

ATTI  
DELLA  
REALE ACCADEMIA NAZIONALE  
DEI LINCEI

ANNO CCCXVIII.

1921

SERIE QUINTA

RENDICONTI

Classe di scienze fisiche, matematiche e naturali.

VOLUME XXX.

2° SEMESTRE.



ROMA

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

1921

Chimica biologica. — *Pirrolo e Melanuria* <sup>(1)</sup>. Nota VI di PIETRO SACCARDI, presentata dal Socio A. ANGELI <sup>(2)</sup>.

Nelle numerosissime analisi d'orine eseguite su individui melanotici, o dopo ossidazione intraorganica di composti pirrolici, noto una rimarchevole concomitanza fra le reazioni di ossidazione di tali orine <sup>(3)</sup> e la diazoreazione di Ehrlich. Potei accertarmi di ciò in:

a) ESPERIMENTI DI MELANURIA NATURALE, che furono eseguiti sulle orine di un giovane trentaquattrenne ricoverato nella clinica chirurgica di questa Università per papillomi melanotici estesissimi alcuni dei quali furono estirpati, ma poi fu rimandato con dichiarazione d'incurabilità. Le orine, che all'emissione sono aranciate, diventano poi rossicce e quindi brune senza presentare all'analisi alcunchè di patologico salvo un imbrunimento notevole con i reattivi altre volte usati per la ricerca del melanogeno. La reazione di Thormählen è lieve, la diazoreazione è pure lieve.

Un altro giovane trentaduenne, curato per diagnosi di encefalite alcoolica ha presentato importanti fenomeni di nefrite. Le orine, analizzate da me solo a guarigione quasi ottenuta, erano di colore giallo-aranciato, non presentavano altro che tracce d'albumina, imbrunivano lievemente col tempo all'aria e davano colorazioni brune con i reattivi del melanogeno. Il Thormählen era positivo, la diazoreazione ben netta. Durante una settimana le orine quotidiane presentano sempre più debole la reazione di Thormählen parallelamente alla diazoreazione ed alle reazioni di ossidazione. Dopo un'altra settimana il paziente, venuto a congedarsi, non mostrava nelle orine che tracce minime delle suddette reazioni.

b) ESPERIMENTI DI MELANURIA ARTIFICIALE. — Avendo io ingerito gr. 0,5-0-8 di pirrolo, ed in altra epoca gr. 0,5 di  $\alpha$ - $\alpha$  di metilpirrolo, la diazoreazione si manifestò subito all'apparire delle reazioni di ossidazione cessando allorchè l'organismo mostrò d'aver eliminato tutti i prodotti pirrolici. Gli stesi fenomeni si hanno per iniezione sottocutanea di pirrolo, di  $\alpha$ - $\alpha$  dimetilpirrolo e di cloridrato di pirrolina. Avendo eseguite decine e decine

<sup>(1)</sup> Lavoro eseguito nel Laboratorio Chimico della L. Università di Camerino.

<sup>(2)</sup> Pervenuta all'Accademia il 6 giugno 1921.

<sup>(3)</sup> *Pirrolo e melanuria*, Nota I. Questi Rendic. XXVIII, 1° sem., 1919. Nota II. Ibid., XXVIII, 2° sem., 1919. Nota III. Gazz. Chim. Ital., L, II, fasc. III. Nota IV. Ibid., LI, II, fasc. I. Nota. V. Boll. Soc. Eustachiana, XIX, 1° sem., 1921.

di analisi di urine melanotiche naturali ed artificiali, posso assicurare che mai è venuta meno la concomitanza fra la reazione di Thormählen e la diazoreazione di Ehrlich. Dopo ciò ho motivo di aspettarmi che essa non manchi neppure nelle urine che presentano la Fleischreaktion di Arnold.

Nè si può obiettare che le reazioni constatate nelle urine si debbano ai composti pirrolici iniettati non solo perchè i composti studiati sono facilmente ossidabili (il pirrolo e l' $\alpha$ - $\alpha$  dimetilpirrolo si alterano anche all'aria ed alla luce) ma anche perchè il melanogeno, che da quelle sostanze compare nelle urine, non passa in etere come dovrebbe avvenire se il pirrolo o l' $\alpha$ - $\alpha$  dimetilpirrolo si eliminassero inalterati.

Da tutto ciò è logico sospettare che la diazoreazione di Ehrlich, si debba ad alcuni complessi ciclici della molecola proteica a cui non possono essere estranei derivati del pirrolo come lo confermano altri fatti più oltre accennati.

Ho notato inoltre che urine di cavie e di conigli, dopo ingestione di composti pirrolici studiati, sono brune fino dall'emissione; le urine umane sono invece aranciate all'emissione e non diventano brune all'aria, soprattutto alla superficie, altro che dopo la fermentazione ammoniacale. Il melanogeno non si libera o si manifesta adunque nella sua fase ossidativa, adunque altro che in ambiente alcalino, che nelle urine degli erbivori già preesiste, mentre nelle urine umane è subordinato a processi fermentativi che le rendono alcaline. Si potrebbe da ciò sospettare che il melanogeno — prodotto labile intermedio fra composti pirrolici e melanine — sia una base debole spostata dalla base più forte (ammoniaca), oppure un sale di un acido debole con l'ammoniaca, tant'è vero che le urine melanotiche brune perdono il loro colore per acidificazione con acidi diluiti e non rimbruniscono all'aria altro che con ammoniaca. L'idrato di potassa o di soda pare invece che tolgano loro definitivamente questa proprietà.

Esperimenti intesi ad isolare il melanogeno non sono, fino ad ora, riusciti; il melanogeno, come si disse, è insolubile in tutti i solventi anidri comunemente usati, è invece solubile in alcool metilico ed etilico. Al metodo di Eppinger, che consiste nel trattare con solfuro ammonico il precipitato ottenuto dalle urine melanotiche acidificate con acido solforico e trattate con solfato mercurico, può far seguito quello citato dal Pighini della estrazione amilica delle urine appena emesse. Infatti l'alcool amilico finisce per colorarsi col tempo in bruno od in rosso e dà assai più accentuata la diazoreazione e le altre reazioni di ossidazione. I liquidi estratti non rimangono però privi di melanogeno e, d'altra parte, è difficile estrarre il melanogeno dall'alcool amilico senza ossidarlo.

Il melanogeno però si può avere sotto forma concentrata e separato da molte sostanze contenute nell'urina senza alterare le sue proprietà.

Basta infatti acidificare con acido acetico un'urina melanotica naturale

od artificiale, trattarla con lieve eccesso d'acetato di piombo, spiombare con acido solfidrico ed eliminare l'acido solfidrico concentrando a b. m. per ottenere un liquido che, salvo la reazione di Thormählen, dà assai più intense le reazioni del melanogeno, mentre il precipitato ottenuto con acetato di piombo, decomposto con acido solfidrico, non mostra traccia di melanogeno. Tali soluzioni, lasciate all'aria doventano brune. Il melanogeno adunque è precipitato dal solfato mercurico non dall'acetato di piombo. Tali urine così trattate, danno, per evaporazione a b. m. un residuo preciso giallo (che fornisce la reazione del bastoncino d'abete intriso di acido cloridrico) da cui l'alcool etilico assoluto estrae, fra altre sostanze, anche il melanogeno riconoscibile alle comuni reazioni. Tal liquido alcoolico, lasciato a sè, tenderebbe ad imbrunire e presenta dicroismo verde come le urine fortemente melanotiche, e, per evaporazione a b. m., lascia un residuo giallo pastoso che presto si cosparge di minutissimi cristalli tabulari, che, raccolti ed esaminati, non danno le reazioni del melanogeno. Allo scopo di isolare dal residuo così ottenuto altre sostanze non inerenti alle nostre ricerche, il residuo fu ripreso con acqua e dializzato. Si constatò che il melanogeno passa attraverso la membrana, talchè, dopo dodici ore il liquido primitivo più non dà le reazioni del melanogeno. Questa sostanza è adunque un cristalloide. Ho provato inoltre che il melanogeno non passa in corrente di vapore. Il liquido così ottenuto per dialisi, evaporato a b. m. lascia infine un liquido denso, rosso-scuro che con i comuni reattivi del melanogeno dà forte imbrunimento e quindi precipitato bruno.

Mi riserbo ad ulteriori esperienze l'isolamento e lo studio di questa interessantissima sostanza.

Ma ritornando alla diazoreazione di Ehrlick che ha formato la ragione principale di questa Nota ricorderò come essa, data classicamente da questo autore come uno dei segni diagnostici più costanti e più sicuri del tifo addominale e della tubercolosi polmonare, fu poi constatata in tante e così svariate forme morbose per cui è caduta in disuso nel campo medico che l'attribuisce all'acido cromoossiproteico (secondo Bocchi e Ghelfi) o a' pigmenti biliari come vorrebbero altri autori (Penzolt, Weyl, Fabbri ecc.) o più erratamente a sostanze a struttura fenolica di cui non si sa quali e perchè.

Si è invece d'accordo nell'attribuirla ad alterazioni del ricambio albuminoideo, e su questo ci si avvicina, a mio parere, di più al vero, perchè essa è positiva nel morbo di Addison, tumori melanotici, ferite di ghiandole surrenali, malaria, influenza ed in altri stati morbosi infettivi che alterano il metabolismo albuminoideo, ed affermano forse il giusto quelli che l'attribuiscono ad acidi proteici o biliari giacchè è noto (Neuki e Zaneschi) che l'urocromo, l'urobilina, la bilirubina ecc. sono dello stesso gruppo dell'emoglobina, composti del pirrolo e che il pirrolo entra a formare le sostanze proteiche.



È noto pure che granuli di malaria si trovano nel corpo del plasmodio della malaria per attribuire veramente la diazoreazione di Ehrlich ad un anormale ricambio organico degli albuminoidi per cui prodotti pirrolici circolano e vengono eliminati con le urine invece di essere normalmente ossidati.

Confermerebbe questo nuovo ed importante fatto che si riferisce alla diazoreazione di Ehrlich chi potesse constatare sempre la presenza di prodotti pirrolici nelle urine di malati non melanotici che danno comunemente la diazoreazione.

Le mie ricerche in merito non si sono fin qui estese che a poche analisi di urine di tifosi, tubercolotici e malarici in atto ed hanno confermato, senza alcuna eccezione, che la diazoreazione è sempre accompagnata da un anello rosso-bruno nella prova dell'Heller e da sicure e ben definite reazioni di ossidazione con i reattivi in uso pel melanogeno.

Ciò confermerebbe l'ipotesi che la diazoreazione di Ehrlich sia dovuta principalmente a prodotti pirrolici, fatto questo che mi riserbo di controllare estendendo le presenti ricerche al maggior numero possibile di urine di malati in cui è sicura la diazoreazione di Ehrlich.

La melanuria adunque può esistere anche indipendentemente da quelli stati morbosi e gravi che portano ai melanomi e può significare uno stato patologico anche lieve dovuto ad anomalie del ricambio organico.

Faceio in ultimo noto che al reattivo di Ehrlich, incomodo perchè va preparato al momento dell'uso, si può con risultati più netti e con agio maggiore sostituire l'azossicarbonamide (1) descritta dal prof. A. Angeli.

Chimica fisiologica. — *Sul valore alimentare dei semi dell'Ervum Ervilia* (2). Nota II di SABATO VISCO, presentata dal Corrispondente DOMENICO LOMONACO (3).

« Nell'unico ratto che ingerì farina di semi di ervo in quantità tale  
« da sopravvivere per un lungo periodo di tempo, al quarantesimo giorno  
« di esperimento si osservò in pieno sviluppo una complessa sindrome mor-  
« bosa a carico del sistema nervoso. Essa regredì poi prontamente in seguito  
« alla somministrazione di un infuso a freddo di *cruschello* di Andropogon  
« Sorghum, e di qualche goccia di un preparato commerciale di vitamine ». Riferimmo quest'osservazione in una nostra Nota precedente (3) e riferimmo pure come su di essa noi basassimo l'ipotesi della carenza dei semi dell'*Ervum*

(1) Questi Rendiconti 26, I, (1917), pag. 207.

(2) Ricerche eseguite nell'Istituto di Chimica Fisiologica della R. Università di Roma, diretto dal prof. Domenico Lo Monaco.

(3) Pervenuta all'Accademia l'11 agosto 1921.