

RE
A T T I
DELLA
REALE ACCADEMIA NAZIONALE
DEI LINCEI

ANNO CCCXVII.
1920

SERIE QUINTA

RENDICONTI

Classe di scienze fisiche, matematiche e naturali.

VOLUME XXIX.

2° SEMESTRE.



ROMA

TIPOGRAFIA DELLA R. ACCADEMIA NAZIONALE DEI LINCEI
PROPRIETÀ DEL DOTT. PIO BEFANI

1920

Ritengo che le differenze morfologiche, per le quali la *Sclerotinia* delle ghiande sembra scostarsi da quella delle castagne, siano da ascrivere ad una imperfetta conoscenza della prima, oltrechè all'estremo polimorfismo della specie, soprattutto nei suoi organi vegetativi. Comunque, spero di potere, mediante un accurato esame degli esemplari autoptici del Rehm, verificare la validità o meno di questo mio modo di vedere.

I risultati di tale indagine saranno, come spero, esposti in altro lavoro unitamente a quelli di ulteriori ricerche, già iniziate, sulla biologia e morfologia di questo interessante Eumicete.

Chimica fisiologica. — *Sui rapporti tra l'attività peptidolitica dell'erepsina intestinale e la costituzione chimica del substrato* ⁽¹⁾. Nota di A. CLEMENTI, presentata dal Corrisp. S. BAGLIONI.

La scoperta dei polipeptidi e dei metodi per prepararli per sintesi ha aperto la via allo studio dell'intimo meccanismo d'azione dei fermenti proteolitici, poichè permette di analizzare l'azione che questi possono esercitare su di un substrato, che a differenza delle proteine o dei peptoni, ha una costituzione chimica perfettamente nota e a cui si possono apportare modificazioni esattamente definite. Le poche notizie che possediamo circa l'azione dei fermenti proteolitici sui polipeptidi la cui molecola abbia subito modificazioni strutturali, si riferiscono fondamentalmente alla tripsina [Fischer e Abderhalden (1905) e Bergell (1904)]; circa l'azione della erepsina intestinale su corpi la cui molecola possiede solo alcune delle caratteristiche strutturali dei polipeptidi, le nostre conoscenze sono assai deficienti; dalle nostre precedenti ricerche risulta, che la molecola della glicilglicina non è idrolizzata dalla erepsina intestinale quando il suo gruppo aminico libero sia trasformato in gruppo guanidinico. La mancanza di altre notizie sull'argomento mi ha indotto a studiare l'attitudine della erepsina intestinale a idrolizzare alcuni corpi, che presentano dal punto di vista del problema qui enunciato uno speciale interesse mancando nella loro molecola il gruppo aminico libero ed essendo presente il legame a mo' di amide CO-NH caratteristico dei polipeptidi: i corpi che ho sottoposti alla analisi sono: la *colilglicina*, la *benzoilglicina*, la *bromisocapronilglicina*, la *glicilanidride*; il procedimento che ho adoperato differisce dai metodi adoperati in ricerche analoghe da altri autori; ho applicato il metodo della titolazione alla formaldeide di Schiff-Sorensen, che io per primo ho introdotto nello studio dell'azione dei fermenti peptolitici sui polipeptidi di sintesi, i cui vantaggi dal punto di vista quantitativo rispetto ai metodi di eterificazione e di estrazione usati preceden-

(¹) Lavoro eseguito nell'Istituto di Fisiologia della R. Università di Roma.

temente ho rilevato in altri lavori. L'erepsina adoperata era ricavata dalla mucosa intestinale di cane (tranne nelle esperienze sulla iocolilglicina in cui fu impiegata mucosa intestinale di maiale) seguendo le indicazioni date dal Cohnheim.

Circa l'azione dei fermenti proteolitici sulla colilglicina e sulla taurilglicina esistono pochissime notizie; Abderhalden e Koerker in proposito affermarono, che il problema della capacità della erepsina intestinale di scindere l'acido glicocolico e l'acido taurocolico rispettivamente in glicocollo o taurina e acido colalico è ancora insoluto. Nell'applicare il metodo della titolazione al formolo nelle mie ricerche mi sono fondato sul concetto che, la colilglicina reagisce come un corpo neutrale alla titolazione al formolo, mentre quando venga idrolizzata e venga messa in libertà la glicocollo dovrà necessariamente comportarsi come un acido monobasico (1).

Circa la scissione idrolitica dell'acido ippurico per azione di fermenti si hanno notizie contraddittorie. Schmiedeberg (1881) ammise l'esistenza di un fermento, che chiamò istozima, capace di idrolizzare l'acido ippurico; essa fu confermata da alcuni e negata da altri; secondo Nencki (1882) la tripsina pancreatica può scindere l'acido ippurico, mentre Gulewitsch (1889) negò questa tesi e Cohnheim negò che l'erepsina intestinale è capace di idrolizzare l'acido ippurico. Nessuna notizia esiste circa l'azione della erepsina sulla bromisocapronilglicina.

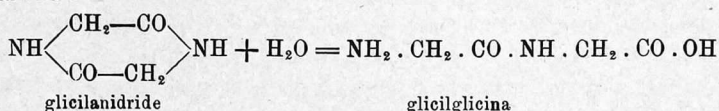
Alcuni dei dati assodati nelle nostre indagini sono visibile nella seguente tabella:

	QUANTITÀ della sostanza sottoposta all'azione dell'erepsina	DURATA dell'azione dell'erepsina	QUANTITÀ di NaOH 1/10 N adoperata per la titolazione al formolo
	mgr.	giorni	
Colilglicina	232	20	0,2
Id.	232	20	0,1
Iocolilglicina	232	20	0,2
Benzoilglicina	179	4	0,1
Id.	358	4	0,2
Ippurato di calcio + 1 cmc. NaOH 1/10 N . .	219	2	0,1
Ippurato di calcio + 2 cmc. NaOH 1/10 N . .	219	2	0,1
Ippurato di calcio	219	5	0,3
Bromisocapronilglicina	116	2	0,3
Id.	116	5	0,0
Id.	116	6	0,1

(1) In base al principio snespato ho elaborato un nuovo metodo di dosaggio degli acidi biliari nella bile (precipitazione dei proteici e titolazione al formolo dopo prolungata ebollizione con alcali); su questo nuovo metodo riferirò particolarmente in altro luogo.

In base alle mie esperienze credo di potere affermare che, nè la benzoilglicina, la quale normalmente non è presente nel tubo intestinale, nè la colilglicina, che normalmente con la bile si versa dal fegato nell'intestino, subiscono un'azione idrolizzante da parte della erepsina intestinale e che la bromisocapronilglicina, a differenza della leucilglicina è resistente all'azione idrolizzante dell'erepsina intestinale.

Circa l'azione dei fermenti proteolitici sulla glicilanidride non esiste fin'ora alcuna ricerca. Curtius e Fischer dimostrarono che per azione di acidi minerali o di alcali a temperatura ordinaria e a determinate concentrazioni può avvenire l'apertura dell'anello della glicilanidride, secondo la seguente equazione:



Io ho ricercato se l'erepsina intestinale può esercitare un'analogia azione sulla glicilanidride. Nelle nostre esperienze abbiamo rilevato, che soluzioni acquose di glicilanidride dopo uno o due giorni di permanenza in termostato a 37° in presenza di toluolo e senza aggiunta di idrato di sodio presentavano una piccola quantità di azoto aminico titolabile al formolo e che in presenza dell'erepsina intestinale la quantità di azoto aminico titolabile subiva un lieve aumento, che però non superava il raddoppiamento: crediamo quindi di dovere riferire tale lieve aumento di azoto aminico in seguito alla aggiunta di erepsina intestinale alla scissione della glicilglicina formatasi precedentemente piuttosto che alla formazione di nuova quantità di glicilglicina e a ritenere, che l'erepsina non è atta a determinare l'apertura (per lo meno rapida) dell'anello dichetopiperazinico della glicilanidride.

Questi risultati posti in relazione con il comportamento che presenta la guanidoglicilglicina rispetto all'erepsina, da noi illustrato in precedenti ricerche, contribuiscono a dimostrare, che la soppressione o l'assenza o la parziale sostituzione del gruppo aminico libero della molecola dei polipeptidi o di corpi affini può determinare una speciale resistenza da parte del legame CO-NH, presente nella loro molecola, a subire l'azione idrolizzante dell'erepsina; la conoscenza dell'azione dell'erepsina estesa al massimo numero possibile di derivati di polipeptidi permetterà di stabilire, se tale resistenza rappresenti un carattere speciale dei derivati di alcuni polipeptidi o se invece sia una caratteristica generale dei derivati di tutti i polipeptidi nel loro comportamento rispetto all'erepsina.

L'importanza del problema, che scaturisce dalle nostre ricerche, si comprenderà facilmente, quando si pensi ai rapporti che esso può avere col fenomeno della resistenza delle proteine genuine all'azione idrolizzante dell'erepsina intestinale.