
ATTI ACCADEMIA NAZIONALE DEI LINCEI
CLASSE SCIENZE FISICHE MATEMATICHE NATURALI

RENDICONTI

GRAZIA CASERTA

Presenza di Ubichinone 50 (Coenzima Q_{10}) nelle uova di riccio di mare

Atti della Accademia Nazionale dei Lincei. Classe di Scienze Fisiche, Matematiche e Naturali. Rendiconti, Serie 8, Vol. 35 (1963), n.1-2, p. 117–119.

Accademia Nazionale dei Lincei

<http://www.bdim.eu/item?id=RLINA_1963_8_35_1-2_117_0>

L'utilizzo e la stampa di questo documento digitale è consentito liberamente per motivi di ricerca e studio. Non è consentito l'utilizzo dello stesso per motivi commerciali. Tutte le copie di questo documento devono riportare questo avvertimento.

*Articolo digitalizzato nel quadro del programma
bdim (Biblioteca Digitale Italiana di Matematica)
SIMAI & UMI*

<http://www.bdim.eu/>

Biochimica. — *Presenza di Ubichinone 50 (Coenzima Q₁₀) nelle uova di riccio di mare*^(*). Nota^(**) di GRAZIA CASERTA, presentata dal Socio L. CALIFANO.

È stato dimostrato recentemente che i mitocondri isolati dalle uova di riccio di mare contengono la sequenza completa degli enzimi respiratori ferroporfirinici: Cit. *b*, *c*, *a*⁽¹⁾. Anche gli spermi di riccio di mare posseggono elevate attività succinossidasi e citocromossidasi⁽²⁾. Inoltre dallo insaponificabile degli spermi di *Paracentrotus lividus* e *Spherechinus granularis* è stato isolato un omologo degli Ubichinoni che all'analisi è risultato Ubichinone 50, chiamato anche Coenzima Q₁₀⁽³⁾. Date le ben note proprietà enzimatiche del Coenzima Q nei processi della respirazione cellulare⁽⁴⁾, era interessante accertare se anche le uova di riccio di mare contengono, accanto agli enzimi sopra ricordati, gli Ubichinoni e precisamente quale degli omologhi conosciuti è presente in questo materiale.

I metodi usati in questo studio sono alquanto diversi da quelli impiegati per l'estrazione e la purificazione del Coenzima Q dagli spermi di riccio di mare. Infatti nell'insaponificabile di questo materiale sono presenti notevoli quantità di pigmenti di varia natura che difficilmente sono allontanati con i metodi cromatografici convenzionali e che interferiscono con le analisi dell'Ubichinone. Questo si verifica con tutti gli animali marini esaminati fino ad ora ed è stato riscontrato in misura assai minore solo per gli spermi di riccio di mare. Per questo, e anche per la presenza di quantità relativamente elevate di sostanza, gli spermi di riccio di mare rimangono il materiale di elezione per la preparazione di Coenzima Q da cellule e tessuti di organismi marini.

MATERIALE E METODI.

Per questo studio sono state usate le uova mature di *Paracentrotus lividus*. Le cellule erano raccolte dalle gonadi, lavate con acqua di mare e centrifugate secondo il metodo usato in questo laboratorio. Nessuna differenza di risultati è stata osservata fra materiale fresco e materiale conservato a -20° C per alcuni giorni.

(*) Lavoro eseguito nel Reparto di Fisiologia della Stazione Zoologica di Napoli.

(**) Pervenuta all'Accademia il 5 agosto 1963.

(1) R. MAGGIO e A. GHIRETTI-MAGALDI, « Exptl. Cell Res. », 15, p. 95 (1958); S. RAPPOPORT, E. C. G. HOFFMAN e A. GHIRETTI-MAGALDI, « Experientia », 14, p. 169 (1958).

(2) E. S. G. BARRON e J. M. GOLDINGER, « Biol. Bull. », 81, p. 289 (1941); F. GHIRETTI e M. LIBONATI, « Acta Embryol. Morph. Experim. », 1, p. 48 (1957).

(3) G. CASERTA e F. GHIRETTI, « Nature », 193, p. 1079 (1962).

(4) D. GREEN, « Arch. Biochem. Biophys. », 85, p. 280 (1959).

100 gr di cellule sono saponificate con 150 ml di potassa alcoolica (10 % KOH in etanolo 95 %) per 1 ora. L'insaponificabile è estratto con 50 ml di eptano per tre volte, l'estratto lavato con acqua fino a neutralizzazione, indi disidratato con solfato sodico anidro. Dopo filtrazione il solvente è allontanato mediante evaporazione sotto vuoto. Il residuo, fortemente colorato in rosso, è ridiscioltto in 5 ml di etanolo e lasciato prima a 0°C, poi a -20°C fino a completa cristallizzazione degli steroli presenti. La soluzione filtrata è di nuovo portata a secchezza e il residuo ridiscioltto in 5 ml di eptano.

Questo residuo contiene ancora pigmenti colorati in rosso e che non si riesce ad allontanare mediante passaggio su colonna di acido silicico o di decalco o di allumina. Buoni risultati si ottengono invece mediante assorbimento su carbone animale ed eluzione con cloroformio. L'estratto viene portato a secchezza, ridiscioltto in etanolo e usato per le analisi colorimetriche, spettrofotometriche e cromatografiche.

Come si verifica con altro materiale marino, anche per la uova di riccio di mare non si è potuto evitare perciò l'uso del carbone animale durante il processo di purificazione. Durante l'assorbimento su carbone infatti il tocoferolo si ossida rapidamente a tocoferilchinone ⁽⁵⁾. Pertanto, ogni volta che dall'insaponificabile si ottiene tocoferilchinone (come si dirà in appresso, ciò avviene anche per le uova di riccio di mare) ed è stato usato carbone animale nel processo di purificazione, bisogna ritenere che la sostanza sia un artefatto e derivi dal tocoferolo, componente normale del materiale in esame.

L'identificazione colorimetrica degli Ubichinoni è stata fatta mediante la reazione di Craven ⁽⁶⁾. Tutti gli spettri degli estratti prima e dopo riduzione con boridride sono stati presi con lo spettrofotometro autoregistratore DK2. I solventi usati erano puri per spettrofotometria. L'analisi cromatografica è stata fatta secondo il metodo di Lester e Ramasarma ⁽⁷⁾ su carta Whatman 3MM trattata con silicone-Dow 550, in presenza di vari omologhi di Ubichinoni. L'Ubichinone 50 è stato preparato in laboratorio dal cuore di bue secondo il metodo di Crane et al. ⁽⁸⁾. Il tocoferilchinone è stato ottenuto dal tocoferolo secondo il metodo di Karrer e Geiger ⁽⁹⁾.

RISULTATI E CONCLUSIONI.

L'eluzione dell'insaponificabile di uova di riccio di mare in isotano, privo di steroli, da colonna di acido silicico Mallincrodt (120-230 mesh) con miscela di cloroformio-eptano 50 % e poi con metanolo, dà cinque frazioni che, ripre-

(5) G. CASERTA, G. NARDI e F. GHIRETTI (In corso di stampa).

(6) R. CRAVEN, « J. Chem. Soc. », p. 1605 (1931).

(7) R. L. LESTER e T. RAMASARMA, « J. Biol. Chem. », 234, p. 672 (1959).

(8) F. L. CRANE, R. L. LESTER, C. WIDMER e Y. HATEFI, « Biochim. Biophys. acta », 32, p. 75 (1959). Ringrazio l'Istituto Sieroterapico Italiano per il generoso dono di Ubichinone 30.

(9) P. KARRER e A. GEIGER, « Helv. Chim. Acta », 23, p. 455 (1940).

se in etanolo, assorbono nel visibile a diverse lunghezze d'onda. Di esse solo la seconda frazione, arancione, presenta nell'ultravioletto la banda caratteristica del Coenzima Q. Questa frazione tuttavia è ancora assai impura per la presenza di pigmenti diversi che sono rimossi solo dopo trattamento con carbone animale. Tale trattamento viene fatto in eptano agitando per 15 min a temperatura ambiente. Dopo lavaggio con eptano si eluisce con cloroformio. L'estratto è portato a secchezza e ridiscioltto in etanolo. Come dimostrato dalla cromatografia su carta, esso contiene tocoferilchinone e l'omologo Q₁₀ degli Ubichinoni. La presenza di quest'ultimo è confermata dal saggio colorimetrico positivo e dalla banda nell'U.V. con massimo a 275 m μ che, dopo trattamento con boridride, scompare per dare origine alla banda con massimo a 290 m μ , caratteristica della forma ridotta del Coenzima Q.

La presenza di tocoferilchinone nell'estratto di uova di riccio di mare, indicata dall'analisi cromatografica e spettrofotometrica dell'estratto, è discutibile. Come già accennato, questo composto si riscontra solo dopo l'uso del carbone animale durante il processo di purificazione. Se si sottopone il tocoferolo puro alle stesse condizioni e agli stessi metodi di analisi, si ottiene tocoferilchinone. Bisogna ritenere pertanto che il chinone riscontrato nelle uova di riccio di mare deriva dal tocoferolo presente nell'estratto.