



M. A. CHIBBARO

CONTRIBUTO ALLA CONO-
SCENZA DELLA COMPOSIZIONE
CHIMICA DELLA CICORIA (« CI-
CHORIUM INTYBUS »).

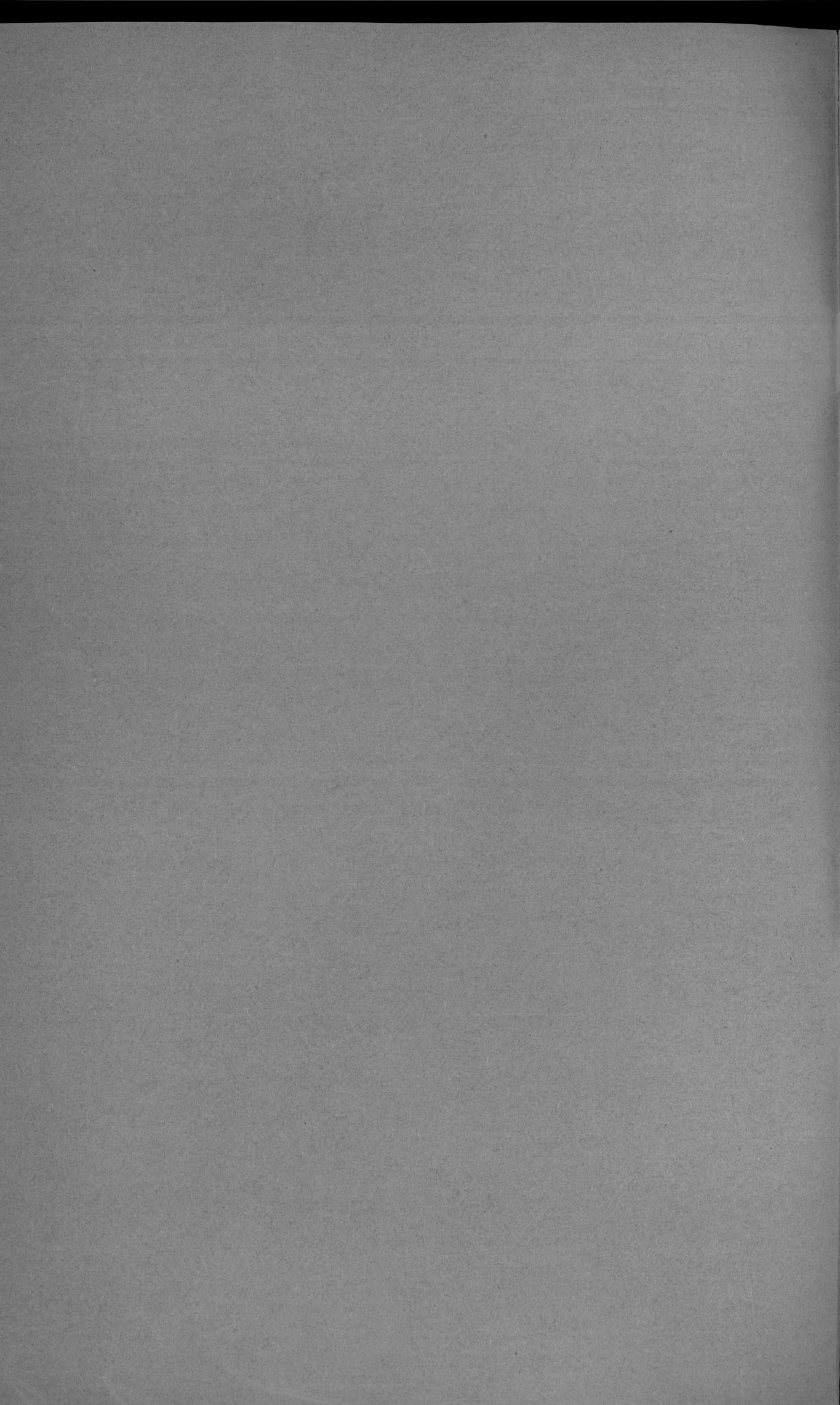
Estratto da
IL PROBLEMA ALIMENTARE
Anno I (Serie II), Fasc. II
Novembre-Dicembre 1937-XVI

ROMA - DITTA TIPOGRAFIA CUGGIANI
Via della Pace, 35 Telefono 51-311



Mer
B
55

108



CONTRIBUTO ALLA CONOSCENZA DELLA COMPOSIZIONE CHIMICA DELLA CICORIA (*CICHORIUM INTYBUS*)

Il *Cichorium Intybus* (il nome, da « in » e « tuba », è dovuto secondo il FORCELLINI [1] alla presenza di una cavità nello stelo delle foglie: « a caule in tubae speciem cavo ») appartiene alla Famiglia delle Compositae (sottofamiglia Liguliflorae) e si presenta sotto forma di una erba bienne con radici a fittone, fusto eretto con capolini sparsi di fiori ligulati azzurri, ma talora anche bianchi nella varietà alba; foglie cauline sessili, intere o dentate.

Greci, Romani ed Arabi [2] lo usarono come insalata o verdura, ma più specialmente ne apprezzarono le virtù terapeutiche [3], — da solo o in unione all'indivia e al tarassaco —, sotto forma di decotti, sciroppi, infusioni ecc., che figurano ancora ai nostri giorni in alcune Farmacopee [4].

Ad un esame accurato dei principali costituenti [5] del *Cichorium Intybus*, si rileva la presenza:

- 1) di un alto contenuto salino delle ceneri;
- 2) di notevoli quantità di idrati di carbonio quasi totalmente rappresentati da inulina;
- 3) di enzimi di varia natura;
- 4) di glucosidi.

Occorre premettere che la composizione del *Cichorium Intybus*, come quella di tutti i vegetali, è variabilissima e ciò in rapporto alle stagioni, alla latitudine, alla natura del terreno, alla concimazione e così via.

Le ceneri, in media, oscillano intorno al 5-7 % nelle radici secche, 1,42 % nelle foglie, 5,7 % nel seme, contro un contenuto acquoso, rispettivamente, del 12-13 % (talora anche 7-17 %) nelle radici secche, 79-80 % nelle radici fresche, 91 % nelle foglie.

Alla loro volta poi, le ceneri contengono:

NELLE RADICI	NELLE FOGLIE	NEL SEME
K ₂ O 38,5-47,7 %	29-30 $\frac{\%}{100}$ ma anche 11-60 $\frac{\%}{100}$	10-13 $\frac{\%}{100}$
Na ₂ O 16-19 »	8-16 $\frac{\%}{100}$ ma anche 4-28 $\frac{\%}{100}$	3-10,8 »
CaO 7,4-15,5 »	13-26 $\frac{\%}{100}$	27-36 »
MgO 2,6-6,5 »	6,5-12 »	10-11 »
Fe ₂ O ₃ 0,9-1,1 »	0,7-1,6 »	0,6-1 »
SO ₃ 5-7 $\frac{\%}{100}$	9-12 $\frac{\%}{100}$	38 $\frac{\%}{100}$
P ₂ O ₅ 4-13 »	5-6 »	29-31 »
Cl 5-11 »	7-18 »	0,7-1 »
SiO ₂ 0,8-1,5 »	5-7 »	0,8-1,3 »

Gli idrati di carbonio sono principalmente costituiti dall'inulina, che nelle foglie oscilla tra il 5 % e il 7 %, nelle radici fresche tra il 13 % e il 18 %, mentre nelle radici secche va dal 51 % al 72 %.

Questo polisaccaride, che per scissione dà luogo a fruttosio, è argomento di numerose ricerche, tendenti specialmente a stabilirne il modo di utilizzazione da parte dell'organismo e la importanza nel regime alimentare dei diabetici.

Per l'estrazione dell'inulina dalla pianta sono stati proposti vari metodi, tra i quali occorre ricordare quelli di KÖNIG, GRAFE e VOUCK, HOWARD, DANIL, KRAUS, PRANTI, FISCHER, GESLIN e WOLFF, SCHÖNE, JEWTOYEW, FERMANN, JUB WOLFF, ecc. [6].

Molto interessanti sono le conclusioni alle quali è arrivato COLIX [7], il quale, analizzando il contenuto di inulina delle diverse parti della pianta, ha potuto dimostrare che la sintesi di questo polisaccaride è compiuta lungo lo stelo e nelle radici, e non nelle foglie.

Nella pianta sono, inoltre, presenti: levulosio, saccarosio (1,53 %), zuccheri riducenti, inulide, mannani, levulina e celluloso (5-11 % nelle radici secche, 1,29 % nelle fresche), betaina lactucina, α - e β -lactuceroles, resine, caucciù ecc.

V. GRAFE [8], prendendo in esame la composizione del *Cichorium Intybus* in base alla diversa composizione del terreno, giunge alla conclusione che la quantità di inulina presente è in rapporto inverso allo stato di umidità del suolo, poichè si può constatare che un forte contenuto in acqua abbassa la percentuale d'inulina, mentre un certo stato di secchezza ne favorisce l'aumento, indipendentemente dalle oscillazioni che le percentuali medesime subiscono per la variazione del contenuto acquoso della pianta. Ciò sarebbe per l'A. una diretta dimostrazione di quel principio generale secondo il quale l'essiccamento favorisce i processi di condensazione e l'idratazione quelli d'idrolisi. La cellulosa sembra aumentare dal terreno argilloso a quello sabbioso e da questo a quello paludoso; e ciò ha pure un grande valore pratico, in quanto è proprio dalla cellulosa che, in seguito ai processi di arrostitimento per la preparazione del surrogato di caffè, derivano numerose sostanze importanti dal punto di vista fisiologico ed alimentare.

All'esame delle piante derivanti da uno stesso terreno, dell'embrione da una parte, delle radici dall'altra, emerge un certo parallelismo tra l'assunzione di sostanze minerali e la formazione di sostanze organiche, in quanto nei terreni ricchi di acqua diminuiscono l'inulina e la sostanza amara, ma aumenta la cellulosa; nei terreni asciutti avviene invece l'opposto. Nei terreni umidi l'assunzione di metalli alcalino-terrosi è fortemente diminuita, mentre il contenuto degli alcali nelle ceneri rimane pressochè costante.

È possibile, inoltre, secondo GRAFE, che calcio e magnesio partecipino ai processi di sintesi delle piante.

Notevole è la presenza di enzimi di varia natura fra i quali la diastasi, l'invertina, l'inulo-coagulasi [5] nelle radici, la laccasi nei fiori; quest'ultima avrebbe il compito di trasformare il pigmento azzurro in rosa, bianco e bruno [9].

I glucosidi presenti nella pianta sono due, e precisamente:

la cicoriina, che si trova nei fiori, e

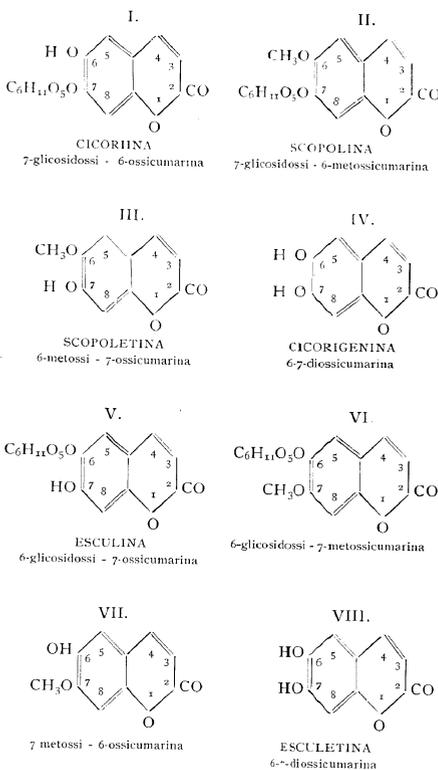
l'intibina, che è il principio amaro attivo

delle foglie e delle radici.

La cicoriina fu isolata per la prima volta nel 1876 da NIETZKI [10] dai fiori del *Cichorium Intybus*. L'A. potè stabilire che per scissione della sostanza si otteneva una genina (cicorigenina), avente per formula grezza $C_{20}H_{14}O_9$, e due molecole di glucosio. Pertanto, attribui al glucoside la formula $C_{32}H_{34}O_{18} \cdot 4 \frac{1}{2} H_2O$.

METZ [11], riprendendo in seguito le ricerche iniziate da NIETZKI, potè stabilire che la cicorigenina ha, invece, formula grezza $C_9H_6O_4$, fonde a $268-270^\circ$, e che per le sue proprietà nonchè quelle dei suoi derivati, deve essere strutturalmente considerata come un isomero della esculetina (6-7-diossicumarina). Alla cicoriina attribui, invece, la formula $C_{12}H_{10}O_9 \cdot 2H_2O$; essa per idrolisi si scinde dando una molecola di cicorigenina ed una molecola di glucosio, per cui a sua volta deve essere considerata come un isomero dell'esculina. Infatti, sottoponendo a metilazione la cicoriina, si ottiene un glicoside identico per le sue proprietà alla scopolina e tutti e due per idrolisi forniscono scopoletina (o 6-metossi - 7-ossicumarina). Sottoponendo a metilazione l'esculina, si ha, invece, un altro glicoside, isomero del primo, per idrolisi del quale si forma 7-metossi-6-ossicumarina. Entrambi gli eteri monometilici dell'esculetina sono conosciuti, strutturalmente accertati e perciò facilmente identificabili.

Gli schemi di struttura sarebbero:



Inoltre, se nella molecola della scopoletina si introduce un radicale glicosidico per mezzo di acetobromoglucosio, si ottiene, come ha dimostrato l'A., un composto che è identificabile sia con la scopolina come tale, sia col prodotto ottenuto metilando la cicoriina. Analogamente, fu sintetizzato l'etere metilico dell'esculina a partire dalla 7-metilesuletina.

Interessante è il fatto che la scopoletina e l'esculina sono fortemente fluorescenti, mentre non lo sono la cicoriina e la 7-metilesuletina. Secondo l'A. i derivati dell'esculetina, nei quali soltanto l'ossidrone in posizione 6 è costantemente bloccato, sono più fortemente fluorescenti dell'esculetina medesima, mentre tale proprietà scompare quando l'ossidrone eterificato si trova in posizione 7.

La cicoriina si estrae dai fiori di cicoria bollendo con alcool al 98%. La soluzione concen-

trata per ebollizione viene ripresa con acqua, filtrata, acidificata con acido acetico e depurata con acetato di piombo; il nuovo filtrato viene portato all'idrogeno solforato per eliminare l'eccesso di piombo e poi concentrato ulteriormente. Dal liquido così ottenuto si estrae la cicoriina agitando più volte in un separatore con etere.

Cristallizza in aghi fondenti a $213-215^{\circ}$, $[\alpha]_D^{25} = -104,5$ in soluzione al 50 % di dioxane. È solubile in acqua calda, alcool, acido acetico, leggermente solubile in acqua fredda, benzolo, cloroformio, etere acetico, insolubile in etere e acetato di piombo. Non riduce il nitrato di argento ammoniacale e poco il Fehling; la soluzione acquosa per aggiunta di acido nitrico al 10 % assume colorazione rosso arancio, che rimane inalterata per ulteriore aggiunta di ammoniaca. E, inoltre, solubile in alcool con colorazione gialla, in acido nitrico al 25 % con colorazione rosso cipolla, in acido solforico formando una soluzione incolore, e in acqua di cloro, ove dà colorazione rossa che scompare lentamente.

L'esculina fonde, invece, a $204-205^{\circ}$, $[\alpha]^{25} = -78,59$ in dioxane al 50 %. La soluzione acquosa per aggiunta di acido nitrico al 10 % si colora in giallo e per ulteriore aggiunta di ammoniaca in rosso sangue. La soluzione in acido solforico è incolore, quella in acido nitrico al 25 % di colore giallo, quella in acqua di cloro rossa, che sbiadisce molto celermente.

L'A. ha preparato anche la cicoriina sintetica a partire dai componenti, sospendendoli in alcool, saturando con ammoniaca gassosa e raffreddando con ghiaccio. Dopo 24 ore, per evaporazione nel vuoto, ottenne il glicoside, che purificò per cristallizzazione dall'alcool, dall'etere ed infine dall'acqua.

La cicoriina si trova nei fiori del *Cichorium Intybus* nel rapporto del 4 % circa.

Il secondo glicoside, contenuto esclusivamente nelle foglie e nelle radici, conferisce alla parte commestibile della pianta il caratteristico sapore amaro.

Isolato per la prima volta nel 1912 da SCHMIEDEBERG [12] che lo chiamò intibina, fu successivamente studiato da GRAFE [8], il quale descrisse a sua volta un metodo per l'estrazione e la purificazione del prodotto. Entrambi gli Sperimentatori usarono come materiale di ricerca le radici della varietà coltivata, che si presentano sotto forma di fittoni lunghi parecchi centimetri, semplici o bifidi, ricchi di vasi laticiferi corticali, di diametro variabile secondo la stagione e la na-

tura del terreno, amarissimi di sapore per l'alto contenuto di intibina e molto ricchi di inulina.

O. SCHMIEDEBERG ha dimostrato che il glicoside non contiene sostanze azotate; che agitando dopo riduzione dell'ossido di rame il liquido previamente acidificato con etere, rimane, dopo l'evaporazione di quest'ultimo una massa gelatinosa di color giallo sino al brunoastro, che non è più amara.

V. GRAFE, dopo aver idrolizzato con acido cloridrico diluito l'intibina e trattato con etere la soluzione acquosa, ottenne per evaporazione del solvente una sostanza in bei cristalli verdi che all'analisi alimentare riconobbe come aldeide protocatetica.

Di notevole importanza sono i risultati delle ultime ricerche compiute in merito dallo stesso Autore [15].

Esperimentando sul latte che si ricava dalle radici di cicoria, GRAFE ha potuto ottenere la sostanza amara ad un sufficiente grado di purezza per lo studio e la determinazione della grandezza molecolare e della formola di composizione.

Le radici fresche, lavate, decorticate e tagliate in piccolissimi pezzi, furono all'uopo sottoposte ad energica torchiatura; dal liquido raccolto, dopo precipitazione dell'inulina con barite e trattamento per tre giorni in una macchina agitatrice con etere di petrolio, fu estratta, secondo il metodo di GRAFE la sostanza amara, lavorando nel vuoto a non più di 50° per evitare che dal glicoside potesse separarsi il componente zuccherino. L'A. riuscì, così, ad isolare una sostanza quasi incolore, gelatinosa, che divenne solida per ripetute purificazioni, di sapore amaro intenso, persistente, fortemente igroscopica, la quale fu polverizzata e sottoposta all'analisi elementare.

Dai dati in merito raccolti l'A. poté dedurre che l'intibina è un glicoside dell'aldeide protocatetica (o di un suo polimero) con l'inulina (o un suo polimero), stabilire come formula molecolare $C_{21}N_{32}O_{16}$ o un suo multiplo e come peso molecolare 576-612. Questi due ultimi valori secondo l'A. sarebbero giustificati dal fatto che l'intibina estratta dal vegetale contiene più inulina di quella teoricamente calcolabile.

La sostanza disseccata a 100° e conservata per più giorni in essiccatore perde il sapore amaro e le reazioni dell'aldeide protocatetica. All'aria col tempo subisce un processo di idratazione che ne altera la formula chimica.

GRAFE crede, inoltre, che l'intibina non sia un escreteo, come per gli alcaloidi delle solanacee, ma

un componente essenziale della pianta durante tutta la vita di essa.

Secondo l'A. la sostanza amara scompare nel germoglio al primo giorno, ricompare al quattordicesimo in proporzione di 1:½ rispetto a quella del seme a riposo. La formazione dell'intibina, e cioè la sintesi tra aldeide protocatechica e inulina, o suoi prodotti di depolimerizzazione, sarebbe favorita nel germoglio da un quid azotato legato alla sostanza amara, non facilmente identificabile, il quale compare nell'embrione di 14 giorni. Questo quid azotato non sarebbe in rapporto con le sostanze proteiche poiché manca all'intibina ogni reazione caratteristica delle sostanze proteiche medesime; avrebbe, invece, forse relazione con l'azoto dei fosfatidi, il quale servirebbe per i processi di sintesi, mentre il fosforo di essi eserciterebbe piuttosto un'azione di trasporto. Così i fosfatidi parteciperebbero alla sintesi dell'intibina.

L'inulina nel seme a riposo è presente come sostanza bianca avente le proprietà caratteristiche note. Quando il seme germoglia darebbe origine a prodotti di scissione che si possono rilevare dapprima con le diverse colorazioni che assumono con lo jodio, e poi dalla loro capacità di ridurre gli ossidi metallici. A questi prodotti di scissione dell'inulina si legherebbe l'aldeide protocatechica: successivamente i fosfatidi, unendosi ai diversi OH liberi, opererebbero con i prodotti di scomposizione la sintesi della molecola dell'inulina e, contemporaneamente, per la presenza dell'aldeide, anche la sintesi della sostanza amara.

Proseguendo nella sua indagine sull'origine dell'intibina, GRAFE vide che piccole quantità di aldeide protocatechica agiscono inibitoriamente sull'accrescimento della cicoria, non esercitano, invece, nessuna azione sul metabolismo della sostanza amara, e che, usando dischi sterili di gelatina come terreno nutrizivo, in ambienti bene illuminati, la sostanza amara compare al quarto giorno in embrioni privi di cotiledoni, mentre in embrioni normali ciò avviene al 13-14° giorno.

Ulteriori esperimenti dell'A. furono rivolti alla possibilità di effettuare processi di sintesi tra agliconi differenti dall'aldeide protocatechica e i prodotti di scissione ottenuti dall'inulina. A tal uopo l'inulina estratta dalle radici di cicoria, parallelamente ad un campione di inulina Kahlbaum, fu dapprima trattata con inulasi da Aspergillus secondo il metodo di PRINGSHEIM; fu possibile, così, rilevare che l'inulina da cicoria fornisce fruttosio solo in misura del 10%, mentre il resto rimane sotto forma di residuo non idro-

lizzabile. Per operare i processi di condensazione fu fatto uso dei raggi filtrati dalla lampada u. v.

Usando in tali condizioni l'aldeide protocatechica l'A. non riuscì ad avere alcun prodotto di condensazione nonostante le numerose variazioni dell'intensità della luce e l'uso di ambienti a reazioni acida o alcalina. L'A. interpreta questo risultato come conseguenza della fotossidabilità della sostanza amara.

I prodotti di scissione dell'inulina furono adoperati nell'opinione che potessero aversi così sostanze più labili, capaci di condensarsi con l'aldeide protocatechica o con altre aldeidi a formare un qualche tipo di sostanza amara.

Con benzofenone l'A. ebbe un prodotto di condensazione che aveva un certo sapore amaro ma meno intenso dell'intibina; con aldeide benzoica, in presenza di $ZnCl_2$ ebbe invece un prodotto di sapore fortemente amaro e che, a differenza del precedente, dava le reazioni dell'aldeide protocatechica.

Irradiando con lampada di quarzo di 2000 candele per la durata di pochi minuti la sostanza amara, specialmente in presenza di H_2O_2 e di formaldeide, osservò una forte luminescenza verde e tumultuosa reazione con schiuma. Dal liquido, che si presentava come una massa sciropposa amara, non riuscì a far cristallizzare alcuna sostanza. Per ebollizione prolungata con acidi diluiti si accentuò la reazione con Fehling, e dopo scomparsa del sapore amaro poté isolare dal liquido il componente non zuccherino, che risultò essere un derivato furanico e non un'aldeide aromatica del gruppo protocatechico, come si aveva facendo agire l'acido sulla sostanza non irradiata. Il derivato furanico sarebbe più propriamente un acetale dell' ω — ossimetilfurfurolo con formaldeide, la quale probabilmente doveva essersi unita alla molecola durante la fotolisi.

Analoga trasformazione del componente agliconico della sostanza amara si provocherebbe durante l'arrostimento delle radici di cicoria tra i cui prodotti finali si trova l'anidroossimetilfurfurolo [16] formatosi evidentemente per disidratazione dell' ω — ossimetilfurfurolo.

Il rendimento in intibina delle radici di cicoria varia in rapporto con le numerose varietà, tra le quali sono specialmente note: il sanguigno di Treviso, lo zuccherino di Trieste, la cicoria di Taranto, di Bruxelles, di Magdeburgo, di Brunsweck ecc. [13]. È parimenti nota ed usata fin dalle epoche più remote una varietà di cicoria detta per la sua natura selvatica (*Chicorée sauvage*, *Wegwart* ecc.) che cresce spontaneamente,

di preferenza nei luoghi montani, e perciò in alcune regioni italiane chiamata anche cicoria di montagna.

È una pianta con radice molto piccola, rotondeggiante, talora striata di rosso, con fusto e foglie poco allungate, di sapore moderatamente amaro, specialmente usata come verdura nell'Italia Centrale e Meridionale, dove la forma coltivata è invece scarsamente conosciuta.

RICERCHE PERSONALI.

Le presenti ricerche hanno avuto lo scopo di iniziare lo studio sulla composizione chimica della varietà di cicoria detta selvatica.

Le analisi sono state eseguite su campioni originari dell'Agro romano, dove tale varietà è usata comunemente come alimento.

Per la ricerca dell'intibina sono stati seguiti tanto il metodo di GRAFE che quello di SCHMIEDEBERG, ma si è data la preferenza a quest'ultimo per la sua maggiore semplicità e per la possibilità di operare più celermente.

Inoltre, poichè si è dovuto far uso di tutta la pianta, invece che delle sole radici, è stato necessario apportare qualche leggera modifica, specialmente per quanto riguarda la parte relativa alla preparazione del materiale di studio.

Estrazioni dell'intibina secondo il metodo di SCHMIEDEBERG. — GRAFE e SCHMIEDEBERG, come si è detto, hanno compiuto le loro ricerche sulle radici di cicoria, le quali finissimamente triturate costituiscono una materia prima di volume relativamente piccolo, mentre, a parità di peso, la pianta intera occupa un volume maggiore. Pertanto, onde evitare il formarsi di enormi quantità di soluzioni, si è dovuto procedere all'essiccamento del materiale in esame, tenendo presente che questo non poteva farsi a temperatura superiore ai 30°, senza compromettere la stabilità del glucoside. Le varie pianticine furono, perciò, disposte per un primo essiccamento su ampie superfici in ambienti aereati, dopo di che a mezzo di una mola furono finemente triturate, e la polvere così ottenuta fu posta in essiccatore a cloruro di calce, e tenuta fino a costanza di peso. In seguito, una quantità nota di detta polvere venne posta in un ampio recipiente di vetro chiuso con tappo smerigliato e trattata con una soluzione idroalcolica al 25-30%. Dopo avere agitato accuratamente e lasciato in riposo per 24 ore fu decantato il liquido giallo-verdastro torbido formatosi e la poltiglia

trattata con una nuova quantità di soluzione idroalcolica. Dopo altre 24 ore il nuovo liquido fu filtrato attraverso uno strato di garza, e unito a quello del giorno precedente, mentre la massa poltigliosa rimasta fu ripetutamente lavata con acqua contenente alcool al 25% e spremuta.

Il liquido filtrato, la cui reazione era nettamente acida, venne liberato dalle sostanze proteiche per aggiunta di acetato basico di piombo in leggero eccesso. Il voluminoso precipitato verde-giallastro, che si forma all'istante, fu separato per filtrazione e lavato con altra soluzione idroalcolica al 25-30%.

In seguito nel filtrato fu eliminato l'eccesso di piombo, nonchè completata la precipitazione delle sostanze proteiche a mezzo della miscela di fosfato di sodio (soluzione al 10%) e solfato di sodio (soluzione satura), aggiunta a goccia a goccia fino a precipitazione totale. (SCHMIEDEBERG precipita invece il piombo con acido solforico, ma si è data la preferenza alla miscela salina perchè l'ambiente acido e l'innalzamento di temperatura, potrebbero favorire l'idrolisi del glicoside).

Svaporato l'alcool, la soluzione fu quindi concentrata nel vuoto. L'A. a questo punto consiglia di far passare una corrente di aria sulla soluzione ridotta in strato sottile, ma ciò, nelle presenti ricerche avrebbe richiesto l'uso di recipienti relativamente ampi, dato il volume della soluzione, il che non è molto favorevole all'esattezza del dosaggio. Inoltre il tempo necessario per concentrare la soluzione — ricca di idrati di carbonio — sarebbe stato troppo lungo per escludere ogni processo di fermentazione. D'altro canto si doveva evitare nel modo più assoluto la evaporazione a b. m. perchè il liquido per il suo contenuto in levulosio diviene profondamente bruno e il glicoside si altera.

Dal liquido così concentrato si estrae, infine, l'intibina agitando tutto in un separatore con etere acetico; questo viene poi lavato con acqua e il solvente evaporato anche nel vuoto.

Il prodotto ottenuto non è tuttavia puro. Secondo SCHMIEDEBERG [12] quello proveniente da radici di cicoria è sempre accompagnato da una sostanza gelatinosa, insolubile in acqua, di sapore non amaro; per purificarlo si scioglie in soluzione idroalcolica, filtrando, ove necessiti, e si ripete l'estrazione con etere acetico. Dopo evaporazione di quest'ultimo si ottiene una massa gelatinosa di un giallo molto più chiaro con la quale è possibile procedere alle ulteriori ricerche chimiche e all'analisi elementare.

Dalla pianta totale della cicoria selvatica si ottiene, invece, dopo purificazione, un prodotto ancora più o meno colorato in giallo paglierino, talora tendente anche al giallo bruno, di aspetto gelatinoso, che ha come caratteristica quella di assorbire la luce di determinata lunghezza d'onda e precisamente la stessa ($328m\mu$) assorbita dalle carotine. Le prove di accertamento sono state eseguite col metodo spettrofotometrico al vitmetro di ADAM HILGER.

Ad evitare, pertanto, nei limiti possibili, l'inesatta valutazione quantitativa del glucoside lo si è trattato più volte con etere di petrolio (nel quale l'intibina è insolubile), e ciò allo scopo di asportare le impurezze che si manifestano attive nel fenomeno di assorbimento della luce, realizzando una maggiore, per quanto non completa, purificazione del prodotto.

Estrazione dell'intibina secondo il metodo di GRAFE. — Una quantità nota della polvere preparata con il medesimo procedimento del metodo precedente, viene a lungo trattata in Soxhlet con una miscela di etere ed etere di petrolio nella quale l'intibina è insolubile. La sostanza polverulenta privata dei solventi a temperatura ordinaria, è posta in un pallone con alcool a 90° al quale si aggiunge acido acetico fino a reazione acida e riscaldata per breve tempo con refrigerante a ricadere. Allo scopo di mantenere un ambiente privo di ossigeno si fa passare nell'apparecchio una corrente di azoto a mezzo di un capillare, attivandone la velocità con una leggera aspirazione alla pompa.

La temperatura durante questa operazione non deve oltrepassare i $20-25^\circ$.

Si evapora, in seguito, la maggior parte dell'alcool nel vuoto e lo sciroppo debolmente giallo così ottenuto viene ripreso con acqua, agitando, e trattato per più ore con etere in un separatore.

L'estratto acquoso contiene ora tutta la sostanza amara. Si agita infine il liquido con carbone animale già debolmente arroventato; da questo poi si libera l'intibina per ebollizione nel vuoto con alcool etilico, che alla fine viene a sua volta evaporato. Per la depurazione si ripete più volte il trattamento con carbone animale ed alcool.

L'apprezzamento quantitativo del glucoside si fa per pesata.

* * *

Il glucoside così estratto e purificato si presenta sotto forma di una massa amorfa, vitrea, più o meno colorata in giallo a seconda del suo grado

di purezza, di odore empireumatico caratteristico, di sapore fortemente amaro. È solubile in alcool al 25-30 %, in etere acetico e in quasi tutti i comuni solventi organici, eccezione fatta per l'etere solforico e l'etere di petrolio; imbrunisce fortemente in soluzione con alcali. È anche insolubile in Na_2CO_3 .

La soluzione d'intibina stratificata su di una soluzione alcalina di ossido di rame (Fehling), la riduce a temperatura ordinaria; tale comportamento è presentato anche dalle soluzioni alcaline del glicoside, il che avvalorava l'ipotesi che la parte riducente scindibile dagli alcali sia il levulosio.

Idrolizzando prima l'intibina per ebollizione di alcuni cc. di una sua soluzione con acido cloridrico diluito, si ha nelle medesime condizioni una riduzione dell'ossido di rame molto più appariscente nei confronti di una stessa quantità di soluzione campione non idrolizzata.

Il prodotto dell'idrolisi:

1) stratificato su H_2SO_4 concentrato e addizionato di alcune gocce di soluzione alcoolica di α -naftolo, dà colorazione violetta;

2) trattato in un separatore con etere e ripreso l'estratto eterico precedentemente portato a secchezza con alcuni cc. di acqua, dà con acetato di piombo precipitato bianco (reazione caratteristica dell'ossido di diossibenzene); con FeCl_3 colorazione verde che tende al viola per aggiunta di un cristallino di acetato sodico (reazione caratteristica degli ossidi di diossicomposti aromatici).

La soluzione acquosa con fenilidrazina dà un osazone il cui punto di fusione è 205° .

La presenza del fruttosio viene confermata trattando la soluzione di intibina con alcuni cc. del seguente reattivo [14]: gr. 12 di glicocolle sciolte in acqua calda vengono lentamente addizionati a gr. 6 di idrato di rame e scaldati a b. m. per 15 minuti circa. Dopo raffreddamento a 60° si aggiungono gr. 50 di K_2CO_3 , si porta con acqua a un litro e si filtra. Questo reattivo dà i noti fenomeni di ossido-riduzione soltanto con il fruttosio a t. o., mentre per gli altri zuccheri occorre oltrepassare la temperatura di 40° .

Pertanto, un campione contenente una soluzione di glucosio dopo 4 ore rimase perfettamente limpido e omogeneo; contemporaneamente un campione di fruttosio nelle stesse condizioni e nello stesso intervallo di tempo fornì un abbondante precipitato di ossidulo; mentre in quello contenente la soluzione di intibina si ebbe solo una moderata riduzione.

Dai risultati delle prime ricerche analitiche eseguite è emerso che la cicoria selvatica del Lazio contiene intibina in proporzione dal 0,06 % al 0,1 % della sostanza secca. Poichè il contenuto acquoso medio è dell'87,9 %, il contenuto in glicoside varia da 0,007 % a 0,012 % di pianta fresca. Tali risultati possono tuttavia ritenersi passibili di ulteriori oscillazioni, sia per la variabilità di composizione in merito alla forma di coltura, origine, stagioni, ecc., sia per la già descritta presenza di carotinoidi che inquinano la purezza del glicoside determinato per pesata.

Nelle radici di cicoria esaminate da SCHMIEDEBERG il contenuto in intibina era del 0,091 %, in quelle esaminate da GRAFE variava da 0,012 a 0,2 % della sostanza secca.

Riassumendo, in base alle citate ricerche di SCHMIEDEBERG e di GRAFE e a quelle preliminari riferite nella presente nota, si può affermare che in diverse qualità di cicoria sono contenuti due glicosidi: la cicoriina, che è presente esclusivamente nei fiori e ha rapporti con gli altri componenti non ancora definiti; l'intibina, principio amaro contenuto in proporzioni differenti in tutta la pianta, ad eccezione, sembra, dei fiori. L'intibina è certamente un glicoside del fruttosio (o di un suo polimero) che ha come aglicone l'aldeide protocatechica (o un suo polimero). Questo glicoside è presente anche nella varietà selvatica della cicoria del Lazio, dalla quale è difficilmente estraibile allo stato di purezza a causa della sua termolabilità e della contemporanea presenza di carotinoidi.

RIASSUNTO. — L'A., nelle sue ricerche personali, si è proposto di esaminare il contenuto in intibina del *Cichorium Intybus* e specialmente della varietà selvatica del Lazio. Da questa ricerca ha isolato e dosato il glicoside, principio attivo amaro, delle radici e delle foglie secondo i metodi consigliati da O. SCHMIEDEBERG e da V. GRAFE.

Dal Laboratorio di Biologia dell'Istituto di Sanità Pubblica.

LETTERATURA

- [1] FORCELLINI, *Lexicon totius latinitalis*, t. III, pag. 601.
- [2] WEHMER, *Die Pflanzenstoffe* (Phanerogamen), vol. II, 1269-70 (1931).
- Dissertatio medica prior de Cichorio, quam preside Dn. Elia Camerario publica ventilatione subiecit Hölderlin*, Tubingae 1690.
- Theophrasti opera*. Edit. Wimmer, Leipzig, Teubner 1854, t. I, hist. VII; t. I, VII, 6, I; VII, 7, I.
- ZORNIG, *Arzneidrogen*, I, 495 e II, 452, 1909.
- Dioscoridis materia medica*, edit. K. Sprengel, t. I, 275, libro II, cap. CLIX, vol. XXV.
- GALENUS, *De simplicium medicamentorum temperamentis et facultatibus*, liber VIII, cap. XVIII, 7. Edit. Kühn, vol. XII, pag. 119, 1826.

- ERN BAITHAR, *Grosse Zusammenstellung über die Kräfte der bekannten einfachen Heil- und nahrungsmittel. Aus dem Arabischen übersetzt von Dr. J. V. Sontheimer*, 2 Bd. S. 575. Stuttgart, 1842.
- MAYER E., *Geschichte der Botanik*, 3 Bd. S. 397, 405, 499. Königsberg, 1856.
- DALECHAMPS M. JACQUES, *Histoire général des plantes*, t. I, pag. 469, Lyon, 1615.
- TSCHIRCH V., *Handbuch Pharmakognosie*, vol. I, pag. 65-67-102-464-488-547-560, 1912.
- [3] CAMERARIUS e HÖLDERLIN, *Dissertatio medica posterior de Cichorio*, Tubingae, 1691.
- Neu-Volkommenes Kräuter-Buch*, cap. 54, 229. Basel, 1678.
- DALECHAMPS M. JACQUES (v. 2).
- KÖNIG EMANUEL, *Regnum vegetabile*, Sectio IV de Facultatibus seu Viribus Materiae Medicae Vegetabilis in specie, 788, Basel, 1708.
- Real Enzyklopädie der Gesanten Pharmazie*, 1904, III, 799-712, I, 517.
- DORVAULT, *L'office ou Répertoire général de pharmacie pratique*, pagg. 1353-772-1328-775, 1928.
- DIETERICH E., *Neues pharmazeutisches Manual*, 468, 1904.
- ARENDS LENZ, *Handbuch der pharmazeutisches Praxis*, 637, 1908.
- ZUNZ EDGARD, *Elements de pharmacodynamie speciale*, II, 756-757, 1932.
- TSCHIRCH V. (v. 2).
- SCHMIEDEBERG O., *Pharmakologie*, 109, 1909.
- SOULIER E., *Trattato di terapeutica e farmacologia*, vol. II, 226.
- [4] *Pharmacopée française*, 1920.
- Pharmacopoea belgica*, ediz. III, 1906.
- Medicamenta*, II, pag. 1670, 1933.
- GAGLIO G., *Farmacologia e terapeutica*, 1926.
- INVERNI C. B., *Piante medicinali e loro estratti in terapia*.
- [5] BALLAND A., *Les aliments*, II, 46-47, 1907.
- TATLOCK e THOMSEN, « J. Soc. Chem. Ind. », 23, 138, 1910.
- KRAUTH C., « Ber. », II, 277, 1878.
- MAYER A., « Bied. Central. », 828, 1885.
- HUEPPE F., *Untersuchungen über die Zichorie*, Besondere Schrift-Berlin 1908, Verlag von Aug.
- HIRSCHWALD, *Nach Zeitschr. f. Untersuchung d. Nahrungs u. Genussmittel 1909*, 81, 618.
- BÖMER A., JNCKENACK A., TILLMANS J., *Handbuch der Lebensmittelchemie*, VI, 69.
- BETTER A., *Kaffee. Ersatzstoffe*, Stuttgart, J. Hoffmann, 1918.
- WOLFF, *Real Enzyklopedie* (v. 3), II, 329.
- KÖNIG, IV Aufl. von Bömer, 1903.
- Real Enzyklopedie* (v. 3), VII, 213.
- KÖNIG, *Hagers Handbuch der Pharmazeutischen Praxis*, vol. I, 920.
- WEHMER (v. [2]).
- SIRÓF MAURICE e JORET G., « Ann. des Falsifications », 9, 48, 64 (C. C.), 1916, II, 836.

- HODGSON, « The analyst », 38, 454, 55 (C. C. 1913, II, 1766).
- WILLIAMS, « Journ. of Ind. and Engin. Chem. », 5, 653, 56 (C. C. 1913, II, 1422).
- LAPICERILLA L., « Stazione Sperimentale Italiana », 46, 675, 723 (C. C. 1914, I, 411).
- LA WALL e FORMAN, « Amer. Journ. Pharm. », 85, 535, 38, dicembre 1913 (C. C. I, 297, 1914).
- OLSCHOWY J., « Sulla coltivazione della cicoria e sua lucrabilità », Graz, 1912.
- SCHULZE e TRIER, « Ztschr. f. physiol. Chem. », 79, 235, 42, 17-6 (C. C. I, 933, 1912).
- WOLFF J., « Compt. Rend. », 1916, 162, 514 (C. C. II, 148, 1916).
- WOLFF e GESLIN, « Compt. Rend. », 1917, 165, 651 (C. C. I, 275, 1918), 1918, 166, 428 (C. C. 1918, II, 36).
- WOLFF J., « Z. Unters. Nahrungs - u. Genussm. », 3, 593, 1900.
- SCHULZE E., « Ber. Chem. - Ges. », 29, 352, 1896.
- [6] KÖNIG J., « *Chemie des Menschlichen Nahrungs - und Genussmittel*, IV, pag. 314, 315.
- GRAFE e VOUK, « Biochem. Ztschr. », 1912, 47, 320 (C. C. I, 440, 1913; II, 1669, 1912).
- « Biochem. Ztschr. », 1913, 56, 249 (C. C. II, 2143, 1913).
- HOWARD, PAINE S., RALPH M. KINGSBURY e HELIAS YANOWAKY, « Amerikanisches Patent », 1971, 871 del 10-8-1932 (C. C. I, 476, 1935).
- DANIEL A. e BRUTHER A., « *Ricerca sull'inulina nella cicoria*, « Dtsch. Zuckerind », 45, 51, 52, 23/I (C. C. IV, 415, 1920).
- KRAUS G., « *La comparsa dell'inulina nelle composite*, « Botan. Ztg. », 35, 1877.
- PRANTL K., « *L'inulina*, München, 1870.
- FISCHER H., « *Über Inulin - Beiträge z. Biol. d. Pflanzen*, 8, 1902.
- WOLFF J. e GESLIN B., « C. R. de l'Acad. des Scien. », 165, 651, 53, 5-11-1917 (C. C. II, 36, 1918).
- WOLFF J., « Ztschr. f. Untersuchung d. Nahrung Genussmittel », 3, 255, u. 593, 1900.
- [7] COLIN H., « Bericht d. Kgl. Gärtnerlehranstalt zu Dahlem f. 1908-1909 », S. 160.
- [8] GRAFE V., « *Untersuchungen über die Zichorie*, « Biochem. Zeitschr. », LXVIII, 1915 (C. C. I, 684, 1915).
- [9] KASTLE e HADEN, « Amer. Chem. Journ. », 1911, 46, 315 (C. C. II, 1887, 1911).
- [10] NIETZKI, « Arch. pharm. », 208, 327, 1876.
- [11] MERZ K. W., « *Sulla cicorina e la costituzione dell'Esculina e scopolina*, « Arch. Pharmaz. Ber. dtsh. pharmaz. Ges. », 270, 476, 94, nov. 1932 (C. C. II, 3705, 1933).
- [12] SCHMIEDEBERG, « Arch. f. Hygiene », 76, 210, 1912.
- [13] « *Enciclopedia Italiana Treccani*, vol. X (1931), 219-20. *Dizionario Pratico di Agricoltura*, 197-98, 1930.
- [14] MOLINARI, « *Chimica organica*, vol. II, pag. II, 800.
- [15] GRAFE V., « *Beiträge zur Biologie der Pflanzen*, vol. XXIII, III e vol. XXIV, II, 1935.
- [16] REICHSTEIN T. e BEITTER H., « Ber. d. d. chem. Ges. », 63, 816, 1930.



