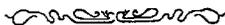




4.4052 *poli* clinico

ISTITUTO FARMACOLOGICO DELL' UNIVERSITÀ DI CAMERINO

Contributo allo studio delle sintesi nell' organismo animale

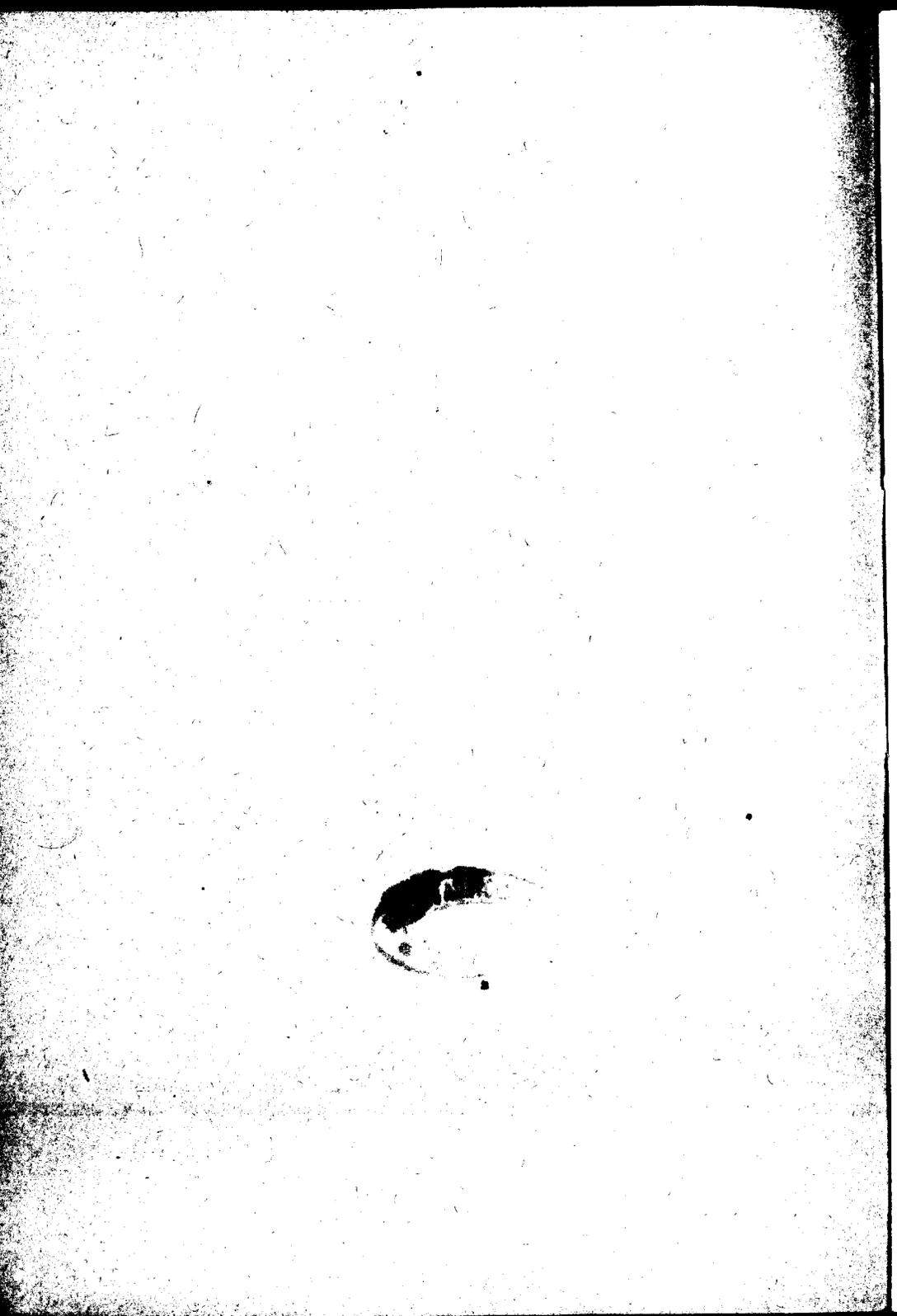


Ricerche del prof. **R. Luzzatto**



Estratto dal *Bollettino della Società Eustachiana*.

Anno VI. - N. 1-2 - 1908 — Tipografia Savini - Camerino





Contributo allo studio delle sintesi nell'organismo animale

Ricerche del prof. R. Luzzatto

Direttore dell'Istituto Farmacologico dell'Università di Camerino

Studiando comparativamente il contegno nell'organismo animale dell'olio di Santalo e del Santyl (che ne è l'etere salicilico) ho potuto osservare nell'uomo e nel cane alcuni interessanti fatti ed alcune differenze, che si riferiscono alla eliminazione di queste sostanze per le urine (1).

Perciò non mi sembra inutile di esporre in breve i risultati delle mie ricerche, le quali non sono certo complete per ragioni inerenti ai detti farmaci, così poco conosciuti dal punto di vista della loro costituzione chimica, ma rappresentano in ogni modo il frutto di lungo lavoro.

L'olio di Santalo, come è ben noto, appartiene alla classe dei farmaci così detti balsamici, adoperati sino dai tempi più antichi in varie affezioni morbose, fra cui contro i processi infiammatori delle vie urinarie. Seguendo la chiara ed esatta classificazione del *Vieth* (2) possiamo distinguere i balsamici, a seconda della loro

(1) Queste ricerche furono iniziate nell'Istituto Farmacologico di Sassari e proseguite in quello di Camerino.

(2) H. VIETH -- Ueber die Wirkungsweise der Balsamika (Medizinische Klinik, 1905 Nr. 59).

composizione chimica, in *terpeni*, *alcool terpenici*, *acido-resine e resine*. Mentre alcuni sono costituiti essenzialmente da uno o l'altro di detti principi, altri contengono due o tre od anche tutti i detti gruppi in diversa proporzione. Dal punto di vista farmacologico i terpeni, sesquiterpeni ed alcool terpenici, sono sostanze molto irritanti, che provocano infiammazione dei tessuti con i quali vengono in contatto. Meno irritanti invece sono le acido-resine le quali però, se date per bocca, specie nei carnivori, agiscono come energici purgativi, in seguito alla produzione di saponi che si formano in contatto col succo enterico, alcalino (Cf. Vieth l. c.).

Le sostanze invece del IV gruppo, vale a dire le resine, sono prive o quasi di azioni irritanti in causa della loro natura chimica di eteri composti, allo stesso modo che il salolo è molto meno irritante del fenolo e dell'acido salicilico, dei quali pure non rappresenta che il prodotto di unione.

L'olio di Santalo depurato e quale si usa a scopo terapeutico è costituito da terpeni ed alcool-terpenici in diversa proporzione a seconda che si tratta di Santalo delle Indie Orientali od Occidentali. In ogni modo, in base a quanto abbiamo detto sopra, dev'essere sostanza dotata di proprietà irritanti abbastanza notevoli.

Corrisponde, a quanto sembra, alla formula bruta $C_{15}H_{24}O$ (1); secondo *Karo* $C_{15}H_{26}O$ (2).

(1) Cf. BEILSTEIN — Handbuch der Organischen Chemie. Bd. III. 1897 Cf. BERICHT von SCHIMMEL u. Co. April-October 1906.

(2) W. KARO — Das Verhalten des Harns nach Gebrauch von Sandelöl (Archiv für Experiment. Pathol. u. Pharmak. Bd. 46, 1901.

Pochissimo si sa intorno alla sua costituzione.

Tuttavia, come altri sesquiterpeni, sembra essere un derivato idrogenato della naftalina con catene laterali parte sature, parte non sature. Sembra ancora che in esso la condensazione sia avvenuta fino alla chiusura del secondo anello che forma il nucleo naftalinico. (Cf. Vieth l. c.).

Molti lavori esistono intorno al contegno nell'organismo dei terpeni, sesquiterpeni ed alcool terpenici. Si ammette in generale che tali sostanze vengano eliminate, almeno in gran parte, appaiate all'acido glicuronic, dopo aver subito processi di idratazione e di ossidazione. Per quanto si riferisce in modo particolare al contegno dell'olio di Santalo ricordo un lavoro di W. Karo (Cf. l. c.).

Secondo questo autore, l'urina degli individui che han preso l'olio di Santalo, non presenta per l'aggiunta di acidi minerali, la reazione colorata che si riscontra invece dopo somministrazione di balsamo di Copaive.

Gli acidi minerali determinano però un precipitato di acido-resine nell'urina stessa ed in seguito alla bollitura in presenza di acidi, si manifesta un intenso odore che ricorda quello dell'olio di Santalo.

I caratteri della sostanza accoppiata con l'olio di Santalo, son tutti quelli dell'acido glicuronic, il quale sarebbe appaiato appunto con gli alcool sesquiterpenici dell'olio di Santalo.

Il *Vieth* (l. c.) ammette che l'olio di Santalo non compaia, almeno per la massima parte, come tale nell'urina.

Del doppio anello che entra nella costituzione dell'olio di Santalo, un anello verrebbe scisso e nell'urina

comparirebbe un derivato del Terpinolo e rispettivamente di un acido terpinolcarbonico appaiato. Per cui, a quanto mi sembra, dovrebbe aver luogo una forte ossidazione in corrispondenza di un gruppo CH_3 o di un gruppo alcoolico fino alla sua trasformazione a gruppo carbossilico.

Da quanto ho esposto si vede come in rapporto all'olio di Santalo, si è ben lungi dall'aver isolato e studiato chimicamente il corrispondente acido glicuronico accoppiato, come pure si vede che esiste intorno a questa sostanza una letteratura molto meno ricca di quanto si verifichi per altri prodotti, appartenenti specialmente al gruppo delle canfore.

Io ho voluto intraprendere delle esperienze sul contegno dell'olio di Santalo nell'organismo animale (uomo e cane) non solo per cercar di portare un piccolo contributo in proposito, contributo che, come è facile comprendere, non potrà essere fecondo, fino a che la costituzione chimica di detta sostanza non sia ben conosciuta, quanto piuttosto per orientarmi nello studio del contegno del Santyl, che è un prodotto messo recentemente in commercio dalla casa Knoll; prodotto che rappresentando l'etere salicilico dell'olio di Santalo, possiede, in causa appunto della sua natura di etere composto, scarsissime azioni irritanti, per cui più facile e meno pericolosa ne è la somministrazione prodotto che dal punto di vista pratico, ha corrisposto assai bene nella cura di affezioni dell'apparato urinario e specialmente della blenorrea.

E dato il carattere comparativo delle mie ricerche, esse vennero eseguite spesso sugli stessi individui e sugli stessi animali con ambedue i prodotti.

A scopo di chiarezza riporto qualcuna fra le tante esperienze eseguite in proposito.

Ad un cane maschio del peso Kg. 6, sanissimo, le di cui urine ripetutamente esaminate, non dimostrano di contenere nulla di anormale, si somministrano assieme al cibo gr. 2 di olio di Santalo in 4 capsule gelatinose. L'animale non presenta alcun disturbo. Nelle 24 ore successive lascia cmc. 250 di urina, leggermente acida - p. s. 1035. Non contiene albumina, ma riduce già direttamente il reattivo di Fehling e di Niländer. Per aggiunta di HCl, l'urina presenta un intenso intorbidamento, solubile per aggiunta di etere, e riscaldata, emana un acuto odore che ricorda assai quello dell'olio di Santalo. Il potere riducente, per trattamento con acidi minerali a caldo, non aumenta in modo sensibile. Riescono negative tutte le prove eseguite allo scopo di vedere se il potere riducente fosse dovuto per caso alla presenza di glucosio, mentre riescono positive le reazioni coll'orcina, colla carta all'acetato di anilina, caratteristiche per i pentosi e per l'acido glicuronic. Non vi è dubbio tuttavia che a quest'ultimo prodotto si deve il potere riducente.

Infatti l'urina era levogira e diveniva destrogira dopo inversione con acidi ed inoltre trattandola con acetato di p. bromofenilidrazina, seguendo scrupolosamente i consigli di *Neuberg* (1), ottenni un composto che, purificato mediante la piridina, presentava un punto di fusione di 235°, (p. f. della p. bromofenilidrazina glicuronica 236°) e sciolto in piridina ed alcool secondo le proporzioni date dal *Neuberg*, presentava una fortissima rotazione a sinistra del piano della luce polarizzata (ottenni - 7,10' anziché - 7,25').

In questa esperienza è degno di nota il fatto che l'urina riduceva già direttamente, senza cioè il bisogno di

(1) Cf. in proposito: S. FRÄNKEL: Descriptive Biochemie mit besonderer Berücksichtigung der chemischen Arbeitssmethoden S. 65 (I. Bergmann. 1907).

scindere mediante il trattamento con acidi a caldo, l'acido glicuronico appaiato.

Il Karo (l. c.) parla delle proprietà fortemente riducenti dell'orina dopo l'uso di olio di Santalo, ma non dice se queste erano presenti già naturalmente o comparivano soltanto dopo l'azione degli acidi minerali.

È noto che quasi tutti gli acidi glicuronici appaiati non sono dotati di potere riducente in causa della loro natura glicosidica.

Solo qualcuno fa eccezione e fra questi ricordo l'acido tricloroetiglicuronico, che compare nelle urine dopo somministrazione di cloralio.

In questo caso, secondo il Fränkel (l. c.) non avverrebbe forse tra alcool tricloroetilico e acido glicuronico un legame glicosidico e molto probabilmente lo stesso deve dirsi per quanto si riferisce all'olio di Santalo.

Io ho tentato l'isolamento sia dell'acido glicuronico appaiato, sia del corpo aromatico che all'acido glicuronico avrebbe dovuto essere unito, ma a dire il vero con poco successo. Per lavorare su una certa quantità di materiale, ho cominciato a somministrare al cane, a giorni alterni gr. 2 di olio di Santalo. Dopo due giorni però dovetti sospendere presentando l'animale spiccati sintomi di intolleranza gastro-enterica, consistenti in anoressia, vomito, diarrea leggermente sanguinolenta, grida durante la defecazione ecc. Perciò ho dovuto usare dosi più piccole (gr. 0,50 - 1,00) e prolungare l'esperienza per maggior numero di giorni.

Pensando, sia in base ai risultati delle ricerche del Karo (l. c.) sia per l'intenso odore di olio di Santalo che emanava l'orina riscaldata in presenza di acidi, che l'acido glicuronico si appaiasse con un alcool terpenenico

o sesquiterpenico molto affine all'olio di Santalo stesso, ho tentato dapprima di estrarre direttamente tale prodotto dall'orina acidificata, ed usai a tale scopo i più diversi solventi (etere, cloroformio, alcool, benzolo, acetone, etere di petrolio, piridina). Questi solventi, ma più di tutti l'etere e l'acetone, estraevano una sostanza la quale dopo l'evaporazione del solvente, ricordava assai per l'odore l'olio di Santalo, ma si trovava in quantità così piccole, anche lavorando su qualche litro d'orina e così impura per sostanze resinoidi, da rendere assolutamente impossibile un'analisi o qualche altra ricerca allo scopo di identificarla con certezza. E risultati pure negativi ottenni tentando l'isolamento della sostanza mediante corrente di vapor d'acqua. Il distillato aveva un odore che ricordava quello dell'olio di Santalo, ma non si scorgevano alla superficie del liquido né goccioline oleose, né altri prodotti isolabili.

Ho tentato pure l'isolamento degli acidi glicuronici appaiati mediante il metodo classico dell'acetato di piombo, metodo col quale abbastanza recentemente il *Bonanni* (1) isolò gli acidi Borneol e Mentolglicuronic, ed ho eseguite fedelmente il processo indicato da questo autore, ma dopo purificazione del prodotto, ebbi una rendita di materiale così scarsa da dover rinunciare ad una analisi elementare.

Pensai allora di ottenere il sale di Bario di questo acido accoppiato. Senza voler certo dare un'importanza assoluta ai risultati ottenuti, in causa della scarsezza del materiale e della grandezza della molecola in confronto

(1) A. BONANNI - Über die Borneol - und Mentholglykuronsäure. Hofmeister's Beiträge z. Chem. Physiol. u. Pathol. Bd. I h. 7-9. 1901.

al contenuto in Ba, riporto in ogni modo le cifre avute, le quali sono un po' elevate per quanto si riferisce al contenuto in Ba, di modo che è da pensare o ad errori facili a verificarsi adoperando scarso materiale od alla presenza di un acido glicuronic, accoppiato piuttosto alcool terpenico che con sesquiterpenico.

Infatti gr. 0,10 di sale di Bario diedero:

$$\text{gr. } 0,0306 \text{ BaSO}_4 = \text{gr. } 0,018 \text{ Ba}$$

Ba calcolato in base alla formula dell'acido Santalolglicuronic ($\text{C}_{15} \text{H}_{23} \text{OC}_6 \text{H}_8 \text{O}_6$)² Ba = gr. 0,013.

Ba calcolato in base alla formula di un acido terpinolglicuronic ($\text{C}_{10} \text{H}_{15} \text{OC}_6 \text{H}_8 \text{O}_6$)² Ba = gr. 0,0209.

Ricordo che secondo il *Vieth* (l. c.), uno degli anelli del nucleo naftalinico dell'olio di Santalo, verrebbe scisso nell'organismo.

Le mie ricerche quindi tenderebbero a dar ragione a questa ipotesi.

Interessante a notarsi ancora nell'esperienza descritta, è la comparsa nell'urina di acidi resinoidi, dimostrati dal precipitato prodotto dagli acidi minerali, precipitato solubile in etere; interessante perchè nella composizione dell'olio di Santalo non dovrebbero entrare, se puro, acido-resine; ma come osserva il *Vieth*, gli acidi resinoidi dell'urina sono ben differenti da quelli che naturalmente si trovano nei balsamici, e nel caso speciale derivano con grande probabilità da prodotti di trasformazione di parte dell'olio di Santalo introdotto.

Nell'esperienza descritta ed in altre simili, feci pure delle ricerche indirizzate allo scopo di vedere se una parte dei prodotti aromatici derivanti dall'olio di Santalo, si accoppiasse oltre che all'acido glicuronic, anche all'acido solforico.

Perciò mantenendo pari tutte le altre condizioni sperimentali, studiai l'eliminazione degli eteri solforici durante la somministrazione dell'olio di Santalo.

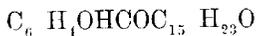
Per amore di brevità non riporto i risultati ottenuti, dai quali appare che l'aumento degli eteri solforici era addirittura trascurabile (gr. 0,01 circa), in modo da non poter escludere certo che una piccolissima parte degli alcool terpenici o sesquiterpenici si unissero anche a questo acido, ma non dover neppure ammettere che l'acido solforico prendesse una parte importante nella sintesi anzidetta.

Resultati molto simili ebbi somministrando l'olio di Santalo all'uomo (1).

In questo caso naturalmente, le piccole dosi date a scopo terapeutico non permisero di tentare l'isolamento della sostanza. Ma potei chiaramente vedere che anche l'urina umana dopo somministrazione del detto prodotto, presentava spiccate le reazioni dell'acido glicuronico, per cui è assai verosimile che a detto acido fossero per la massima parte accoppiati i prodotti di trasformazione dell'olio.

Ricerche con il Santyl.

Come ho già detto prima il Santyl non è altro che l'etere salicilico dell'olio di Santalo e corrisponde alla formola bruta:



(1) Sento il dovere di ringraziare il Chiar.mo prof. Fiocco, Direttore della Sezione Dermosifilopatica dell'Ospedale Civile di Venezia, il quale permise che io somministrassi agli ammalati degenti nella sua divisione, sia l'olio di Santalo, che il Santyl.

Contiene quindi il 60 % di olio di Santalo ed il 40 % di acido salicilico. Si presenta sotto forma di un liquido oleoso, chiaro, insipido e quasi inodoro. L'acido salicilico non è dimostrabile se non dopo scissione dell'etere. Tale scissione non si compie, od in minimo grado, per l'azione degli acidi minerali anche in forte concentrazione ed a caldo, mentre ha luogo rapidamente per l'azione degli alcali. Soluzione N/10 di Na₂ CO₃ lasciate qualche tempo in termostato a 37° con il Santyl producono assai facilmente la scissione dell'acido salicilico. Soluzioni concentrate di Na₂ CO₃ o di Na OH, lo liberano quasi istantaneamente. Il succo gastrico sia naturale, che artificiale, non esercita alcuna azione sul Santyl. Al contrario il succo pancreatico anche in soluzione neutra od appena leggermente acida ed alla temperatura di 35° circa, determina rapidamente la scissione dell'etere Santalolsalicilico.

Per amore di brevità non riporto tutte le numerose esperienze eseguite *in vitro*.

Da quanto ho detto, appare quindi come assai probabile che il Santyl si scinda, almeno in parte, nell'intestino per l'azione sia del succo enterico alcalino, sia del succo pancreatico, non escludendo però che la scissione non possa avvenire anche in parte (come ha luogo per altri eteri, p. es. Salolo) in altri organi, specialmente se le dosi di Santyl adoperate sono notevoli. La scissione nell'intestino deve prodursi in ogni modo con una certa lentezza. Altrimenti non si spiegherebbe l'enorme tolleranza che gl'individui e gli animali presentano verso questo farmaco in confronto dell'olio di Santalo. A cani, i quali soffrivano di notevole intolleranza gastroenterica, dopo somministrazione di gr. 3-4 al massimo di olio di Santalo,

ho potuto dare gr. 30-40 di Santyl tutto in una volta senza che si manifestasse il minimo disturbo, senza che l'appetito venisse per nulla a diminuire. Ora pur sapendo che il preparato contiene il 40 % di acido salicilico, si vede che la dose somministrata corrispondeva assai più che a 3-4 gr. di olio di Santalo.

Anche negli uomini, nei quali naturalmente furono usate dosi terapeutiche, il farmaco venne tollerato benissimo, manifestando ottime azioni curative nelle forme di gonorrea.

In questi casi io ho voluto, per quanto era possibile con le piccole dosi somministrate, studiare se il Santyl si comportava come l'olio di Santalo. Ho osservato, accanto alla eliminazione dell'acido salicilico, che l'urina conteneva un composto accoppiato, giacchè riscaldandola con acidi minerali, si aveva un odore intenso che ricordava quello dell'olio di Santalo. Non potei invece dimostrare la presenza di acidi resinoidi.

In questi casi si trattava probabilmente dell'unione di un prodotto di derivazione dell'olio di Santalo con l'acido glicuronico, ma solo in piccola parte, giacchè l'urina era appena sensibilmente levogira e dopo trattamento con acidi a caldo, assai debolmente destrogira. Positive, ma assai deboli risultarono le prove con l'orcina, floroglucina ecc.

Più interessante invece si dimostrò il contegno del Santyl nel cane. Ma non posso escludere tuttavia che anche nell'uomo si possano, almeno in parte, verificare fatti simili a quelli che esporrò, se le dosi fossero state come per i cani, maggiori assai di quelle terapeutiche.

E dico questo perchè la reazione dell' acido glicuronico dopo somministrazione di Santyl, era più debole assai che dopo aver dato equivalenti dosi di olio di Santalo, per cui è possibile che quest' ultimo o meglio i suoi prodotti di derivazione, fossero in parte uniti ad altre sostanze. Ciò però, ripeto, era molto più evidente nei cani.

A scopo di chiarezza riporto qualcuna fra le tante esperienze eseguite.

Ad un cane del peso di Kg. 10, si somministrano assieme al cibo, gr. 30 di Santyl (pari a gr. 18 di olio di Santalo). Si pone l' animale in gabbia e s' incomincia a raccogliere l' orina, la quale, il giorno dopo, presenta intensa reazione di acido salicilico, già direttamente, senza bisogno cioè di acidificare l' orina e di estrarre l' acido salicilico con etere. Per aggiunta di acidi minerali, non si osserva la precipitazione di acidi resinoidi, come invece abbiamo visto avvenire con l' olio di Santalo. L' orina non riduce direttamente e solo dopo trattamento con acidi a caldo, presenta tracce dubbie di riduzione. Il potere rotatorio a sinistra è pure scarsissimo, Straordinariamente deboli riescono le reazioni fondate sullo sviluppo del furfurolo e tendenti a dimostrare la presenza dell' acido glicuronico; come pure trattando l' orina raccolta durante parecchi giorni e dopo nuova somministrazione di Santyl con p. bromofenilidrazina secondo il metodo di *Neuberg*, si ottiene il composto p. bromofenilidrazinglicuronico in quantità scarsissime, tanto che si riducono, dopo i trattamenti per la purificazione, a tracce insufficienti anche per un' analisi polarimetrica, mentre somministrando quantità assai minori di olio di Santalo, si era potuto ottenere il prodotto in quantità discreta, come abbiamo già visto.

Tutti questi fatti tendevano a far ammettere che l' acido glicuronico dopo somministrazione del Santyl ai cani, dovesse trovarsi nell' orina proprio in quantità minime.

Si noti ancora che i prodotti aromatici derivanti dalla sostanza introdotta, dovevano trovarsi, senza alcun dubbio allo stato coniugato, giacchè l'odore intenso che ricordava assai quello dell'olio di Santalo, compariva solo dopo riscaldamento in presenza di acidi minerali.

Pur troppo le prove per l'estrazione di questa sostanza, sia con la corrente di vapor acqueo, sia mediante vari solventi, fallirono del tutto, come erano fallite studiando il contegno dell'olio di Santalo.

Rimaneva da studiare allora l'altro termine dell'accoppiamento che, in questo caso, non era dato che in minimo grado dall'acido glicuronico.

Le sostanze che prendono parte più comunemente ai processi sintetici del nostro organismo e che hanno, se così ci si può esprimere, lo scopo di diminuire la tossicità di altri prodotti formando dei composti molto meno tossici, sono quasi sempre di natura acida e sono rappresentate in generale dall'acido glicuronico, dall'acido solforico, e dall'acido aminoacetico.

Escluso il primo di questi corpi, rimaneva da vedere se, in seguito all'introduzione del Santyl nell'organismo, si modificasse, caeteris paribus, l'eliminazione di uno o l'altro dei sopracitati acidi. Perciò dopo aver abituato un cane ad una dieta costante di pane e latte, che per ricerca sul ricambio, specie se non lunghe, offre tanti vantaggi (1), cominciai a studiare l'eliminazione dell'acido solforico totale e coniugato.

(1) Cfr. in proposito: *Coronedi e Luzzatto* - Bilancio nutritivo nella alimentazione con grassi alogenati (Arch. di farmac. e terap. Vol. XII. fasc. V. 1906).



Se all'acido solforico si fosse unito l'olio di Santalo od un suo derivato aromatico, l'acido solforico coniugato avrebbe dovuto aumentare; ciò avvenne in grado limitato. Infatti ottenni i seguenti risultati che brevemente espongo.

Dopo che il cane prendeva da tre giorni gr. 300 pane emc. 300 latte e emc. 140 acqua, si determina per tre giorni la quantità di H_2SO_4 totale e coniugato; ebbi i seguenti risultati:

DATA	H_2SO_4 totale	H_2SO_4 coniugat.	H_2SO_4 preform.	Rapporto $\frac{H_2SO_4 \text{ coniugato}}{H_2SO_4 \text{ perf.}}$
15 Maggio 1907	0.6114	0.0420	0.5694	$\frac{1}{13,5}$
16 Maggio 1907	0.6227	0.0425	0.5802	$\frac{1}{13,6}$
17 Maggio 1907	0.6011	0.0430	0.5581	$\frac{1}{12,97}$

Durante i giorni 18, 19 e 20 Maggio 1907 si somministrano gr. 10 di Santyl per giorno, si determina l' H_2SO_4 come sopra:

DATA	H_2SO_4 totale	H_2SO_4 coniugat.	H_2SO_4 preform.	Rapporto $\frac{H_2SO_4 \text{ coniugato}}{H_2SO_4 \text{ perf.}}$
19 Maggio 1907	0.6843	0.0831	0.6012	$\frac{1}{7,23}$
20 Maggio 1907	0.6957	0.0849	0.6108	$\frac{1}{7,19}$
21 Maggio 1907	0.7011	0.0851	0.6160	$\frac{1}{7,23}$

Dalle cifre riportate si vede realmente che l'acido solforico totale è aumentato e che l'aumento sta assai più a carico del coniugato che del preformato, cosicchè il

rapporto $\frac{H_2SO_4 \text{ con.}}{H_2SO_4 \text{ pref.}}$ tende ad aumentare. Questo aumento non è trascurabile (gr. 0.04 circa) e non ci può certo fare escludere che una parte dei prodotti aromatici derivanti dal Santyl si sia unita all'acido solforico, ma tuttavia non è certo abbastanza notevole per ammettere che all'acido solforico soltanto, si sieno uniti i prodotti aromatici derivanti da gr. 30 di Santyl. Si noti ancora che le quantità di indolo, scatolo ecc., eliminate in tali condizioni non si mostrano certo considerevolmente diminuite, in modo da non poter ritenere che all'acido solforico soltanto o per la massima parte, fossero uniti i prodotti aromatici derivanti dal Santyl.

Rimaneva allora da studiare anche l'eliminazione della glicocolla. La ricerca in questo senso offriva delle notevoli difficoltà, giacchè essendo il Santyl un etere salicilico e venendo, come è ben noto, l'acido salicilico eliminato in gran parte come acido salicilurico, la semplice dimostrazione della glicocolla nelle urine, non aveva nessun valore. Cercai perciò di eseguire delle determinazioni quantitative ed a tale scopo mi parve opportuno di praticare il metodo di *Fischer* (1) per l'isolamento della glicocolla da altri aminoacidi, metodo che, come è ben noto, si fonda sulla formazione del cloridato di etere etilico della glicocolla. (NH_2 , CH_2 , $COOC_2H_5$, HCl).

Perciò un litro di urina, raccolta durante tre giorni di esperienza nei quali vennero somministrati gr. 30 di Santyl, vennero evaporati a b. m. sino a secco in presenza di HCl , fino a reazione fortemente acida e ciò sia per sciudere l'acido salici-

(1) Cf. in proposito S. FRÄNKEL. l. c. pag. 336.

lurico, sia la eventuale combinazione colla glicocola, del prodotto aromatico derivante dal Santyl.

Il residuo venne ripreso con alcool assoluto, filtrato ed in questo liquido alcoolico venne fatto gorgogliare a lungo dell'acido cloridrico gazzoso, seccato mediante previo passaggio attraverso l'acido solforico. Da principio ebbi un abbondantissimo precipitato di NH_4Cl insolubile naturalmente in alcool. Allontanatolo mediante filtrazione, saturai ancora il filtrato con HCl gazzoso. Al liquido, lasciato per 12 ore in recipiente refrigerato, venne aggiunto qualche piccolo cristallino di cloridrato di etere etilico della glicocola.

Si ottiene allora a poco a poco un abbondante precipitato cristallino, il quale venne raccolto su filtro, e lavato con alcool assoluto freddissimo.

Il filtrato venne ancora saturato con HCl gazzoso e trattato ancora con un piccolo cristallino di cloridrato di etere etilico della glicocola, come sopra. Ma, questa volta, si ottenne separazione di pochissimi cristalli. Questi, riuniti, vennero abbondantemente lavati, seccati nel vuoto sopra l'acido solforico sino a peso costante e pesati. Il peso era di gr. 3,478. La sostanza fondeva a 145° . Sappiamo che il cloridrato di etere etilico della glicocola fonde, se puro, a 144° , quindi il p. f. corrispondeva abbastanza bene, potendo la differenza dipendere da piccole impurità.

Anche una determinazione di azoto, eseguita col metodo di Kyeldahl, dimostrò che si trattava realmente di tale preparato. Infatti gr. 0,943 di sostanza diedero:

<i>N</i> calcolato per	<i>N</i> trovato
$\text{NH}_2\text{CH}_2\text{COOC}_2\text{H}_5\text{-HCl}$	
gr. 0,094	0,10

La quantità di glicocola ottenuta (corrispondente a poco più del 50% del cloridrato di etere etilico della glicocola) è, a dire il vero, assai scarsa; ma nello stesso tempo l'indole di queste ricerche è tale, da non poterci pronunciare se

realmente una parte di essa non fosse accoppiata ad un derivato aromatico dell'olio di Santalo.

Noi possiamo non tener calcolo delle piccolissime quantità di acido aminocetico che normalmente si trovano nelle urine di un cane, ma non sappiamo invece quanta parte dell'acido salicilico, derivante dalla scissione del Santyl, si sia accoppiato alla glicocola per venire eliminato come acido salicilurico e quanta parte si sia eliminata invece allo stato di semplice salicilato di sodio o potassio. In generale si trova scritto che la massima parte dell'acido salicilico si elimina come acido salicilurico. Io, in questa esperienza, avrei trovato che la glicocola era presente in qualità assai inferiori a quelle necessarie per combinarsi all'acido salicilico introdotto come Santyl. Ed in altre esperienze orientative, che per amore di brevità non riporto, e nelle quali vennero somministrati ai cani gr. 3-4 di salicilato sodico, trovai che la glicocola, determinata secondo il metodo prima esposto e seguendo cioè esattamente i precetti di *Fischer*, che afferma che la massima parte di quest'acido viene in questo modo dai prodotti di scissione idrolitica degli albuminoidi isolato, trovai sempre, ripeto, che la quantità di essa era sempre inferiore a quanto si sarebbe richiesto per trasformare tutto l'acido salicilico in acido salicilurico e che questa quantità variava da animale ad animale.

Perciò, ripeto, l'aver potuto isolare soltanto g. 3,478 di cloridrato di etere etilico della glicocola, non prova che una parte di questo aminoacido non potesse essere accoppiato anche a prodotti derivanti dall'olio di Santalo contenuto nel Santyl. E questa ipotesi è in parte giustificata da due fatti:

I. L'aver trovato che dopo somministrazione di dosi anche forti di Santyl, l'acido glicuronic compariva nell'urina in tracce minime, tracce che non potevano essere sufficienti per un completo accoppiamento del prodotto somministrato.

II. L'aver trovato un aumento non molto notevole nell'eliminazione degli eteri solforici e tale da non poter pensare che solo qualche cgr. di più di acido solforico bastasse a saturare tanta copia di prodotti aromatici introdotti.

Perciò escluso o quasi l'acido glicuronic, trovato insufficiente l'acido solforico, trovato ancora che i prodotti aromatici non avevano subito certo una completa ossidazione nell'organismo perchè: I) dopo scissione con HCl si aveva intento odore che ricordava quello dell'olio di Santalo; II) perchè spiccatissimi sono gli effetti terapeutici che il Santyl esplica proprio lungo le vie urinarie, ossia quando viene eliminato; trovati questi fatti ripetuti, non rimane altro a pensare che una parte dei terpeni o sesquiterpeni derivanti dal Santyl si uniscano, dopo essere stati più o meno ossidati ed idratati, anche con la glicocolla.

Ma noi ci possiamo domandare allora perchè, allorché introduciamo l'olio di Santalo, come tale, vale a dire non eterificato con l'acido salicilico, il contegno nell'organismo sia diverso; perchè in questo caso l'accoppiamento abbia luogo almeno per la massima parte con l'acido glicuronic.

La risposta non è certo facile, nè io pretendo di darla, ma mi limito soltanto a fare qualche considerazione in proposito. Io ricordo il famoso principio del *Nenki*, conosciuto sotto il nome di principio del Salolo. Sommi-

nistrare un etere composto è cosa ben differente dal somministrare isolatamente l'alcool o fenolo e l'acido che pure lo costituiscono. Nel primo caso, le azioni tossiche mancano o sono assai diminuite perchè la scissione dei componenti è lenta; l'assorbimento sia dell'alcool (in generale) che dell'acido, è graduale e le azioni ossidative, riduttrici, sintetiche ecc. che avvengono in seno ai tessuti, possono essere ben differenti allorchando una sostanza si trova in piccola od in forte concentrazione nel sangue od in seno ad essi, come differente quantitativamente e spesso anche qualitativamente è in questi casi l'azione farmacologica, ossia la reazione fisiologica dei tessuti stessi.

In chimica fisiologica abbiamo del resto molti esempi i quali dimostrano come piccoli cambiamenti nella natura chimica di una sostanza o l'eterificazione di essa, possa farne completamente mutare il contegno nell'organismo. Ricordo a questo proposito dei fatti assai interessanti.

La piridina non viene ossidata nell'organismo, ma viene metilizzata e forma una combinazione di ammonio (idrossido di metilpiridilammonio $\text{HOCH}_2\text{NC}_5\text{H}_5$). La α picolina o metilpiridina subisce invece una forte ossidazione in corrispondenza del radicale metilico, per cui si trasforma in acido piridincarbonico che accoppiato alla glicocola si elimina come acido piridurico (1).

Gli ossiacidi aromatici non fanno aumentare l'eliminazione degli eteri solforici, ma si eliminano accoppiati

(1) Cf. in proposito HAMMARSTEN. Lehrbuch der Physiologischen Chemie 1904.

alla glicocolla o come sali (di potassio, sodio). Ebbene, se si eterificano o nel resto acido viene introdotto un gruppo amidico, allora s' accoppiano anche all' acido solforico (1); per cui non possiamo nemmeno escludere che l'aumento degli eteri solforici dopo somministrazione di Santyl, come abbiamo già visto, sia in parte dovuta anche all' accoppiamento con l' acido salicilico introdotto sotto forma di etere, nè che l' olio di Santalo, esso pure eterificato, non possa modificare il contegno dell' organismo in modo da unirsi più facilmente agli acidi solforico od amidoacetico che al glicuronico.

Quando noi troviamo che l' olio di Santalo, introdotto come tale, si accoppia almeno per la massima parte all' acido glicuronico, possiamo ritenere certo che il prodotto che ne deriva dopo il suo passaggio attraverso l' organismo, deve contenere almeno un gruppo alcoolico nel senso più vasto della parola, vale a dire non solo primario, ma anzi, assai più spesso, secondario o terziario ossia fenolico. Ed alcune sostanze come il cloralio, altre aldeidi, chetoni ecc. possono venire, come è noto, eliminate accoppiate all' acido glicuronico, ma dopo esser state ridotte nell' organismo ad alcool primari o secondari (2). E per quanto si riferisce all' olio di Santalo c' è ogni ragione dunque per ritenere ch' esso venga elimi-

(1) S. Fränkel. Die Arzneimittel-Synthese auf Grundlage der Beziehungen zwischen chemischem Aufbau und Wirkung (Berlin, 1901).

(2) Cf. In proposito HILDEBRANDT « Über Synthesen im Tierkörper » (II Mitteilung) Archiv. f. exp. Pathol. u. Pharmacol. 44, 110 (1900).

NEUBAUER « Ueber Glykuronsäurepaarung bei Stoffen der Fettreihe: (Archiv. f. exp. Pathol. u. Pharmacol. 46, 133 (1901).

nato come alcool terpenico accoppiato all'acido glicuronico.

Quando una sostanza si accoppia all'acido solforico, dobbiamo ritenere che si tratti di corpo a funzione fenolica od assai affine al fenolo come da tanti esempi appare (indolo-scatolo-morfina-pirrolo) (1).

Perchè poi questi corpi fenolici si uniscano parte all'acido solforico, parte al glicuronico, noi, come in altro lavoro feci rilevare, non sappiamo (2); quando finalmente un corpo viene eliminato unito alla glicocola, dobbiamo ritenere che contenga un gruppo carbossilico.

È ben vero che la glicocola ha funzione non solo basica, ma anche acida, tuttavia nelle sintesi che hanno luogo nell'organismo animale, prende parte sempre il gruppo amidico.

Ed alcune sostanze le quali pur essendo di natura aldedica ed alcoolica (p. es. furfurolo, alcool primari) vengono eliminate accoppiate alla glicocola, sono prima ossidate fino ai corrispondenti acidi e così il furfurolo viene eliminato come acido piromueurico ecc. ecc.

Dati questi fatti e considerando ancora che alcuni autori ammettono (Vieht l. c.) che, come dissi prima, l'olio di Santalo subisca nell'organismo una parziale ossidazione fino ad aversi la rottura di un anello del nucleo naftalinico e la formazione di un acido terpenolearbenico, non è certo assurdo pensare che, quando l'olio

(1) PIGNI - Sul comportamento del pirrolo introdotto nell'organismo animale. (Arch. di Fisiologia, Vol. III., Fasc. I. 1905).

(2) R. LUZZATTO - L'eliminazione dell'acido solforico totale e coniugato sotto l'azione del fermento d'uva (Arch. di Farmac. e terap. 1907).

di Santalo viene somministrato sotto forma di Santyl, per la lenta scissione e graduale penetrazione in circolo, possa almeno in parte avvenire più facilmente l'ossidazione di un gruppo CH_3 fino alla sua trasformazione a carbossile e che abbia luogo quindi, in seno ai tessuti, l'unione tra quest'acido così formatosi e la glicocollo. Non possiamo poi certo escludere che parte dei prodotti derivanti dall'olio di Santalo somministrato sotto forma di Santyl, si uniscano anche all'acido solforico. Si potrebbe obiettare anzi che a quest'acido soltanto essi si uniscono e che l'aumento nella eliminazione degli eteri solforici è assai più notevole di quanto possa sembrare a prima vista. Si potrebbe infatti ritenere che il Santyl, per sé stesso, in causa dell'azione antisettica che può sviluppare, specie per la presenza dell'acido salicilico, tenda a diminuire la eliminazione degli eteri solforici e che quindi anche un leggero aumento di questi, acquisti notevole importanza, essendo contemporaneamente diminuiti altri prodotti (indolo-scatolo ecc.) che all'acido solforico s'uniscono. Ma abbiamo già visto che l'indolo, scatolo ecc., non si dimostrarono sensibilmente diminuiti; per cui non possiamo, come già dissi, ritenere che all'acido solforico soltanto si uniscano i prodotti derivanti dal Santyl, tanto più che la quantità introdotta di quest'ultimo era assai notevole (30 gr.).

Naturalmente prima di poter affermare con sicurezza qualche cosa in rapporto alle mie ricerche, bisognerebbe poter isolare l'ipotetico acido derivante dalla scissione dell'olio di Santalo introdotto sotto forma di Santyl. E se sarà possibile, io ritenterò la prova. Per il momento mi sembra tuttavia che possano essere degni di nota anche i soli fatti esposti. Vale a dire che l'olio di

Santalo per sè stesso si elimina quasi tutto accoppiato all'acido glicuronico e che questo accoppiamento è simile a quello che avviene con l'alcool tricloroetilico, perchè l'urina riduce già direttamente; mentre quando si dà sotto forma di Santyl, pur essendo eliminato allo stato coniugato, si trova unito all'acido glicuronico in grado trascurabile, mentre in grado notevole è unito ad altri prodotti.

Ciò che dimostra quanta importanza possa avere per un dato corpo la natura chimica di etere, non solo per l'azione terapeutica e tossica, ma ancora per il suo contegno nell'organismo.

Camerino, Novembre 1907.



3667

