

Genesi degli acidi organici delle piante verdi dall'ossimetilene (*)

Fra i prodotti dell'assimilazione delle piante verdi, gli acidi organici hanno già da lunghissimo tempo attirato l'attenzione degli studiosi, prima ancora che dell'assimilazione stessa si possedessero delle conoscenze sicure e dei concetti ben chiari. Il loro studio, seppure limitato da principio all'isolamento di essi dalle piante superiori, ed ai loro caratteri, ha una storia più che secolare, giacché rimonta al 1769 la preparazione di SCHEELE dell'acido tartarico, e risalgono al 1776 i primi studi di SCHEELE e BERGMAN sull'acido ossalico, al 1781-85 la preparazione dell'acido citrico e dell'acido malico dello stesso SCHEELE, mentre più tardi altri geniali ricercatori, LIEBIG, BOUSSINGAULT, PASTEUR, portavano nuovi contributi alla conoscenza di questi interessanti prodotti del regno vegetale.

Ma non era a quel tempo possibile formarsi una chiara idea del significato fisiologico di quegli acidi, la cui lista si andava peraltro accrescendo di nuovi termini, l'acido fumarico (1832), l'acido succinico (1846), l'acido glicolico (1851), l'acido glicosilico (1856); dovea la fisiologia vegetale, allora bambina, svilupparsi, di pari passo con la chimica, in una vera e propria scienza, acquistando soprattutto solide conoscenze nel campo così poco esplorato degli enzimi, perché si potessero affrontare i complessi problemi relativi al metabolismo, al quale difatti gli acidi vegetali fin d'allora mostravano di prendere una parte tanto importante quanto oscura.

1. - Gli acidi vegetali come metaboliti nel ricambio dei carbo-idrati e dei protidi.

Senza indugiarsi nella lunga storia delle supposizioni che sono state fatte, in un passato ormai lontano, sulla genesi e sull'ufficio fisiologico dei più frequenti acidi vegetali, diciamo subito, che uno dei più interessanti risultati raggiunti modernamente, nelle ricerche impostate dal punto di vista biochimico, è senza dubbio, da un canto, la relazione genetica che emerge da esse per taluni termini della serie, dall'altro, la connessione che si stabilisce per loro tramite fra il metabolismo degli idrati di carbonio e la sintesi delle proteine.

Gli acidi bi- e tri-carbossilici, che si accumulano spesso in così notevole quantità nelle foglie e nei frutti delle piante superiori, non possono più considerarsi oggi, alla

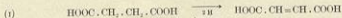
(*) Presentato al VI Congresso Nazionale di Chimica - XXIII Congrès de Chimie Industrielle Milano 17-23 settembre 1956.

luce delle recenti acquisizioni, come semplici prodotti finali del metabolismo, ma vanno invece riguardati come metaboliti intermedi in un certo numero di processi, non soltanto catabolici, ma anche anabolici.

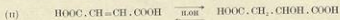
Le interessanti conclusioni alle quali hanno condotto le indagini fatte modernamente sul metabolismo dei carbo-idrati nell'organismo animale, in particolare quelle sul glicogeno del fegato e sulla degradazione del lattacido nel muscolo, si sono mostrate infatti suscettibili di proficua estensione anche al metabolismo dei carbo-idrati nell'organismo delle piante verdi, e così quelle connessioni venute in luce nell'organismo animale per diversi acidi, e che hanno trovato suggestiva espressione nel cosiddetto « ciclo di Krebs », son oggi da ritenersi valide anche per il metabolismo degli idrati di carbonio nelle piante superiori, essendosi identificati in molte specie, e finanche nelle alghe, quegli acidi che appunto caratterizzano nell'organismo il ciclo di Krebs; l'acido ossalico, l'acido malico, l'acido succinico, l'acido citrico, l'acido asottico, l'acido tartarico, l'acido fumarico, l'acido ossalico-acetico, l'acido α -chetoglutarico.

E se nelle piante quella catena di reazioni è realmente operativa, come affermato da CHIBBALL (*), è senz'altro manifesta la possibilità di collegare con la respirazione la sintesi proteica, giacché da taluni prodotti della respirazione dei carbo-idrati — α -chetoglutarati ed ossalico-acetati — si può facilmente pervenire all'acido glutamico ed all'acido aspartico, importanti materiali di partenza per la sintesi delle proteine.

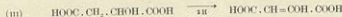
Questi interessanti risultati si sono potuti conseguire solo in grazia dei notevolissimi progressi realizzati modernamente nel campo degli enzimi, in particolare dacché nelle cellule animali, come nei batterii e nel lievito, si è dimostrata la presenza di enzimi che catalizzano l'ossidazione-riduzione. L'intervento di enzimi simili nel metabolismo degli acidi bicarbossilici a C_4 e tricarbossilici a C_5 rende infatti ben chiaro conto della interconversione di alcuni di essi; così, la relazione acido succinico-acido fumarico, secondo lo schema:



è controllata dalla *deidrogenasi succinica*, allo stesso modo come la *fumarasi* governa il processo reversibile di idratazione e disidratazione nella coppia acido fumarico-acido malico, secondo lo schema:



Ma una nuova interessante relazione si stabilisce per l'acido malico con l'intervento di un altro enzima, la *deidrogenasi malica*, la quale, con la collaborazione di un coenzima, stabilisce un rapporto di reversibilità nella coppia acido malico-acido ossalico-acetico, secondo lo schema:

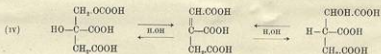


(*) « Protein Metabolism in the Plants », Yale Univ. Press, New Haven (1939).

A sua volta, l'acido ossalil-acetico è stato di recente decarbossilato per via enzimatica in acido piruvico, ed anche questa reazione è di particolare importanza appunto per la sua reversibilità, in considerazione della quale WOOD e WERKMANN (2) hanno affermato la possibilità di sintetizzare acidi bicarbossilici a C₄ da composti a C₃ (probabilmente acido piruvico, od un suo fosfo-derivato) ed anidride carbonica, assorbita questa dall'esterno, o proveniente da qualche reazione metabolica parallela.

Non meno interessante appare l'intervento di enzimi nel metabolismo degli acidi a C₄ della famiglia dell'acido citrico. Nei semi del coconero, WAGNER-JAUREGG e RAUCS (3) hanno di recente dimostrato la presenza di una *deidrogenasi citrica*, una miscela di enzimi, la quale ossida l'acido citrico, assorbendo ossigeno e liberando anidride carbonica; con pari rapidità viene pure ossidato l'acido iso-citrico, e benché i prodotti di ossidazione dell'acido citrico in alcuni organi di piante superiori, come nelle muffe, non siano stati identificati, sembra per lo meno verosimile che possa trattarsi di acido α-cheto-glutarico, dappochè, nel caso del tessuto del fegato, l'inibizione differenziale con arsenito dell'enzima che decompone l'acido α-cheto-glutarico ha permesso di preservare questo prodotto, e di caratterizzarlo a mezzo del suo 2.4-dinitro-fenilidrazione, una volta che, sottratto all'azione enzimatica, esso ha potuto accumularsi nel tessuto.

Al pari dell'acido citrico, anche l'acido isocitrico viene ossidato da una *deidrogenasi* (iso-citrica), che nei tessuti animali converte l'acido isocitrico in acido α-cheto-glutarico, mentre una relazione fra l'acido citrico e l'acido isocitrico può stabilirsi attraverso l'acido aconitico, ad opera di un altro enzima, l'*aconitasi*, riscontrata nel frumento, nella segala, nei semi di soia, e che difatti governa l'equilibrio rappresentato dal seguente schema:



2. - L'importanza della serie glicolica per la sintesi degli acidi vegetali.

Come è già manifestato da questi sian pur brevi cenni, una stretta relazione si è chiarita fra i quattro acidi a C₄, succinico, fumarico, malico, ossalil-acetico, e non solo in quanto siano trasformabili enzimaticamente l'uno nell'altro, ma ancora per il rapporto che ciascuno di essi viene ad avere, anche per tal fatto, con l'acido citrico. D'altra parte, una nuova relazione con gli amino-acidi interessati nella sintesi proteica viene a stabilirsi per ciò, che dall'acido ossalil-acetico, oltre che all'acido aspartico a C₄, si può pure pervenire all'alanina a C₃, se da esso — per decarbossilazione enzimatica — si genera l'acido piruvico, e da questo, per riduzione, l'ossi-acido corrispondente all'alanina, etiliden-lattico.

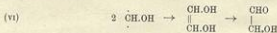
(2) Adv. in Enzymology, 2, 135 (1942).

(3) Cfr. M. THOMAS, Plant Physiology, pag. 45, London (1947); Adv. in Enzymology, 3, 191 (1945).

biossileo ancora più semplice del piruvico, e cioè, piuttosto che al cheto-acido a C₃, ad un ossi-acido con due soli atomi di carbonio, il quale non potrebbe essere naturalmente che l'acido glicolico.

Una possibilità simile, che noi, sappiamo, non è stata finora presa in considerazione, come non sembra del resto che all'acido glicolico, pur da un secolo circa (1856) riscontrato nel regno vegetale, sia stata attribuita, anche da altri punti di vista parimenti biochimici, quell'importanza di prodotto-chiave che viene concordemente riconosciuta all'acido piruvico. Eppure, un'importanza simile può trovarsi giustificata non soltanto dal suo stato naturale, ma ancora dagli stretti rapporti con altri acidi organici a C₂, pure assai diffusi nel regno vegetale, che ne rappresentano i prodotti di ossidazione, l'acido gliossilico e l'acido ossalico, che sovente si accompagnano ad esso, nonché dalla sua relazione col più semplice ammino-acido, la glicina, come col suo prodotto di riduzione, l'aldeide glicolica, che è già il più semplice glucide, alla cui formazione nel processo assimilatorio è da riferirsi evidentemente l'ulteriore sintesi di glucidi superiori.

E' appunto per la sua stretta relazione con l'aldeide glicolica che all'acido glicolico, di essa alquanto più stabile, dovrebbe attribuirsi a parer nostro una singolarissima importanza, come metabolita per il cui tramite il protoplasma può realizzare, per gradi successivi, la sintesi di ossi-acidi superiori, con C₃ fino a C₄. Quel cammino, che nella degradazione dell'acido citrico avrebbe come ultima fase l'acido piruvico o l'acido lattico, nel corso inverso, in senso sintetico, sarebbe già anticipato di una tappa se avesse inizio con l'acido glicolico a C₂; e si potrebbe anzi collocarne l'inizio addirittura nel primo prodotto di assimilazione dell'anidride carbonica, nell'ossi-metilene, dappoi che l'aldeide glicolica che si ossida ad acido glicolico deve intendersi generata dalla dimerizzazione dell'ossi-metilene, secondo il semplicissimo schema da noi reso probabile:



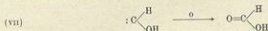
Si aggiunga ancora, che a quella serie di successive condensazioni da noi supposte, in virtù delle quali si ascende per gradi successivi dall'acido glicolico a C₂ agli acidi a C₄ della famiglia dell'acido citrico, l'acido glicolico appare designato appunto dal fatto di contenere un ossidrilico alcoolico, notoriamente caratterizzato dalla singolare facilità di reazione, come essa si manifesta nei varii tipi di condensazione, che, a seconda dei casi, conducono, rispettivamente, ora all'acido diglicolico, ora ai glicolidi (di- e poli-glicolide).

Se, poi, nella degradazione dell'acido citrico (e dell'acido isocitrico, come dello acido *cis*-aconitico), si può in definitiva ritornare all'acido glicolico da cui aveva preso le mosse la sintesi, è senz'altro manifesto, come, nell'interpretazione che noi diamo al metabolismo degli acidi a C₄ ed a C₅, esso percorre ancora un ciclo, la cui analogia col ciclo di Katus — come si vedrà più oltre — è altresì palese nella formazione degli ammino-acidi notoriamente interessati nella sintesi proteica, e non soltanto degli acidi glutammico ed aspartico (e loro ammidi) e dell'alanina, ma ancora del primo termine della serie, la glicina.

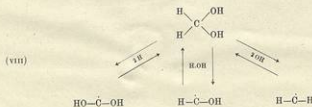
3. - Il ramo ascendente del ciclo metabolico.

In quanto segue andiamo appunto ad illustrare brevemente la sintesi dei singoli acidi dall'ossi-metilene, e la filiazione di essi l'uno dall'altro, col suo culmine nell'acido citrico, con che si percorre il ramo ascendente, anabolico, del ciclo.

Acido formico. — Particolare menzione dobbiamo fare anzitutto dell'acido formico, non soltanto per i suoi rapporti con l'acido ossalico, da cui può generarsi per decarbossilazione, quanto per il fatto che esso rappresenta il più semplice prodotto di ossidazione dell'ossi-metilene nascente. Ma, indipendentemente sia pure da tale ossidazione secondo lo schema:



si può anche vedere la genesi dell'acido formico nella dissociazione del metilen-glicol, nella quale, infatti, accanto all'ossi-metilene, in complesso equilibrio dinamico con il metilen-glicol, possono originarsi tanto il metilene quanto il diossi-metilene secondo lo schema:



E come l'ossi-metilene è il tautomero dell'aldeide formica, il diossi-metilene rappresenta, a sua volta, la forma tautomera (o forse anche mesomera) dell'acido formico. Non sarà superfluo a questo riguardo rammentare, che di tale forma è già conosciuto fin dal 1926 (*) il derivato dietilico, ossia, l'acetale dell'ossido di carbonio (C(O.C₂H₅)), dal p. eb. a 77°.

Acido glicolico. — Di questo capolista della serie degli ossi-acidi abbiamo già detto, che, per la sua relativa stabilità al confronto con l'aldeide glicolica da cui deriva per semplice ossidazione, se ne può dimostrare la presenza in più di un vegetale: esso è stato riscontrato, ad esempio, nel succo della bietola, nella canna da zucchero accanto agli acidi ossalico, malico, ed acetonico (*), nelle foglie di vite selvatica (**) accanto ad acido glicosilico e ad acido tartarico, e particolarmente notevole è il suo stato naturale nel pomodoro (10), nel quale esso è accompagnato dagli acidi ossalico,

(*) SCHUBERT, Ber., 59, 1622 (1926).

(9) Cfr. C. WILHELM, Die Pflanzenstoffe, 79, 1, 296, Jena (1929).

(10) Ibidem, II, 731.

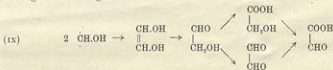
(11) Ibidem, II, 1100.

malico, tartarico, citrico, e nell'uva immatura⁽¹³⁾, nella quale esso si accompagna costantemente al suo immediato prodotto di ossidazione, l'acido glicosilico.

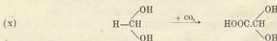
Dal punto di vista dell'importanza che noi attribuiamo all'acido glicolico, come progenitore di un'intera serie di acidi ed ossi-acidi di- e tri-carbossilici, appare in particolar modo interessante, oltre al suo stretto rapporto con l'acido glicosilico e con l'acido ossalico, anche la relativa facilità con cui esso si genera dagli zuccheri (in modo particolare dal fruttosio) o da sostanze con questi imparentate, o dalla glicerina, per trattamento con ossido di argento, o con liquido di Fehling, o con un ossidante ancora più blando, come l'acetato di rame⁽¹⁴⁾.

Acido glicosilico. — Scoperto da Debus già nel 1856⁽¹⁵⁾, è stato successivamente ottenuto in tutta una serie di reazioni di ossidazione a carico di sostanze a C₂, p. es. dall'alcool, dal glicol e dall'acido glicolico mediante acido nitrico⁽¹⁶⁾, dall'acido glicolico anche per trattamento con acqua ossigenata in presenza di solfato ferroso, ed osservato altresì nell'ossidazione *spontanea* dell'acido acetico⁽¹⁷⁾.

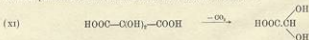
I suoi semplici rapporti, da un canto con l'acido glicolico, e dall'altro con l'acido ossalico, da cui pure può venire ottenuto in modo molto liscio per riduzione elettrolitica⁽¹⁸⁾, rendono bene conto del fatto, che in natura esso può trovarsi accompagnato dall'uno o dall'altro di tali acidi, e da tale punto di vista fisiologico offre certo notevole interesse il suo stato naturale nei frutti immaturi, concomitante con l'acido glicolico e con l'acido tartarico⁽¹⁹⁾. Nelle foglie verdi, la sua sintesi può riferirsi naturalmente sia all'ossi-metilene, attraverso i due stadii di aldeide glicolica e di acido glicolico o di glicosilico:



sia ancora ad una diretta carbossilazione del metilen-glicol:



Inversamente, l'acido glicosilico nel suo stato naturale potrebbe anche provenire da una parziale decarbossilazione dell'acido mesossalico:



(13) *Ibidem*, II, 744.

(14) Cfr. V. MEXA u. P. JACOBSON, *Lehrbuch d. organ. Ch.*, I, 547, Leipzig (1913).

(15) *Ibidem*, pag. 1690 e le fonti ivi citate.

(16) *Ibidem*, pag. 1690 e le fonti ivi citate.

(17) *Ibidem*, pag. 1690 e le fonti ivi citate.

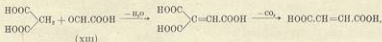
(18) *Ibidem*, pag. 1690-91 e le fonti ivi citate.

(19) *Ibidem*, pag. 1691 e le fonti ivi citate.

la quale, *in vitro*, si verifica infatti facilmente per ebollizione della soluzione acquosa, o per semplice riscaldamento con soluzione ammoniacale di ossido di argento, nel qual caso l'acido gliossilico viene naturalmente ossidato⁽¹⁴⁾. In natura, l'acido mecossalico è stato già da tempo riscontrato nel succo del fusto di *Medicago sativa*⁽¹⁵⁾, e se ne potrebbe naturalmente vedere la genesi in una doppia carbossilazione del metilen-glicol:



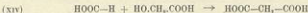
Nel comportamento dell'acido gliossilico *in vitro* è infine assai interessante la sua condensazione con l'acido malonico in presenza di piridina⁽¹⁶⁾; come il gliossale, per condensazione con l'acido malonico, dà l'acido muconico, doppiamente non saturo, attraverso un acido tetracarbossilico instabile, analogamente, nella condensazione dell'acido gliossilico con l'acido malonico, attraverso un acido tri-carbossilico instabile, si forma acido fumarico:



e pertanto non è da escludere la possibilità che una sintesi simile dell'acido fumarico si trovi realizzata anche in natura, sotto l'influenza di adatti enzimi (deidrasi e carbossilasi).

Acido ossalico. — Lo stato naturale di quest'acido è abbastanza noto perchè occorra farne speciale cenno. La sua grande diffusione nel regno vegetale è naturalmente da mettersi in rapporto con dei processi inoltuali di ossidazione, non soltanto a carico dei prodotti a C₃ della serie glicolica, ma di svariate altre sostanze a più lunga catena, che nell'organismo vegetale valgono come altrettanti substrati organici respirabili.

Acido malonico. — Quest'acido, che nel succo della bietola si trova accompagnato da numerosi altri acidi (aconitico, ossi-citrico, tricarballilico, ed anche formico, acetico, lattico, ossalico), e che è stato anche riscontrato nello stelo della *Medicago sativa* accanto ad acido malico e acido citrico⁽¹⁷⁾, nel succo dell'*Acer saccharinum* Wangh accanto agli acidi malico, tartarico e tricarballilico⁽¹⁸⁾, nella *Salvia splendens* Kun-Gawl.⁽¹⁹⁾ e nella *Monarda didyma* L., può ritenersi proveniente dalla condensazione dell'acido glicolico con l'acido formico, accanto al quale ultimo si riscontra difatti nella bietola:



Acidi succinico, fumarico, malico, tartarico. — Per questi quattro acidi sono ben noti gli stati naturali, e note altresì dalla letteratura recente quelle reciproche rela-

(14) *Ibidem*, pag. 1193-94 e le fonti ivi citate.

(15) *Ibidem*, pag. 1194 e le fonti ivi citate.

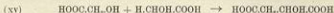
(16) *Ibidem*, pag. 412 e le fonti ivi citate.

(17) Cfr. C. Wernera, *loc. cit.*, pag. 290, 536.

(18) *Ibidem*, pag. 723.

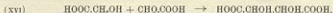
(19) *Ibidem*, pag. 1041.

zioni già illustrate negli schemi (I) e (II), per cui da un termine della famiglia si passa facilmente ad un altro. Per conseguenza, nei riguardi della loro genesi, potrebbe anche bastare derivare un solo di essi dall'acido glicolico, per esempio, l'acido malico, il quale, infatti, può supponersi generato dalla condensazione di due molecole di acido glicolico per eliminazione di una molecola di acqua (analogamente alla condensazione dell'acido ossalil-acetico con l'acido piruvico in acido ossalil-citraconico):

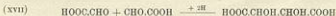


Per azione della fumarasi, l'acido malico può venire convertito in acido fumarico, un termine questo intermedio fra l'acido succinico e l'acido tartarico, nei quali può venire convertito, rispettivamente, per riduzione o per ossidazione. Per di più, come già rilevato in precedenza, l'acido malico, per deidrogenazione enzimatica (reversibile), può venire convertito, per decarbossilazione anch'essa enzimatica (e reversibile), in acido piruvico.

Ma ancora un'altra sintesi va presa in considerazione per l'acido tartarico, indipendentemente dall'acido malico, e pur sempre strettamente legata all'acido glicolico; essa è anzi ancor più interessante, per la suggestiva testimonianza che se ne ha nell'uva, il frutto dalla tipica acidità tartarica. Da oltre 60 anni è infatti accertata ⁽²⁴⁾ nei frutti immaturi la presenza dell'acido gliossilico, ed assodato altresì il fatto che, col progredire della maturazione, il contenuto di acido gliossilico va sempre più attenuandosi fino a sparire, mentre, inversamente, compare e cresce l'acidità tartarica. E poiché nell'uva immatura è altresì dimostrata la presenza dell'acido glicolico (di cui, del resto, l'acido gliossilico è l'immediato prodotto di ossidazione), è del tutto ovvio interpretare la sintesi dell'acido tartarico come una semplice condensazione aldolica dell'acido glicolico con l'acido gliossilico, secondo lo schema:



Del resto, anche *in vitro* è del tutto liscia la formazione di acido tartarico dall'acido gliossilico; mentre con la riduzione (monomolecolare) di questo con zinco, in soluzione acquosa, si retrocede all'acido glicolico, la riduzione con polvere di zinco in soluzione acetica decorre invece bimolecolare, sul tipo della formazione di pinacoli, e conduce quindi all'acido tartarico ⁽²⁵⁾:



Aggiungiamo ancora, che è stata altresì constatata la formazione dell'estere dietilico dell'acido tartarico nella riduzione dell'ossalato di etile con amalgama di sodio, la quale evidentemente passa per una fase intermedia costituita dall'acido gliossilico; infatti, nella riduzione stessa, a fianco dell'acido tartarico, è anche dimostrata la formazione di acido glicolico ⁽²⁶⁾.

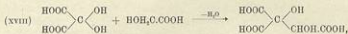
⁽²⁴⁾ V. Meyer u. P. Jacobson, loc. cit., pag. 1091.

⁽²⁵⁾ Ibidem, loc. cit., pag. 687.

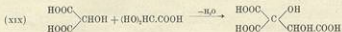
⁽²⁶⁾ Ibidem, loc. cit., pag. 687.

Acido desossalico. — E' questo un acido a C₆, con catena ramificata, che, malgrado non sia stato finora riscontrato nel regno vegetale, appare tuttavia degno di particolare menzione per i suoi rapporti con l'acido ossi-citrico della bietola, di cui rappresenta l'omologo inferiore, e con l'acido tartarico, nel quale si converte di fatti con grande facilità.

Data la sua struttura, esso può interpretarsi come un prodotto di condensazione aldolica dell'acido glicolico con l'acido mesossalico (oxo-malonico, o carbossil-gliossilico):



o dell'acido gliossilico con l'acido tartarico:



e, in accordo con ciò, la demolizione del suo estere etilico con l'idrossilammina fornisce appunto l'ossima dell'estere mesossalico accanto ad acido glicolico, mentre nel trattamento con fenil-idrazina si ha il fenil-idrazione dell'acido gliossilico.

Caratteristica per esso, come per molti acidi poli-carbossilici, è poi la facilità con cui si elimina anidride carbonica da uno dei due carbossili legati allo stesso atomo di carbonio; già nel riscaldamento del suo estere dietilico con sola acqua, al di sopra di 45°, si ha formazione di acido tartarico, e perciò non è da escludersi che il fatto di non averlo finora rinvenuto nel regno vegetale possa dipendere dalla facilità con cui si verifica l'eliminazione di un carbossile, eliminazione che nella pianta dovrebbe ritenersi ancora più facile, se catalizzata dalla carbossilasi.

Famiglia dell'acido citrico. — Strettamente imparentati con l'acido citrico sono i quattro acidi a C₆, anch'essi a catena ramificata, iso-citrico, ossi-citrico, aconitico, tricarballilico. La relazione dell'acido citrico con l'acido aconitico e con l'acido tricarballilico è stata già illustrata a pag. 3 con lo schema (iv), mentre l'acido iso-citrico è un isomero di posizione del citrico, e l'acido ossi-citrico tiene ancora un ossidrile sostituito in uno dei gruppi metilени. La relazione dell'acido iso-citrico con l'acido citrico si stabilisce attraverso l'acido *cis*-aconitico, il quale, infatti, assumendo gli elementi dell'acqua, non rigenera l'acido citrico, ma dà luogo all'isomero di posizione con l'ossidrile in *α*, mentre l'acido ossi-citrico, che ha il suo stato naturale nella bietola, può venire ottenuto *in vitro* per addizione di acido ipocloroso all'acido aconitico, e successiva eliminazione di acido cloridrico a mezzo di basi.

Date queste relazioni, la sintesi dell'acido citrico è allora sufficiente a chiarire da sola quella degli altri termini della famiglia. A questo riguardo, non è intanto superfluo accennare, che in proposito è stata fatta una moltitudine di ipotesi, una fioritura potrebbe quasi dirsi, che si è principalmente manifestata da quando l'acido citrico si è potuto ottenere dal glucosio con semplici processi fermentativi, e soprattutto allorché, su importantissima scala industriale, esso è stato fabbricato con tali processi in-

dipendentemente dalla glicolisi, e cioè, utilizzando come substrato organico delle sostanze alquanto più semplici del glucosio, che non sono nemmeno dei carbo-idrati.

4. - Il meccanismo della citrogenesi e dell'osselogenesi.

Ai biochimici della generazione passata, con il caposcuola CZAPK, riusciva difficile rendersi conto del fatto, che un acido a catena ramificata, qual'è l'acido citrico, potesse originarsi da un prodotto a catena normale come il glucosio; per conseguenza, ad evitare una simile difficoltà, si preferiva supporre che gli acidi tricarbossilici a C₃ prendessero origine da ammino-acidi a catena ramificata (27). Senonché, alla luce delle più recenti ricerche in proposito, una simile ipotesi non appare affatto giustificata. Sta invero — come lo mostra una larghissima esperienza, anche industriale — che nella produzione microbiologica dell'acido citrico gli zuccheri possono venire sostituiti da numerosi altri composti con una catena normale contenente meno di sei atomi di carbonio, a C₂, a C₃, a C₄, e finanche a C₅, come ad esempio l'acido acetico. In ciò si ha dunque una prova di fatto indiscutibile, che la fermentazione citrica del glucosio ad opera delle muffe esordisce con una preliminare degradazione dello zucchero in composti alquanto più semplici, a C₂ od a C₃, che vengono successivamente condensati.

Di tali composti, uno a C₂ potrebbe anche essere l'acido piruvico, secondo la via indicata da KITAS, cioè, per condensazione dell'acido ossalil-acetico (generato dall'acido piruvico per carbossilazione enzimatica) con lo stesso acido piruvico, ma, d'altronde, poiché l'acido citrico si può egualmente ottenere dall'acido acetico, e poiché il processo citro-genetico è essenzialmente un processo aerobico, si viene senz'altro alla necessaria conclusione, che in tal caso la prima tappa della sintesi deve consistere in un'ossidazione dell'acido acetico.

Volendosi allora mantenere in piedi lo schema di KITAS, si potrebbe pensare ad un'ossidazione dell'acido acetico che porti in primo tempo all'acido ossalico, e successivamente all'acido ossalil-acetico; infatti, anche recentissimamente C. ANTONIANI, L. FEDERICO e L. GONTS (28), avendo osservato che in particolari condizioni, e cioè, in presenza di particolari sostanze, che fungerebbero da attivatori di « iperossidazione », il metabolismo fermentativo dell'*Acetobacter aceti* porta dall'acido acetico all'acido citrico, danno per tale formazione — sia pure a titolo di ipotesi di lavoro — uno schema che ha il suo punto di partenza nell'acido ossalil-acetico; questo, per decarbossilazione, darebbe acido piruvico, e tale acido, per condensazione con l'acido acetico e deidrogenazione, fornirebbe l'acido α -cheto-glutarico; da questo, infine, si giungerebbe all'acido citrico attraverso la saldatura riduttiva di una molecola di anidride carbonica.

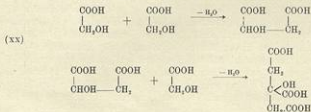
Un cammino tanto lungo sarebbe escogitato non tanto per giungere all'acido citrico, la cui formazione secondo gli stessi Autori avrebbe carattere accessorio, quanto per coordinare l'*habitus iperossidativo* di quel microorganismo con la sintesi protidica, che esordirebbe allora con l'amminazione dell'acido α -cheto-glutarico.

A noi sembra tuttavia, che anche della sintesi protidica nel metabolismo dell'*Ac-*

(27) Cfr. F. CZAPK, *Biochemie der Pflanzen*, I, 350, Jena (1913), nonché M. THOMAS, l.c., pag. 47.

(28) *Ann. chim. appl.*, 40, 89-83 (1950).

tobacter acetii ci si possa render facile conto senza dover invocare una «iperossidazione» dell'acido acetico, che porti addirittura all'acido ossalico. Riflettendo sul fatto, sperimentalmente ben accertato, che l'acido citrico può ottenersi per via microbiologica anche dall'acido malico, e che l'acido malico a sua volta, può considerarsi come un semplice prodotto di condensazione di due molecole di acido glicolico, la sintesi microbiologica dell'acido citrico dall'acido acetico può in sostanza venire riferita a una più semplice ossidazione di questo in acido glicolico, ed alla successiva condensazione di tre molecole di acido glicolico, la quale può passare o no per l'acido malico:



Tale ossidazione dell'acido acetico in acido glicolico ad opera di microrganismi aerobici ci sembra che debba apparire senz'altro ovvio, quando si consideri, che uno stadio già più avanzato di ossidazione, qual è quello dell'acido gliossilico, si raggiunge, anche indipendentemente da un'attività «iperossidativa» di microrganismi, nell'ossidazione *spontanea* dell'acido acetico ⁽¹⁵⁾.

Una conferma a tale nostra interpretazione può trovarsi del resto anche nel fatto osservato da CRUSA e BRUCELL ⁽¹⁶⁾, che nelle colture di *Aspergillus*, sopra soluzioni zuccherine, l'aggiunta di acido glicolico o di acido malico, o di miscele di questi acidi, incrementa in grado notevole la produzione di acido citrico. Tale incremento deve infatti ritenersi ragionato semplicemente dal fatto, che i due acidi in questione possono, *per loro conto*, concorrere *integralmente* alla produzione di acido citrico, con una semplicissima reazione di condensazione, per la quale altro non si postula se non l'attività di un enzima deidratante, laddove nella produzione di acido citrico dallo zucchero una parte più o meno notevole dei prodotti della glicolisi, come si vedrà più oltre, va inevitabilmente perduta in reazioni secondarie di ossidazione, che sboccano nella produzione di acido ossalico.

Non intendiamo certo con questo detronizzare l'acido piruvico da quella posizione di privilegio, che, a giusto titolo, si è attribuita ad esso come ad altri composti a C₃, — acido lattico, glicerina, alanina — quali termini al centro del metabolismo dei carboidrati, dei grassi, e delle proteine; ma tuttavia pensiamo, che non sia stata considerata abbastanza, se non sottovalutata, l'analoga importanza che, a equal titolo, si potrebbe attribuire anche a dei composti a C₂, già per il solo fatto che essi sono ancora più vicini al primo prodotto dell'assimilazione fotosintetica, all'ossi-metilene.

Ci sembra pertanto, che queste considerazioni sulla sintesi dell'acido citrico, pur essendo soltanto teoriche, non abbiano a lasciar dubbii sul decorso microbiologico di

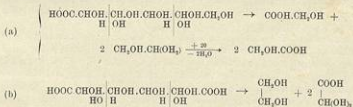
⁽¹⁵⁾ Ann. chim. appl., 29 (1939).

essa, e del resto se ne può trovare una conferma anche nel fatto, ben noto dall'esperienza industriale, che nell'attività citrogenetica delle diverse specie fungine (dei generi *Penicillium* e *Aspergillus*), un altro prodotto costante è pure l'acido più ossigenato a C₂, l'acido ossalico, anche se recentemente si è potuto affermare a questo riguardo, che « the mechanism for the formation of oxalic acid is not known » (19).

Acido ossalico ed acido citrico sono stati i primi acidi osservati da oltre mezzo secolo (1893) come prodotti del metabolismo dello zucchero nelle muffe, e l'esperienza industriale ha poi mostrato in proposito, che il rapporto fra i due acidi è suscettibile di variazioni dentro limiti assai larghi, in dipendenza dal valore del pH del mezzo: infatti, mantenendo in questo il valore 6-7 con adeguata aggiunta di carbonato di calcio, l'acido ossalico (che in tal caso viene subito precipitato) si ottiene dallo zucchero con altissimo rendimento, mentre, facendo cadere il valore del pH a 1-2, è invece l'acido citrico che si ottiene con alto rendimento (88-90%), ed è addirittura sopra la produzione dell'acido ossalico.

Orbene, nella rottura della catena del glucosio, quale evidentemente ha da verificarsi nella glicolisi enzimatica, le sostanze da cui può prodursi acido ossalico in via più immediata non potranno se non essere dei prodotti a C₂ della serie glicolica, comunque possa essersi modificata la catena di 6 atomi precedentemente alla rottura, per l'ossidazione di uno o di entrambi i gruppi terminali, che possa aver condotto all'acido gluconico o all'acido saccarico. In realtà, tanto l'uno che l'altro di questi due acidi possono venire utilizzati dall'*Aspergillus niger* per la produzione di acido citrico, ma la trasformazione del glucosio, da parte di varie muffe, può, in date condizioni, arrestarsi sostanzialmente all'acido gluconico, tantoché in America, per questa via, si produce già industrialmente il gluconato di calcio con elevata resa (80-90%); solo in via secondaria si formano acido citrico ed acido ossalico (FISHER-FISHER, l. c. pag. 465). Ma anche in tali casi, rompendosi la catena in guisa da ottenerne prodotti a C₂, i quali, alla lor volta, possano dar luogo per ossidazione ad acido ossalico, si avranno nella glicolisi, a seconda anche del diverso modo con cui si saranno addizionati gli elementi dell'acqua, delle miscele di prodotti della serie glicolica più o meno diverse nella loro composizione, e, per ciò stesso, più o meno favorevoli per il rendimento della citrosintesi.

Si confrontino, ad esempio, i due casi (a) e (b), in un certo senso estremi dal punto di vista della preliminare ossidazione dello zucchero, e della successiva glicolisi:



(19) Cfr. FISHER e FISHER, Organic Chemistry, pag. 464, Boston (1944).

nel caso (a), dall'acido gluconico prendono origine in definitiva tre molecole di acido glicolico, le quali potrebbero (permettendole le condizioni del campo) concorrere tutte tre alla citrosintesi, mentre nel caso (b) dall'acido saccarico prendono origine due molecole di acido glicosilico e una molecola di glicol, sicché, in questo secondo caso, ammesso pure che il glicol venga successivamente ossidato soltanto allo stadio di acido glicolico, e non oltre, la citrosintesi potrà tutt'al più verificarsi solo per una terza parte dello zucchero; e così, poiché nel campo della fermentazione si svolgono due ben distinte attività enzimatiche, una prettamente ossidativa, l'altra prettamente citrogenetica di condensazione, avverrà quel che appunto è risultato da una vastissima esperienza industriale, e cioè, che, in dipendenza dalle condizioni del campo — nei riguardi tanto del pH, quanto dei prodotti della glicolisi — sarà favorita di preferenza l'una o l'altra delle due attività, di guisa che nei casi estremi i prodotti della glicolisi a C₂ potranno venire, o tutti quanti condensati in acido citrico (caso a), o tutti quanti ossidati ad acido ossalico (caso b).

Del resto riteniamo, che un ulteriore significativo contributo alla conoscenza della sintesi citrica, nelle piante verdi come nelle muffe, potrà essere apportato da esperimenti che uno di noi (*) ha iniziato con la collaborazione del Dr. G. FIORENZANO, il quale ha già acquisito, che, facendo sviluppare l'*Aspergillus niger* in un mezzo artificiale in cui allo zucchero sia stata sostituita l'inosite, in qualità di unica sorgente di carbonio, si ha formazione, oltre che di acido citrico, di qualche altro acido che dovrà venire identificato. Ma, quale che possa essere tale acido, è sin d'ora chiaro, che, nel caso appositamente indagato dell'anello inosilico, in cui non si ha un punto particolarmente vulnerabile, di minor resistenza (quale ad es., nel concatenamento del fruttosio, quello in corrispondenza del carbonile), ma tutti i gruppi ossi-metilici si trovano in condizioni identiche di legame, la sintesi vera e propria dell'acido citrico non può evidentemente procedere che dai singoli gruppi ossi-metilici, probabilmente dimerizzati in seguito alla rottura idrolitica dell'anello nelle corrispondenti molecole di aldeide glicolica CH₂OH.CHO, risp. CH₂OH.CH(OH)₂.

5. - Il ramo discendente del ciclo metabolico.

Per ciò che concerne la degradazione a cui l'acido citrico soggiace in altra fase del metabolismo, i diversi stadii, come noi li concepiamo, si identificano solo in parte col ciclo di trasformazioni supposto da KREBS, anche nelle modificazioni apportate successivamente al ciclo originale da WOOD e WERKMANN e dallo stesso KREBS (1942-43) in base a nuovi esperimenti.

Infatti, anche se dall'acido citrico si giunga all'acido malico attraverso l'acido o-cheto-glutarico (quest'ultimo, postulato per i suoi rapporti con l'acido glutammico), e non per diretta scissione dell'acido citrico in acido malico e acido glicolico, nell'ulteriore degradazione dell'acido malico è da considerarsi non la sola possibilità contemplata dal ciclo di KREBS, della trasformazione in acido ossalico-acetico, che ulteriormente si decarbossila in acido piruvico, ma, ancora, la scissione in due molecole di acido glicolico, da cui, dopo ossidazione in acido glicosilico, si può passare, per

(*) G. PALAZZI.

semplice azione di ammoniaca, alla glicina⁽²¹⁾. In conseguenza, se i due diversi rami della branca discendente, catabolica, del ciclo vengono effettivamente percorsi entrambi dalla degradazione, il protoplasma per la sintesi dei prodotti non disporrà solo dell'acido aspartico e dell'acido glutammico, ma ancora della glicina.

Va tuttavia rilevato espressamente, che per la produzione di tali ammino-acidi non è naturalmente necessario che gli acidi carbossilici sintetizzati nel ramo anabolico del ciclo percorrano ulteriormente il ramo catabolico, dappoiché gli acidi α -cheto-glutarico, ossallil-acetico, e piruvico, che rappresentano le materie prime per la produzione dell'acido glutammico, dell'acido aspartico, e dell'alanina, possono ugualmente sorgere nel corso del processo anabolico, rispettivamente, dall'acido iso-citrico (attraverso l'acido cis-aconitico) e dall'acido malico, mentre la glicina può formarsi anche essa nel ramo ascendente del ciclo, dall'acido glicolico e dall'acido glicosilico, che rappresentano infatti le prime tappe del ciclo stesso.

Ritorniamo così al concetto, già espresso al principio della presente Nota, e cioè questo, che la sintesi protidica, pur prendendo le mosse dai più semplici ammino-acidi (comunque s'interpreti tale loro partecipazione ad una sintesi certamente complessa), non è necessariamente legata al metabolismo dei carbo-idrati, ma può anche esserne indipendente, dappoiché il medesimo processo assimilatorio da cui si generano i carbo-idrati può ugualmente fornire, insieme con questi, anche quelle materie prime che si sono ritenute finora come prodotti essenzialmente catabolici.

Con ciò non s'intende certo escludere, che alla complessa sintesi dei protidi possano anche partecipare dei prodotti di metamorfosi regressiva dei carbo-idrati; si vuole soltanto riconoscere a taluni acidi vegetali non la semplice funzione di substrati organici respirabili, bensì ancora l'altra di importanti materiali di costruzione, in via del tutto indipendente dalla loro respirazione.

Per ciò che riguarda, poi, la sintesi degli acidi in questione, quale noi la concepiamo in quel medesimo processo assimilatorio che dà luogo ai carbo-idrati, desideriamo infine sottolineare, che l'importanza sostanziale da noi attribuita all'acido glicolico trova piena giustificazione sia nel suo stato naturale, sia nelle relazioni che esso ha, da una parte con l'ossi-metilene, dall'altra con le sintesi degli acidi vegetali, com'esse possono realizzarsi anche *in vitro*, con reazioni delle più semplici.

Mentre l'acido piruvico, pur con la sua notevole importanza di prodotto-chiave, occupa nel metabolismo una posizione per dir così cruciale, a cavallo quasi fra le due opposte facce di esso — la demolizione dei carbo-idrati e la costruzione di altri prodotti di fondamentale importanza per l'organismo — l'acido glicolico, per la sintesi degli acidi vegetali, ha evidentemente la medesima importanza che da lungo tempo si è già riconosciuta all'aldeide glicolica per la sintesi dei glucidi. L'organismo vegetale, a partire dall'aldeide glicolica (senza alcuna dubbio un dimerico dell'ossi-metilene, secondo lo schema VI di pag. 5), non ha bisogno di procedere tanto oltre nell'ulteriore sintesi di carbo-idrati più o meno complessi (che dovrebbero più tardi venire demoliti), se la semplice, immediata ossidazione di essa nel corrispondente acido glicolico gli fornisce di già un materiale prezioso per la sintesi diretta degli altri acidi.

Le relazioni dell'acido glicolico con diversi acidi bi- e tri-carbossilici, quali sono state da noi illustrate, appaiono invero di così palmare evidenza, che, se la presenza

(21) V. Meyer u. P. Jaccoux, loc. cit., pag. 748.

di esso nelle piante verdi non fosse già un fatto reale, da lunghissimo tempo constatato, bisognerebbe senz'altro ammetterla, allo stesso titolo come si ammette per osenja senza discussione la presenza di taluni altri metaboliti, che pur non si è mai riusciti a carpire.

Ma vi ha di più: va ancora considerata la concomitanza, veramente suggestiva, dell'acido glicolico con uno o più di quegli acidi organici che si suppongono generati da essa. Così, nella bietola ⁽¹²⁾ lo si trova accompagnato, oltre che dall'acido acetico e dall'acido ossalico, dall'acido tri-carballilico, dall'acido citrico e dall'acido ossidritrico, nella canna da zucchero ⁽¹³⁾, oltre che dall'acido ossalico, dagli acidi malico e acetonico, nell'uva immatura ⁽¹⁴⁾, oltre che dall'acido glicosilico, dall'acido tartarico, nel pomodoro ⁽¹⁵⁾, oltre che dall'acido ossalico, dall'acido malico, dall'acido tartarico, dall'acido citrico. Pertanto, di quella filiazione da noi supposta per i diversi acidi vegetali a partire dall'acido glicolico si ha una chiara, inequivocabile testimonianza nelle evidenti tracce lasciate dalla sintesi nel suo più o meno lungo cammino; infatti, la concomitanza con l'acido glicolico a C₂ degli acidi a C₃ e a C₄ è l'indice più sicuro che possa desiderarsi per le varie tappe battute dalla sintesi nel suo graduale svolgimento.

Firenze. — Istituto di Chimica agraria dell'Università.

Roma. — Istituto Superiore di Sanità.

RIASSUNTO

Premesso, che gli acidi organici delle piante verdi, in particolar modo gli acidi ed ossi-acidi policarbonilici a C₃ e C₄, pur essendo noti da oltre un secolo, sono stati studiati solo modernamente dal punto di vista biochimico, e riconosciuti con tali indagini come importanti metaboliti nel ricambio dei carbo-idrati e dei protidi, si pone il quesito, se la loro genesi debba vedersi solo nel metabolismo (regressivo) dei carbo-idrati, o se, indipendentemente da ogni fatto di glicolisi — come, ad es., quella che conduce all'acido piruvico — essi non possano anche originarsi, al pari dei carbo-idrati, e simultaneamente con questi, già nel normale processo assimilatorio dei tessuti verdi.

E tale quesito, alla luce di quanto gli Autori stessi hanno reso eminentemente probabile per la sintesi dei carbo-idrati dal prodotto di riduzione dell'anidride carbonica, viene appunto risolto in modo analogo, riconoscendo il punto di partenza per la sintesi di quegli acidi nel primo prodotto di assimilazione dell'anidride carbonica, cioè, nell'ossi-metilene con carbonato bivalente CH₂OH.

Da questo tautomero dell'aldeide formica, che è in sostanza il carbo-idrato più semplice concepibile, i diversi acidi organici considerati possono infatti derivarsi, al pari dei più complessi glucidi, attraverso l'aldeide glicolica — che è di esso dimera —

⁽¹²⁾ Cfr. le fonti già citate ⁽¹⁰⁻¹¹⁾ per lo stato naturale dell'acido glicolico.

⁽¹³⁾ Cfr. le fonti già citate ⁽¹⁰⁻¹¹⁾ per lo stato naturale dell'acido glicolico.

⁽¹⁴⁾ Cfr. le fonti già citate ⁽¹⁰⁻¹¹⁾ per lo stato naturale dell'acido glicolico.

⁽¹⁵⁾ Cfr. le fonti già citate ⁽¹⁰⁻¹¹⁾ per lo stato naturale dell'acido glicolico.

In connessione con tali vedute, viene infine discusso anche il meccanismo della sintesi microbiologica dell'acido citrico, e tracciato per gli acidi organici in discussione un ciclo, dai rami del quale — anabolico e catabolico — viene in particolare evidenza lo stretto rapporto che lega la sintesi profidica al metabolismo di quegli acidi, per l'intervento di ammino-acidi (glutammico, aspartico, α -ammino-propionico, ammino-acetico), la cui genesi può anch'essa venire concepita indipendentemente dal metabolismo dei carbo-idrati.

Il testo della presente Nota, così come viene pubblicato solo adesso, era stato redatto già nel luglio dello scorso anno, ed inviato allora, insieme col riassunto, alla Redazione della Gazzetta chimica italiana per essere riferito, nel settembre 1950, al VI Congresso nazionale di Chimica, ove infatti venne comunicato nella IX Sezione di Chimica organica (*).

Ma, di lì a poco, nel dicembre dello stesso anno, gli Autori avevano la fortunata occasione di venire a conoscenza di alcuni recentissimi lavori, riassunti nella Annual Review of Plant Physiology (Stanford, California 1950), dai quali sono emersi, nei riguardi dell'acido glicolico, alcuni fatti di sommo interesse: l'acido glicolico è un termine del sistema fotosintetico (Kolesnikow), e, come prodotto di una breve fotosintesi, esso è stato infatti osservato in varie piante, nelle quali, in condizioni aerobiche, a forte illuminazione e bassa pressione di anidride carbonica, esso rappresenta il prodotto principale ($\approx 25\%$ della radioattività totale). L'acido glicolico è stato pure rinvenuto negli estratti di orzo dopo fotosintesi con anidride carbonica radioattiva (C_{14}), seguita da un periodo di illuminazione in corrente di azoto, epperò si è indotti a supporre che nella fotosintesi una delle sostanze a 2 atomi di carbonio è appunto l'acido glicolico.

Simultaneamente con l'acido glicolico compare anche la glicocola, ciò che induce a supporre la partecipazione dell'acido glicosilico come tale (data anche la facile ossidabilità dell'acido glicolico in acido glicosilico da parte di un enzima largamente diffuso, ricavato soltanto dai tessuti verdi, e purificato da TOLBER, CLAGETT e BURATS). Anche in esperimenti di breve durata, si formano in pari tempo apprezzabili quantità di acido glicolico e di glicocola.

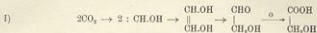
Tanto l'acido glicolico inattivo quanto quello radioattivo scompaiono al buio con grande rapidità, e tale rapida scomparsa, prima che la pianta sia uccisa, rende conto del fatto che non è sempre possibile verificare nelle piante la presenza di esso.

Da questi risultati non potrebbero ricevere più evidente conferma le considerazioni teoriche svolte nella presente Nota a riguardo dell'acido glicolico, sulla cui sintesi dall'ossi-metilene s'impenna secondo gli Autori quella degli ossi-acidi a C_2 e a C_3 .

Invero, quanto gli Autori han supposto per l'acido glicolico, nel ciclo metabolico da loro immaginato, è da considerarsi ormai come un fatto reale, almeno per quel ramo del ciclo, che è del resto il più interessante, il ramo ascendente, anabolico. Difatti, mentre non è da escludersi che dagli ossi-acidi a C_2 e a C_3 , si possa giungere, per successive degradazioni, all'acido glicolico, la genesi degli stessi ossi-acidi a C_2 e a C_3

(*) Cfr. Riassunti delle Comunicazioni di Sezione, pag. 122.

si deve ormai ravvisare, più che in una ipotetica degradazione di carbo-idrati, in una vera e propria costruzione sintetica, che rimonta all'assimilazione dell'anidride carbonica, compendosi attraverso l'acido glicolico. Una volta data per quest'acido la dimostrazione sperimentale della sua genesi dall'anidride carbonica, anche la genesi degli ossi-acidi più complessi, a C₃ e a C₄, viene senz'altro chiarita. E mentre per la sintesi dell'acido glicolico dall'anidride carbonica può valere il semplicissimo schema 1):



per la successiva filiazione degli ossi-acidi a C₃ e a C₄ dall'acido glicolico, come immaginata dagli Autori, basta invocare reazioni di condensazione delle più semplici, che, oltre tutto, potranno anch'essere catalizzate da specifici enzimi.

Su questo riguardo, al fatto ben noto, citato dagli Autori come una prova di quella filiazione — il fatto della coesistenza naturale dell'acido glicolico con uno o più di quegli ossi-acidi — si può aggiungere adesso anche quello emerso dalle ricerche sperimentali più recenti, il fatto, cioè, che « al buio l'acido glicolico scompare con grande rapidità ». Evidentemente, esso sparisce perchè ingaggiato in reazioni (di condensazione) che possono verificarsi anche in assenza di luce, mentre alla luce non se ne può constatare la scomparsa, giacchè, a misura che procedono le varie condensazioni nei diversi ossi-acidi, nuove quantità di acido glicolico sorgono dall'ossi-metilene, secondo lo schema 1).