

ablazione delle surrenali e dopo trattamento con diidroergotamina.

c) *Occhio.*

Occhio enucleato. L'occhio enucleato di *Eledone moschata* o di *Octopus vulgaris* immerso in acqua di mare satura di picrato di murexina presenta una rapida e intensa midriasi. Contemporaneamente si ha pronta ed energica espansione dei cromatofori dell'iride con conseguente forte accentuazione nella pigmentazione dell'organo.

Netta azione midriatica ha il picrato di murexina anche sull'occhio enucleato di rana e di rospo.

Occhio in situ. Nel gatto e nel cane, anestetizzati e non anestetizzati, l'iniezione endovenosa di dosi elevate di estratto ipobranchiale di *Murex trunculus* (respirazione artificiale!) provoca intensa ma fugace miosi che dura all'incirca quanto l'ipertensione. Esiste anche una netta retrazione dei globi oculari.

Fenomeni in tutto analoghi si osservano nell'*Eledone moschata* in seguito a iniezione di estratti in un cuore branchiale. Miosi intensissima che giunge fino alla completa scomparsa della pupilla, scoloramento dell'iride, retrazione dei globi oculari sono i fenomeni iniziali; midriasi e ricomparsa della pigmentazione iridea sono eventualmente fenomeni finali, forse asfittici.

d) *Secrezioni.*

La secrezione lacrimale non risulta modificata, nel cane e nel gatto, neanche da dosi più volte letali di estratto ipobranchiale. Costante è invece una conspicua, transitoria scialorrea che si ripete ad ogni iniezione endovenosa dell'estratto. Il fenomeno è abolito dall'atropina.

e) *Organi a muscolatura liscia.*

Persino a concentrazioni $1/10,000$ il picrato di murexina esplica solo una modestissima e incostante azione eccitante sull'intestino isolato di rana, piccione, cavia, cane, gatto, coniglio, ratto e sull'utero isolato di cavia, gatto, cane, ratto e coniglio. Questa azione non è per nulla modificata dall'atropina.

f) *Muscolatura scheletrica.*

Sul muscolo retto dell'addome di rana e sul muscolo dorsale di sanguisuga il picrato di murexina ha intensa azione contratturante, che viene solo di poco rinforzata dall'eserina ed è antagonizzata da forti dosi di aneurina.

Sull'animale *in toto* (rane e pesci) gli estratti ipobranchiali di *Murex trunculus* e di *Tritonalia erinacea* spiegano intensa azione curariforme; assai meno quelli di *Murex brandaris*.

Estratti concentrati, fatti gocciolare sulle braccia recise di *Eledone* o di *Octopus*, provocano fulminea e intensissima espansione dei cromatofori e la comparsa di violenti movimenti vermicolari e di attorcigliamento, seguiti, più tardi, da paralisi.

Ringrazio vivamente la dott. M. SPINA dell'Istituto di Farmacologia dell'Università di Roma e la dott. M. MARZADRO dell'Istituto Superiore di Sanità in Roma per il valido aiuto prestatomi nell'esecuzione delle presenti ricerche.

V. ERSPAMER

Istituto di Farmacologia dell'Università di Bari e Centro per la Biologia del C. N. R. presso la Stazione Zoologica di Napoli, il 5 aprile 1948.

Summary

(1) Murexine, a new choline derivative found in the hypobranchial body of *Murex trunculus*, *Murex brandaris*, and *Tritonalia erinacea*, was isolated as picrate, picrolonate, styphnate, flavianate, and reineckate. Some preliminary characteristics of these salts are given.

(2) The murexine content of the median zone of the hypobranchial body of *Murex trunculus* is extremely high: murexine picrate equivalents of 45–70 mg per g fresh tissue are commonly observed.

(3) Murexine manifests intense nicotinic and curariform actions, but is practically wanting in any muscarinic activity.

The central nervous system is strongly affected by the substance: at first stimulation seems to prevail, but later on, with larger doses, a deep depression regularly develops.

In decapitated cats and dogs murexine causes a significant rise in blood pressure, which is due, at least partially, to a liberation of epinephrine from the adrenal medulla and from the adrenergic nerve terminals.

On the enucleated eye of frogs and *Octopoda* the substance acts to cause mydriasis and expansion of the iris chromatophora.

Comportamento dell'allossana *in vivo*

Per la conoscenza del meccanismo d'azione dell'allossana nella patogenesi del diabete è di fondamentale importanza conoscere il comportamento ed il destino di questa sostanza quando viene iniettata.

Le sole ricerche esistenti in letteratura su questo argomento, per quanto mi risulta, sono quelle di KARRER¹ e di LEECH e BAILEY², le quali dimostrerebbero che l'allossana scompare rapidamente dal sangue già dopo cinque minuti dall'iniezione.

La scarsità dei dati si deve probabilmente al fatto che non esiste ancora in letteratura un metodo di dosaggio sicuro che possa essere applicato ai tessuti ed ai liquidi biologici *in vivo*.

I metodi finora proposti per la determinazione di questa sostanza si riferiscono quasi esclusivamente a determinazioni eseguite su soluzioni pure di allossana o su liquidi biologici ed estratti di organo cui si aggiungono *in vitro* quantità variabili di allossana³.

In precedenti ricerche ho elaborato un micrometodo, fondato sulla reazione di questa sostanza con l'o-fenilendiamina (una delle reazioni più sensibili dell'allossana) che rende possibile la determinazione di piccole quantità di allossana nel sangue e nei tessuti⁴.

In questa nota riporto i risultati di ricerche eseguite allo scopo di studiare il comportamento dell'allossana nel sangue e nei tessuti di animali (ratti) trattati con dosi diabetogene.

Descrivo brevemente la tecnica impiegata in questo esperimento.

A ratti albini del peso medio di 160 g si iniettano endovenosa da 20 a 40 mg di allossana (dose diabetogena). A vari intervalli di tempo gli animali vengono sacrificati per decapitazione. Si determina subito il contenuto in allossana del sangue e degli organi nel seguente modo:

Sangue: ad 1 cm³ di sangue reso incoagulabile per aggiunta di ossalato di sodio (0,5 g per 100 cm³ di sangue) si aggiungono 0,35 cm³ di una soluzione in glicerolo di o-fenilendiamina al 4%; 1 cm³ di una soluzione tampone a $p_{\text{H}} 4$, costituita da una miscela in parti uguali di acido acetico (2,45 g per litro) e di acetato sodico (0,64 g per litro); 0,3 cm³ di NaOH n/10; 4 cm³ di ZnSO₄ al 2%. Si agita e si filtra in un tubo contenente 0,2 cm³ della soluzione glicericia di o-fenilendiamina.

¹ P. KARRER, F. KOLLER und H. STÜRZINGER, Helv. chim. acta 28, 1529 (1945).

² R. S. LEECH e C. C. BAILEY, J. Biol. Chem. 157, 525 (1945).

³ S. BANERJEE, K. DITTMER et E. DU VIGNEAU, Science 101, 647 (1945). — R. M. ARCHIBALD, J. Biol. Chem. 158, 347 (1946). — G. BRUCKMANN, J. Biol. Chem. 165, 103 (1946).

⁴ N. SILIPRANDI, in corso di pubblicazione.

Ratti N. ^o	Peso in g	Allossana iniettata in mg	Tempo trascorso dall'iniezione in minuti primi	Allossana trovata in γ*				
				sangue	fegato	rene	muscolo	pancreas**
1	155	30	3	300	110	120	50	97
2	200	20	5	200	162	178	63	81
3	140	22	6	148	107	180	41	74
4	120	20	12	55	120	124	34	71
5	145	25	15	60	138	113	35	72
6	160	20	20	38	69	123	38	65
7	150	20	20	50	66	137	32	—
8	150	40	26	40	41	207	25	—
9	145	25	30	27	19	92	16	—
10	150	27	30	38	32	134	29	—
11	130	30	40	42	51	164	22	—
12	155	25	50	26	19	61	7	—
13	170	35	50	20	20	141	14	—
14	135	20	60	28	13	77	11	—
15	160	30	70	20	24	72	9	—
16	120	25	90	tracce	tracce	19	assente	—
17	160	30	90	assente	assente	10	assente	—

* Riferita ad 1 cm³ di sangue e ad 1 g di tessuto.

** Data la piccolezza dell'organo e la scarsa concentrazione di allossana, i dati riferentisi al pancreas attendono un'ulteriore conferma.

Organi: aliquote dei vari organi, prelevate subito dopo la morte dell'animale, vengono rapidamente pesate, poste in un recipiente contenente 5 cm³ di H₂SO₄ n/500 e 0,5 cm³ della soluzione glicerica di o-fenilendiamina; si sminuzza e si tritura accuratamente in mortaio, si centrifuga e su di un'aliquota del liquido si procede come per il sangue. L'intensità della fluorescenza dei vari filtrati (di sangue e di tessuto) si determina al fotometro di Pulfrich, comparandola con quella di una soluzione campione a titolo noto. Per le modalità della tecnica e per le curve di taratura rimando al citato lavoro.

I risultati di questa esperienza sono riassunti nella tabella.

I dati riportati nella tabella dimostrano che, contrariamente a quanto era ritenuto finora, l'allossana non viene rapidamente distrutta nell'organismo, ma permane nel sangue e nei tessuti fino ad un'ora e mezza circa dopo l'iniezione; si intende che in questo periodo di tempo la concentrazione di allossana va progressivamente diminuendo nel sangue e nei tessuti.

La massima concentrazione di allossana si riscontra nei primi minuti dopo l'iniezione nel sangue e nel fegato, in un secondo tempo nel rene; in questo organo essa è ancora presente quando negli altri organi è ormai scomparsa.

In ricerche ancora in corso (in collaborazione col Dr. CASELLA) ho dimostrato istologicamente la presenza di forti quantità di allossana nei tubuli renali di animali trattati con dosi diabetogene di allossana.

Questo reperto rende probabile l'ipotesi che l'allossana venga eliminata, se pure in parte, inalterata attraverso i reni. Questa ipotesi è stata confermata da successive ricerche eseguite su cani trattati endovenosamente con 0,1 g di allossana per kg. Prelevando infatti, mediante cateterismo degli ureteri, campioni di urina dopo l'iniezione dell'allossana è stato possibile mettere in evidenza col metodo sopra descritto, la presenza di forti quantità di allossana (1 mg circa per cm³) nell'urina.

Viene così sperimentalmente dimostrata, contrariamente a quanto sinora era ritenuto, che l'allossana, almeno in parte, viene eliminata inalterata attraverso i reni.

L'allossana è stata gentilmente fornita dalla S.A. Hoffmann-La Roche (Basilea).

N. SILIPRANDI

Istituto di Chimica Biologica dell'Università di Pavia,
il 3 febbraio 1948.

Summary

The author describes a microprocedure, based on the o-phenylenediamine reaction, for the determination of alloxan in blood and tissues *in vivo*. With this method he has been able to determine alloxan in blood, liver, kidney, muscle, and pancreas of rats treated with diaabetogenous doses of alloxan. This substance has been found in the blood and tissues during an hour and a half after the injection and in the urine collected directly from the ureter a quarter of an hour after the injection.

Urämie durch kontinuierliche Verabreichung von Hypophysen-Hinterlappenhormon

Bei Bilanzversuchen über den Einfluß des Hinterlappenhormons auf die «Durstexsikkose» wurde eine schwere, zu Urämie führende Ausscheidungsstörung der Nieren gefunden.

Als Versuchstiere wurden 2,5 kg schwere, hungernde und durstende Kaninchen verwendet. Das Hinterlappenhormon (Glanduitrin; Richter, Budapest) wurde in Dosen von je 2 Einheiten alle drei Stunden (Tag und Nacht) subkutan verabreicht. Eine Gruppe von durstenden Tieren diente zur Kontrolle. Die Versuche wurden im Stoffwechselkäfig durchgeführt.

Die Abb. 1 zeigt den Verlauf dieser «Hinterlappenurämie»: Die Nierenfunktion des «Glanduitrin» tieres wird mit jener der durstenden Kontrolltiere verglichen. Der untere Teil der Abbildung gibt die täglichen Harnmengen (Säulen) und ferner die Gefrierpunktserniedrigungen des Harns wieder. Nach anfänglichen hohen Harnkonzentrationen vermindert sich die konzentrierende Kraft der Nieren sukzessiv auf die Hälfte und schließlich auf einen Drittel des ursprünglichen Wertes. Parallel zu dieser Hyposthenurie kommt es zunächst