maillard, *Genèse des matières protéiques et des matières humiques: action de la glycérine et des sucres sur les acides α -aminés*. Paris, Masson et C. éditeurs (1913), pag. 59.

(²) loc. cit., pag. 64.

La trasformazione reciproca delle due anidridi della tirosina potrebbe far pensare a delle condizioni di stabilità dipendenti dalla temperatura: riscaldando con difenilmetano a 257°-258°, l'anidride cornea si trasforma si può dire totalmente nell'anidride cristallizzata: questa, riscaldata con alcool, si trasforma, sia pure in piccola parte, in quella amorfa. Ciò potrebbe forse spiegare come alla temperatura relativamente elevata a cui si opera (170°-190°) si ottenga quasi esclusivamente il composto cristallizzato: chissà se potendo operare a temperature più basse, non si otterrebbero maggiori quantità dell'anidride cornea? I tessuti naturali che all'idrolisi danno di questi acidi α -amidati, non possono forse considerarsi dei prodotti di anidrifazione che si formerebbero alla temperatura ordinaria? e non sono essi amorfi come le anidridi cornee, e non cristallizzati come le anidridi bimolecolari? (1).

Questa correlazione tra l'anidride cornea e i tessuti naturali fu messa in piena evidenza dal Balbiano nel suo lavoro, quantunque il Maillard cerchi di diminuirne l'importanza (2). Anche il Fischer (3) non ritenne, dal punto di vista chimico, degna di particolare attenzione l'anidride cornea della glicocola, perchè essa, a differenza dei polipeptidi cristallizzati, è un composto amorfo, e quindi non ben purificabile. Ora l'aver ottenuto anche dalla tirosina (acido amidato che si trova presente in notevole quantità nei prodotti d'idrolisi di molti tessuti organizzati, quali la seta, lo scudo della tartaruga, i peli, le penne, ecc.) un composto bene caratterizzato quale una sua anidride amorfa, che per le sue proprietà si accosta ai tessuti naturali, fa acquistare un alto valore biologico a queste anidridi cornee, che per la stessa coincidenza delle loro proprietà fisiche, possono in certo modo essere considerate come la base sulla quale questi tessuti stessi si formerebbero: perchè gli acidi amidati glicocola e tirosina, prodotti principali dell'idrolisi di alcuni tessuti organizzati, potrebbero provenire da queste anidridi cornee che si troverebbero allo stato libero mescolate con altri polipeptidi nei tessuti stessi.

(1) Ricordo ancora, chè non mi sembra a questo proposito privo d'interesse, come il Löw avrebbe ottenuto l'anidride amorfa conservando del latte per 8 anni a temperatura ordinaria.

(2) V. opera citata, particolarmente a pp. 194-195.

(3) Ber. 39 (1906), 552, e Mon. scient., 1906, 484.