

ATTI
DELLA
REALE ACCADEMIA DEI LINCEI

ANNO CCCV.

1908

SERIE QUINTA

RENDICONTI

Classe di scienze fisiche, matematiche e naturali.

VOLUME XVII.

2° SEMESTRE.



ROMA

TIPOGRAFIA DELLA R. ACCADEMIA DEI LINCEI

PROPRIETÀ DEL CAV. V. SALVIUCCI

1908

Chimica. — *L'azione dei vini e degli alcoli studiata sulle rane* ⁽¹⁾. Nota preventiva del prof. VITTORIO NAZARI, presentata dal Socio L. LUCIANI.

Mentre nella letteratura recente non mancano studi sugli alcoli e specialmente su quello etilico, considerati come alimento, molto meno numerosi sono quelli che riguardano l'azione fisiologica e l'azione tossica di queste sostanze. Tale circostanza mi spinse ad intraprendere una serie di esperienze intorno all'importante argomento, delle quali mi accingo a riassumere qui i risultati conseguiti.

Lo scopo preciso delle mie ricerche è stato quello di studiare i fenomeni che si manifestano negli organismi viventi, somministrando ad essi dosi leggere di alcool etilico e di altri alcoli della medesima serie, di quelle dosi, cioè, che non determinano la morte degli animali. Le esperienze sono state eseguite per ora sulle rane, animali che si prestano molto bene a queste ricerche, poichè, oltre ad essere sensibilissime all'azione dell'alcool, possono presentare un periodo tipico di rilasciamento muscolare, dal quale si rianno completamente, quando la dose non è molto forte. Questo periodo veramente tipico di narcosi, corrispondente con tutta probabilità al periodo di ebbrezza nell'uomo, venne utilizzato, per così dire, nella esecuzione delle esperienze necessarie agli studi intrapresi. Esso venne considerato in relazione con il peso delle rane, con la qualità e quantità dell'alcool iniettato e con la durata della narcosi. Nel procedere, pertanto, alle numerose prove, ho pesate le rane ed iniettato, quasi sempre, un centimetro cubico della soluzione alcoolica da sperimentare nella cavità addominale.

La determinazione della ricchezza alcoolica si fece sempre col processo della distillazione. cento cc. di un vino, o di una soluzione alcoolica, esattamente misurati alla temperatura di 15° C., vennero messi in un pallone, a fondo rotondo, della capacità di circa 300 cc., insieme all'acqua di lavaggio del recipiente che conteneva il vino o la soluzione alcoolica. Dopo ciò si incominciava la distillazione e la si sospendeva solo dopo aver distillato, per lo meno, 75 cc. del liquido primitivo. A questo liquido si aggiungeva dell'acqua distillata, fino ad avere un volume di 100 cc., non tralasciando di fare attenzione alla temperatura, che doveva essere di 15°. Dopo ciò veniva determinato il peso specifico del liquido, mediante una bilancia idrostatica ben controllata, sensibile fino alla quarta cifra decimale, e si calcolava il volume dell'alcool per 100 cc., consultando le tavole di Windisch.

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

I risultati delle singole esperienze ordinati secondo il grado di alcoolicità del liquido iniettato, dimostrano che le soluzioni al 4 % su rane il cui peso oscillava da 14 a 18 gr., non produssero narcosi. Con la soluzione alcoolica del 5 %, soltanto in cinque rane mancò la narcosi; il loro peso oscillava da 12 a 18 gr. Le altre presentarono narcosi di durata variabile, che si prolungò per un maggiore intervallo di tempo in quelle meno pesanti (da 10 a 13 gr.), e fu di pochi minuti in quelle più pesanti (da 18 a 20 gr.). Con le soluzioni alcooliche al 7,5 % due rane che pesavano rispettivamente 13 e 15 gr., morirono. Quattro che pesavano, rispettivamente, 26, 28, 29 e 40 gr., non presentarono narcosi; cinque ebbero un periodo narcotico diverso per durata, quantunque il peso delle rane fosse quasi uguale.

Le rane che subirono l'iniezione all'8 %, ad eccezione di una, molto piccola (12 gr.), che morì, entrarono in narcosi per un tempo variabile: tempo non sempre proporzionale al peso dell'animale. Infatti, p. es., si osservò che la narcosi di una rana che pesava 26 gr., durava dieci minuti, mentre quella di un'altra rana che pesava 16 gr., durava soltanto cinque minuti.

Una grande quantità delle esperienze sono state eseguite con una soluzione al 10 %, che rappresenta la ricchezza alcoolica più comune dei vini da pasto. Iniettando questa soluzione si ebbero soltanto quattro casi di assenza di narcosi. Questi risultati però non sono paragonabili, inquantochè, mentre due rane erano del peso medio di 15 a 18 gr., le altre due pesavano, rispettivamente, ben 30 e 38 gr. Non si riesce a spiegare l'assenza della narcosi in questo caso, specialmente nelle rane di medio peso, per le quali, in condizioni analoghe, si è avuta costantemente la narcosi. Viceversa, in altri quattro casi, si osservò la morte, spiegabile, ad un tempo, con la ricchezza alcoolica della soluzione iniettata e con il piccolo peso delle rane sottoposte all'esperienza.

In tutte le altre prove si verificò sempre la narcosi, di durata peraltro variabilissima e non sempre in relazione col peso delle rane. Con le soluzioni che oscillano da 14 a 16°, notiamo nuovamente parecchie assenze di narcosi e due casi di morte. Tutte le altre rane subirono un periodo narcotico più o meno lungo. Le assenze della narcosi si osservarono anche con iniezioni di mezzo cc. di soluzione al 30 %. Invece iniettando un cc. di questa soluzione o mezzo cc. di soluzione al 40 %, si verificò sempre la narcosi e qualche volta anche la morte delle rane.

Finalmente si è osservato avvenire costantemente la morte, usando soluzioni al 50 % anche in rane grosse, così che si può stabilire come, mentre le soluzioni al 4 % non producono alcun sintomo narcotico apprezzabile, e quindi devono ritenersi innocue, quelle al 50 % rappresentano invece la dose minima mortale delle rane.

Consultando poi i risultati delle esperienze ordinati secondo la durata della narcosi, si rileva che l'alcool etilico nelle rane può non produrre alcun

periodo di narcosi o produrne uno più o meno lungo, o dare anche la morte dell'individuo.

Per periodo narcotico venne considerato quello stato di rilasciamento muscolare che sussegue, spesso, a fenomeni di eccitazione o si presenta subito con assenza di questi ultimi. La durata della narcosi venne misurata dal tempo trascorso perchè la rana, messa sul dorso, ritornasse in grado di poter riprendere la sua posizione normale. Era quindi compito speciale quello di precisare il momento in cui la rana entrava in narcosi e di ciò ci si accorgeva mettendola, a brevi intervalli, sul dorso, finchè rimaneva in tale posizione.

Il periodo narcotico veniva, come abbiamo detto, limitato dalla ripresa della posizione normale. Spesso, peraltro, dopo questo periodo di narcosi, le rane rimesse di nuovo sul dorso, vi possono rimanere, sempre, però, per un tempo molto più breve del primo. Tuttavia noi non abbiamo tenuto conto di questo secondo periodo di narcosi.

Ritornando all'esame dei risultati conseguiti, osserviamo come il periodo di narcosi più lungo che si è ottenuto, è quello di 70 minuti. Con molta probabilità l'azione narcotica non scompare a misura che avviene la eliminazione dell'alcool, ma, piuttosto, è da ritenersi sia in relazione agli effetti esercitati dall'alcool sui centri nervosi. Di modo che l'assenza della narcosi starebbe in rapporto con la dose non sufficiente a impressionare questi ultimi. Lo stato narcotico indica, forse, che i centri sono stati funzionalmente lesi, ma sono, tuttavia, capaci di riprendere la loro funzione, che, invece, resterebbe completamente annullata con le dosi ripetute o con le dosi molto forti.

Sulla durata del periodo narcotico nulla si può dedurre di preciso. Esso, certamente, è in relazione con la dose e con il peso dell'animale, ma questo rapporto non è esattamente determinato e molto spesso è in contraddizione. Probabilmente influiscono sullo stato di narcosi altri fattori, che, con i mezzi di indagine che si possiedono, non si poterono stabilire. Se poi esaminiamo le esperienze nelle quali mancò la narcosi, ad eccezione del fatto già notato, che con le soluzioni del 4 %, anche nelle rane più piccole, non si ottengono i fenomeni derivanti dall'azione alcoolica, nulla di più è possibile dedurre, inquantochè gli altri casi rappresenterebbero, se mai, eccezioni alla regola generale di osservare lo stato narcotico per azione dell'alcool.

I risultati infine ordinati secondo il peso delle rane meglio chiariscono come, a peso uguale, le rane, anche con le medesime dosi di alcool etilico, non danno periodo di narcosi della medesima durata. Con ciò non si intende di escludere qualsiasi influenza del peso, limitandoci a dire, soltanto, che, con i mezzi a disposizione, non si può spiegare se e specialmente quanta influenza eserciti il peso delle rane, rispetto all'azione fisiologica dell'alcool etilico. Così nessuna differenza è stata accertata nei fenomeni susseguenti

alla iniezione del vino, in confronto di quelli prodotti dalla iniezione dell'alcool contenuto nel vino stesso, separatovi a mezzo della distillazione ed opportunamente diluito.

Rane anche di ugual peso, hanno presentato narcosi differente, ora di durata maggiore, ora di durata minore, tanto se iniettate col vino, quanto se iniettate con l'alcool estratto dal medesimo vino.

A conferma di questi risultati, citiamo le esperienze eseguite con l'estratto secco del vino.

Evaporando a bagno maria 100 cc. di vino, sciogliendo il residuo in 100 cc. di acqua, questo liquido filtrato e iniettato nelle rane, non solo non si è dimostrato in alcun modo velenoso, ma non produsse nessun sintomo patologico in esse, anche se iniettato in dose maggiore di 1 cc. Di modo che si può senza dubbio ritenere, che tanto vale iniettare una determinata soluzione alcoolica, quanto un vino della medesima gradazione alcoolica.

Stabilito questo fatto, è da ritenere possibile che esso permetta di usufruire del metodo sperimentale seguito, per potere, a mezzo di questi organismi viventi, determinare il grado di alcoolicità dei vini da pasto. Ammettendo, infatti, che l'alcoolicità di questi oscilli dagli 8 ai 12 gradi di alcool, basandosi sul criterio che le soluzioni al 4 % mai danno narcosi, possiamo, con opportune diluizioni di un vino, calcolare, dall'assenza della narcosi, sempre in modo approssimativo, l'alcoolicità di esso. Diluendo, infatti, un campione di vino a metà, e iniettandone 1 cc. ad una rana anche di peso bassissimo, se essa non presenterà fenomeni di narcosi potremo affermare che quel vino avrà un'alcoolicità di 8° o di meno di 8°. Se, invece, la narcosi si presenterà, potremo ritenere che il vino avrà una alcoolicità maggiore di 8°. In questo ultimo caso, per potere meglio stabilire con approssimazione l'alcoolicità del vino, lo diluiremo al terzo e se questo vino iniettato non darà narcosi, allora potremo ritenere che l'alcoolicità di quel vino non supererà i 12°. Se, invece, la narcosi si presenterà, vorrà dire che saremo in presenza di un vino il cui grado alcoolico supererà i 12°. Diluendo ancora il vino al $2\frac{1}{4}$, $2\frac{1}{2}$, $2\frac{3}{4}$, si riuscirà a stabilire se esso ha un'alcoolicità compresa tra gli 8 e i 9°, tra i 9 e i 10°, tra i 10 e gli 11° e tra gli 11 e i 12°. Con ciò non si intende affatto di proporre che questo metodo venga consigliato in sostituzione di quelli chimici e fisici, già da tutti accettati nella pratica perchè facili ed esatti, per determinare la alcoolicità dei vini. Ma abbiamo ritenuto di pariarne, soltanto per dare ancora una prova del fatto che l'organismo animale, spesso, può venire utilizzato come reattivo.

Con l'accennato metodo si potrebbero anche stabilire i diversi periodi del decorso della vinificazione.

Su questo argomento si sono anzi eseguite delle esperienze che qui non si riportano, avendo intenzione di rinnovarle, in modo più completo, alla

prossima vendemmia. Forse allora si potranno risolvere anche altre questioni, riguardanti l'estratto secco ed il diverso effetto dei vini, a seconda della loro età. Si potrà, inoltre, sperimentare meglio l'effetto dei mosti, in piccola misura già provati e di speciali bevande alcooliche, come il Marsala, i Vermouth, la Birra, ecc.

A conferma dei risultati ottenuti con l'alcool etilico, poichè nei vari liquidi alcoolici sono contenuti anche altri alcoli in proporzioni variabili, abbiamo creduto conveniente di estendere le ricerche con alcuni di essi, studiando i primi sintomi di avvelenamento, cioè il periodo narcotico, come abbiamo fatto con l'alcool etilico.

La serie degli alcoli monovalenti che abbiamo sperimentata, comprende l'alcool metilico (CH^3OH), il propilico ($\text{C}^3\text{H}^7\text{OH}$), l'isobutilico ($\text{C}^4\text{H}^9\text{OH}$), l'isoamilico e l'amilico ($\text{C}^5\text{H}^{11}\text{OH}$). Questi alcoli, ad eccezione dell'alcool metilico, si ottengono tutti per fermentazione. Essi, per quanto riguarda la loro azione tossica, sono stati studiati dal Rabuteau, dal Dujardin-Beaumetz e da molti altri.

In generale tutti sono d'accordo nell'ammettere che l'azione tossica di questi alcoli aumenta, per quanto più sono ricchi di carbonio e di idrogeno. Alla medesima conclusione hanno condotto le attuali prove, studiando, cioè, la dose minima con la quale si manifesta la narcosi nelle rane.

In primo luogo diremo come questa narcosi si ottiene con tutti gli alcoli che abbiamo passati in rassegna, e non dimostra differenze notevoli nei sintomi. Un'eccezione alla regola sopra enunciata si notò nello studio dell'alcool metilico, il quale, pure essendo meno ricco di carbonio dell'alcool etilico, tuttavia dimostra di essere più velenoso.

Infatti abbiamo visto che l'alcool etilico in soluzione al 4 % e nella dose di 1 cc., non produce nelle rane alcun fenomeno di narcosi. Invece per ottenere la medesima assenza di fenomeni con l'alcool metilico, bisogna usare soluzioni più diluite, cioè quelle del 3 %.

Tutti gli altri alcoli, nella loro azione narcotica, presentano una gradazione bene accertata. Così l'alcool propilico è più velenoso dell'etilico, dando l'assenza di narcosi tra l'1 ed il 2 %. L'alcool isobutilico al 2 % è narcotico, mentre non lo è all'1 %. L'alcool isoamilico non dà azione narcotica con una soluzione del 0,25 %, mentre la dà con soluzione del 0,50 % e, finalmente, l'alcool amilico, insolubile, il quale si è dimostrato più velenoso di tutti, non produce azione narcotica quando, sotto la cute se ne lascia cadere un'unica goccia da un ago della siringa di Pravaz, da noi adoperata, la cui quantità è stata calcolata a gr. 0,0071, dato e non concesso che un cc. di questo alcool pesi un grammo come l'acqua. Quando le gocce invece di una siano tre, cioè, in peso, gr. 0,0213, si presenta sempre il periodo narcotico. Nelle nostre esperienze soltanto una rana grossa, che pesava 36 grammi, resistette all'azione della dose sopra accennata.

Non si è per tutti gli alcoli studiata la dose minima mortale, che non presentava un grande interesse, limitando le ricerche agli alcoli amilici, dei quali si è dimostrato che basta una piccolissima quantità per produrre la morte delle rane. Infatti con l'alcool isoamilico si ha la morte, sempre, con le soluzioni al 2 % e con l'alcool amilico si ottiene con dose ancora minore, cioè con gr. 0,05. Abbiamo detto che questi alcoli, ad eccezione del metilico, si ottengono nella fermentazione. Infatti l'alcool propilico si prepara per distillazione frazionata dagli altri alcoli contenuti nelle acquaviti di vinacce. L'alcool butilico, scoperto dal Würtz nel 1852 nell'olio di barbabietola, si ottiene anch'esso per distillazione frazionata. L'alcool amilico si trova pure abbondantemente nell'acquavite di patate, di barbabietole e di vinacce e, a differenza degli altri, è completamente insolubile nell'acqua.

Tutti questi alcoli sono capaci di dare alcoolismo acuto e alcoolismo cronico e, come si è detto, la loro azione tossica aumenta col crescere degli atomi di carbonio e di idrogeno contenuti nella loro molecola.

La medesima legge possiamo ora sostenere riguardo ai fenomeni di narcosi, per il presentarsi dei quali occorrono sempre dosi più piccole, a misura che si procede nella serie degli alcoli. Non possiamo però trascurare di far presenti le osservazioni del Chirone, alla legge del Dujardin-Beaumez. Il Chirone (*) nota che nella serie degli alcoli ottenuti per fermentazione, bisogna anche considerare che l'effetto locale di queste sostanze diminuisce, a misura che ci eleviamo nella serie.

L'azione locale è dovuta al fatto che questi alcoli, al contatto dei tessuti, li disidratano, mentre ne coagulano l'albumina. E poichè l'alcool etilico ha grandissima avidità per l'acqua, mentre l'alcool amilico vi è insolubile, ne viene di conseguenza che l'azione coagulante sull'albumina è massima nel primo e nulla nel secondo; e siccome l'azione locale si oppone all'assorbimento del farmaco, si può anche da questo lato spiegare la differenza nella quantità che occorre usare per ottenere la narcosi.

L'azione degli alcoli deve, pertanto, dipendere anche dalle proprietà fisico-chimiche di essi e non soltanto della loro composizione elementare. Contro, infatti, alla legge di Dujardin-Beaumez stanno gli studi sull'azione degli altri alcoli mono-atomici, tra cui il metilico, l'enantilico, il caprilico ed il cetilico, i quali non seguono la legge riscontrata per gli alcoli prodotti da fermentazioni. Infatti si è riscontrato che l'azione di questi alcoli dipende, principalmente, dalla loro maggiore o minore solubilità. Però anche questa legge soffre delle eccezioni, poichè l'alcool cetilico, pure essendo completamente insolubile, è inattivo, mentre ciò non succede per l'alcool amilico il quale è velenosissimo, mentre è ugualmente del tutto insolubile.

(*) Manuale di materia medica e terapeutica. Napoli, Casa Editrice cav. dott. N. Pasquale.

Entra dunque in azione, con tutta probabilità, un altro fattore, che riguarda l'assorbibilità del farmaco e, forse, anche le modificazioni strutturali che la serie alcoolica va subendo nei termini più alti.

Il cetilico, infatti, è un alcool che si ottiene dallo spermaceti e quindi si avvicina più, anche per la sua azione fisiologica, ai grassi, anzichè agli alcoli.

* * *

Dal complesso delle esperienze risulta chiaramente, anzitutto, come per le rane, al pari che nei mammiferi e nell'uomo, esiste una dose alcoolica la quale si limita a causare dei fenomeni di narcosi, producendo, cioè, uno stato completo di rilasciamento muscolare, dal quale l'animale ritorna *ad integrum*, mostrando, dopo, di non aver risentito disturbi permanenti.

Esistono pure delle dosi, inferiori a quelle che determinano la narcosi, le quali non producono sulle rane alcun fenomeno.

Uno studio altrettanto accurato e minuto potrebbe, forse, mettere in grado di vedere se queste minime dosi, pur non manifestando influenza sullo stato del sistema nervoso, abbiano, o, comunque, spieghino azione sul cuore e sugli altri organi.

Sarebbe pure interessante provare se tali dosi minime, continuate per moltissimo tempo, riescano a causare un vero e proprio avvelenamento, od almeno un deterioramento permanente nell'organismo.

Non bisogna però dimenticare che nel vino si riscontrano spesso delle piccole quantità di altri alcoli, i quali sono più tossici e quindi concorrono indubbiamente a rinforzare, per così dire, l'azione dell'alcol etilico.

Rammento, infine, come l'assenza dei fenomeni di narcosi, possa, fino da ora, dare un'idea abbastanza approssimativa dell'alcoolicità di un vino iniettato nelle rane.

Provando in seguito un maggior numero di soluzioni alcooliche sempre più diluite, si potrà, certamente, riuscire a determinare, entro limiti ancora molto più ristretti, l'alcoolicità di un vino o di una qualsiasi altra soluzione alcoolica. E con lo stesso metodo si riuscirà, anche, a stabilire i diversi periodi del decorso della vinificazione.

Di queste prove biologiche e delle altre numerose questioni che vengono additate dai risultati delle esperienze eseguite, spero di potere occuparmi quanto prima.

Questi studi e queste esperienze potrebbero, infatti, riuscire anche di notevole utilità per la pratica, recando un contributo per risolvere la eterna questione, acuitasi in questi ultimi tempi per l'aumento della produzione, relativa agli effetti, sull'organismo umano, dell'uso moderato delle bevande alcooliche ed in special modo del vino.