

ATTI
DELLA
REALE ACCADEMIA DEI LINCEI
ANNO CCCXVII.

1920

SERIE QUINTA

RENDICONTI

Classe di scienze fisiche, matematiche e naturali.

VOLUME XXIX.

1° SEMESTRE.



ROMA

TIPOGRAFIA DELLA R. ACCADEMIA DEI LINCEI
PROPRIETÀ DEL DOTT. PIO BEFANI

1920

Chimica vegetale. — *Sull'influenza di alcune sostanze organiche sullo sviluppo delle piante.* Nota IV del Socio G. CIAMICIAN e di C. RAVENNA.

Gli studi a cui attendiamo da alcuni anni sono per necessità di tale natura da dare origine a sempre nuovi problemi, per cui ogni serie di esperienze ne richiama delle altre; così questa Nota è la necessaria conseguenza delle precedenti⁽¹⁾. Anche in questa serie di esperienze le piantine di fagioli vennero coltivate su cotone idrofilo in germinatoi di vetro o di ferro zincato ed innaffiate colle soluzioni all'1 per mille delle sostanze impiegate.

Come avevamo dimostrato l'anno scorso, le metilamine aumentano di velenosità col crescere dei metili in essi contenuti; mancava peraltro finora, per la conoscenza dell'argomento, lo studio del contegno delle amine superiori, e ciò tanto più in quanto che l'isoamilamina s'era mostrata fortemente tossica: ci sembrava necessario confrontarla con quella normale che, a nostro avviso, non avrebbe dovuto esserlo. Comparando l'azione delle cinque prime amine a catena normale, metilamina, $\text{CH}_3 \cdot \text{NH}_2$; etilamina, $\text{CH}_3 \cdot \text{CH}_2 \cdot \text{NH}_2$; propilamina, $\text{CH}_3 \cdot \text{CH}_2 \cdot \text{CH}_2 \cdot \text{NH}_2$; butilamina, $\text{CH}_3 \cdot \text{CH}_2 \cdot \text{CH}_2 \cdot \text{CH}_2 \cdot \text{NH}_2$ ed amilamina, $\text{CH}_3 \cdot \text{CH}_2 \cdot \text{CH}_2 \cdot \text{CH}_2 \cdot \text{CH}_2 \cdot \text{NH}_2$, è risultato, fatta eccezione della prima, una graduale diminuzione della tossicità, in perfetto parallelo col crescere della catena degli atomi di carbonio; l'azione si manifesta col successivo apparire di macchie giallastre traslucide sulle foglie, che colla etilamina condussero alla morte delle piantine, con le altre gradualmente ad una vita meno stentata. La metilamina è meno tossica delle altre e sta in contrasto con la etilamina che esercita sulle piantine la maggiore azione: questo fatto di singolare rilievo potrà dare origine ad altri studi.

L'*isoamilamina* $(\text{CH}_3)_2 \cdot \text{CH} \cdot \text{CH}_2 \cdot \text{CH}_2 \cdot \text{NH}_2$ si mostrò, in contrasto coll'amilamina normale, assai più velenosa ed inoltre determinò un caratteristico albinismo delle foglie composte, per cui esse apparivano del tutto prive di clorofilla oppure verdi lungo le principali nervature e bianche nel resto. Questo albinismo ricorda quello prodotto dalla nicotina; e però una tale corrispondenza, se non è fortuita, presenta un certo interesse, che invita a nuovi studi perchè l'isoamilamina, come noi abbiamo trovato, accompagna la nicotina nel tabacco.

⁽¹⁾ Questi Rendiconti, serie V, vol. 26, I, pag. 4; vol. 27, I, pag. 38; vol. 28, I, pag. 13.

La tossicità dell'isoamilamina in confronto coll'amilamina normale dipende evidentemente dalla presenza di un secondo metile nel radicale alcolico, ed appariva perciò opportuno di ricercare se anche in altri casi la catena spezzata esercitava un'analogha influenza. Abbiamo a questo scopo comparato l'azione del *butirrato potassico normale*, $\text{CH}_3 \cdot \text{CH}_2 \cdot \text{CH}_2 \cdot \text{COOH}$, con quella dell'*isobutirrato*, $(\text{CH}_3)_2 : \text{CH} \cdot \text{COOH}$; ed abbiamo realmente trovato che, mentre le piantine trattate col primo presentavano sviluppo pressochè indisturbato, il secondo determinò, per la parziale caduta delle foglie, una vita stentata e sofferente.

Ci parve inoltre interessante di esaminare il contegno delle amidi per compararlo a quello delle amine; a tale scopo abbiamo sperimentato la *formamide*, $\text{H} \cdot \text{CO} \cdot \text{NH}_2$, e l'*acetamide*, $\text{CH}_3 \cdot \text{CO} \cdot \text{NH}_2$; ma soltanto la prima si mostrò deleteria, producendo la caduta delle foglie primordiali. La sua azione dipende probabilmente dalla presenza del radicale aldeidico, mentre la completa innocuità dell'acetamide starebbe a dimostrare che il radicale acetilico nell'ammoniaca non determina un'azione sensibile; ciò si accorderebbe col contegno della metilamina che è essa pure poco velenosa.

Abbiamo voluto vedere se l'*acido ossalico*, $\text{COOH} \cdot \text{COOH}$, fosse più tossico del *succinico*, $\text{COOH} \cdot \text{CH}_2 \cdot \text{CH}_2 \cdot \text{COOH}$, in relazione coll'influenza della lunghezza della catena normale già osservata con le amine; e realmente il primo determina uno sviluppo più stentato del secondo.

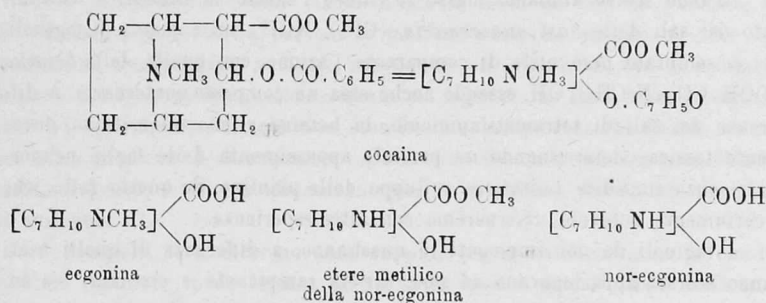
Alle esperienze fatte l'anno scorso col salicitato di metile in confronto con quello potassico, appariva opportuno aggiungerne delle altre per vedere se i radicali alcolici, anche in altri eteri composti, manifestavano un'azione tossica. A tale scopo abbiamo prescelto, anche per la loro grande solubilità, i *tartarati di metile e di etile* i quali, in comparazione col *tartarato potassico* innocuo, produssero delle macchie traslucide sulle foglie primordiali, macchie che determinarono un lento disseccamento delle piantine ed il secondo in grado maggiore del primo.

Nelle esperienze fatte finora non abbiamo esaminato l'influenza dei metili sui nuclei eterociclici non idrogenati, all'infuori dell'indolo e dell' α -metilindolo, dove, per l'insufficiente solubilità di quest'ultimo, la prova rimase incerta. Abbiamo sperimentato perciò la *piridina*, $\text{C}_5 \text{H}_5 \text{N}$, in comparazione colla *metilpiridina* o *picolina*, $\text{C}_5 \text{H}_4 (\text{CH}_3) \text{N}$; e mentre la prima, come già avevamo trovato l'anno scorso, permette uno sviluppo normale, la seconda esercita un lieve effetto tossico, che si manifesta con delle macchie gialle sulle foglie primordiali ed anche su quelle composte, peraltro senza che tali lesioni rechino grave danno alle piantine. La regola dell'influenza dei metili resta così ulteriormente provata; ma essa è meno evidente che nei derivati della piperidina, $\text{C}_5 \text{H}_{10} \text{NH}$, perchè, mentre questa è soltanto lievemente tossica, lo sono in alto grado i suoi derivati come ad esempio l'*n*-metilpiperidina, $\text{C}_5 \text{H}_{10} \text{NCH}_3$, e la conina, $\text{C}_5 \text{H}_9 (\text{C}_3 \text{H}_7) \text{NH}$. Potrebbe

però darsi che l'idrogenazione avesse anch'essa un'influenza, ciò che potrà essere confermato da nuove ricerche.

In più stretta relazione con gli indoli stanno le chinoline, per cui abbiamo sperimentato l'azione della *chinolina* stessa e dell'*isochinolina*, C_9H_7N , in confronto coll'*α-metilchinolina*, $C_9H_6(CH_3)N$ o *chinaldina*. Tutte queste basi sono fortemente tossiche ed attaccano le piantine di fagioli al colletto in modo da farle cadere, per cui la loro azione ricorda assai da vicino quella degli indoli; in questo caso peraltro s'è potuto accertare che la chinaldina è più velenosa delle due prime, che s'equivalgono.

Fra tutte le esperienze fatte finora per dimostrare l'influenza dei radicali alcoolici ed acidi sull'azione dei composti organici sulle piante, la più dimostrativa è quella che abbiamo eseguita la scorsa estate con la cocaina ed i suoi derivati. Questo alcaloide esercita, come avevamo già dimostrato l'anno scorso, sulle piantine di fagioli un'azione decisamente e caratteristicamente tossica⁽¹⁾ in modo da farle perire in pochi giorni. Impiegando quest'anno, in comparazione colla cocaina, l'ecgonina, l'etere metilico della nor-ecgonina e finalmente la nor-ecgonina stessa; togliendo dunque al prodotto naturale, per così dire, tutti i suoi ornamenti chimici, cioè il benzoile ed i due metili,



abbiamo potuto dimostrare nel modo più evidente il contrasto biologico che esiste fra il composto fondamentale, la nor-ecgonina, ed i suoi derivati metilati e benzoilato. Come si è detto, la cocaina è fortemente tossica e produce nelle foglie primordiali macchie brune caratteristiche per cui le piantine periscono prima di poter sviluppare le prime foglie composte; la ecgonina e l'etere metilico della nor-ecgonina invece, pur causando la comparsa di quelle macchie sulle foglie primordiali, non impediscono l'ulteriore sviluppo delle piantine, che fu più stentato con la prima che non con la se-

(1) Il prof. Albertoni ci ha fatto gentilmente notare che la cocaina ha un'azione protoplasmatica. Vedi il suo lavoro nell'*Archiv für die gesamte Physiologie*, vol. 48, pag. 307, (1891).

conda. La nor-ecgonina infine non esercita nessuna azione tossica, per cui le piantine con essa trattate non dimostrano alcuna differenza dai testimoni.

Questo risultato viene a confermare nel modo più brillante il concetto da noi più volte esposto, che cioè le piante modifichino i composti in guisa da accentuarne l'azione, che deve essere evidentemente diretta a qualche scopo bene determinato. Le piante che producono il nucleo fondamentale piperidin-pirrolidinico degli alcaloidi della coca e della belladonna potrebbero, se non lo espellono per transudazione o non lo distruggono per ossidazione, conservarlo nel loro interno inalterato qualora esso non dovesse avere altra importanza che quella di un innocuo prodotto escrementizio; invece, come nella cocaina e nell'atropina, con opportune modificazioni ne fanno dei corpi attivi. Deve però apparire innegabile l'influenza dei diversi radicali o delle catene laterali, sebbene sia ancora del tutto oscuro il meccanismo chimico per cui essi esercitano la loro azione sugli organismi. Giova qui ricordare come anche la sostanza adibita alla più importante funzione nel regno vegetale, la clorofilla, contenga nel complesso pirrolico e nel fitolo tutta una serie di radicali etilici e metilici; e così si può intendere perchè nei terpeni e nelle canfore sia contenuto il gruppo isopropilico e non quello propilico normale.

L'anno scorso abbiamo messo in rilievo l'effetto caratteristico determinato dai sali delle *basi quaternarie*, $(\text{CH}_3)_4\text{NOH}$, sulle piante di fagioli. Ci è sembrato però utile di compararne l'azione con quella della *betaina* $\text{COOH} \cdot \text{CH}_2 \cdot \text{N}(\text{CH}_3)_3 \text{OH}$, essendo anche essa un composto quaternario. A differenza dei sali di tetrametilammonio, la betaina si mostrò soltanto lievemente tossica, determinando un parziale appassimento delle foglie primordiali senza impedire l'ulteriore sviluppo delle piantine. Su questo fatto, che è certamente notevole, ritorneremo con altre esperienze.

I fagioli da noi impiegati in quest'anno, a differenza di quelli usati l'anno scorso, appartenevano ad una varietà rampicante e crediamo sia dovuto a questa particolarità se l'abito assunto in seguito al trattamento coi sali di tetrametilammonio non corrispondeva a quello, tanto caratteristico, allora descritto; come venne rilevato, le seconde foglie sembravano partire dallo stesso verticillo delle prime, essendo assai ridotto il relativo fusticino. Colla varietà rampicante impiegata la scorsa estate, le piantine deperirono anche più presto per arresto di accrescimento e disfacimento del fusto in prossimità del colletto, ma non mostrarono affatto quell'aspetto particolare summenzionato: cosa che potrebbe stare in relazione col grande sviluppo degli steli che caratterizza appunto le piante rampicanti⁽¹⁾.

Già altra volta avevamo accennato come, fra le piante impiegate finora, i fagioli comuni siano quelli che di gran lunga meglio si prestano ai nostri

(¹) Vedi Nota II, questi Rendiconti, vol. 27, I, pag. 38, (1918).

studi; il mais, le barbabietole, il tabacco ed i lupini si mostrarono, a parità di condizioni, assai meno sensibili alle sostanze da noi sperimentate: e, se pure ne risentirono l'azione, non modificarono mai il loro abito. Per completare queste prove e ricercare se fra le altre piante comuni se ne trovassero di più adatte ed anche per vedere se il loro contegno corrispondesse a quello dei fagioli, abbiamo esaminato la scorsa estate le fave, le zucche ed i pomodori. Il risultato non fu molto incoraggiante, perchè con nessuna delle tre specie abbiamo raggiunti, neppure lontanamente, gli effetti che così spiccatamente presentano i fagioli. Tuttavia abbiamo potuto rilevare che le sostanze per essi più attive (come la trimetilamina, i sali di tetrametilammonio, la caffeina, la teobromina, la nicotina e la codeina) esercitano un'influenza analoga a quella osservata nei fagioli e presso a poco nella stessa graduazione, in modo che la caffeina apparisce sempre la più tossica e le altre in corrispondente misura.

Colle fave si notò in genere un annerimento assai poco caratteristico delle foglie e dei fusti; l'effetto tossico maggiore si ebbe colla caffeina e poi successivamente in minor misura colla trimetilamina e con la nicotina, un po' meno marcato con la codeina; la morfina, come nei fagioli, si dimostrò la meno tossica, tanto da consentire uno sviluppo pressochè normale.

Con le zucche si ebbero fenomeni più distinti. La caffeina produsse il disseccamento delle foglie, per cui le piantine perirono, mentre che con la teobromina continuarono a vivere mostrando un albinismo che presentava qualche somiglianza con quello osservato nei fagioli, ma assai meno caratteristico ed appariscente. La nicotina esercitò una marcata azione tossica, senza per altro produrre il caratteristico albinismo osservato nei fagioli. Finalmente il fosfato di tetrametilammonio, tossico anch'esso, determinò l'arresto di sviluppo.

I pomodori si mostrarono assai sensibili per la caffeina, in modo che le piantine perirono; meno intensa fu anche in questo caso l'azione della teobromina. La nicotina produsse un albinismo ai bordi delle foglie, che presentava qualche analogia con quello dei fagioli. Il fosfato di tetrametilammonio determinò qui pure l'arresto di sviluppo.

Queste esperienze dimostrano dunque che gli alcaloidi sperimentati sono in genere velenosi per varie specie di piante, sebbene in forma ed in grado assai diverso.

Avevamo rilevato già l'anno scorso⁽¹⁾ che le sostanze tossiche da noi impiegate influiscono sulla formazione dell'amido e sulla sua scomparsa durante la notte, e ciò sopra tutto colla teobromina e con la caffeina. Segnatamente con la prima (perchè, essendo la caffeina assai venefica, determina troppo presto l'essiccamento delle piantine) avevamo osservato un notevole

(¹) Vedi Nota III, questi Rendiconti, vol. 28, I, pag. 18, (1919).

sviluppo delle foglie primordiali e la formazione di grandi quantità di amido in modo che non soltanto la reazione coll'iodio appariva assai intensa nelle foglie illuminate, ma si manteneva tale dopo il riposo notturno anche in quella parte che era stata sottratta all'azione della luce con la nota esperienza della lista di carta nera. Abbiamo ripetuto la prova seguendo l'intero sviluppo delle piantine innaffiate colla teobromina ed abbiamo osservato, confermando le esperienze dello scorso anno, che mentre da principio la reazione dell'amido è normale, col crescere delle foglie primordiali e col manifestarsi del caratteristico fenomeno di albinismo, prodotto da questo alcaloide, essa diviene sempre più intensa per raggiungere un massimo e declinare poi lentamente fino a ritornare normale e finire con la scomparsa quando le foglie si avvicinano all'appassimento. A questa eccessiva produzione di amido nel colmo dello sviluppo delle piantine corrisponde un maggiore accrescimento; tanto è vero che, comparando il peso delle foglie della stessa età, abbiamo trovato che quelle che avevano ricevuto l'alcaloide pesavano il doppio dei testimoni. La teobromina ed anche la caffeina stimolano quindi la funzione clorofilliana, e però la produzione dell'amido, in modo da determinare un più rigoglioso sviluppo fogliare. Apparisce quindi probabile che il persistere dell'amido durante la notte nelle foglie dipenda da questa più copiosa produzione, piuttosto che da insufficiente riassorbimento.

Nel corso delle nostre esperienze abbiamo avuto più volte occasione di insistere sul fatto che le diverse sostanze impiegate determinano nei fagioli un colore verde più cupo delle foglie, che persino talvolta sembrerebbe diverso da quello della clorofilla. Appariva però interessante di ricercare se realmente si trattasse di un nuovo pigmento oppure se il colore più intenso dipendesse da una maggiore quantità di clorofilla. Per risolvere la questione, ci siamo giovati della morfina e della pirocatechina che producono il fenomeno in modo assai marcato; ed abbiamo comparato lo spettro di assorbimento dell'estratto alcoolico delle foglie intensamente colorate delle piantine trattate colle due sostanze, con quello di una pianta campione. Nei rispettivi spettri non si notò alcuna diversità qualitativa, ma soltanto una differente intensità di assorbimento; ciò prova dunque che la materia colorante era la stessa, ma contenuta in diversa misura. Per determinarne la quantità, abbiamo eseguito una misura fotometrica servendoci della banda caratteristica della clorofilla situata fra le linee D e C di Fraunhofer: comparando gli estratti alcoolici di foglie di peso uguale di piantine trattate con pirocatechina e di testimoni, abbiamo trovato che le prime contenevano una doppia quantità di clorofilla. Nonpertanto la prova col iodio dimostrò che nelle foglie delle piantine trattate colla morfina e con la pirocatechina l'amido non era contenuto in quantità maggiori che in quelle di controllo. Si deve quindi concludere che la quantità di amido non sta in relazione coll'intensità del colore verde delle foglie e che, mentre la maggior parte delle sostanze tos-

siche da noi impiegate favoriscono quest'ultimo fenomeno, ve ne sono delle altre, come la teobromina, che determinano l'effetto inverso.

Resta quindi provato che le sostanze tossiche sperimentate influiscono sulla funzione clorofilliana: e ciò si accorda col fatto che esse non limitano la loro azione sulle radici, ma penetrano anche nelle piantine. Questo assorbimento, già da noi dimostrato per la nicotina⁽¹⁾, venne confermato questo anno con altri corpi dosando nelle piantine il contenuto delle sostanze somministrate per innaffiamento. Con opportuni metodi abbiamo riscontrato con la trimetilamina un contenuto del 0,22, colla piridina del 0,16, colla piperidina del 4,70 per mille di piante fresche; colla caffeina del 8,53 e colla teobromina del 2,66 per mille di piante secche. Abbiamo sperimentato anche la pirocatechina, ma non se ne trovò traccia nelle piantine esaminate; questo risultato non deve apparire strano quando si comparino fra loro i susposti numeri che variano entro limiti assai larghi dipendenti forse in parte dalla maggiore o minore resistenza che la materia somministrata oppone all'azione degli agenti ossidanti delle piante. Per la pirocatechina abbiamo già altra volta dimostrato che essa viene quasi totalmente distrutta già dagli enzimi ossidanti contenuti negli foglie di spinaci⁽²⁾.

Queste esperienze invitano ad ulteriori studi diretti a ricercare la relazione che potrebbe esistere tra l'effetto prodotto dalle sostanze somministrate e la loro resistenza agli agenti ossidanti, o altrimenti distruttivi, contenuti nelle piante; resterà peraltro sempre assai difficile lo spiegare quale meccanismo chimico e biologico determini le azioni tossiche delle sostanze da noi fin qui sperimentate.

Infine esprimiamo alla signorina dott. Paolina Cicognari i nostri ringraziamenti per il diligente ed intelligente aiuto che ci ha prestato in queste ricerche.

(¹) Vedi Nota I, questi Rendiconti, vol. 26, I, pag. 7, (1917).

(²) Vedi la nostra Memoria: *Sul contegno di alcune sostanze organiche nei vegetali*. Gazzetta chimica italiana, 47, II, pag. 124, (1917).