ATTI

DELLA

REALE ACCADEMIA DEI LINCEI

ANNO CCCV.

1908

SERIE QUINTA

RENDICONTI

Classe di scienze fisiche, matematiche e naturali.

VOLUME XVII.

1° Semestre.

ROMA

TIPOGRAFIA DELLA R. ACCADEMIA DEI LINCEI

PROPRIETÀ DEL CAV. V. SALVIUCCI

1908

e Pick [1] nelle soluzioni dei nitriti di argento e di mercurio. Naturalmente la formazione di complessi di questo genere e la eventuale presenza di altri ancora contenenti diverse molecole di $Pb(NO_2)_2$, contribuirebbero ad abbassare la conducibilità, sia per la diminuita concentrazione ionica, sia per la formazione di ioni meno mobili. Ammettendo che la differenza tra la conducibilità molecolare del nitrito e del cloruro di piombo sia dovuta alla più forte complessità del nitrito, si arriverebbe però alla conclusione contraria a quella dedotta da Abegg e Pick [2] dalla osservazione che la costante di stabilità dell'ione $Hg(NO_2)_4''$ è minore di quella degli ioni corrispondenti $Hg(A)_4'$ dove $A' = Cl'$ Br' J' e CN'. Secondo la teoria di Abegg e Bodländer l'ione NO_2' sarebbe perciò più elettroaffine del Cl' e quindi dovrebbe avere minore tendenza a dare ioni complessi anche col piombo. Questa contraddizione alla deduzione di Abegg e Pick non sarebbe però isolata, perchè esistono nitriti complessi, i cui corrispondenti cloruri o non sono noti (cobaltinitriti) o sono assai meno stabili (palladonitriti). Se non che la presenza e tanto meno la concentrazione di anioni $Pb(NO_2)_n'^{(n-2)}$ o $[n\,Pb(NO_2)_2NO_2]'$ non è ancora determinata, nè resta escluso che gli ioni complessi che influenzano prevalentemente la conducibilità siano cationi $[n\,Pb(NO_2)_2 . Pb]^{\cdot\cdot}$, simili a quelli già noti dell'argento e del mercurio, la cui stabilità non dipende, almeno direttamente, dalla elettroaffinità dell'anione.

Ad ogni modo non solo la conducibilità, ma anche la colorazione intensamente gialla delle soluzioni di nitrito di piombo sarebbe indizio della presenza di ioni complessi.

Chimica fisiologica. — *Intorno al contegno dell'idrossilamina nell'organismo animale* [3]. Nota di R. Ciusa e di R. Luzzatto [4], presentata dal Socio G. Ciamician.

L'azione dell'idrossilamina sull'organismo animale è stata oggetto di osservazione da parte di parecchi autori fra i quali ricordiamo in prima linea: Bertoni e Raimondi [5], Lewin [6], Lewin e Goldschmidt, [7], Löw [8], Pasquali [9], ecc.

[1] 34, f. anorg. Ch., *51-1*, 1906, Pick-Dissertation-Breslain, 1906.

[2] Zeitschr. anorg. Ch. *51*, 1, 1906 e Pick, Dissertation Breslau, 1906.

[3] Lavoro eseguito nell'Istituto di chimica generale della R. Università di Bologna, e nell'Istituto Farmacologico dell'Università di Camerino.

[4] Siccome non è facile distinguere nettamente le ricerche eseguite da ciascuno degli AA. così nella disposizione dei nomi si è avuto riguardo soltanto all'ordine alfabetico.

[5] Rend. Ist. Lombardo [2], XV, 122.

[6] Arch. f. Exp. Path. u. Pharmak, *20*, 306.

[7] Id. id., *37*, 65.

[8] Pflüger's Arch., *35*, 516. Cfr. anche Eichhoff: Monatsh. Dermatol., *8*, 12, Marpmann. Ph. C., *30*, 245.

[9] Bollettino Chimico Farmacologico, 1894, 577.

Secondo Bertoni e Raimondi l'idrossilamina riuscirebbe intensamente tossica per le azioni che esplica sul sangue, nel senso che essa si trasformerebbeo, ssidandosi, in acido nitroso, il quale come è ben noto, dà luogo a metaemoglobina e paralizza in questo modo le capacità respiratorie del sangue.

Questa spiegazione è accettata anche dagli altri citati autori, fuorchè dal Löw, il quale spiega in altro modo le azioni tossiche dell' idrossilamina ammettendo che questa sostanza si combini coll'albumina formando un'ossima.

Già leggendo il lavoro di Bertoni e Raimondi a noi sembrò che l'azione dell' idrossilamina sul sangue non si potesse ritenere identica a quella dei nitriti. È ben noto infatti che questi ultimi dànno luogo costantemente sia in *vitro*, che introdotti nell'organismo in certa quantità, a metaemoglobina, la quale presenta caratteri spettroscopici assai ben definiti. Infatti il sangue di un animale avvelenato con nitriti od il sangue cui sia stato aggiunto direttamente un nitrito o ferricianuro od altri veleni che indubbiamente dànno luogo a metaemoglobina, presenta due pallide strie che coincidono quasi con quelle dell'ossiemoglobina ed una terza stria pure pallida nella regione del rosso, le cui lunghezze d'onda sono esattamente stabilite. Questo spettro per aggiunta di un agente riduttore $(NH_4)_2S$, $SnCl_2$, reattivo di Stockes ecc. si trasforma rapidamente nello spettro dell'emoglobina ridotta. Ora secondo Bertoni e Raimondi aggiungendo solfuro ammonico alla soluzione di sangue trattata col $NH_2OH . HCl$ non si modifica affatto lo spettro.

Questa differenza nel comportamento spettroscopico dell' idrossilamina rispetto ai nitriti e le cognizioni che ora si hanno sul suo contegno di fronte agli ossidanti, come pure le sue ben note relazioni con gli altri composti dell'azoto, ci hanno fatto pensare che l' idrossilamina prima di ossidarsi ad acido nitroso potesse passare attraverso la biossiammoniaca, la quale o direttamente o per successive trasformazioni avrebbe potuto produrre tali differenze. Tanto più che gli ora citati autori non riportano alcun dato quantitativo intorno al rapporto tra l' idrossilamina adoperata e l'acido nitroso che si forma; anzi sembrerebbe che le quantità di quest' ultimo fossero assai scarse se per riconoscerlo nel sangue essi hanno dovuto ricorrere ad un metodo speciale e delicato. Inoltre da questo e da altri lavori è facile persuadersi che l'avvelenamento di NH_2OH è ben più grave di quello da nitriti, e ciò abbiamo anche noi molte volte sperimentalmente constatato; ed il Lewin (loc. cit.) che già aveva osservato queste differenze tenta di spiegarle attribuendole al fatto che somministrando l' idrossilamina, l'acido nitroso si forma allo stato nascente.

Nelle nostre esperienze noi ci siamo occupati di determinare in primo luogo la tossicità dell' idrossilamina e di ricercare se nelle urine di animali a cui questa sostanza era stata somministrata per via gastrica od ipodermica, era possibile di dimostrare la presenza dell' idrossilamina stessa o dei suoi

prodotti di ossidazione, rivolgendo particolarmente l'attenzione all'acido nitroso. Contemporaneamente fu studiato spettroscopicamente il sangue di animali avvelenati con idrossilamina.

Dai risultati di un gran numero di esperienze possiamo dire che realmente l'idrossilamina è molto più tossica dei nitriti; così ad esempio conigli del peso di gr. 1500-2000 non sopportano dosi superiori a gr. 0,11 di cloridrato di idrossilamina, dati per via gastrica od ipodermica; mentre a conigli dello stesso peso abbiamo potuto dare sino a gr. 0,60 di nitrito sodico senza che presentassero alcun apparente disturbo. Dopo la somministrazione di cloridrato di idrossilamina l'urina non presenta nulla di anormale se le dosi non superano i 6-7 cgr.; a dosi maggiori compare nell'urina albumina e spessissimo emoglobina (1). Abbiamo ricercato nell'urina tanto l'idrossilamina quanto l'acido nitroso: l'idrossilamina non venne *mai riscontrata* (2). Per quanto si riferisce all'acido nitroso ci fu dato di riscontrarlo soltanto rarissime volte ed in quantità appena apprezzabili; a questo proposito può darsi che anche le condizioni individuali variabili da animale ad animale, ed anche nello stesso animale a seconda di diverse circostanze, possono influire sulla comparsa o meno dell'acido nitroso. Così ad es. in un caso in cui l'esperienza fu prolungata parecchi giorni somministrando a giorni alterni dosi crescenti di cloridrato di idrossilamina, gr. 0,022; 0,036; 0,049; 0,061; 0,072; 0,083; 0,094; 0,105, si vide che mentre durante i primi tre giorni si poterono dimostrare piccole quantità di nitriti nell'urina, questi nitriti andarono diminuendo nel 4° giorno e scomparvero in seguito, benchè le dosi di cloridrato di idrossilamina fossero maggiori.

In un altro caso in cui furono somministrate durante sei giorni dosi crescenti di cloridrato di idrossilamina (gr. 0,03; 0,05; 0,10; 0,15) non fu mai riscontrato nelle urine l'acido nitroso.

Invece somministrando dei nitriti anche in piccole dosi (gr. 0,02; 0,10) nell'urina si poteva facilmente dimostrare la presenza di essi (3).

Interesse notevole offre lo studio spettroscopico del sangue di animali avvelenati per via gastrica od ipodermica od endovenosa, con cloridrato di idrossilamina; ma interesse ancor maggiore, per i risultati che si hanno, presenta lo studio dello spettro del sangue cui si sieno aggiunte *in vitro* dosi variabili di cloridrato di idrossilamina; ed anzi, come vedremo tra breve,

(1) All'autopsia, gli animali avvelenati con cloridrato di idrossilamina presentano gravissime alterazioni epatiche e renali (nefrite parenchimatosa acutissima, spesso emorragica).

(2) Pasquali (l. c.) il quale afferma di aver trovato l'idrossilamina nell'orina e negli organi, adoperò nella sua esperienza un grossissimo cane a cui vennero somministrate dosi elevatissime di $NH_3OH . HCl$.

(3) Se la dose di nitrito somministrata in una sola volta è notevole (gr. 0,50; 0,60) l'eliminazione per l'urina ne continua per 3-4 giorni.

solo la ricerca spettroscopica ci potè illuminare intorno alle vicende ossidative che subisce l'idrossilamina. Perciò che si riferisce all'azione dell'idrossilamina sul sangue *in vivo* ricordiamo che il quadro spettroscopico non presenta quell'assoluta costanza di risultati che si ha nelle esperienze *in vitro*. (Molto probabilmente ciò dipende dal fatto che la quantità di idrossilamina che si aggiunge ad una soluzione di sangue preparata per una ricerca spettroscopica, viene ad essere, relativamente e certamente molto maggiore di quella che si può somministrare ad un animale senza ucciderlo). In alcuni casi si ebbe decisamente lo spettro della metaemoglobina, altre volte pure scomparendo la caratteristica stria nel rosso per aggiunta di $(NH_4)_2S$, non si osserva che in minimo grado la riduzione delle due strie fra D ed E (emoglobina ossiazotica); altre volte per aggiunta del riduttore scompariva la stria nel rosso (caratteristica della metaemoglobina) mentre ne compariva un'altra, pure nel rosso, ma di minor lunghezza d'onda (solfoemoglobina); altre volte infine, a differenza di tutti questi casi in cui si tratta di spettri complessi, si ebbe unicamente lo spettro dell'ossiemoglobina.

Come abbiamo già detto, costanti risultati che chiariscono queste apparenti contradizioni si ebbero studiando l'azione del cloridrato di idrossilamina sul sangue *in vitro*.

Ad un sangue normale di bue, defibrinato e diluito venne aggiunto un cristallino di cloridrato di idrossilamina. Prima dell'aggiunta si potevano così stabilire le posizioni delle strie:

1) $\alpha = \lambda\ 0{,}589 - 0{,}570$ centro $\lambda\ 0{,}5785$.
2) $\beta = \lambda\ 0{,}555 - 0{,}528$ » $\lambda\ 0{,}541$.

Dopo l'aggiunta, si vede come le due strie vadano notevolmente impallidendo e restringendosi.

3) $\alpha' = \lambda\ 0{,}589 - 0{,}575$ centro $\lambda\ 0{,}5825$.
4) $\beta' = \lambda\ 0{,}555 - 0{,}533$ » $\lambda\ 0{,}543$

contemporaneamente compare nel rosso una pallida stria così limitato

5) $\gamma = \lambda\ 0{,}644 - 0{,}626$ centro $\lambda\ 0{,}635$.

Ossia si ha uno spettro molto simile a quello della metaemoglobina.

Se si aggiunge qualche goccia di solfuro ammonico scompare immediatamente la stria γ ma ne compare un'altra più a destra, pure nel rosso straordinariamente intensa così limitata:

6) $\gamma' = \lambda\ 0{,}630 - 0{,}612$ centro $\lambda\ 0{,}621$.

Le altre due strie impallidiscono un poco, ma anche dopo lungo tempo si possono così limitare:

7) $\alpha'' = \lambda\ 0{,}589 - 0{,}574$ centro $\lambda\ 0{,}582$.
8) $\beta'' = \lambda\ 0{,}555 - 0{,}533$ » $\lambda\ 0{,}543$.

Campo tutto assorbito dopo $\lambda\ 0{,}510$.

Lo spazio fra le due strie α'' β'' benchè chiaro, lo è certo meno di quanto fosse prima dell'aggiunta del solfuro d'ammonio, ciò che sta ad indicare una certa riduzione della metaemoglobina. Riduzione confermata ancora dalla scomparsa della stria γ.

La spettro (3, 4, 5) che come abbiamo detto è tanto simile a quello della metaemoglobina, deve ritenersi per il modo di comportarsi di fronte ai riduttori, uno spettro complesso, ossia formato dalla sovrapposizione dello spettro della metaemoglobina con quello dell'emoglobina ossiazotica. Infatti per aggiunta del solfuro ammonico sparisce la stria γ ed un poco si oscura il campo nel verde tra α'' e β''. E lo spettro che si ottiene ora, è ancora complesso perchè formato dalla sovrapposizione dello spettro dell'emoglobina-ossiazotico, stria α'' β'', e di quello della solfoemoglobina, stria γ'. E che questa stria -γ'- sia proprio quella della solfoemoglobina, appare, oltrechè dalla coincidenza della lunghezza d'onda, dal fatto ancora che, se si adopera come riduttore anzichè il solfuro ammonico, il reattivo di Stockes, scompare la stria γ; permangono, coi caratteri dell'emoglobinaossiazotica, le strie α'' β'' e non compare la γ'.

Le lunghezze d'onda trovate da noi corrispondono assai bene con quelle dati dagli autori.

Metaemoglobina: Data dagli autori	$\alpha : \lambda = 0{,}583$	Trovato	$\lambda = 0{,}5825$.
	$\beta : \lambda = 0{,}541$	»	$\lambda = 0{,}543$.
	$\gamma : \lambda = 0{,}634$	»	$\lambda = 0{,}635$.
Solfoemaglobina: » » (1)	$\lambda = 0{,}6198$	»	$\lambda = 0{,}6210$.
Emoglobinaossiazotica » » (2)	$\alpha : \lambda = 0{,}5805$	»	$\lambda = 0{,}5820$.
	$\beta : \lambda = 0{,}5430$	»	$\alpha = 0{,}5430$.

Tutto ciò può interpretarsi nel modo seguente; ammettendo che l'idrossilamina venga ossidata dal sangue ad acido nitroso ed ossido d'azoto: l'acido nitroso darebbe luogo alla metaemoglobina col suo spettro riducibile, e l'ossido d'azoto, all'emoglobinaossiazotica. Non è difficile spiegare il meccanismo della reazione ammettendo che l'idrossilamina prima di ossidarsi ad acido nitroso passi attraverso la biossiammoniaca.

$$NH_2OH \longrightarrow NH(OH)_2 \longrightarrow N(OH)_3 \text{ o, ciò ch'è lo stesso,}$$
$$NH_2OH \longrightarrow NHO \longrightarrow HNO_2.$$

La biossiammoniaca reagendo coll'acido nitroso darebbe l'ossido di azoto.

$$NHO + HNO_2 = 2NO + H_2O.$$

(1) Vedi J. Formánek, Spektrahanalyse, Berlin, 1905, pag. 285.
(2) Beccari e Rimini, Bollettino R. Acc. med. Rom., 1899, III.

Si potrebbe anche ammettere che la biossiammoniaca passi ad ossido d'azoto per diretta ossidazione:

$$HNO \longrightarrow NO.$$

E che si tratti di un'ossidazione dell'idrossilamina per mezzo del sangue, si può facilmente dimostrare riducendo prima il sangue con solfuro d'ammonio e poi aggiungendo l'idrossilamina: in questo caso permane lo spettro dell'emoglobina ridotta, e compare la stria γ' nel rosso, del solfoemoglobina. Se la riduzione si fa col reattivo di Stockes quest'ultima stria, come era da aspettarsi, non compare [1]. In altre parole l'idrossilamina non viene ossidata da sangue asfittico.

[1] È interessante a notarsi la grande facilità colla quale in presenza di cloridrato di idrossilamina e per l'aggiunta di solfuro ammonico si forma lo spettro della solfoemoglobina. Come è ben noto tale spettro si forma assieme a quello dell'ossiemoglobina se si fa attraversare il sangue da una corrente di H_2S e di aria, o assieme a quella dell'emoglobina ridotta se al sangue si aggiunge un grande eccesso di solfuro ammonico. Ora noi abbiamo visto che anche piccole quantità di solfuro determinano nel sangue trattato con cloridrato di idrossilamina, formazione di notevoli quantità di solfoemoglobina, come si deduce dall'intensità della caratteristica stria; e non si può ammettere che sia l'H_2S liberato per l'acidità del cloridrato di idrossilamina che determini il fenomeno, perchè lo stesso fatto si ha anche alcalinizzando prima il sangue. Già Bertoni e Raimondi (loc. cit.) avevano fatto cenno alla comparsa di questo fenomeno dicendo che se si riduce il sangue con $(NH_4)_2S$ e poi si aggiunge cloridrato di idrossilamina, si forma una stria ben limitata e scura nel campo del rosso. Non è certo cosa semplice lo spiegare perchè l'idrossilamina renda tanto facile la produzione di solfoemoglobina. Noi senza volere affermare nulla con certezza in proposito, tenderemmo ad ammettere che sia la biossiammoniaca che faciliti la formazione in queste condizioni della solfoemoglobina; infatti eguale spettro si ottiene anche se, come abbiamo trovato noi, a sangue alcalinizzato si aggiunge successivamente il sale di Angeli (il nitroidrossilaminato sodico) e solfuro ammonico, oppure se, come hanno trovato Beccari e Rimini, si aggiunga il detto sale al sangue già prima alcalinizzato con solfuro. I suddetti AA. (Annali di Chimica e Farmacologia, N° 4, 1896) trovarono che il sale di Angeli anche in soluzione alcalina si scinde a contatto del sangue in ossido di azoto: ora è verosimile che una parte di detto sale subisca anche la nota scissione alcalina in acido nitroso e biossiammoniaca (A. Angeli, *Sopra alcuni composti ossigenati dell'azoto*. Firenze, 1907, pag. 14).

$$\begin{matrix} NOOH \\ \| \\ NOH \end{matrix} \longrightarrow \begin{matrix} NOOH \\ NOH \end{matrix}$$

la quale in questo caso come nella sua formazione dell'idrossilamina, renderebbe il sangue così facilmente attaccabile dal solfuro ammonico. Se il sale di Angeli si aggiunge al sangue non prima alcalinizzato, nel qual caso subisce completamente la scissione in ossido d'azoto

$$H_2N_2O_3 = H_2O + 2NO$$

allora non si nota assolutamente dopo l'aggiunta del solfuro, la formazione della solfoemoglobina.

L'ossidazione dell'idrossilamina ad ossido di azoto, e la formazione consecutiva di emaglobinaossiazotico ci spiega ora, almeno in parte, perchè l'idrossilamina sia tanto più tossica dell'acido nitroso. Quest' ultimo nel sangue dà luogo soltanto a metaemoglobina assai meno stabile dell'emoglobinaossiazotica, la quale è certo fra i composti più stabili che l'emoglobina formi coi varî gas (come è noto l'emoglobinaossiazotico è ancor più stabile della carbossiemoglobina stessa). Non dobbiamo poi dimenticare che negli animali avvelenati con cloridrato di idrossilamina si riscontrano fatti spiccatissimi di emolisi (emoglobinuria) ed alterazioni profonde degli organi, per cui senza alcun dubbio il meccanismo della sua azione tossica è assai complesso.

Come conclusione possiamo dire:

1) L'idrossilamina è un veleno 4-5 volte più energico dell'acido nitroso.

2) Nel sangue *in vitro* vien ossidata oltre che ad acido nitroso, come finora era stato osservato, anche ad ossido d'azoto, molto probabilmente per formazione intermedia di biossiammoniaca secondo quanto abbiamo esposto.

3) L'ossidazione dell'idrossilamina sarebbe effettuato dall'ossigeno otmosferico per mezzo del sangue che agirebbe da catalizzatore.

4) L'emoglobina ossiazotica oltre che per azione del sale di Angeli (Beccari e Rimini) e per azione dell'ossido d'azoto sul sangue (Hermann, Hoppe-Seyler) si ottiene, benchè mista a metagemoglobina, anche nell'azione dell'idrossilamina.

Chimica. — *Azione dell'ipoazotide sugli aldeidofenilidrazoni.* Nota di R. Ciusa ed U. Pestalozza [1], presentata dal Socio G. Ciamician.

Uno di noi (Ciusa) ha da un certo tempo intrapreso una serie di ricerche comparative sul comportamento chimico delle aldossime e degli aldeidofenilidrazoni [2].

$$R.CH=N-O-H \qquad R.CH=N-\underset{\dot{C}_6H_5}{N}-H$$

[1] Lavoro eseguito nell'Istituto di Chimica generale della R. Università di Bologna.

[2] A questo scopo fu studiata l'azione di un disidratante, il cloruro di zinco, sul benzalfenilidrazone, e si ottenne benzonitrile, con separazione di anilina

$$C_6H_5CH=NOH \longrightarrow C_6H_5CN \longleftarrow C_6H_5CH=NNHC_6H_5 .$$

Fu pure studiata l'azione dell'acido cloridrico gassoso sulle soluzioni anidre degli idrazoni. A freddo si ottengono i rispettivi cloridrati *più o meno intensamente colorati*; a caldo si ottiene un miscuglio di diverse sostanze bianche, colorate intensamente in verde da una sostanza colorante che contemporaneamente si forma. Su ciò verrà riferito in seguito.