

ATTI
DELLA
REALE ACCADEMIA NAZIONALE
DEI LINCEI

ANNO CCCXX

1923

SERIE QUINTA

RENDICONTI

Classe di scienze fisiche, matematiche e naturali.

VOLUME XXXII.

2° SEMESTRE.



ROMA

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

1923

che proietti molto scintillanti, che si accendono a un dato punto del tragitto aereo, e si mantengono brillanti per brevissimo tempo (1).

Dopo l'eruzione del 1906 e dopo i parossismi stromboliani intercraterici del giugno 1922 e del giugno 1923 (e solo dopo questi durante l'attuale periodo eruttivo) si sono rinvenuti nel materiale detritico superficiale del gran Cono e sulle pendici del conetto eruttivo delle bombe vulcaniche speciali, formate da una massa pomicea, finamente bollosa, di colore dal biancastro al verdastro e di volume vario, fino a 4-5 decimetri cubici, rivestiti da uno straterello nerastro di lava comune. Possiamo domandarci, se queste bombe, che non furono ancora descritte da nessun autore, non rappresentino eventualmente il residuo di proietti fiammogeni.

Botanica. — *Localizzazione dei glucosidi cianogenetici nel Prunus occidentalis Sw. e nel P. Myrtifolia (L.) Urb.* (2).
Nota della dott. EVA MAMELI-CALVINO, presentata dal Socio O. MATTIROLO (3).

Con il nome di « Cuajani » si conoscono in Cuba due specie di Prunus: il *Prunus occidentalis* Sw. e il *P. myrtifolia* (L.) Urb., entrambi molto usati nella medicina popolare contro le affezioni delle vie respiratorie.

Il capitano Riccardo Pau, dell'esercito cubano, che raccolse una lunga serie di dati clinici favorevoli, riguardo alla straordinaria efficacia dell'infuso delle cortecce di « Cuajani », mi pregò di fornirgli quanti dati botanici, chimici e microchimici potessi ottenere su di esse e mi fornì cortecce e rami di un « Cuajani », che riconobbi appartenere al *Prunus myrtifolia*.

Data l'importanza dell'argomento e la scarsità di dati chimici e microchimici sulla flora antillana, accettai di fare queste ricerche. Esse vennero rivolte specialmente allo studio microchimico delle foglie e dei rami delle due piante, onde dimostrare anzitutto la probabile presenza in essi di un glucoside cianogenetico e secondariamente la localizzazione dello stesso nei diversi tessuti.

Gli esemplari di queste due specie erano un tempo molto frequenti in Cuba, ma oggi vanno diventando rari, perchè la loro corteccia è molto ricercata in tutta l'isola per la sua nota efficacia terapeutica.

Nè il *Prunus occidentalis* nè il *Prunus myrtifolia* sono compresi nella farmacopea degli Stati Uniti, che è la farmacopea di uso ufficiale in Cuba.

(1) V. pure Angelo Heilprin, *The eruption of Pelée*, Tavola VIII. (Geogr. Soc. of Philadelphia, 1908).

(2) Lavoro eseguito nella Stazione sperimentale agronomica di Cuba, maggio, 1922.

(3) Presentata nella seduta del 15 aprile 1923.

*
*
*

Per quanto la presenza di glucosidi cianogenetici sia stata a tutt'oggi dimostrata per un gran numero di piante, tanto che si può dire che dei grandi gruppi solo le alghe e i muschi ne siano esenti, pur tuttavia lo studio microchimico della localizzazione di questi glucosidi negli organi e nei tessuti, è stato fatto per poche specie.

Johannsen (1) trovò l'amigdalina localizzata nel tessuto parenchimatico dei semi di mandorlo, mentre il fermento emulsina si trova nei fasci conduttori e precisamente nell'endoderma e nel periciclo dei fasci. Agli stessi risultati giunse Guignard (2), il quale riscontrò analoga localizzazione nelle foglie del *Prunus Laurocerasus*. Secondo quest'ultimo autore il legno dei fasci è esente di emulsina. Questi risultati vennero confermati dal Lutz (3).

Ricerche sulla localizzazione dei glucosidi nel *Prunus Padus* vennero fatte da Lehmann (4), il quale vi trovò la laurocerasina e constatò che gli organi che ne sono più ricchi sono i fiori e le gemme, mentre ne contiene meno la corteccia del fusto e meno ancora la corteccia della radice e le foglie. Nel fusto i tessuti contenenti il glucoside sono il cambio e il giovane legno, mentre il legno vecchio non ne contiene.

Non venne trovata nè laurocerasina, nè amigdalina nelle gemme, nella corteccia e nelle foglie delle seguenti specie: *Prunus avium*, *P. cerasus*, *P. domestica*, *P. spinosa*, *Pyrus communis*, *P. malus*.

Secondo Power e Weimar (5) si trova laurocerasina nella corteccia di *Prunus serotina* Ehrh.

Lehmann trovò laurocerasina e amigdalina nei semi immaturi delle Pomacee, mentre in quelli maturi resta solo l'amigdalina.

Traub (6) nel *Prunus javanica* e Van de Ven (7) nel *Prunus laurocerasus* osservarono che l'acido cianidrico si trova specialmente nel libro, mentre nel *Phaseolus lunatus* e nelle *Passiflora* si trova solo nel lembo fogliare e manca nel picciuolo, nel fusto e nella radice.

Peche (8) precisò che nel *Prunus laurocerasus* l'acido cianidrico si trova nell'epidermide, nel periderma, nel libro. I raggi midollari del libro sono più ricchi in glucoside cianidrico di quelli del legno. Esistono nel midollo e nella corteccia delle cellule speciali contenenti il glucoside, analoghe a quelle

(1) Annales des sciences naturelles, (7), 6, 118 (1887); Chem. Zentr., I, 664 (1888).

(2) Guignard, Comptes rendus des séances de l'Acad. d. sciences, 110, 477 (1890).

(3) Lutz, Bull. Société Bot., 44, 26, 263 (1897).

(4) Lehmann, Pharmaz. Ztg. f. Russland, (1885), pag. 352.

(5) Power u. Weimar, Chem. Zentr., I, 525 (1888); Ber. chem. Ges., 21, 300 (1888).

(6) Traub, Annales Jard. bot., Buitenzorg, (21) 6, 79-106 (1907).

(7) Van de Ven, Over het cyaanwaterstofzuur by der Prunaceae, Dordrecht, 25 (1898).

(8) Peche, Sitzungsber. d. K. Akad. Wien. Math.-naturw. Kl., 121 Abt. I (1912).

già riscontrate dal Treub nelle sue ricerche sul *Pangium edule*. Nella foglia l'acido cianidrico si trova specialmente nell'epidermide inferiore, in quantità notevole nel parenchima lacunoso, nel libro e nei raggi midollari, mentre ne conterrebbe poco l'epidermide superiore e in quantità molto varia il tessuto a palizzata.

Concludendo, le sole ricerche esaurienti fatte sulla localizzazione dei glucosidi cianogenetici nelle Pomacee, sono quelle del Lehmann e quelle del Peche: le prime sul *Prunus padus*, le seconde sul *Prunus laurocerasus*. I risultati cui giungono i due autori sono tali da condurre alla conclusione che nelle due specie su citate il glucoside non si trova localizzato in tessuti uguali. Infatti, nel *Prunus padus* i tessuti contenenti il glucoside sarebbero il cambio e il giovane legno del fusto, mentre nel *Prunus laurocerasus* sarebbero l'epidermide, il periderma e il libro.

Per queste ragioni mi parve dovesse riuscire più interessante la ricerca microchimica dei glucosidi cianogenetici nelle due specie tropicali: *Prunus occidentalis* e *P. myrtifolia*, a fine di constatare: 1° se vi sia o meno identità di comportamento con qualcuna delle due specie già studiate: 2° quale fra i metodi microchimici adoperati (quello del Treub e quello del Peche) sia migliore: 3° infine, se esistano anche nelle due specie in esame le cellule speciali contenenti il glucoside, riscontrate dal Treub nel *Pangium edule* e poi dal Peche nel *P. laurocerasus*.

Incentivo a queste ricerche è anche la considerazione che il clima ha non piccola influenza sulla biochimica vegetale, come dimostrò Treub nei suoi studi sulla cianogenesi delle Passiflora di Giava e di Parigi (1).

Metodi microchimici di ricerca dei glucosidi cianogenetici. — Secondo Dragendorff (2) la corteccia, le foglie e i frutti del *Prunus occidentalis* devono contenere laurocerasina e forse amigdalina. È bene ricordare, a proposito di questa nomenclatura, che in base a ripetute ricerche chimiche antiche e recenti (3), si ritiene che la laurocerasina non sia altro che « amigdalina amorfa », da distinguersi dalla sostanza che vien chiamata semplicemente « amigdalina » e che è l'amigdalina cristallizzata.

Non si conoscono reazioni coloranti differenziali di questi glucosidi, utilizzabili in microchimica vegetale. Due sono i metodi che possono servire per localizzare questi composti cianogenetici: la reazione dell'azzurro di Prussia con il metodo del Treub e il metodo al nitrato di mercurio del Peche.

I. La *reazione dell'azzurro di Prussia* venne applicata dal Treub alla ricerca microchimica dei glucosidi cianogenetici nelle piante, con un metodo

(1) Ann. du Jard. bot. Buitenzorg, (21), VII, 85-118, 1909.

(2) Dragendorff G., *Die Heilpflanzen der verschiedenen Volker und Zeiten*, etc., Stuttgart, 1898.

(3) Lehmann, Just., *II*, 823 (1874); Yonck, Arch. Pharm., 243, 421 (1905).

speciale che porta il suo nome. È questo metodo che ho applicato in special modo nelle mie ricerche. Esso consiste essenzialmente:

1°) nel provocare lo sdoppiamento del glucoside nelle cellule vegetali per azione del fermento in esse presente;

2°) nello svelare la presenza dell'acido cianidrico con la reazione dell'azzurro di Prussia.

La tecnica è la seguente: si batte con piccoli colpi secchi, e quanto più uniformemente è possibile, il lembo fogliare in esame con uno spazzolino, indi, senza indugio, si immergono i pezzi successivamente nei diversi reattivi. Le numerose piccole ferite prodottesi in questo modo nei tessuti, mettono in contatto il fermento con il glucoside, ciò che provoca la formazione di acido cianidrico. Esse permettono inoltre ai reattivi di penetrare nei tessuti e, per quanto l'azzurro di Prussia si formi solo attorno alle piccole ferite, dalla comparazione di un buon numero di preparati, si può dedurre quale sia la localizzazione del glucoside.

I reattivi necessari per effettuare la reazione microchimica dell'azzurro di Prussia sono i seguenti:

1°) una soluzione di potassa caustica al 20 %, a 20 cc. della quale si aggiungono 80 cc. di alcool a 90°;

2°) una soluzione ferroso ferrica, composta di solfato ferroso al 2,5 %, al quale si aggiunge 1 % di cloruro ferrico;

3°) una soluzione acquosa al 20 % di acido cloridrico.

I preparati si lasciano un istante nella soluzione potassica, poi si immergono nella soluzione ferroso ferrica portata a 50-60°. Vi si lasciano da 5 a 15 minuti, mai meno di 2 minuti. Indi si trasportano nella soluzione cloridrica, ove devono stare 5 minuti esattamente. Nel caso che sia presente acido cianidrico, il contenuto cellulare si colora in un bell'azzurro.

II. Il *metodo al nitrato di mercurio* è di applicazione relativamente recente e non venne ancora usato da altri che dal Peche. Era quindi utile sottoporlo a nuove prove per constatarne la bontà in paragone al metodo del Treub e, se del caso, per generalizzarlo.

Esso consiste semplicemente nel trattare le sezioni di fusti e di foglie (o le foglie intere precedentemente ferite, come nel metodo Treub) con del nitrato mercurioso al 3 % a freddo. L'acido cianidrico riduce istantaneamente il nitrato mercurioso con formazione di mercurio metallico e provoca la formazione di un precipitato bruno nelle cellule che contengono il glucoside cianogenetico. Secondo l'autore non v'è da temere che le altre sostanze riduttrici contenute nelle cellule vegetali diano luogo allo stesso fenomeno e quindi a confusione, poichè tutti, pur riducendo il nitrato di mercurio, agiscono molto più lentamente ed è difficile che diano luogo a formazione di mercurio metallico.

Vedremo in seguito che questo metodo non dà affidamento per un'esatta localizzazione dei glucosidi cianogenetici ed è quindi, in generale, inapplicabile alle ricerche microchimiche.

Ricerche sul Prunus occidentalis Sw.

Il *Prunus occidentalis* è un grosso albero dalla corteccia rossa e rugosa. In Cuba vien chiamato « Cuajani » o « Cuajani macho » nelle provincie dell'Avana e di Pinar del Rio e « Almendro » in quelle di Camagüey e Oriente. In tutte le Antille se ne usa il legno, che è duro, compatto e pesante, per fare tavoloni e per costruire *camions* e mobili (1).

Reazioni microchimiche. I. Metodo di Treub. — Applicando questo metodo alle foglie e ai rami del *Prunus occidentalis* ottenni i seguenti risultati:

Foglie. — Nella zona ferita il lembo si colora in castano bruno ed emette odore di acido cianidrico. Dopo l'azione dei reattivi si trovano colorate in azzurro tutte le cellule del parenchima fogliare e quelle del periciclo e del libro; non si colorano invece le cellule epidermiche e quelle del legno. Le cellule del parenchima fogliare contenenti macle cristalline di ossalato di calcio, si colorano anch'esse in azzurro di Prussia.

Rami. — Facendo una incisione longitudinale nei rami e sollevando la corteccia, questa si stacca con facilità dal legno. Emanava forte odore di acido cianidrico. All'esame microscopico la corteccia appare formata dai seguenti strati: epidermide, che cade facilmente; periderma; parenchima clorofilliano, con cellule resinifere e cellule contenenti cristalli isolati o macle di ossalato di calcio: zona sclerenchimatosa, composta di cordoni di cellule sclerose, intercalati da cellule parenchimatose e da cellule resinifere; periciclo; zona liberiana; zona cambiale (presente o no a seconda del modo di decorticazione).

Per azione dei reattivi questi strati si colorano tutti in azzurro di Prussia, all'infuori dell'epidermide. Non si colorano neppure il legno e il midollo.

Non ho osservato nè nel midollo, nè nella corteccia le cellule speciali contenenti il glucoside osservate da Peche nel *Prunus laurocerasus*.

II. Metodo di Peche. — Il metodo al nitrato di mercurio non è, a mio parere, applicabile alla ricerca microchimica dell'acido cianidrico nei tessuti vegetali. Il suo maggior difetto consiste nel fatto che, dal più al meno, tutte le sostanze riducenti contenute nelle cellule agiscono sul reattivo e lo decompongono con formazione di un precipitato dal giallastro al bruno, che rende molto difficile precisare la localizzazione del glucoside cianogenetico nei vari tessuti. Ad es. qualunque tessuto clorofilliano si copre di un precipitato bruno, dovuto senza dubbio all'azione riducente dell'aldeide formica.

Al metodo Peche è dunque preferibile quello all'azzurro di Prussia prima descritto.

(1) La Maza y Roig, *Flora de Cuba* (Boletín n. 22 de la Estación exper. agron.), Habana, 1914.

Ricerche sul Prunus myrtifolia (L.) Urb.

Il *Prunus myrtifolia* (L.) Urb. è un arbusto dalla corteccia di color grigio non molto scuro. È noto in Cuba con il nome di « Cuajani hembra » e « Cuajanicillo » nelle provincie dell'Avana e di Pinar del Rio; con il nome di « Almendrillo » nelle provincie di Camagüey e Oriente.

Descrizione della droga. — La scorza del *Prunus myrtifolia* quale mi venne consegnata per farne lo studio si presenta in cannule cilindriche o leggermente compresse, dello spessore di 2-4 mm., con i bordi longitudinali per lo più combacianti. Esternamente è di color grigio scuro non uniforme, per chiazze più chiare e presenza di licheni lecideini; internamente è di color giallo mattone. Il ritidoma si presenta solcato da fessure longitudinali non profonde, i cui orli in rilievo corrono a zig-zag, e munito di numerose lenticelle lunghe da 1 a 6 mm. La faccia interna della scorza è liscia.

Allo stato fresco emana intenso odore di acido cianidrico, che manca al legno. Anche le foglie stropicciate e l'infuso di corteccia secca emanano lo stesso odore.

Ricerca del glucoside. — La ricerca e la localizzazione del glucoside nel *Prunus myrtifolia* mi diedero risultato uguale a quello ottenuto con il *Prunus occidentalis*. Per conseguenza, se fra le due specie non v'è notevole differenza quantitativa del contenuto in glucoside cianogenetico (fattore che microchimicamente non è possibile stabilire) le due specie possono usarsi indifferentemente per l'uso terapeutico su citato.

Ricerca degli alcaloidi. — Poichè non è raro il caso di piante che contengano a un tempo alcaloidi e glucosidi, assoggettai alle reazioni microchimiche degli alcaloidi i rami e le foglie delle due specie in istudio. Usai fra i reattivi precipitanti l'ioduro di potassio iodurato e il cloruro d'oro; fra i reattivi coloranti il reattivo di Mandelin, l'acido solfocericico e il reattivo di Froehde. Mentre i reattivi precipitanti non mi dettero risultati sicuri, quelli coloranti provocarono la colorazione in violetto persistente della zona sclerenchimatica e della zona legnosa, sia nei rami sia nelle foglie. Ma siccome queste reazioni si ripeterono anche dopo aver applicati ai tessuti in questione la reazione differenziale di Errera⁽¹⁾, ossia dopo aver sottoposto i pezzi al trattamento con alcool tartrico $\frac{1}{20}$, nel quale gli alcaloidi sono solubili, è da ritenersi che le colorazioni ottenute non siano dovute a presenza di alcaloidi. Ne è riprova il fatto che l'acido solforico da solo riproducesse la stessa colorazione, ugualmente localizzata.

Si può dunque ritenere che la colorazione ottenuta, per la precisa limitazione ai tessuti lignificati, sia dovuta alla coniferina, glucoside presente in tutte le piante aventi tessuti lignificati.

(¹) Errera, Recueil Inst. Bot., Bruxelles, II, 189-227, 1906.

CONCLUSIONI.

Tanto il *Prunus occidentalis* Sw., quanto il *P. myrtifolia* (L.) Urb. contengono nella corteccia e nelle foglie un glucoside cianogenetico.

Con il metodo di Tröub se ne potè stabilire la localizzazione nel parenchima, nel periciclo e nel libro fogliare e in tutti gli strati della sezione trasversale dei rami, compresi fra il ritidoma e il cambio.

Non contengono il glucoside nè l'epidermide, nè il midollo, nè il legno, tanto dei rami, quanto delle foglie.

Il metodo di Peche al nitrato di mercurio è inadatto a svelare e a localizzare microchimicamente questi glucosidi cianogenetici, poichè la riduzione del reattivo può avvenire anche per azione di sostanze contenute nelle cellule, che non emettono acido cianidrico.

L'esame microchimico non rivelò la presenza di alcaloidi nella corteccia e nelle foglie delle due specie studiate.

*
* *

Credo opportuno aggiungere alle conclusioni su esposte alcune considerazioni, riguardanti, le une, il metodo di sfruttamento di questa pianta, le altre la necessità di ricerche chimiche sui loro principî attivi.

Come dissi al principio della presente Nota, le piante di *Prunus occidentalis* e di *Prunus myrtifolia* vanno facendosi scarse in Cuba per lo sfruttamento cui van soggette allo scopo di trarre da esse la corteccia medicinale. Tale sfruttamento irrazionale e imprevedente dovrebbe modificarsi, sostituendo all'abbattimento delle piante o al loro scortecciamento fatto in modo barbaro, lo sfruttamento razionale. Con il metodo attuale di scortecciamento si stacca dal tronco e dai rami, oltre la vera corteccia, anche una porzione dei tessuti sottostanti, quali il libro (sempre) e talvolta anche il cambio, impedendo così l'ulteriore accrescimento in spessore. Se invece si procurasse di incidere la corteccia con cautela, in modo da non giungere agli strati generatori, si potrebbe ottenere il ripristino della corteccia dopo un certo tempo. Per ottenere i migliori risultati da questa pratica occorrerà fissare sperimentalmente un altro dato importante, quale cioè sia la stagione più propizia per la raccolta della corteccia, e questo sotto i due punti di vista: 1°) del maggior contenuto in glucoside cianogenetico; 2°) del minor danno che si arrechi alle piante a seconda che si operi nell'una piuttosto che nell'altra stagione.

Per quanto riguarda il contenuto in glucoside a seconda della stagione, ricorderò che negli Stati Uniti si è sperimentato che la corteccia del *P. virginiana*, la quale contiene amigdalina, ha più forte azione terapeutica se viene raccolta in autunno, che se viene raccolta in primavera. Dalla corteccia

raccolta in aprile Perot⁽¹⁾ ottenne 0,0478 % di HCN, e da quella raccolta in ottobre 0,1436, cioè più del triplo.

È interessante anche l'osservazione di Lemberger⁽²⁾ il quale ha trovato che la corteccia del *P. virginiana* dà infusioni di colore più oscuro nei mesi di aprile, ottobre e agosto. L'intensità del colore sarebbe dovuta, secondo l'autore, alla maggior quantità di acido tannico. D'altra parte Cooley⁽³⁾ riscontrò nella corteccia della stessa pianta maggior quantità di acido tannico durante l'accrescimento attivo primaverile, che durante l'autunno. Per conseguenza, anche la variabilità dell'acido tannico è un fattore del quale si deve tener conto nella raccolta della droga e nella preparazione del medicamento.

Queste considerazioni sottopongo all'attenzione dei chimici, che hanno nella flora cubana una fonte inesauribile di investigazioni di chimica pura e di chimica applicata alla terapeutica e alla tossicologia.

Riguardo al principio o ai principî attivi delle cortecce di Cuajani tanto ricercate in Cuba, occorrerebbe stabilire:

1°) se il quantitativo di acido cianidrico è uguale nel *P. occidentalis* e nel *P. myrtifolia*, dato che le due specie vengono usate indifferentemente per lo stesso uso terapeutico;

2°) quali organi o parti di organi contengono il glucoside in maggior quantità;

3°) in quali stagioni e in quale età della pianta sia più vantaggioso e più razionale fare la raccolta della droga.

Embriologia. — *L'istogenesi delle formazioni e degli organi secondari nell'embrione umano*⁽⁴⁾. Nota preliminare di GASTONE LAMBERTINI, presentata dal Corrispondente A. RUFFINI⁽⁵⁾.

In una Nota precedente⁽⁶⁾ io esponevo i più importanti risultati dello studio che andavo compiendo sullo sviluppo dei solchi e delle circonvoluzioni cerebrali.

Torno oggi su questo argomento, per portare dati nuovi risultanti dalle successive indagini che sono venute compiendo, e per corredarlo delle osser-

(1) I. S. Perot, Americ. Journal of Phrm., XXIX, 111.

(2) Lemberger I. L., Americ. Journal of Phrm., (1872). 307.

(3) Cooley Grace E., Americ. Journal of Phrm., august, 1897.

(4) Lavoro eseguito nell'Istituto di Istologia e Fisiologia generale della R. Università di Bologna.

(5) Presentata nella seduta del 18 novembre 1923.

(6) *Sulle cause che determinano la genesi delle circonvoluzioni cerebrali*. *Monitore zoologico*, anno XXXIII, n. 11.