

10. Giuseppina ROSANOVA – Sulle "lecitine ex ovo,, del commercio Composizione ed analisi.

Fra le specialità medicinali introdotte in terapia a scopo ricostituente, hanno notevole importanza le emulsioni a base di estratto di tuorlo d'uovo.

Alcuni fabbricanti usano indicare tali estratti con termini appropriati alla loro composizione, molti altri, invece, adottano semplicemente la denominazione di « lecitina ex ovo », e qualcuno non ha esitato ad apporre sulle etichette anche quella di « lecitina purissima ».

A questo proposito è da tener presente che i metodi consigliati dai vari autori per ottenere lecitina pura dal tuorlo d'uovo comportano una serie di estrazioni e di purificazioni, operando in condizioni determinate per evitare l'alterazione del prodotto che è sensibilissimo all'azione dell'aria e della luce ⁽¹⁾.

I metodi seguiti per la preparazione degli estratti di tuorlo d'uovo usati in terapia sono in generale molto più semplici; fondati su un unico principio, essi variano nei particolari a seconda della Ditta preparatrice.

I prodotti ottenuti secondo questi procedimenti contengono, oltre alla lecitina che ne è il principale costituente, una quantità più o meno grande di luteina, colesterina e suoi esteri, piccole quantità di fosfatidi diversi dalla lecitina, e talvolta sostanze albuminoidi e tracce di olio di tuorlo d'uovo. Non è esclusa la presenza di vitamine nei buoni preparati del genere.

Pertanto non è esatto indicare un tale complesso semplicemente col nome di « lecitina ex ovo » e tanto meno con quello di « lecitina purissima ».

D'altra parte sembra assodato che la lecitina pura non offra alcun vantaggio nell'uso terapeutico in quanto essa avrebbe una azione acceleratrice sui processi catabolici ⁽²⁾, mentre l'efficacia

⁽¹⁾ P. A. LEVENE, *Physiol. Rev.*, 1, 327 (1921); MATHEWS, « *Physiological Chemistry* », Bailliere, Tindall e Cox London, 5^a Ed., 1930.

⁽²⁾ A. CRUTO, « *Ricerche sull'azione metabolica della lecitina e della colesterina* », *Biochim. Ter. Sperim.* 16, 175 (1929).

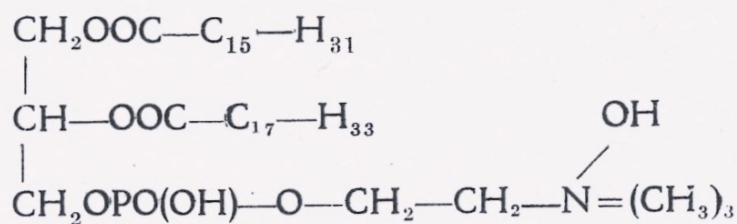
dei preparati in questione sarebbe dovuta appunto alla loro più complessa composizione.

Inoltre, se si tiene conto della grande facilità con la quale la lecitina pura si altera, è facile intuire come il suo impiego nell'uso corrente debba essere assai scarso, e le sue applicazioni limitate più che altro a scopo di ricerca.

Infatti, a parte i caratteri organolettici, per i quali data la grande facilità di alterazione della lecitina non è possibile stabilire esatti confronti, gli estratti lecitinici esistenti in commercio e destinati ad uso terapeutico hanno una composizione diversa e pertanto un contenuto in fosforo ed azoto che si allontana alquanto da quello della lecitina pura.

E' noto che la lecitina del tuorlo d'uovo non è un composto chimico ben definito, bensì una miscela di fosfatidi di costituzione analoga, differenti fra loro principalmente per la natura dei radicali degli acidi grassi che sono legati all'estere glicerinfosforico della colina.

Ammettendo nella molecola lecitinica la presenza dei radicali degli acidi oleico e palmitico insieme si avrebbe per essa la seguente formula:



Le indicazioni dei diversi sperimentatori che si sono occupati dell'argomento non sono del tutto concordanti: alcuni hanno riscontrato nella lecitina del tuorlo d'uovo da essi preparata la presenza di esteri degli acidi palmitico, oleico e stearico ⁽³⁾, altri degli acidi oleico e palmitico soltanto ⁽⁴⁾, altri hanno isolato ancora gli acidi linoleico e arachidonico ⁽⁵⁾, oltre quelli già accennati ⁽⁶⁾.

E' molto probabile che questa differenza di risultati possa

(³) P. A. LEVENE e J. P. ROL, J. Biol. Chem., 46, 193 (1921).

(4) SERONO e PALOZZI, « Sui lipoidi contenuti nel tuorlo d'uovo », *Rass. Ter. e Sci. Aff.*, 7, 165 (1911).

(⁵) P. A. LEVENE e J. P. ROLF, J. Biol. Chem., 51, 507 (1922); T. HATAKEYAMA,

(⁶) Z. physiol. Chem., 187, 120 (1930).

H. COUSIN, J. Pharm. Chem., 6, 18 (1903); F. RITTER, Ber., 47, 530 (1914).

dipendere sia dai metodi di preparazione e purificazione adottati, sia anche dalle uova adoperate.

Per la stessa ragione i dati riferiti dai diversi autori sul contenuto in fosforo ed azoto delle lecitine d'uovo da essi preparate variano leggermente fra loro, pur mantenendosi sempre le variazioni entro limiti abbastanza ristretti.

Infatti i valori forniti da P. Bergell ⁽⁷⁾, Stern e Thierfelder ⁽⁸⁾, Mac Lean ⁽⁹⁾, Fourneau e Piettre ⁽¹⁰⁾ oscillano fra 3,75 % e 3,97 % per il fosforo e 1,74 % e 2,08 % per l'azoto.

Serono e Palozzi ⁽⁴⁾ hanno trovato in una lecitina pura estratta dal tuorlo d'uovo il 3,85 % di fosforo e 1,73 % di azoto.

I valori calcolati per una lecitina dipalmitica $C_{40}H_{82}PO_9N$ sarebbero 4,12 % per il fosforo e 1,86 % per l'azoto, e per una lecitina dioleica $C_{44}H_{86}PO_9N$ si ha 3,84 % di fosforo e 1,73 % di azoto.

Per i valori trovati sperimentalmente il rapporto P:N non è uguale al teorico 2,21, ma si avvicina più o meno ad esso, come si rileva dalla tabella I.

TABELLA I.

	Fosforo %	Azoto %	Rapporto P : N
Bergell	3,75	1,74	2,14
Stern e Thierfelder.	3,97	2,08	1,91
Mac Lean	3,95	1,88	2,10
Fourneau e Piettre	3,86	1,76	2,19
Serono e Palozzi	3,85	1,75	2,20
Calcolato per $C_{40}H_{82}PO_9N$ (lecitina dipalmitica)	4,12	1,86	2,21
Calcolato per $C_{44}H_{86}PO_9N$ (lecitina dioleica)	3,84	1,73	2,21

Nei preparati a base di emulsioni di lecitina ex ovo esistenti in commercio il contenuto in fosforo dell'estratto lecitinico è inferiore ai valori ottenuti per le lecitine pure, il contenuto in azoto è

⁽⁷⁾ Ber., 33, 2584 (1900).

⁽⁸⁾ Z. physiol. Chem., 53, 371 (1907).

⁽⁹⁾ Bioch. J., 6, 355 (1912).

⁽¹⁰⁾ Bull. Soc. Chim., 11, 806 (1912).

in generale anche inferiore, ma le differenze con le percentuali riscontrate nella lecitina pura sono proporzionalmente più piccole di quelle che si hanno per il fosforo, onde il rapporto P:N è sempre più o meno inferiore a 2.

Allo scopo di evitare la confusione, che talvolta è accaduto di rilevare, tra i valori riportati nei diversi trattati, che si riferiscono alla lecitina ex ovo pura, e quelli effettivamente corrispondenti ai prodotti usati in terapia, ho esaminato un certo numero di estratti lecitinici ex ovo determinandone il contenuto in fosforo ed azoto e fissandone altresì alcune caratteristiche, che li distinguono dalla lecitina pura.

PARTE SPERIMENTALE

Alcuni di questi estratti vennero presi direttamente dal commercio, altri vennero gentilmente forniti dalle Ditte preparatrici.

Essi si presentavano sotto forma di pasta, ovvero in soluzione alcolica, ovvero già emulsionati con soluzione fisiologica.

La pasta lecitinica, eventualmente separata dalle emulsioni e liberata dal solvente, veniva seccata nel vuoto a 40° fino a peso costante prima di procedere alle determinazioni quantitative.

Il fosforo venne determinato per via ponderale come pirofosfato di magnesio secondo il metodo di Woy, sul residuo della distruzione della sostanza organica effettuata in presenza di carbonato sodico e nitrato potassico, l'azoto col metodo di Kjeldahl.

I risultati ottenuti sono riportati nella tabella II.

TABELLA II.

Campione	Fosforo ‰	Azoto ‰	Rapporto P:N	Campione	Fosforo ‰	Azoto ‰	Rapporto ‰
1	2,95	1,69	1,74	7	2,85	1,59	1,72
2	3,13	1,47	2,12	8	3,18	1,61	1,97
3	2,99	1,64	1,82	9	3,04	1,57	1,93
4	2,78	1,58	1,76	10	3,29	1,62	2,03
5	2,75	1,70	1,62	11	3,25	1,75	1,85
6	3,03	1,58	1,91	12	3,30	1,75	1,93

Considerando le percentuali di fosforo ed azoto dei vari prodotti esaminati in relazione ad altre caratteristiche di ciascuno di

essi si è potuto concludere che per i buoni preparati il contenuto in fosforo oscilla generalmente intorno a 3 % e quello in azoto intorno a 1,60 %, in modo che il rapporto fosforo-azoto risulta di poco superiore a 1,90. In un solo caso il tenore in azoto è risultato proporzionalmente più basso in modo che il rapporto fosforo-azoto è di poco superiore a 2.

I preparati aventi un contenuto in fosforo intorno a 3,3 % avevano subito un trattamento di purificazione ed uno di essi conteneva ancora tracce di solvente adoperato. I caratteri organolettici di questo ultimo prodotto differivano alquanto da quelli degli altri campioni, avvicinandosi di più a quelli della lecitina pura.

Dall'esame dei caratteri organolettici degli altri prodotti studiati è risultato che gli estratti lecitinici di buona preparazione e ben conservati si presentano come pasta di colore giallo oro lievemente rossiccio e odore caratteristico di estratto di uovo fresco, mentre i prodotti più scadenti o alterati per lunga conservazione dell'estratto sotto forma di pasta hanno un colore rosso-bruno fino a bruno e odore di rancido o di trimetilammina più o meno accentuato.

Essi sono tutti solubili in cloroformio, alcole elitico, etere solforico, dando soluzioni più o meno colorate in giallo oro i prodotti ben conservati, giallo rossiccio o giallo bruno gli altri.

La soluzione alcolica trattata con soluzione satura di cloruro di cadmio in alcole dà un precipitato bianco caratteristico di cloruro di cadmio-lecitina.

La soluzione in etere trattata col triplo volume di acetone lascia precipitare la lecitina mentre la luteina, la colesterina e i grassi restano in soluzione. La precipitazione avviene per lo più sotto forma di fiocchi compatti, voluminosi, di colore bianco sporco, che esposti all'aria assumono colorazione rossiccia fino a bruna; la massa precipitata, lavata con acetone finchè questo non si colora più in giallo, dovrebbe essere costituita da lecitina quasi pura.

Sottoponendo al trattamento di purificazione sopra descritto un certo numero di estratti lecitinici del commercio, e determinando il contenuto in fosforo ed azoto delle lecitine precipitate si è trovato per tutte un contenuto in fosforo alquanto superiore a quello dell'estratto lecitinico di partenza, e più vicino ai valori citati per le lecitine pure.

Il contenuto in azoto invece è risultato aumentato in proporzione normale solo in due casi; per gli altri campioni tale aumento è troppo forte relativamente al valore trovato per il prodotto di partenza, in modo che il rapporto fosforo-azoto che dovrebbe maggiormente avvicinarsi al teorico, trattandosi di sostanza più pura, ne risulta invece alquanto più basso, e talvolta è inferiore a quello calcolato per l'estratto lecitinico di partenza.

Questo fa supporre che nel trattamento con acetone, insieme con la lecitina, precipitino altre sostanze azotate che ne alterano il rapporto fosforo-azoto ⁽¹¹⁾. Tali sostanze non sarebbero presenti in quei preparati in cui il rapporto fosforo-azoto si avvicina di molto al teorico.

I valori trovati sono esposti nella tabella III di confronto con quelli ottenuti per gli estratti lecitinici di partenza.

TABELLA III.

Estratto lecitinico ex ovo				Lecitina precipitata con acetone dalla soluzione eterea		
Campione	Fosforo ‰	Azoto ‰	Rapporto ‰	Fosforo ‰	Azoto ‰	Rapporto ‰
1	3,13	1,47	2,12	4,02	2,15	1,87
2	2,99	1,64	1,82	3,57	1,95	1,83
3	2,75	1,70	1,62	3,41	2,03	1,68
4	3,03	1,58	1,91	3,54	1,73	2,03
5	3,18	1,61	1,97	3,58	1,70	2,10
6	3,29	1,62	2,03	3,82	1,76	2,17
7	3,25	1,75	1,85	3,67	2,08	1,75
8	3,30	1,75	1,93	3,67	1,96	1,87

Oltre che per il contenuto in fosforo ed azoto gli estratti lecitinici del tuorlo d'uovo si distinguono dalla lecitina pura per il loro contenuto in luteina e colesterina.

Queste due sostanze sono facilmente identificabili nel residuo della soluzione etero-acetonica separata dopo la precipitazione della lecitina. Tuttavia, poichè questo procedimento richiede l'impiego di una maggiore quantità di sostanza ed un discreto consumo di solvente, è risultato più semplice e rapido eseguirne la ricerca mediante una prova di saponificazione.

⁽¹¹⁾ M. WINTGEN e O. KELLER, Arch. Pharm., 244, 3 (1906).

A tale scopo gr. 0,5 dell'estratto in esame si saponificano con 3-4 cm³ di potassa alcolica al 20 % tenendo su b.m. a ricadere per circa mezz'ora.

Si evapora l'alcole e si scioglie il sapone asciutto in acqua calda, dopo raffreddamento si dibatte la soluzione saponosa con etere solforico il quale estrae la luteina, colorandosi in giallo, e la colesterina, mentre i prodotti di scissione della lecitina, acido glicerinfosforico, acidi grassi e colina restano nella soluzione acquosa.

Distillando l'estratto eterico si ottiene una massa costituita di sostanza bianca nelle formazioni a ciuffi caratteristiche dei cristalli di colesterina, mista a sostanza di colore giallo-rossiccio, costituita prevalentemente da luteina.

La separazione della colesterina si effettua sciogliendo il residuo dell'estratto eterico in poco alcole metilico caldo, dal quale essa cristallizza per raffreddamento della soluzione.

La presenza della luteina nella soluzione metilica si riconosce mediante la reazione di Weyl con soluzione di acido nitroso, dal quale le soluzioni colorate in giallo per la presenza di luteina vengono decolorate completamente.

Eseguendo il saggio di saponificazione secondo le modalità sopradescritte su parecchi tipi di estratti lecitinici si è osservato che i prodotti freschi e ben conservati danno saponi di colore giallo chiaro o giallo legno, mentre quelli alterati per invecchiamento o per cattiva preparazione danno saponi di colore giallo bruno o bruno deciso. Analogamente le soluzioni di questi saponi in acqua sono colorate in giallo oro più o meno intenso, ovvero in giallo bruniccio fino a bruno scuro. Dopo la estrazione con etere le soluzioni saponose provenienti dai prodotti buoni restano solo leggermente più chiare, mentre quelle provenienti da prodotti alterati conservano la colorazione bruna.

Questa distinzione è importante in quanto permette di giudicare della freschezza e della buona conservazione degli estratti lecitinici già emulsionati.

Roma - Istituto superiore di Sanità - Laboratorio di chimica

RIASSUNTO

E' stata studiata la composizione degli estratti lecitinici ex ovo introdotti nell'uso terapeutico in confronto con quella della lecitina

pura ex ovo con la quale detti estratti vengono molto spesso confusi.

In base ai risultati delle ricerche fatte si è stabilito fra l'altro che nei buoni preparati il contenuto in fosforo si aggira intorno al 3% e l'azoto intorno a 1,60%, in modo che il rapporto fosforo-azoto risulta di poco superiore a 1,90.

RESUMÉ

L'A. a étudié la composition des extraits de lécytine ex ovo introduits dans le traitement thérapeutique en comparaison de la composition de la lecytine pure ex ovo avec laquelle les sus-dits extraits sont confondus. Sur la base des résultats des recherches faites elle a établi entre autre que dans les bon produits la proportion en phosphore atteint environ 3% et celle de l'azote environ 1,60% de façon que le rapport phosphore-azote soit légèrement supérieur à 1,90.

SUMMARY

The composition of ex-ovo lecithinic extracts used for therapeutics has been studied with comparison to the composition of pure ex-ovo lecithins with which the above mentioned extracts are very often confounded.

On the basis of the results of such research, it has also been established that good preparations contain around 3% phosphore and around 1,60% azote, so that the phosphore azote ration is little superior to 1,90.

ZUSAMMENFASSUNG

Die Zusammensetzung der ex ovo Lezithin-extrakte als therapeutisches Mittel, verglichen mit dem reinen ex ovo Lezithin mit dem sie oftmals verwechselt werden, - wird eingehend untersucht.

Auf Grund der bei der Untersuchung erzielten Ergebnisse, ist festgestellt worden, dass bei den hochwertigen Präparaten der Phosphorgehalt bei 3% und der Stickstoffgehalt bei 1,60% liegt, sodass das Phosphor-Stickstoff über verhältnis etwas 1,90 liegt.