

10. D. CAVALLINI (*) e L. TENTORI. — Osservazioni sul metabolismo del triptofano nel ratto. - Nota II

Riassunto. -- Gli AA. usando la tecnica cromatografica bidimensionale su carta hanno dimostrato nei ratti ad alimentazione normale dopo carico di DL-chinurenina la eliminazione con le urine di 5 composti fluorescenti di cui tre identificati come chinurenina, un coniugato di essa e acido chinurenico. Gli altri probabilmente sono da considerare derivanti dall'acido antranilico.

Résumé. — Les auteurs, avec l'emploi de la chromatographie à deux dimensions sur papier, ont démontré que les rats alimentés normalement, après administration de DL-Kynurénine, éliminent dans les urines 5 composés fluorescents: trois ont été identifiés comme Kynurénine, un autre composé dérivé, et acide Kynurénique. Les autres doivent probablement être considérés comme des dérivés de l'acide anthranilique.

Summary. — Urinary excretion of DL-kynurenine metabolites in rats loaded with such substance was studied using bidimensional paper chromatography technique. The animals excreted 5 fluorescent compounds; three of them have been identified as kynurenine, a conjugated compound of it and kynurenic acid. The two remaining compounds are probably derivatives of anthranilic acid.

Zusammenfassung. — Unter Benutzung der zweidimensionalen Chromatographie auf Papier zeigen die Verfasser, dass normal ernährte Ratten nach Verabreichung von DL-Kynurenin mit dem Urin fünf fluoreszierende Verbindungen ausscheiden, von denen drei als Kynurenin, eine als zu einer veränderten Gruppe gehörig und eine als Kynureninsäure erkannt wurden. Die beiden andere Verbindungen sind wahrscheinlicher Derivate der Anthranil-Säure.

In un lavoro precedente ⁽¹⁾ abbiamo studiato i composti reagenti con la ninidrina e dimostrabili sotto luce ultravioletta presenti nelle urine di ratto dopo carico di l-triptofano usando la tecnica cromato-

⁽¹⁾ D. CAVALLINI, L. TENTORI: Boll. Soc. Ital. Biol. Sper., 29-4, 497, 1953.

(*) Ospite.

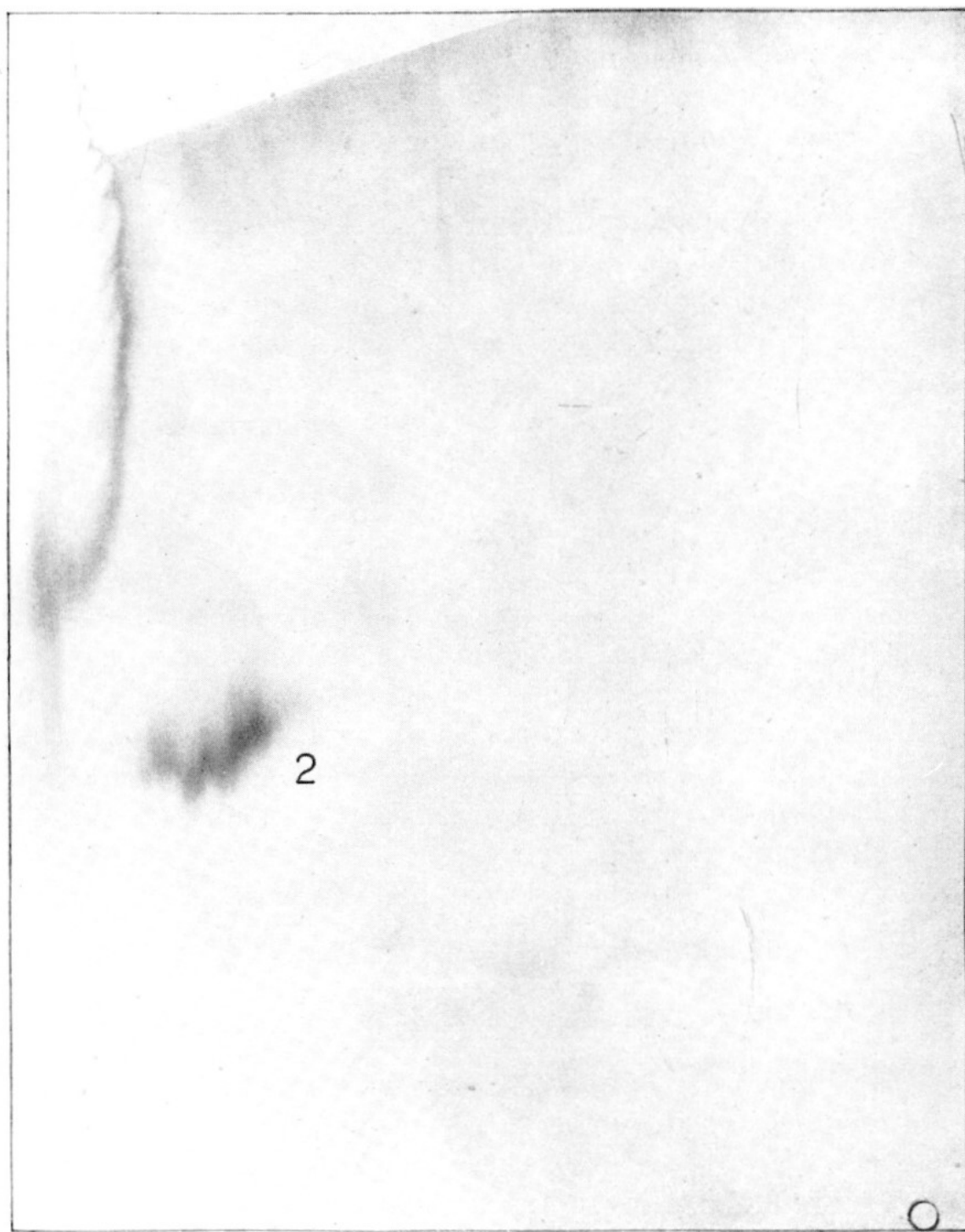


Fig. 2. - Lo stesso cromatogramma della fig. 1 dopo sviluppo con ninidrina. Vedi spiegazione nel testo.

grafica bidimensionale su carta. Oltre tre composti che è stato possibile riconoscere rispettivamente come chinurenina, un coniugato della chinurenina e acido chinurenico, sono state messe in evidenza altre macchie non identificate, tra cui particolarmente interessanti due ad identica fluorescenza di tipo verde-azzurro, che assumono una colorazione giallastra dopo reazione con la ninidrina e che, a differenza delle altre, aumentano di intensità notevolmente al 2° giorno di dieta contenente triptofano.

Nel presente lavoro ci siamo pertanto proposti di osservare se questi metaboliti sono da riferirsi a prodotti intermedi non conosciuti tra triptofano e chinurenina o se, al contrario, devono considerarsi prodotti provenienti dalla chinurenina. A tale scopo abbiamo somministrato al ratto nelle identiche condizioni sperimentali del lavoro precedente un carico di DL-chinurenina (*) per os.

PARTE SPERIMENTALE

Sono stati adoperati ratti albinici maschi di ceppi Wistar Glaxo, del peso di circa grammi 80, tenuti a coppie in gabbie metaboliche e alimentati con la stessa dieta basale riportata nel lavoro precedente. Allo stesso lavoro rimandiamo per tutte le altre modalità sperimentali. La quantità di DL-chinurenina somministrata per due giorni consecutivi mescolata alla dieta basale è stata di 0,01 M per ogni 10 grammi di dieta. Le urine del II, III, IV, V, VI giorno di esperimento sono state analizzate cromatograficamente con la tecnica già descritta.

RISULTATI

I cromatogrammi eseguiti con le urine di ratto raccolte nei giorni precedenti la somministrazione di DL-chinurenina non dimostrano presenza di alcuna fluorescenza e, dopo reazione con ninidrina, compare in essi non costantemente una unica macchia debole nella posizione della glicina. Pertanto si conferma ancora una volta il quadro cromatografico delle urine di ratti normali e ad alimentazione basale normale già osservato e descritto precedentemente.

Al III e al IV giorno di esperimento, rispettivamente a distanza di 24 ore e di 48 ore dalla somministrazione di DL-chinurenina, l'esame del cromatogramma sotto luce di Wood dimostra la presenza (vedi

(*) Il prodotto è stato fornito dalla Ditta Hoffmann La Roche - Basilea.

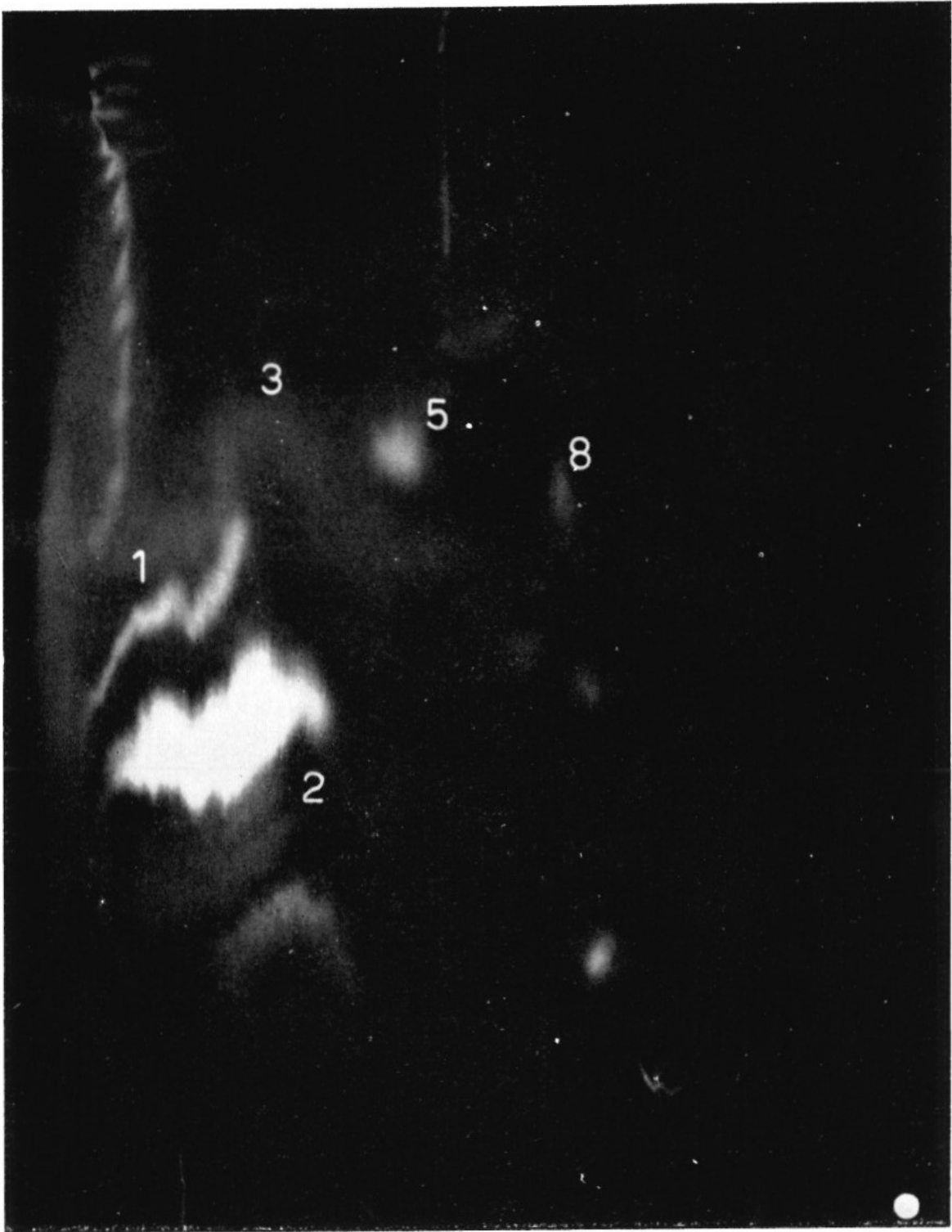


Fig. 1. - Cromatogramma di urine di ratto al IV^o giorno di esperimento dopo 48 ore dalla somministrazione di DL-chinurenina. Fotografia sotto luce di Wood. Vedi spiegazione nel testo.

fig. 1) di due macchie principali bene separate che, per la posizione e il tipo di fluorescenza verde-azzurro corrispondono alla chinurenina (macchia n. 2) e ad un coniugato della chinurenina (macchia n. 1). La macchia n. 2 inoltre dà reazione positiva dopo sviluppo con la ninidrina (vedi fig. 2) assumendo una colorazione viola. Sono anche presenti altre tre macchie fluorescenti indicate nella riproduzione fotografica con i numeri 3, 5, 8. La macchia numero 3, molto debole e poco visibile nella figura, sia per la posizione che per il tipo di fluorescenza giallo-verdastra, corrisponde all'acido chinurenico. Le macchie numero 5 e 8, anche esse piuttosto deboli, di fluorescenza viola brillante e che non danno reazione colorata con la ninidrina, corrispondono a quelle evidenziate nel lavoro precedente dopo carico di triptofano; esse sono da considerarsi come prodotti derivanti probabilmente dalla chinurenina attraverso l'acido antranilico.

Infine non abbiamo assolutamente ritrovato la presenza delle due macchie contraddistinte con i numeri 6 e 7 nel lavoro precedente, di fluorescenza verde-azzurro, che dopo sviluppo con ninidrina assumono una colorazione giallastra e che, come abbiamo detto, avevamo potuto mettere in evidenza nelle urine di ratto dopo carico di l-triptofano.

Concludendo dopo carico di DL-chinurenina in ratti ad alimentazione normale abbiamo potuto dimostrare la eliminazione con le urine di 5 composti fluorescenti, di cui tre identificati come chinurenina, un coniugato di essa e acido chinurenico, e due non identificati ma che probabilmente sono da considerare derivanti dall'acido antranilico. Non abbiamo invece ritrovato la presenza dei due composti di fluorescenza verde-azzurro, che si colorano in giallo dopo reazione con la ninidrina e che compaiono dopo carico di l-triptofano nelle identiche condizioni sperimentali. Questi due composti si devono pertanto considerare probabilmente come metaboliti derivanti direttamente dal triptofano prima della sua degradazione a chinurenina.