

682

001

Dr. Isidro Heredia Filho

# Contribuição ao estudo dos corpos acetonicos

These de concurso

1919



ED

16.462

542c

919

GLBO — Barcellos, Bertaso & C. — Porto Alegre  
: Santa Maria, Cruz Alta e Uruguayana

Dr. Isidro Heredia Filho  
Medico e pharmaceutico formado pela Facul-  
dade de Medicina de Porto Alegre

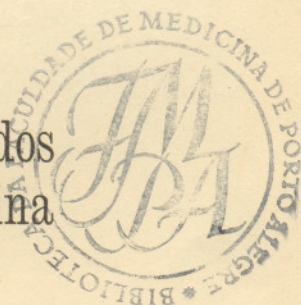
These de concurso  
para professor substituto da  
2ª Secção (Chimica Medica)

apresentada á  
Faculdade de Medicina de Porto Alegre

1919

Contribuição ao estudo dos  
corpos acetonicos na urina

SUA PESQUIZA E DOSAGEM



Porto Alegre

Officinas graficas da LIVRARIA DO GLOBO — Barcellos, Bertaso & C

Filiaes: Santa Maria, Cruz Alta e Uruguayana

9120



Bib. Fac. Med. UFRGS

T-0474

Contribuicao ao estudo dos cor

*Nos meus mestres:*

*Prof. Christiano Fischer*

„ *Dias Campos*

*e*

„ *Sarmento Leite;*

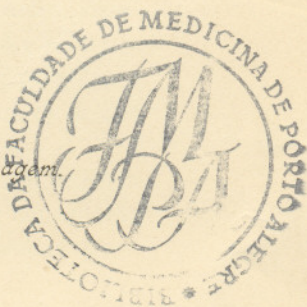
*Nos Professores*

*Guerra Blessmann*

*e*

*Pereira Filho*

*Homenagem.*



## DUAS PALAVRAS

---

Ao preferirmos o presente assumpto que nos serve de these para concurso de professor substituto da 2.<sup>a</sup> Secção (Chimica Medica), o fizemos convencido de que, dada a real importancia que tem o diagnostico precoce da acetonuria na diabetes glycosurica, poderiamos prestar útil serviço, tanto ao clinico como ao chimico.

Embora o fim especial do nosso trabalho seja a dosagem, na urina, da acetona e dos corpos que lhe dão origem, comtudo, achamos conveniente fazer um breve estudo sob o ponto de vista bio-chimico dos corpos precursores da acetona, elaborados na economia, indo buscal-os na sua origem.

Nesse intuito, dividimos a materia em tres partes, constando a primeira da bio-chimica dos corpos acetonicos e a segunda e a terceira da technica dos diversos processos de pesquisa e dosagem da acetona e dos corpos que lhe dão origem, os acidos B oxybutyrico e diacético.

Não é novo o assumpto, porém, achamos-lhe um aspecto de utilidade pratica e isto bastou para o adoptarmos convencido de que algum proveito trará á elucidación das hodiernas questões communs da clinica e do laboratorio.

## PRIMEIRA PARTE

### CAPITULO I

## Bio-chimica dos corpos acetonicos

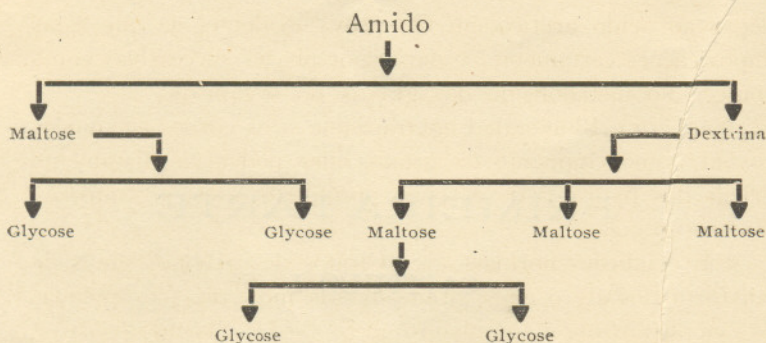
Na synthese do bio-chimismo digestivo, o organismo num trabalho incessante de desdobramento e de reconstrucção, elabora os elementos de que necessita quando estes não lhe são fornecidos em condições de serem immediatamente assimilados.

Os hydratos de carbono, as graxas e os proteicos compõem os tres grandes grupos de alimentos organicos, dos quaes a economia retira as substancias de que se utiliza para provêr ás suas faltas; e, são ellas precisamente, que dão origem entre outros, aos corpos acetonicos.

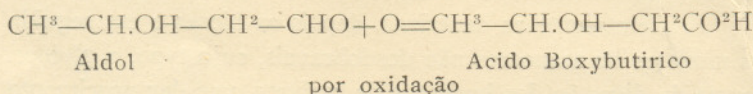
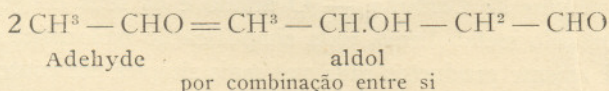
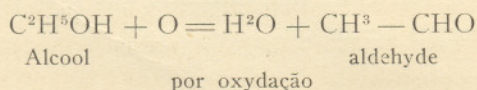
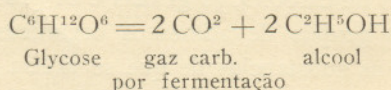
*Hydratos de Carbono.* — O amido e os seus congeneres, soffrem, pelo metabolismo, uma simplificação molecular, dando gradativamente productos cada vez mais simples em consequencia dos successivos desdobramentos.

Primeiramente as dextrinas, depois as bioses e em seguida as monoses ou assucares não desdobraveis, cujo typo, a glycose, termo da digestão dos hydratos de carbono, vae dar nascimento ao glycogenio, outro hydrato de carbono differente que se armazena no figado e em toda a economia constituindo o assucar de reserva do organismo.

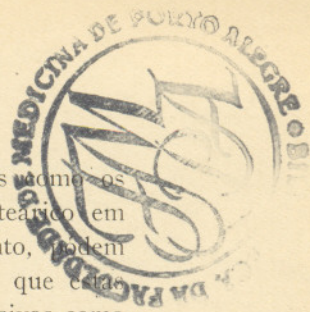
O seguinte schema de Hugounenq, representa as transformações do amido:



Reduzidos a monoses em  $C^6H^{12}O^6$ , os hydratos de carbono glucose, levulose e galactose, penetram na economia para ali soffrerem varias e numerosas modificações até chegarem ao glycogenio que se desdobra por hydrolise ou por acção diastatica, dando logar novamente á formação de glucose, da qual resultaria na opinião de alguns autores:



Outra corrente de opiniões, é a de que os hydratos de carbono, graças ás transformações soffridas no organismo, se converteriam em gordura sob a fórmula de reservas adiposas, dando logar a acidos da série graxa, que têm por formula geral



$C^nH^{2n}O^2$ , representados por corpos bem conhecidos como os ácidos superiores, palmítico em  $C^{16}H^{32}O^2$  e esteárico em  $C^{18}H^{36}O^2$ , que, de desdobramento em desdobramento, podem chegar ao ácido acético em  $C^2$ , prova evidente, de que estas simplificações certamente se darão por fases successivas como acontece no metabolismo das graxas no organismo.

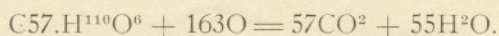
Neuberg e Blumenthal notaram que si os corpos acetonicos provêm immediatamente da graxa, elles pôdem mediatamente derivar dos hydratos de carbono porquanto estes, se transformam em graxa.

Em condições normaes, os hydratos de carbono depois de transformados até o mais intimo da sua molecula, são queimados completamente e eliminados em  $CO^2 + H^2O$ , sendo possível, que no estado não hygido, o assucar se degrade, dando compostos intermediarios como o ácido glycuronico ou se allie a derivados da série aromatica, que, perturbariam a sua oxydação, dando lugar a que sejam eliminados em natureza pelo rim, constituindo um estado pathologico: a diabete glycosurica.

A bioclinica constata, porém, que os hydratos de carbono não se comportam como as graxas e os proteicos, pois que, quando o individuo é submettido ao jejum absoluto dos hydratos de carbono, sem no entanto ser privado dos alimentos que constituem os grupos da gordura e dos proteicos, os corpos acetonicos globalmente comprehendidos, augmentam consideravelmente, donde se conclue que sua presença no organismo, trava até certo ponto as trocas, quem sabe, si por um poder electivo da economia capaz de transformal-os de preferencia a outros, por motivos de constituição molecular.

*Corpos graxos.* — Nas materias gordurosas, acham-se representados na proporção de 90%, os ácidos *palmítico*  $C^{16}H^{32}O^2$ , *estearico*  $C^{18}H^{36}O^2$  e *Oleico*  $C^{18}H^{34}O^2$ ; uma boa parte destes corpos é emulsionada no tubo digestivo antes de penetrar na economia; a outra, é saponificada, dando lugar á formação de glicerina e ácidos graxos menos complexos cuja destruição no organismo, lenta e methodica, serve para simplificar a longa cadeia carbonada que os caracteriza e cujo resultado é uma

combustão total com formação de ácido carbonico e agua como termo final de excreção.



No metabolismo das graxas e dos proteicos, finalizando em  $CO_2 + H_2O$ , vão se succedendo simplificações, como parece demonstral-o a presença dos ácidos graxos *pares* desde o ácido estearico em  $C^{18}$ , o ácido butyrico em  $C^4$  até o ácido acetico em  $C^2$ , simplificações estas, gradativas, que parece se façam pela B. oxydação ou seja mais simplesmente pelo destacamento de dous elos —  $(CH^2 - COOH)$  — da cadeia, com producção de um novo ácido, tendo dous anneis de menos, indo, de desdobra-mento em desdobramento até aos precusores da acetona: Ácido B. oxybutyrico, ácido acetylacetico e acetona.

Os ácidos B oxybutyrico e diacetico, sendo productos nor-maes de regressão das graxas e dos proteicos, têm apenas, phy-siologicamente, uma existencia transitoria na economia, por isso que são rapidamente oxydados, no acto da sua formação.

Persistindo no organismo, por effeito da difficuldade da sua conversão em  $CO_2 + H_2O$ , e associados provavelmente a complexos da série aromatica, perturbar'iam sua oxydação como bem o demonstra a chimica pathologica da diabetes; caracteri-sam a *acidose* e sendo neutralisados pelo ammoniaco, passam na urina sob fórma de saes ammoniacaes ao mesmo tempo que uma outra parte se transforma em acetona.

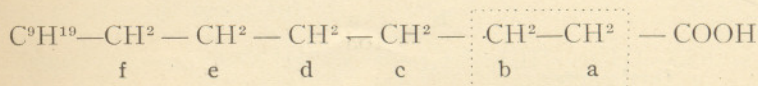
A theoria da B. oxydação de Knoop, explica o mechanismo delicado por que se dão no organismo essas transformações, sendo ella em synthese assim concebida:

*Quando um ácido de longa cadeia carbonada se oxyda, a oxydação se faz sobre o elo B, (de donde lhe vem o nome), acarretando a desappareição simultanea, por combustão total, das duas cadeias consecutivas A e B.*

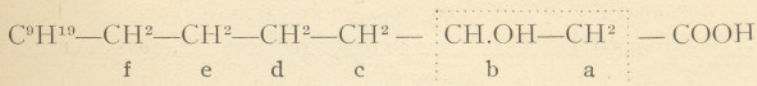
O ácido palmitico, por exemplo, que existe na graxa hu-



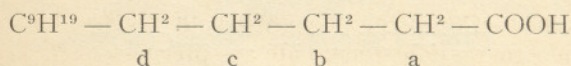
mana e na dos animaes e que tem por formula  $C^{16}H^{32}O^2$ , pela theoria de Knoop assim se comportará:



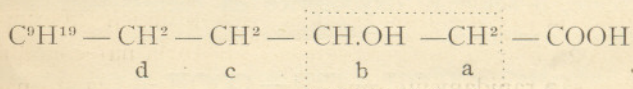
a oxydação em B dará:



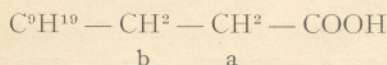
e por desaparição das cadeias *a* e *b*:



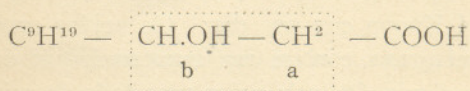
de donde a *b*. oxydação permite a derivação:



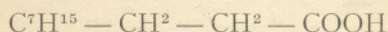
depois, pelo desaparecimento de dous elos em *a* e *b*, um corpo em:



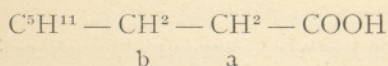
que oxydando-se, temos:



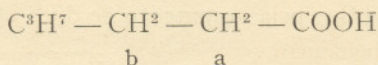
Desaparecendo os anneis *a* e *b*, fica:



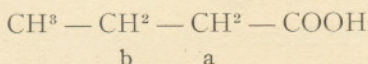
Depois, sempre pelo mesmo processo:



Ainda :

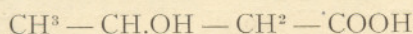


e finalmente :

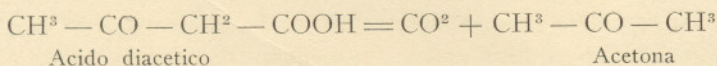
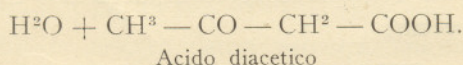
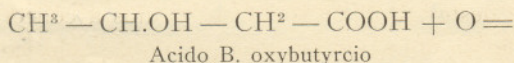


isto é, o acido butyrico, termo final dos tres acidos fundamentaes das graxas as quaes têm numero *par* de atomos de carbono.

O acido butyrico oxydando-se, por sua vez, segundo a lei de Knoop, dá o acido B. oxybutirico :



Ainda em circumstancias pathologicas, nos diabeticos principalmente, o acido B. oxybutyrico dá successivamente acido diacético e acetona :

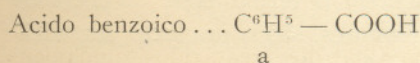
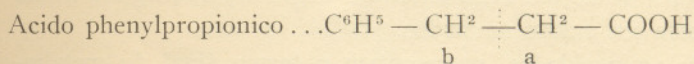
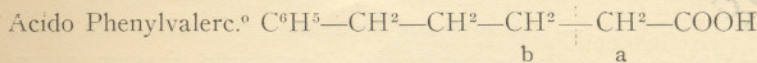


Ainda é Knoop que nos diz: Os acidos aromaticos cuja cadeia lateral graxa contem um numero *impar* de atomos de carbono, são eliminados pela urina no estado de acido benzoico; quando a cadeia é *par*, o acido deixa o organismo sob a fórmula de acido phenylacético.

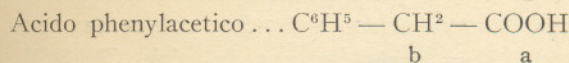
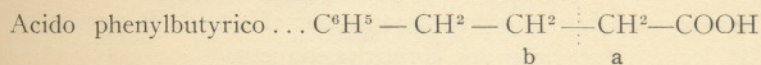
O acido phenylvalerianico, da cadeia graxa impar, passa na urina sob o estado de acido benzoico porque a oxydação se dá no elo B, causando, pela ruptura entre *a* e *b*, a amputação de dous elos carbonados.

O novo acido que se formou, é o phenylpropionico que

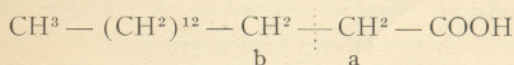
sendo atacado em B e pela amputação de dous elos, chega finalmente ao acido benzoico:



Inversamente, um acido da cadeia lateral *par*, como o acido phenylbutyrico, dará pelo ataque em B, seguido da supressão de dous elos, o acido phenylacetico que não tendo senão um anel *a* não póde ser atacado em *b* e se elimina:

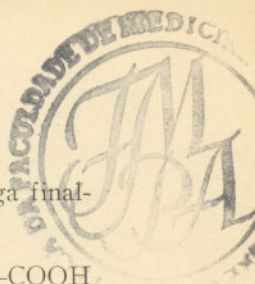


Diante destes resultados, somos levados a concordar que a simplificação de um acido graxo tal como o palmitico



teria inicio por oxydação do elo  $CH^2$  siutado em *b*, seguido da queda de dous elos carbonados da cadeia e da producção de um novo acido com dous anneis de menos. Este acido soffrendo um novo ataque em *b*, seria do mesmo modo amputado e assim pir diante.

Em face da theoria da B oxydação e encarando a questão sob o ponto de vista bio-chimico, porquanto *in vitro* se prova a destruição gradual dos acidos graxos, podemos acceitar a simplificação de um acido da série gordurosa, á custa de perdas successivas de elos carbonados até chegar a um acido menos complexo, o butyrico, que perdendo dous elos carbonados dá logar aos productos da B oxydação: os acidos B oxybutyrico, diacetico e a acetona, ou sejam os compostos que constituem a familia bio-chimica dos corpos acetonicos que o organismo elabora, no curso da diabetes saccharina e por vezes em quantidade



exaggerada, muito principalmente no momento em que explodem os phenomenos clinicos do coma.

*Proteicos.* — As materias proteicas, soffrendo uma série methodica de acções successivas de degradação, chegam, numa boa parte aos acidos aminados.

Os aminocidados, representam o termo final do metabolismo dos proteicos, como as monoses, são o producto derradeiro do metabolismo dos hydratos de carbono.

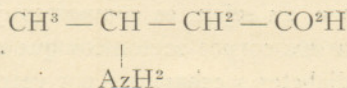
A desintegração dos albuminoides, fornece ao organismo materias diferentes, isto é, albuminas não especificas, das quaes elle elabora e se apropria dos elementos que lhe são necessarios para depois os transformar em polypeptides e acidos aminados livres, que soffrendo o desaminação por effeito da B oxydação, dão logar á formação dos corpos acetonicos.

Por que machinismo os acidos aminados, pobres em carbono, se transformam em acidos graxos da série  $C^nH^{2n}O^2$ , ainda não é bem conhecido; bem póde ser que estes acidos não intervenham por si sós e sim associados a polypeptides complexas que perdendo o grupo aminogeno  $AzH^2$ , dêem nascimento á longa cadeia carbonada dos acidos graxos.

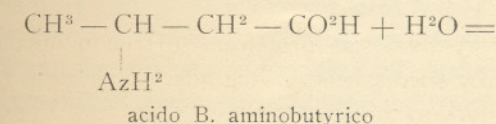
Perdendo o seu azoto, prova inconcussa da sua origem proteica, os acidos aminados, transformados em acidos graxos simples, confundem-se com os acidos provenientes da degradação das materias graxas. Não obstante, os acidos aminados são acarretados pela urina, embora em quantidade pequenissima.

A maior parte, experimenta uma destruição profunda, donde resulta que o grupo aminogeno abandonando a molecula dá o ammoniaco ao lado de um acido ternario que como os hydratos de carbono e as gorduras é completamente queimado, dando como termo final  $CO^2 + H^2O$ .

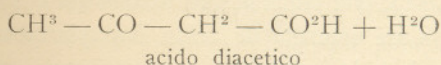
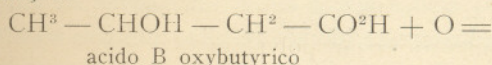
Por effeito da desintegração dos proteicos, dá-se a formação de diversos acidos aminados, tendo como termo final o acido B oxybutyrico:



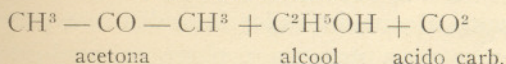
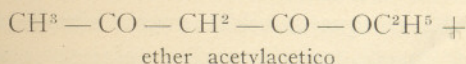
que por hydratação dá logar á formação do acido B oxybutyrico e ammoniaco:



O acido B. oxybutyrico, por sua vez, oxyda-se e dá nascimento ao acido diacético, com producção de agua como termo final da reacção:

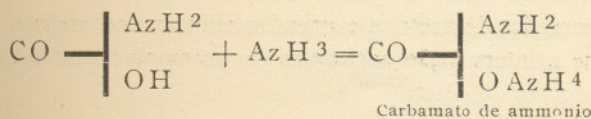
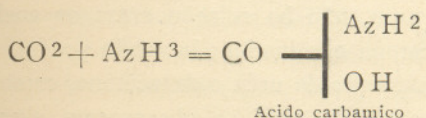


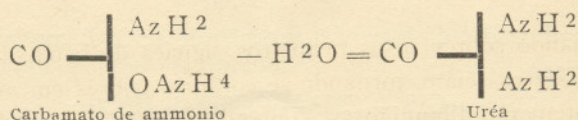
O acido diacético, ou para melhor dizer, o seu ether, em presença da alcalinidade do sangue é saponificado e dá nascimento á acetona, alcool ethylico e acido carbonico:



E' assim que se explica a presença simultanea do acido B oxybutyrico, do acido diacético e do ammoniaco, na urina pathologica e principalmente no coma diabetico.

No estado de saude, todos esses productos seriam completamente queimados e transformados em agua e gaz carbonico, com excepção do ammoniaco que seria retomado pelo figado e transformado em uréa:





Pelo exposto, fica evidenciado que os hydratos de carbono de modo indirecto, as graxas e os proteicos, directamente, são os productores dos corpos acetonicos na economia.

Loeb o demonstrou, fazendo ingerir a um individuo são, butyrato de sodio e verificando que a excreção do acido B oxybutyrico era maxima.

Com os proteicos, tambem se observou, que administrando aos diabeticos acidos aminados, a quantidade de corpos acetonicos excretados cresce, donde resulta, que não só o organismo doente como o são, transformam os acidos graxos simples e os acidos aminados até o termo de acido B oxybutyrico.

No estado hygido, portanto, o organismo produz grande quantidade de corpos acetonicos, não eliminando senão traços, o que leva á conclusão de que o resto elle o destroe graças ás combustões.

No momento em que os acidos graxos simples e os acidos aminados, chegam por transformações successivas até o acido B oxybutyrico, e seus derivados immediatos, a presença destes no organismo inicia uma nova phase na qual se encontra o grande interesse que apresentam estes corpos no problema physiologico das trocas nutritivas intermediarias, especialmente na diabetes, quando se manifestam os phenomenos toxicos da *acidose*.

A quantidade de acetona eliminada pela urina, não é a expressão exacta da quantidade que o organismo fabricou, pois que pelos pulmões se elimina grande parte.

Para Argenson, não ha relação entre os coefficients de assucar e de acetona eliminados; havendo porém, uma relação intima entre a excreção da uréa e da acetona, como acontece na diabetes pancreatica na qual se observaram simultaneamente fortes excreções de acetona e grandes eliminações ureicas, parecendo que a intervenção antitoxica do ammoniaco entra ahi em acção.

Quando sobrevêm os primeiros signaes do coma diabetico, as urinas escasseiam, tornando-se coradas, pobres em assucar e frequentemente albuminosas, contendo notaveis quantidades de corpos acetonicos bem como seus saes ammoniacaes se acham muito augmentados, podendo attingir até 5,0 nas 24 horas em logar de 0,60, como se dá no estado normal no mesmo espaço de tempo.

A eliminação de fortes quantidades de acido B oxybutyrico, de acido diacético e de acetona, ao lado da impregnação acida do organismo, pois que, a alcalinidade do sangue é consideravelmente diminuida, deu logar á theoria da acidose, sustentada por Stadelmann e Minkowski. Para Klemperer, os accidentes do coma diabetico, são devidos a uma toxina desconhecida, o que não está provado. Desde que pela alcalinisação do meio interno sejam a tempo combatidos os phenomenos da intoxicação acida, tudo pôde modificar-se e é nisto que consiste o grande merito do diagnostico precoce da hyperacidose.

Para Lepine, a acidose existe e elle admite, com Sternberg, que a causa d'ella é o acido B aminobutyrico, o qual por hydratação dá logar ao acido B oxybutyrico que pelo desprendimento do grupo aminogeno se dariam logar a novas formações de productos nitrilicos complexos, excessivamente toxicos, que seriam a causa do coma diabetico.

Fiquet, dá grande importancia ás nitrilas no coma diabetico. Reconhece porém, que injectando nas veias do coelho urinas acetonicas ou nitrilas, obtem sempre os mesmos phenomenos de toxidez; além d'isto, sabe-se que as urinas dos diabeticos contém acetona e acido B oxybutyrico, ao passo que não se sabe si contém nitrilas. *In vitro* se transformam facilmente as nitrilas toxicas em acidos carboxylados inoffensivos, tratando-as por bases alcalinas; é por isso que o tratamento do coma diabetico pelos alcalinos é bem indicado, pois estes, além de saturar os acidos, favorecem as oxydações e as hydratações.

Freriches, diz ter observado a hyperacidose, 153 vezes em 250 diabeticos.

## CAPITULO II

# Acetonemia

No decurso mais ou menos longo da diabetes, excepcionalmente não sobrevivem alguma complicação; geralmente, ellas apparecem na phase ultima da molestia, sendo raro que surjam precocemente para descobrir uma diabetes até então ignorada.

No estado hygido, o homem excreta acetona em diminuta quantidade (mais ou menos 20 milligramas segundo Lepine, 17 no dizer de Jacksch, 10 na opinião de Argenson, nas 24 horas), principalmente depois das refeições, pela expiração e pelo rim, sendo por este em quantidade menor, o que não admira visto a volatilidade da acetona.

Toda vez, que a quantidade de acetona não se eleve de 20 milligramas, nas 24 horas, e que não venha acompanhada de um corpo acetonico, o acido diacético, não se pode dizer que exista acetonemia.

Na urina normal, embora contendo traços de acetona, não são encontrados os acidos diacético e B oxybutyrico.

Schwarz, não pode verificar a presença do acido B. oxybutyrico nem mesmo naquelles que escretavam 0,61 de acetona por dia.

No estado morbido, encontram-se sempre na urina acompanhando a acetona, os acidos B oxybutyrico e diacético.

No decurso de varias molestias, na inanição, nas intoxicções chimicas ou autogenas e mesmo sob a acção de medicamentos cetogenos verifica-se a hyperacetonemia que tem ainda na diabetes o seu maximo de intensidade e frequencia.



E' necessario, tomar em consideração a acção cetogena do chloroformio e do ether, antes de praticar a anesthesia nos diabeticos. Quando a acetonemia é ligada á auto-intoxicação o prognostico é favoravel na opinião de Jaksch.

Os corpos acetonicos, globalmente comprehendidos, podem attingir a algumas grammas nas 24 horas, muito especialmente o acido B. oxybutyrico que pôde chegar até 30,0; a acetona, em certos casos donde a quantidade de assucar é grande, o seu coefficiente de excreção não excede do normal, elevando-se, porém, em outros a 1,0 e mais, podendo attingir até 5,0 nas 24 horas, segundo affirma Wolpe.

Foi Geelmuyden que reuniu sob o nome de corpos acetonicos ou ketonicos, a acetona, o acido diacético e o acido B oxybutyrico.

Cotton, estudando ultimamente esses corpos, distillou grande numero de substancias alimenticias, ternarias e quaternarias, em presença da agua oxygenada e verificou que todas dão mais ou menos acetona.

Parece tambem a alguns biologistas que os acidos acetonicos, não são a unica fonte da acetona no organismo, visto como, pela addicção ao sangue circulante de diferentes corpos, incapazes de dar acido B. oxybutyrico, por exemplo a tyrosina, a quantidade de acetona é consideravelmente accrescida.

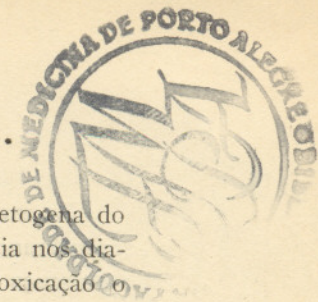
Assim pensam Emdem. Salomon e Schmidt, que dizem ser a acetona derivada da tyrosina que é um amino-acido proveniente da desagregação dos albuminoides.

A alimentação não deixa de ter influencia, pois ministrando butyrato de sodio a individuos não diabeticos houve augmento de acetona na urina.

A alimentação carnea, exclusiva, é ketogena porque sustenta a ração dos hydratos de carbono indispensaveis.

Hagemberg affirma que a acetonemia está intimamente ligada á ingestão de acidos graxos, diminuindo sua proporção quando são ingeridas as graxas neutras.

O exercicio muscular, não influe no augmento da acetona.



Na inanição, desde o 2.º dia, a acetona augmenta na urina sendo francamente positiva a reacção de Gerhardt, o que prova a presença do acido diacético; no dia seguinte, pôde ser dosado o acido B. oxybutyrico, que será achado na proporção de 2 a 3,0. Quanto á acetona, pode elevar-se até 400 milligrammas, nas 24 horas ou sejam 20 vezes mais que o normal.

A quantidade de acetona urinaria, se eleva desde o 2.º dia da inanição, o que se explica pela presença de acido diacético no sangue, o qual, pouco instavel, se decompõe no rim, donde o nascimento da acetona e sua eliminação pela urina.

E' fora de duvida que o individuo normal adquire uma acetonemia em 3 ou 4 dias sendo privado em absoluto dos hydratos de carbono.

Basta porém, fazer ingerir 50,0 de assucar para que a acetonemia venha a decahir, o que se exprime dizendo que o assucar é anti-ketonico.

Si, ao emvez da ingestão, o assucar for injectado sob a pelle, não produzirá o mesmo effeito devido a não ter chegado subitamente ao figado, parecendo que no trajecto percorrido tenha contrahido combinações que o impedem de desempenhar o seu papel anti-ketonico.

Parece que a propriedade anti-cetogena dos hydratos de carbono, é devida a que os productos de desdobraimento do assucar ajudam á combustão das substancias cetogenas e mesmo dos corpos acetonicos, porquanto, na acetonemia, não só ha falta de combustões, como a formação dos corpos acetonicos é augmentada.

Por effeito da insufficiencia glycolytica, o organismo carece de glycose apta a desdobrar-se, para desempenhar o seu papel anti-ketonico.

Sendo assim, é facil concluir que a falta de hydratos de carbono, na inanição, dê logar á acetonemia, dando-se outro tanto na diabetes.

Seria erro considerar a acetonemia como uma complicação accidental da diabetes, pois que todo diabetico grave tem uma predisposição a se tornar acetonemico; e, nem todos os diabeti-

cos tornam-se acetonemicos, porém, quasi todos são mais ou menos ameaçados, porque em diversos grãos é geral a insufficiencia glycolytica.

A acetonemia não deve ser considerada como uma complicação fortuita da diabetes, mas sim como o termo final de toda diabetes grave, não tendo logar na diabetes ligeira, pela razão de que o individuo conserva uma energia glycolytica quasi intacta, faltando, ipso-facto, as condições essenciaes para a acetonemia. No jejum absoluto dos hydratos de carbono, se observará simultaneamente a desappareição da glycose e o apparecimento da acetonemia; o inverso terá logar si ministrarmos hydratos de carbono.

Os corpos acetonicos não possuem grande toxidez, a não ser pela sua qualidade de acidos; uma acetonemia ligeira, não é percebida pelo paciente nem pelo medico a menos que este não a procure.

Rörig ministrou 0,10 de acetona, *pro die* e por kilo, a um homem normal e nada de notavel observou. Ao mesmo individuo, que tinha 60 kilos, deu o dobro de acetona ou sejam 12,0 e só obteve phenomenos de embriaguez.

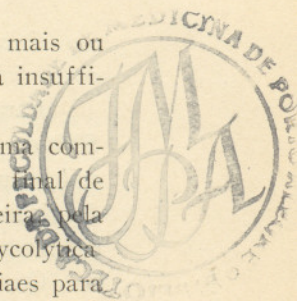
Freriches ministrou 40,0 de acido diacético a varios individuos, sem notar mais do que acetonemia e odor aromatico do halito.

A ingestão de 10,0 de acido B. oxybutyrico fica sem effeito. Porém o uso quotidiano e prolongado dos corpos acetonicos dá como resultado a diminuição da diurese pelo que se explica a anuria frequentemente observada nos diabeticos em estado comatoso.

Para neutralisar 100,0 de acido B. oxybutyrico, são necessarios 22,1 de soda caustica; elle possui portanto uma acidez fortissima.

Magnus Levi, provou que certos diabeticos podem escretar durante semanas mais de 50,0 diarias deste acido.

Assim se desenvolve nos doentes uma diathese acida comparavel á que causa a ingestão quotidiana de acidos mineraes, em pequenas doses.



O organismo não se defende e resiste á intoxicação acida como foi provado por Heiss.

Para neutralisar 56,0 de corpos acetonicos, são precisas 50,0 de bi-carbonato de sodio; a ingestão e mesmo a injeção endo-venosa de grandes doses de bi-carbonato de sodio, ainda deixam a urina fortemente acida; taes casos, se acompanham de coma e terminam pela morte.

Os grandes acetonemicos, que perderam ao menos em parte o poder de oxydar o acido B. oxybutyrico, organisam sua defesa excretando diariamente grandes quantidades de ammoniaco.

Antes da concepção da theoria da *acidose*, Boussingault tinha achado 1,6 de ammoniaco em 1 litro de urina de um diabetico e posteriormente têm sido encontradas diversas grammas nas 24 horas.

O organismo doente não está apto indefinidamente a produzir ammoniaco para lutar contra a acidose empobrecendo-se tambem em saes calcareas cuja excreção na urina vae alem da normal, com relação aos outros elementos inorganicos.

A quantidade do ammoniaco existente concomittantemente com a acetonemia dá indicio da reacção de defesa do organismo, pois que a ammoniuria não é outra cousa sinão a neutralisação dos acidos existentes no meio interno; 1,0 de ammoniaco neutralisa 6.12 de acido B. oxybutyrico.

Uma excreção de ammoniaco superior a 3,0 por 24 horas é sempre de máo prognostico, indicando coma eminente, pois que a excreção normal é de 0,66 nas 24 horas.

A pesquisa do acido B. oxybutyrico, tem grande importancia sob o ponto de vista do diagnostico, da existencia e do gráo de acidose.

A relação dos corpos acetonicos, entre si, é variavel; certo parallelismo se nota por vezes entre o acido B. oxybutyrico, a acetona e o acido diacetico; outras vezes é na razão inversa pois que aquelle acido desdobrando-se mal, é encontrado em proporção relativamente grande e inversamente, havendo casos em que não se encontra relação alguma entre elles; razão por-

que as dosagens feitas sómente sobre a acetona não permitem julgar a marcha da acetonemia.

No estado de saúde, a tensão do gaz carbonico é igual nos alveolos pulmonares e no sangue, pois regula a ventilação; si porém, um outro acido que não  $\text{CO}_2$ , circula no sangue, o centro respiratorio é superexcitado, a ventilação pulmonar augmenta e  $\text{CO}_2$  diminue no organismo. Póde-se julgar da dyscrasia acida pelo abaixamento da proporção de  $\text{CO}_2$ , que de 4,5 ou 5 % passa a 3,2 e menos.

O agravamento da acetonemia modifica a urina, que apresenta ammoniuria a qual em certos casos diminue si a economia não é capaz de sustentar a lucta para defender-se.

A glycorusia diminue graças á redução da alimentação.

A acetoniuria é augmentada a menos que os corpos acetonicos não fiquem retidos no organismo.

A albumina tambem augmenta; o volume da urina é diminuido; pelo exame ao microscopio do sedimento urinario, se encontram pequenos cylindros, curtos, granulosos, que têm sido considerados como precusores do coma.

Em synthese, os corpos acetonicos, devem ser considerados como toxicos, porquanto sua acidez causa no organismo quando produzidos em abundancia, uma diathese acida, cujos effeitos prolongados exercem sobre a economia uma influencia deleterea, mormente si o individuo está debilitado pela velhice ou por qualquer outra causa morbida.

A acetonemia que tem dado logar á producção de perturbações cerebraes é capaz de provocar o coma e a morte. Nem todo coma no diabetico, porém, é necessariamente acetonemico; não obstante, 50 % dos diabeticos finam-se em consequencia desta complicação.

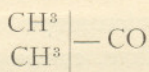
Os signaes da acidose não são premonitorios, a curto praso, do coma, mas sim, precusores; têm importancia diagnostica capital e, sendo o coma uma das causas mais frequentes de morte nos diabeticos, devemos agir si quizermos obter resultado, no periodo prodromico.

## SEGUNDA PARTE

### CAPITULO III

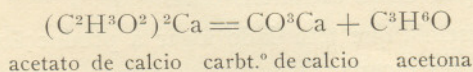
# Acetona

A acetona normal tem por formula bruta  $C^3H^6O$  e por formula de constituição



tambem chamada methyleno de acethyla, ether pyroacético, propanina, etc.

Corpo ternario, producto de oxydação de um alcool monoatomico secundario, é obtida industrialmente pela distillação das madeiras, do assucar, da cellulose e do acetato de calcio secco:

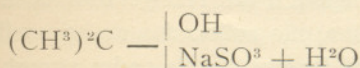


Para obtel-a pura, é necessario rectificar os liquidos obtidos, recolhendo as porções que passam entre  $50^\circ$  e  $60^\circ$  e depois tornar a distillar.

Apresenta-se sob a fórmula de um liquido incolor, muito movel, de cheiro parecido ao chloroformio ou a maçãs maduras.

Ferve a  $56^\circ,3$ ; seu peso especifico é 0,814; dissolve-se em todas as proporções n'agua, no alcool e no ether e fórmula com

os bi-sulfitos, um corpo crystallino, o aceton-bisulfito de sodio do qual póde ser isolada :



O acido chromico a oxyda, produzindo acido acetico e acido carbonico.

Producto normal de excreção, foi a sua presença notada na urina em meados do seculo passado e constitue a *acetonemia* quando a sua proporção excede a 0,02 por 24 horas. Em alguns casos póde ella chegar até 4 ou 6,0 nas 24 horas, sempre acompanhada dos acidos B oxybutyrico e diacético, designados globarmente sob o nome de corpos acetonicos.

A acetona pura, injectada em animaes, produz o coma. Inhalada pelo homem, provoca o somno anesthesico, embora de pouca duração.

O iodo em presença da ammonea, ou da potassa, nas soluções acetonicas, precipitam iodoformio; esta reacção porém, não é característica da acetona, porque com o alcool ethylico e com as aldehydes obtem-se o mesmo resultado.

Arde com chamma branca não fuliginosa e em contacto dos alcalis e do ar, resinifica-se. O chloro e o chlorureto de cal, em presença dos alcalis, convertem a acetona em chloroformio.

A pesquisa da acetona na urina, deve sempre ser feita sobre o producto de distillação da mesma. Nos processos que vamos descrever, ha reacções que permitem ser feitas na urina ora recentemente emittida ora não.

Nós porém, para evitar causas de erro, preferiremos sempre operar sobre o producto distillado da urina suspeita. Dentre as reacções que descrevemos, algumas sómente a titulo de curiosidade, existem varias cuja fidelidade é contestada, havendo outras que devem ser preferidas pela sua nitidez e fidelidade.

Para a distillação da urina, nos utilizamos de preferencia do apparelho de Salleron-Dujardin e na falta deste, de uma retorta commum, ligada a um refrigerador de Liebig.

100 cc. de urina, são collocados no apparelho com 1 cc. de acido sulfurico, uns fragmentos de pedra pomex, afim de evitar os sobresaltos (na falta destes, acido tartarico) e um pedacinho de parafina, para impedir que se forme espuma.

Quando o producto distillado attingir a 20 ou 30 cc. susta-se a operação.

Nós ainda preferimos diluir o distillado em agua distillada e rectifical-o recebendo o producto em recipiente cercado de gelo.

## Pesquisa da acetona

### REACÇÃO LIEBEN

modificada por Le Nobel:

#### *Reactivo*

I. ....	5,0
K I. ....	10,0
H <sup>2</sup> O até .....	100 cc.

A 5 c.c. do distillado, junta-se 1 c.c. do reactivo, 10 gottas de AzH<sup>3</sup> e gotta a gotta uma solução de hypo-chlorito de sodio; aquece-se brandamente a B. M.; o hypo-chlorito liberta o iodo, o qual agindo sobre o ammoniaco dá um precipitado negro de iodureto de azoto; este, reagindo sobre a acetona, dá o iodoformio que, quando em quantidade pequena, póde ser caracterisado ao microscopio pela sua fórmula crystallina hexagonal ou estrelada, pelo cheiro e pela solubilidade no ether.

Esta reacção se dá em consequencia de que em presença de um alcali, a acetona fórma com o iodureto um acetato alcalino e o iodoformio se precipita. O alcool determina a mesma reacção que não é especifica da acetona quando se procede pela reacção de Lieben, sem a modificação de Le Nobel.



## REACÇÃO DE BARDACH

Estapesquiza póde ser feita directamente sobre a urina que contenha albumina ou assucar. Tem certa analogia com a de Nobel e a modificação está na junção de peptona.

### *Reactivo*

- a) Solução de peptona depurada a 3 %
- b) Solução iodo-iodurada: I 4,0 — KI 6,0 — H<sup>2</sup>O até 100 c.c.

A 3 c.c. de urina filtrada e clara, junta-se 1 c.c. de peptona e depois solução iodo-iodurada até obter uma coloração intensa rubro-parda; depois adicionam-se 2 c.c. de ammoniaco que fará apparecer uma côr pardo-negra, que durará 10 minutos. Si a junção de ammonia fizer desaparecer a côr em poucos minutos, deve-se juntar mais iodo ás gottas. Si a reacção falhar, deve-se recommear com maior quantidade de iodo.

Depois de hora e meia, o precipitado que se formou é decantado. O residuo é tratado pelo Hcl para dissolver os phosphatos e si o liquido permanecer claro é prova de que não existe acetona.

Ao contrario, o precipitado que existir é examinado ao microscopio. Si o mesmo estiver muito escuro por excesso de iodo, póde ser descorado por algumas gottas de thiosulfito de sodio. O resultado sendo positivo, encontram-se numerosos crystaes em fôrma de agulhas e fios em parte enfeixados. Si a proporção da acetona for diminuta, o precipitado levará a formar-se até hora e meia.

Com urinas assucaradas, a proporção do iodo deve ser augmentada de accôrdo com a concentração glycosurica.

A reacção é de grande sensibilidade e apresenta-se em todas as combinações do grupo CH<sup>3</sup> — COC. não se dando em presença do alcool.

### REACÇÃO DE VOURNASOS

*Reactivo* (para ser usado na occasião)

Iodo .....	1,0
Iodureto de potassio.....	0,5
Agua distillada .....	50 c.c.
filtre e junte:	
Methylamina .....	5,0

Juntando este reactivo ao liquido acetónico, alcalinizado pela soda, se produz primeiramente iodoformio, que se transforma em iso-cyanato de methyla de cheiro penetrante e nauseabundo. A sensibilidade desta reacção é de 1 para 100 mil e póde ser feita sobre a urina desde que não contenha: alcool, chloroformio e acido lactico.

Technica:

Urina .....	10 c.c
Solução de soda.....	1:10-1 c.c.
filtre e junte:	
Reactivo .....	1 c.c.

### REACÇÃO DE DENIGES

*Reactivo*

Oxydo rubro de mercurio	5,0
Acido sulfurico .....	20 c.c.
Agua dist. até.....	100 c.c.

Em volumes iguaes juntam-se distillado e reactivo e se aquecem a B. M. durante 10 minutos. Si durante este tempo se formar um precipitado branco crystallino, a urina contém acetona.

A' urina não distillada tambem póde ser applicada esta reacção:

A 5 c.c. de urina junta-se 10 c.c. de reactivo; agite-se e filtre-se passados 5 minutos, aquecendo a B M.

A 3 c.c. do filtrado juntar 1 c.c. de agua distillada, aquecendo a B. M. Si formar um precipitado branco, a urina contém acetona.

### REACÇÃO DE BAMBERGER E STERNITZKI

Uma solução acetica de p-nitro-phenylhydrazina aquecida com acetona dá pelo resfriamento agulhas amarello-claras, fusíveis a 148°. Após crystallisação no alcool quente, coloram-se de vermelho violaceo pela potassa alcoolica.

### REACÇÃO DE LEGAL

modificada por Bonnamour e Imbert:

#### *Reactivo*

Acido acetico glacial..... 5 c.c.  
Solução de nitro-prussiato de sodio a 10 %..... 5 c.c.  
Conserve em vidro escuro.

Si a urina contiver acetona, apparecerá na superficie de separação dos liquidos, um disco de côr violeta; ponham-se em um tubo de ensaio 15 c.c. de urina e 20 gottas de reactivo, misturando bem; inclina-se o tubo e deixa-se escorregar pela parede 20 gottas de ammoniaco, de fórmula a que sobrenade. Póde ser feita sobre a urina sem distillar.

### REACÇÃO DE FROMMER-EMILEWICZ

A 10 c.c. de distillado, junte-se 1,0 de potassa caustica em fragmentos e 10 gottas de aldehyde salicylica a 1:10.

Aquece-se a B. M. a 70°. Havendo acetona, apparecerá uma coloração vermelha carmesim de dioxybenzalacetona cujas combinações alcalinas são vermelhas.

### REACÇÃO DE REYNOLD

A um pouco de urina, junta-se oxydo de mercurio recentemente preparado; filtra-se o liquido e submete-se á acção de sulphhydrato de ammonio; no ponto de contacto dos dous liquidos, apresenta-se um anel preto, revelando a presença da acetona que dissolve o oxydo de mercurio.

### REACÇÃO DE BELA BITTO

A acetona em solução alcalina em presença do dinitrobenzol, dá uma reacção de coloração que muito se parece com as soluções de permanganato de K., tornando-se vermelha-escura com acido acetico e amarella com acido chlorhydrico; a solução de soda caustica não restaura a côr mas sim a torna vermelho-escura.

Bohrich, procede: 3 c.c. de solução alcoolica de dinitrobenzol de 1 a 2 % levemente aquecidos; em seguida junta algumas gottas de lixivia de potassa e por fim 10 gottas do producto distillado.

Em presença da acetona, apparece uma coloração rosa que pela addicção de acido acetico se torna roseo-violeta até rubro-violeta.

### REACÇÃO DE ELLRAN

Esta reacção no dizer de Bohrigh, não é recommendavel, porque não é precisa e é pouco sensivel.

Baseia-se na propriedade que tem a acetona acidulada pelo acido sulfurico, de, em presença do furfurol, dar uma coloração rubra.

A 3 c.c. de distillado, junta-se 1 gotta de solução aquosa de furfurol a 1:19 e 2 c.c. de acido sulfurico concentrado, de maneira a fornecer duas camadas; aquecendo levemente a parte do acido sulfurico, apparece immediatamente uma coloração roseo-vermelha no ponto de junção dos liquidos; senão, espere-se de 1 a 3 minutos.



### REACÇÃO DE PENSOLDT

Ao distillado, se juntam algumas gottas de aldehyde metanito-benzilyca e soda, obtendo-se uma côr amarella, passando a verde e depois a azul pela formação de indigo.

### REACÇÃO DE CHAUTARD

*Reactivo*

Fuchsina .....	0,15
Agua dist.....	250,0

que se descora por meio de uma corrente de acido-sulfuroso. Juntando urina e reactivo em p. i. g., si houver acetona, a côr da fuchsina reaparecerá.

### REACÇÃO DE STOCK

Ao distillado, acidulado pelo acido phosphorico, se juntará sulfato de cobre e iodureto de potassio, apparecendo uma turvação flocosa. Aquecendo, o liquido descora-se formando-se um precipitado branco sujo si houver acetona.

A 5 cc. de distillado junta-se 1 gotta de solução de hydroxylamina a 10 %, 1 gotta de solução de soda caustica a 5 % e 2 gottas de pyridina.

Derrama-se na superficie 1 c.c. de ether sulfurico e depois agua bromada, agitando até que o ether adquira côr amarella. Finalmente, agua oxygenada, tornando-se a coloração azul si houver acetona.

A sensibilidade é de 1:5000.

### REACÇÃO DE SALANINA-ROSENTHALER

Basea-se na propriedade que tem a vanillina e o acido chlorhydrico em presença da acetona de dar colorações verde escura, quando aquecida bruscamente, e purpura, depois de ferver esfriando lentamente.

## REACÇÃO DE STERNBERG

Ao liquido que contiver acetona, depois de acidulado pelo acido phosphorico, se juntará sulfato de cobre e iodureto de potassio, formando-se uma turvação flocosa; aquecendo o liquido descora-se, dando-se a formação de um precipitado branco sujo, sendo positiva.

## REACÇÃO DE FRITSCH

A uma solução de acetona adiciona-se em volumes iguaes solução de rhamnose a 5 % e acido chlorhydrico e pelo aquecimento deve apparecer uma coloração rubro-fuchsina que é muito firme; mesmo depois de 6 dias na temperatura do laboratorio e a uma luz pouco intensa a côr resistirá.

## Dosagem da acetona

### *Methodo ponderal pela p. Nitro-phenylhydrazona*

Este processo indicado por Bamberger e Sternitzky, tem soffrido varias modificações na sua technica.

Aoproducto de distillação de 200 c.c. de urina cuidadosamente distillada até que no aparelho fiquem apenas 10 c.c., sendo o distillado recebido convenientemente resfriado em 50 c.c. de agua distillada, junta-se uma solução de p. Nitro-phenylhydrazona (0,4 a 0,5) em 10 c.c. de acido acetico a 30 %; dá-se a precipitação da acetona sob a fórmula de pesados flocos, que são recebidos em um filtro previamente pesado, lavando-os rapidamente com agua distillada e pondo o filtro a seccar entre 105 e 110°. Pesando o filtro, temos que 193 milligrammos de acetone — p-nitro-phenylhydrazona correspondem a 58 milligrammos de acetona.

Möller procede assim: ao distillado proveniente de 200 c.c. de urina, á metade do producto junta-se 5 c.c. de acido sulfurico a 33 % e uma solução limpida de 0,5 a 1,0 de p. nitro-phenylhydrazona em acido acetico a 33 %. Passada meia hora, rece-

be-se o precipitado sobre um filtro, secco e previamente pesado, e põe-se a seccar á temperatura maxima de 80° até que o peso seja constante. Como a aceton-p-nitrophenylhydrazona não é totalmente insolúvel, é preciso, para a correcção, addicionar para cada 100 c.c. de solução precipitada de acetona, 0,006 de hydrazona, 1,0 de aceton-p-nitrophenylhydrazona, correspondendo então redondamente a 0,3 de acetona.

O *methodo de Ken-Taniguti*, baseado na transformação da acetona em iodoformio, pesando-o depois, foi modificado por varios autores, entre elles, Delachanal, Messinger, Jalles, Martz e Denigès, cuja technica muito se aproxima da de Messinger Huppert.

### Methodo de Kramer

(Ponderal)

O *processo de Kraemer* é identico ao de Ken-Taniguti e Salkowsky, consistindo na transformação da acetona em iodoformio, pesando este depois.

### Methodo gaso-volumetrico de Riegler

*Reactivos*

- a) Solução a 2 % de chlorhydrato de phenylhydrazina
- b) Solução a 15 % de sulfato de cobre
- c) Solução de soda caustica a 15 %.

O *apparelho* empregado é o azotometro de Knoop-Wagner.

No vaso de desinvolvimento exterior do azoto, collocam-se 40 c.c. de agua distillada e com pipeta 10 c.c. da solução de soda e 10 c.c. da solução de phenylhydrazina.

No vaso interno, collocam-se com pipeta 10 c.c. da solução cuprica. O vaso de desinvolvimento é posto no vaso refrigerante e o nivel d'agua na bureta levado a 0.

Passados 10 minutos, é o vaso de desenvolvimento agitado fortemente durante meio minuto e repostado no *apparelho* refrigerador. Depois de 5 minutos, e quando o nivel d'agua em

ambos os tubos communicantes estiver em igual altura, é lido o numero de c.c. de azoto desinvolverido e ao mesmo tempo annotadas a temperatura e a pressão barometrica.

Para dosar a acetona na urina, juntam-se a 50 c.c. desta, 1 c.c. de acido acetico recebendo 40 a 45 c.c. do producto em um pequeno matraz no qual de antemão se collocaram 10 c.c. de solução de phenylhydrazina e 1,0 de acetato de sodio crystalisado. Finda a operação, aquece-se o matraz a B. M., por espaço de  $\frac{1}{4}$  de hora e depois derrama-se o conteudo no vaso de desinvolverimento externo do azotometro, procedendo-se como acima.

O numero de c.c. de azoto notados como differença, multiplicados por 2,6 dão a quantidade existente de acetona na urina (28/n correspondem a 58,0 de acetona.)

### Methodo Messinger-Huppert ( iodo-volumetrico )

#### *Reactivos*

- a) Acido acetico a 50 %
- b) Solução de hyposulfito de sodio a 24,8 %<sub>100</sub>
- c) Solução iodo-iodurada:

Iodo .....	12,685
Iodureto de K.....	20,0

Dissolva em 30 ou 40 c.c. e depois complete 1000 c.c. com agua distillada.

- d) Solução de amido

Amido .....	1,0
Agua dist. ....	500 c.c.

que se aquece até ebullição.

- e) Solução de potassa caustica a 33 %.

Coloquem-se 20, 30 ou 100 c.c. de urina, conforme o seu conteudo de acetona, em um pequeno balão; junte-se acido acetico a 50 % na proporção de 2 c.c. para 100 c.c. de urina e distillem-se até o decimo do volume. Si a urina contiver glycose, será evitada tal concentração, addiccionando agua repetidas vezes.



O distillado é recebido em recipiente refrigerado a zero e ligado a um aparelho descendente de brollas de Liebig donde circule constantemente agua fria, posto em communicação com um balão que contém agua e carbonato de calcio. Distilla-se de novo o producto e ao liquido resultante, addiccionese 1 c.c. de acido sulfurico a 1:8 para tornar de novo a distillar. O distillado é misturado em balão de 200 a 250 c.c. de capacidade com 30 c.c. da solução de potassa e a 20 ou 30 c.c. da solução iodo-iodurada.

Agite-se e deixe-se em repouso por 5 minutos acidulando com tantos c.c. de solução normal de Hcl, quantos forem precisos para saturar a potassa.

Deve apparecer uma coloração negra; si não se manifestar, é porque se juntou pouco iodo e se recomeça a experiencia novamente. O iodo, é titulado por meio da solução de hyposulfito que se faz cahir gotta a gotta com bureta até coloração fracamente amarella.

Junta-se então a solução de amido e se continúa a titular até que offereça a côr azul. 1 c.c. de solução 10/n de iodo, corresponde a 0,0097 de acetona.

Quando existe acido diacético, este vem calculado como acetona.

**O methodo de Embden e Schliep**, consiste em evaporar a urina, recentemente emittida, a baixa temperatura e pressão, distillar e dosar a acetona pelo processo de Messinger Huppert.

### Methodo de Denigès

(iodo-volumetrico)

#### Reactivos

a) Solução 10/n de iodo-iodurado:

Iodo .....	12,70
Iodureto de K.....	25,0

dissolvidos em 30 c.c de agua completando 1000 c.c. com agua dist.

b) Solução de amido:

Amido .....	1,0
Agua .....	100 c.c.

aquecer sem ferver; decantar após resfriamento e depois juntar para conservação, 1,0 de fluorureto de sodio;

c) Solução 10/n de hyposulfito de sodio:

dissolver 30,0 de hypo-sulfito de sodio em 1000 c.c. de agua; titular esta solução por meio do iodo decinormal em presença do amido e elevar por addicção de agua ao titulo de que 10 c.c. de solução correspondam exactamente a 10 c.c. de iodo

Technica: A urina não deve conter thymol e 100 c.c. d'ella são distillados em presença de meio c.c. de acido sulfurico, recolhendo 25 c.c. do liquido em um vidro conico de Bohemia, com 10 c.c. de iodo 10/n e 1 c.c. de solução de soda caustica. Mistura-se e deixa-se em contacto 5 a 6 minutos, juntando depois 1 c.c. de acido sulfurico, gomma de amido e sempre agitando, solução 10/n de hypo-sulfito até desaparição da tinta azul.

Supponhamos que *a* representa o numero de c.c. de hypo-sulfito 10/n empregados, a quantidade de acetona contida em um litro de urina será

$$(10 - a) \times 0,011$$

Sendo a proporção de acetona superior a 0,085, o que se verificará por meio de uma analyse colorimetrica, convem, ou diluir o distillado até proporções convenientes ou operar apenas sobre 25 c.c. de urina.

### Methodo volumetrico de Argenson

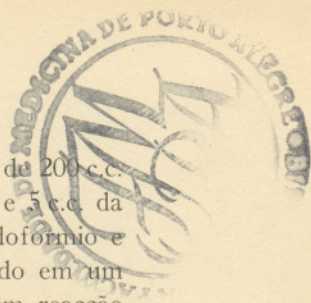
#### *Reactivos*

a) Solução aquosa de potassa a 23° Boumé

b) Licôr iodo-iodurado:

Iodo .....	105,0
Iodureto de K.....	180,0
Agua dist. até.....	1000 c.c.

c) Solução alcoolica de potassa isenta de chloruretos.



Recolhem-se 50 c.c. como producto de distillação de 200 c.c. de urina; juntam-se 10 c.c. de solução de potassa *a)* e 5 c.c. da solução iodo-iodurada *b)*. Dá-se a formação de iodoformio e agita-se para disseminar o precipitado que é recebido em um filtro e lavado até que as aguas de lavagem não dêem reacção com nitrato de prata.

Destaca-se o mais possível de precipitado e introduz-se em um frasco contendo 20 c.c. de solução alcoolica de potassa *c)*. O filtro é collocado em um recipiente com rolha de esmeril contendo uma mistura de alcool e ether, o qual dissolve todo o iodoformio que ficou no filtro.

Este liquido é derramado no frasco que contem o iodoformio e a potassa alcoolica.

Levado á ebullição, dentro de poucos minutos dá-se a transformação do iodoformio em iodureto e formiato.

Depois do liquido frio, se neutralisa com acido acetico e se dilue com agua distillada até 200 c.c.

Para titular o iodureto formado, juntam-se algumas gottas de solução de chromato neutro de potassa e, gotta a gotta, solução decinormal de nitrato de prata, contida em buveta graduada, até que appareça uma côr vermelha persistente.

Verificado o numero de c.c. da solução argentică empregada, consulta-se á tabella abaixo, para saber quanto de acetona contem um litro de urina.

Volume de Solução de prata empregada	Peso da acetona por litro de urina	Volume de solução de prata empregada	Peso da acetona por litro de urina
cc.	gr.	cc.	gr.
0,5	0,033	20	1,118
1	0,071	21	1,170
2	0,133	22	1,221
3	0,200	23	1,272
4	0,262	24	1,323
5	0,317	25	1,374
6	0,372	26	1,425
7	0,424	27	1,476
8	0,476	28	1,527
9	0,523	29	1,578
10	0,570	30	1,629
11	0,626	31	1,680
12	0,682	32	1,731
13	0,738	33	1,782
14	0,800	34	1,832
15	0,864	35	1,882
16	0,908	36	1,933
17	0,962	37	1,983
18	1,014	38	2,033
19	1,066		

### Methodo colorimetrico de Denigès

Por este processo são dosados rapidamente em conjunto a acetona e o acido diacético quando a sua proporção não excede de 1,0 por litro.

5 c.c. de urina defecada e 1 c.c. de solução de nitro-prussiato de sodio a 10 % são collocados em uma proveta graduada em meios c.c. Numa segunda proveta identica mistura-se 1 c.c. de solução de nitro-prussiato com 5 c.c. de solução aquosa de acetona contendo 4,545 da mesma.

As duas provetas são immersas n'agua fria e em cada uma se ajuntam 10 gottas de lixivia de soda e 1 c.c. de acido acetico crystalisavel, completando com agua 10 c.c. Mantêm-se sempre as provetas dentro d'agua e ahi são agitadas.

Si a coloração do tubo contendo urina tem a mesma intensidade que a do tubo que contem acetona, é porque a urina

conterá 4,545 por litro de corpos acetonicos expressa em acetona, seja para a urina não defecada por litro.

$$4,545 + \frac{4,545}{10} = 5,0 \text{ de acetona}$$

Si o conteúdo do tubo da acetona pura apresentar uma côr mais carregada, dilue-se com agua até que sua côr seja igual á do tubo que contem urina.

Representado por  $V$  o volume final da proveta da acetona, a quantidade do bloco acetonico contida em um litro será:

$$X = 5,0 \times \frac{10}{V} = \frac{50,0}{V}$$

Ao inverso se procederá si o tubo da urina for o mais colorido e teremos:

$$X = 5,0 \times \frac{V}{10} = 0,50 \times V = \frac{V}{2} \text{ gr.}$$

### Methodo colorimetrico de Frank

Este methodo, é baseado na coloração vermelha que resulta da reacção de Frommer, pela formação de dioxydibenzeno-acetona, juntando ao distillado da urina acetonica, aldehyde salicylica e potassa caustica. A opinião de Frommer, de que a sua reacção é especifica da acetona, mesmo em presença do acido diacético, foi corroborada pelos trabalhos de Bohrisch, que realçou seu valor como precisão e rapidez.

A existencia de assucar na urina, não perturba a reacção e portanto, a defecação pelo acetato de chumbo, ou a oxydação pelo bi-chromato de potassio usadas por Shaffer, e uma segunda distillação tornam-se superfluas.

Eliminando toda a acetona já existente, antes da distillação, por meio de uma corrente de ar, é possivel determinar indirectamente a porção de acetona contida na urina, pela subtracção da acetona derivada do acido diacético, da acetona total.

## Technica

### REACTIVOS

a) solução alcoolica a 10 % de aldehyde salicylica.

b) Solução aquosa a 100 % de KOH (para 100,0 de KOH secca, são precisos 60 c.c. de H<sup>2</sup>O.)

c) Solução modelo pelo methodo de Messinger, de forma que, 2 c. c. contêmham 0,1 de acetona.

Esta solução deve ser feita na occasião: 25 a 100 c.c. de urina são medidos em copo graduado no qual são tambem deramados 5 c.c. de SO<sup>4</sup>H<sup>2</sup> concentrado, e o volume total levado com H<sup>2</sup>O a 300 c.c.

A mistura é distillada durante 20 minutos, usando um refrigerador de Liebig cujo tubo de desprendimento mergulhará no frasco receptor, o qual de antemão conterá 25 c.c. de H<sup>2</sup>O. No fim da operação, completa-se o volume que é de 200 c.c. com H<sup>2</sup>O. 2 c.c. do distillado, são collocados em cada um dos tubos *a* e *b*; 2 c.c. da solução de KOH, são accrescentados a cada um dos tubos fazendo outrotanto com 1 c. c. de solução de aldehyde salicylica.

Em seguida, ambos os tubos são immersos em b. m. que não excederá de 50°, por espaço de 20 minutos exactos, a fim de que se desenvolva a côr da reacção; os tubos devem ser agitados por varias vezes.

2 c.c. da solução modelo, contendo 0.1 de acetona, são preparados ao mesmo tempo observando identica technica.

Passados os 20 minutos, os tubos são retirados do b. m. juntando-lhes 10 c. c. de H<sup>2</sup>O e depois de completo resfriamento são despejados, cada um em copo cylindrico graduado afim de completar com H<sup>2</sup>O, 25 c. c.

A leitura é feita no colorimetro de Duboscq. E' condição essencial, para o exito desta reacção que as medidas dos licôres e o tempo determinado para o desenvolvimento da coloração sejam rigorosamente exactas.

Caso a solução apresente uma coloração muito intensa, em

vez de usar 25 c. c. pode-se operar sobre 50 c. c. sendo o resultado multiplicado por dous.

**O methodo nephelometrico de Marriot** para dosagem de minimas quantidades de acetona no sangue, achamos que pôde ser applicado á pesquisa da acetona na urina, uma vez esta distillada pelo processo classico.

O processo assenta na propriedade que tem o cyanureto de prata mercurial em solução limpida, de turvar as soluções que contêm acetona.

A sua sensibilidade é de tal ordem, que 0,001 de acetona é o bastante para causar notavel opalescencia em 50 ou 100 c.c. de solução.

*Technica:* A acetona contida no producto de distillação da urina é reactivada pelo ammoniaco, aldehyde ou hydrogeno sulfurado e redistillada em um excesso de solução até que o volume attinja a 75 ou 100 c.c.

O liquido em provete graduado é diluido até que se obtenha uma opalescencia legivel.

A turvação causada pela junção de 0,005 de acetona diluida em 1000 c.c. é um bom modelo para a pesquisa.

Si a turvação for muito densa, convem diluir a solução em outro tanto do seu volume.

A solução contendo uma proporção conhecida de acetona, é distillada com um excesso de reactivo cyano-argento-hydrogyrico e o producto diluido, como se procedeu acima, será usado como modelo.

O estudo comparativo das soluções modelo e desconhecida, com relação á turvação é feito no nephelometro de Richards, o qual pôde, para este caso, ser aperfeiçoado adaptando-lhe o colorimetro de Duboscq.

Por vezes, é necessario praticar uma série de leituras, fazendo-se repetidas diluições até se approximar o mais possivel da opalescencia apresentada pela solução modelo.

Korber imaginou uma tabella com correccões, adaptada ao uso do nephelometro que infelizmente não conhecemos.

O cyanureto de prata mercurial se prepara:

Cyanureto de Hg.....	1,0
Soda caustica.....	18,0
Agua dist.....	120 c.c.

Mistura-se tudo agitando e junta-se aos poucos:

Solução de nitrato de prata a 0,7263 %..... 40 c.c.

Antes de usar a solução é filtrada atravez de tecido de amianto, cujos póros foram obstruidos por uma filtração d'agua com talco. 30 c.c. correspondem approximadamente a 0,001 de acetona.

### Methodo densimetrico de Willen

Distillam-se 300 a 500 c.c. de urina em presença de 30 a 50 c.c. de acido sulfurico a 20 %; recolhem-se 60 c.c. do producto que devem conter toda a acetona. Determina-se a sua densidade exactamente á temperatura de 15°. A densidade da acetona é de 0,8008 a 15° e fazendo uso da tabella abaixo póde ser verificado o conteudo quantitativo da acetona.

D + 15°	Conteudo de acetona em distillado aguoso
0,9999 ----	0,25 o/c
0,9996 ----	0,50 »
0,9993 ----	0,75 »
0,9988 ----	1,00 »
0,9983 ----	1,50 »
0,9976 ----	2,00 »
0,9969 ----	2,50 »
0,9961 ----	3,00 »
0,9949 ----	4,00 »
0,9936 ----	5,00 »



## Methodo chronometrico de Denigès

Distillam-se 20 c.c. de urina e se recolhem apenas 5 c.c.

Em um tubo de ensaio se collocam 2 c.c. de distillado, com 2 c.c. de reactivo de Denigès,. Colloca-se o tubo dentro de um frasco de Bohemia com agua fervente continua, na qual se puzeram alguns fragmentos de pedra pomes, afim de manter a ebulição continua. De relógio em punho, se conta o tempo exactamente decorrido entre o momento da immersão e o que corresponde á apparição brusca de uma turvação branca no liquido do tubo. Verifica-se então na tabella junto, a quantidade de acetona por litro de urina com relação ao tempo decorrido.

Tempo observado em segundos	Quantidade de acetona por litro de urina	Tempo observado em segundos	Quantidade de acetona por litro de urina
	gr. c.		gr. c.
70	1	115	0,09
74	0,80	118	0,08
79	0,60	122	0,07
82	0,50	130	0,06
86	0,40	137	0,05
90	0,30	150	0,04
94	0,25	160	0,03
99	0,20	200	0,02
102	0,15	287	0,01
113	0,10	420	0,005

O **methodo de Martz** se baseia na transformação da acetona em iodoformio e depois dosagem do iodo pelo licôr de hypossulfito de potassio.

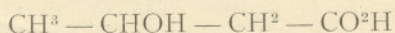
Nenhuma vantagem offerece sobre o já descripto devido a Denigès.

## TERCEIRA PARTE

### CAPITULO IV

# Corpos acetonicos em geral sua pesquisa e dosagem

*Acido B. Oxybutyrico*



Domina no organismo quando em estado de *acidose* e acompanha sempre o acido diacético nas urinas pathologicas; foi encontrado no sangue dos diabeticos, em quasi todas as febres eruptivas, no escorbuto e em algumas psychoses. Em certos casos de diabetes, póde ser eliminado na proporção de 20 a 100 grammas nas 24 horas; é sempre uma causa de erro na dosagem do assucar pelo polarimetro, assim como o assucar tambem póde sel-o na dosagem chimica do acido B. oxybutyrico razão por que, toda vez que este acido tenha que ser dosado na urina, o assucar deve ser de antemão eliminado ou pela defecação ou pela fermentação.

E' um acido alcool, homologo do acido lactico; sua consistencia é xaroposa; é incristalisavel, não se volatiza a 100°, decompondo-se entre 120 e 130°, dando como producto, acido A-crotonico. E' acarretado pelo vapor d'agua fervente, combina-se com as bases, formando saes muito soluveis, e pela oxydação provocada, se transforma em acido acetylacético. Não re-

duz o licôr de Fehling, desvia á esquerda o plano de polarisação da luz e não dá reacções de coloração pelo perchlorureto de ferro, reactivio especifico do acido acetylacetic.

Não tendo reacções especiaes, este acido não pôde ser caracterisado na urina senão pelo methodo physico do polarimetro; como sempre está junto ao acido diacetic, do qual é prectrsor, e tendo este acido reacções que lhe são proprias, é facil deduzir sua existencia na urina, uma vez verificada a do acido acetylacetic.

Antes de pesquisal-o, é necessario eliminar a glycose e outras substancias interferentes contidas na urina. Dous processos existem para este fim:

1.º — Destruir a glycose por fermentação; defecar o liquido pelo azotato duplo de mercurio ou pelo acetato de chumbo. Assim preparada a urina, pôde ser submettida á analyse polarimetrica; o plano de polarisação será desviado á esquerda.

Outra parte da urina, na qual as materias albuminoides tenham sido precipitadas pelo calor, é evaporada á consistencia xaroposa. Distilla-se o residuo em presença do acido sulfurico concentrado, a B. A; si houver acido B oxybutyrico, condensar-se-á nas partes frias da retorta sob fórmula de crystaes sedosos, de cheiro acre e desagradavel, fusiveis a 72º, que são o acido crotonico.

2.º — Este processo não só serve para pesquisar o acido B oxybutyrico, como tambem para investigar e dosar todos os corpos do bloco acetonic.

Em recipiente graduado, são collocados 25 c.c. de urina, 100 c.c. de agua distillada, 50 c.c. de solução de sulfato de cobre a 20 % e 50 c.c. de leite de cal a 10 %. Agita-se bem e verifica-se a reacção. Si a reacção não fôr alcalina, junta-se mais leite de cal e completa-se com H<sup>2</sup>O 250 c.c. Deixa-se em repouso hora e meia, para que a glycose se precipite e depois filtra-se.

Por este processo, só se consegue eliminar 8 % de glycose e as urinas mais ricas em assucar é necessario diluil-as proporcionalmente.

A addicção de sulfato de cobre, nunca deverá ser omittida mesmo em ausencia da glycose, pois tem como fim acarretar outras substancias que se acham na urina.

E' sempre indispensavel procurar a reacção da glycose no liquido filtrado.

## Methodo de Bergel

### Dosagem do Acido B oxybutyrico

Para effectuar a dosagem pelo polarimetro, evaporam-se *b. m.* até consistencia xaroposa, 200 c.c. de urina na qual se juntou carbonato de sodio até reacção fracamente alcalina. Ao residuo frio, junta-se um leve excesso de acido phosphorico xaroposo, 30,0 de sulfato de cobre secco e 25,0 de areia fina. A mistura secca, assim obtida, é exgottada no apparatus Soxhlet, pelo ether tambem deshydratado pelo sulfato de cobre.

A solução etherea é distillada e o residuo tratado por 20 c.c. de agua. Esta solução aquosa, após tel-a descorado pelo carvão animal, está em condições de ser submettida á analyse polarimétrica. Cada gráo saccharimétrico, corresponde, para a solução examinada em um tubo de 20 centimetros, a uma riqueza de acido B oxybutyrico de 5,145 por litro.

**O methodo de Darmstädter** consiste, segundo Ivon, na transformação do acido B. oxybutyrico em acido A crotonico, mediante a deshydratação pelo acido sulfurico.

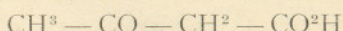
100 c.c. de urina são alcalinizados pelo carbonato de sodio e evaporados quasi á secura a *b. m.* O residuo é dissolvido em 150 a 200 c.c. de acido sulfurico a 50 %. Colloca-se a solução em apparatus distillador que permita substituir a agua que passa na distillação, gotta por gotta.

Recolhem-se 300 c.c. que se tratam duas ou tres vezes pelo ether. O residuo da evaporação das soluções ethereas é aquecido em banho de oleo a 160°, para volatilisar os acidos mais leves que o A crotonico que ferve a 181°.

Este acido é dissolvido em 50 c.c. de agua, filtrado e titulado por meio de uma solução decinormal de soda em presença

da phenol-phtaleina. Cada c.c. de soda decinormal gasto, representa 0,0086 de acido crotonico ou 0,0104 de acido B oxybutyrico.

## ACIDO ACETYLACETICO OU DIACETICO



Este acido não existe nas urinas normaes. Unido aos outros corpos do grupo acetonico, encontra-se nas urinas pathologicas, sempre ao lado do seu precursor, o acido B. oxybutyrico, no estado livre ou sob a fórma de ether acetylacético.

Tem consistencia xaroposa, dissolve-se n'agua em todas as proporções, é muito instavel e se decompõe violentamente a 100° em acetona e anhydrido carbonico.

Devido á sua instabilidade, deve ser pesquisado na urina no momento da micção.

O acido diacético e seu ether, dão com o perchlorureto de ferro uma coloração vinhosa que póde ser confundida com a que produzem o acido salicylico e seus compostos, os phenoes, as animas e os salvarsans.

O que distingue esta reacção, é que desaparece pela ebulição e não se mostra desde que a urina tenha sido fervida.

O reconhecimento deste acido é de grande importancia, porque sua presença na urina é indicio certo de *acidose*.

Sem significação prognostica má, nas moléstias infantis, assume character gravissimo quando existe nas urinas dos adultos diabeticos, indicando coma seguido de morte proxima.

*Pesquisa* — Junto ao leito do doente, póde ser reconhecido, juntando á urina algumas gottas de solução de perchlorureto de ferro que tomará uma côr de vinho maduro e será positiva toda vez que o doente não esteja sob o uso dos medicamentos acima apontados.

Avalia-se de prompto sua proporção, pela intensidade da coloração produzida pela solução de ferro.

Ainda será reconhecido assim:

A urina acidulada pelo ácido sulfurico, será tratada pelo ether e ao liquido ethereo decantado juntar-se-ão algumas gottas de solução diluida de perchlorureto de ferro.

Si contiver acido diacético, obteremos uma coloração violacea, mais ou menos intensa, condizendo com a quantidade de acido contido na urina. (Gerhardt.)

**A reacção de Legal** tambem caracteriza o acido diacético cuja reacção é mais intensa quando só do que em presença da acetona.

Póde evidenciar na urina até 0,01 de acido diacético e permite verificar a existencia dos corpos acetonicos, na *acidose*, melhor que qualquer outra.

**A reacção de Bendi** é a seguinte: o acido diacético e o iodo, em presença do carbonato de baryta, dão um composto barytico, o diacetylacetato, que, pelo calor, se decompõe em iodo-acetona de cheiro picante e carbonato de baryta.

A' urina ligeiramente aquecida junta-se uma solução iodo-iodurada até coloração vermelha alaranjada persistente.

Aquece-se e no caso da urina conter acido diacético, se perceberá o cheiro picante da iodo-acetona.

**A reacção de Riegler-Lindemann**, é feita acidulando 10 c.c. de urina com 5 gottas de acido acetico diluido; juntam-se 5 gottas de solução iodo-iodurada de Lugol e depois de agitar, 2 c.c. de chloroformio.

Si a urina contiver acido diacético o chloroformio ficara incolor, colorindo-se de roseo violaceo em ausencia deste acido.

**Diaze-reacção de Arnold.** 20 c.c. de urina são tratados por 4 gottas de acido chlorhydrico concentrado e 15 c.c. de ether; depois de agitar decanta-se o ether e tomando 10 c.c. misturam-se com volume igual de petroleo, 1 c.c. de solução de paramido acetophenona, 1 c.c. de solução de nitrito de sodio e 10 gotas de

ammoniaco. Agita-se e separam-se alguns c.c. de licôr ethereo para deixal-os evaporar, ao ar, em presença de algumas gottas de Hcl. concentrado.

No caso de haver acido diacético, produz-se uma bella coloração azul violacea devida á formação de acido diazoacetophenonediacético.

*Dosagem.* Devido á grande instabilidade do acido diacético, ha grande difficuldade em dosal-o por um processo directo.

Quasi sempre é dosado em estado de acetona pelo processo de Denigès já descripto.

Oppler, arriscando errar si a urina contiver salicylato ou antipyrina, porque a coloração produzida pelo perchlorureto em presença destes compostos desaparece pela junção de acido chlorhydrico, propoz avaliar a quantidade de acido diacético, tratando por acido chlorhydrico, uma urina em presença do perchlorureto de ferro até completo apagamento da coloração.

Oppler, assim procede: a 20 c.c. de urina, juntam-se 10 a 20 gottas de solução de perchlorureto de ferro officinal e filtra-se. Em dous tubos de ensaio, collocam-se 5 c.c. do liquido filtrado em cada um e junta-se perchlorureto de ferro até que a coloração vermelha não augmente mais.

Feito isto, derrama-se em um dos tubos uma solução titulada, normal de Hcl. (36,50 de Hcl. real por litro) até que desapareça completamente a coloração e ainda mais 1 c.c. do mesmo acido. No segundo tubo se derrama com uma bureta graduada, acido normal até que seja obtida uma cor identica á do primeiro tubo que serve de testemunha. A quantidade de solução chlorhydrica empregada para esse segundo ensaio é proporcional á riqueza de acido diacético contido na urina.

Não nos seduz este processo de dosagem pois não lhe vemos um ponto de reparo no qual possamos confiar. De mais a mais, a reacção é feita directamente sobre a urina, causa efficiente de erros.

**Methodo de Martz.** Segundo este autor, dous casos se podem apresentar e requerem cada qual um processo differente de dosagem.

1.º — *Quando a urina contém sómente acido acetylacético, fóra de todos os medicamentos que dão a mesma reacção com o perchlorureto de ferro.*

Tomam-se dous corpos cylindricos graduados numero 1 e 2 de capacidade de 100 c.c.; colloca-se no copo n.º 1, 100 c.c. de urina filtrada que terá sido tratada por 5 c.c. de solução de perchlorureto de ferro officinal.

No copo n.º 2, põem-se 20 c.c. de solução aquosa a 1 % de ether acethylacético e 5 c.c. de perchlorureto de ferro.

Compara-se a côr dos copos; deita-se no copo n.º 2, tanta agua distillada quanta fôr necessaria para obter a igualdade de cores. Si se tiver juntado por exemplo 60 c.c. a quantidade de acido diacético será expressa pela equação:

$$\frac{0,20 \times 1.000}{60}$$

2.º — *Quando a urina contém simultaneamente acido diacético e os medicamentos que dão reacção pelo perchlorureto de ferro.*

Faz-se uma primeira determinação como ficou dito acima.

Fervem-se durante alguns minutos 100 c.c. de urina da qual, depois de fria, se eleva com agua o volume a 100 c.c.: Sobre este licor faz-se uma segunda dosagem operando em identicas condições.

A differença obtida entre a primeira e a segunda determinação dá a quantidade de acido acetylacético.

---



Dosagem simultanea de corpos acetonicos (acetona, acido diacetico e acido B. oxybutyrico) em uma só operação. Processo americano de Donald

### REACTIVOS

- a) Solução de sulfato de cobre a 20 %.
- b) Solução a 10 % de sulfato de mercurio, dissolvendo 73,0 de oxydo rubro de mercurio em 1 litro de  $\text{SO}^4\text{H}^2$  de 4/n de concentração.
- c) Acido sulfurico a 50 % — Acido sulfurico com 1,835 de densidade, 500 c. c. diluido com agua até fazer 1 litro.
- d) Leite de cal a 10 %.
- e) Solução de bi-chromato de potassio a 5 %.
- f) reactivo composto:
  - { 100,0 do acido sulfurico acima
  - { 150,0 da solução mercurial
  - { 1000,0 de agua.

Elimina-se a glycose e as outras substancias interferentes da urina pelo processo descripto a proposito da dozagem do acido B. oxybutyrico.

N'um recipiente de Erlemmeyer de 500 c.c. deitem-se 25 c.c. de filtrado, 100 c.c. de agua, 10 c.c. de acido sulfurico a 50 % e 35 c.c. de sulfato de mercurio. Póde-se em logar de juntar os reactivos separados um a um, juntar 145 c.c. do reactivo composto.

Adapta-se o recipiente a um condensador de refluxo, que tenha um tubo recto de condensação com 8 ou 10 m|m. de diametro e se aquece até á ebulição.

Começada a fervura, juntam-se 5 c.c. da solução de bi-chromato, pelo tubo condensador, continuando a ebulição a fogo brando por espaço de hora e meia.

O precipitado amarello que se forma é um composto de sulfato duplo de chromo e mercurio, de acetona já existente, de acetona proveniente da decomposição do acido diacetico e

da oxydação do acido B. oxybutyrico; colloca-se em um cadinho de Goch e põe-se a seccar durante meia hora a 110°. Depois do resfriamento, pesa-se o precipitado. Tambem pode ser dissolvido e procede-se á analyse volumetrica, baseada na dosagem pelo K. I., do chlorureto formado. Para isto, o precipitado é tratado pe'lo acido chlorhydrico que o dissolve facilmente.

Neutralisa-se a solução chlorurica pe'lo acetato de sodio e depois se trata pelo K. I. O iodureto de potassio forma bichlorureto de mercurio e como a solução de iodureto é titulada sabe-se pelos equivalentes a quanto corresponde de mercurio cada c. c. da solução empregada.

Assim temos:

Determinação realizada	Corpos acetonicos calculados em acetona por litro	
	1 gm. de precipitado	1 c. c. de 0,2 K I (Solução)
Corpos acetonicos totaes	24,8	0,322
Acido B oxybutyrico ...	26,4	0,344
Acetona e acido diacético	20,0	0,260

1 mgr. de acido B. oxybutyrico produz 845 mgr. de precipitado  
1 mgr. de acetona 200 mgr. de precipitado.

1 c.c. de solução de 0,2 K. I. é equivalente a 13 mgr. de precipitado analysado volumetricamente.

O processo volumetrico não é recommendavel por que é moroso e não é bem preciso mormente em se tratando de pequenas quantidades de acetona.

### Methodo de turvação de Folin — Denis para a determinação dos corpos acetonicos na urina

#### 1º — Determinação quantitativa de acetona

A applicação do methodo colorimetrico nas pesquisas quantitativas mediante as turvações causadas por precipitados colloi-

daes, é tambem empregada na analyse dos corpos acetonicos contidos na urina.

O estudo comparativo das turvações causadas pelo reactivo de Scott Wilson, é usado como principio servindo para determinar acuradamente pequenas quantidades d'esses corpos, e tendo como vantagem ser de rapida execução.

Segundo diz o autor, a leitura da turvação pode ser feita com toda a confiança, directamente, por meio do colorimetro de Duboscq. E' de grande proveito que duas ou mais investigações sejam feitas e que dêem resultado concordante.

Para que os resultados sejam precisos, é essencial que a suspensão dos precipitados não seja agitada pois no caso contrario as particulas dos mesmos tendem a agglomerar-se constituindo uma causa de grosseiro engano.

O reactivo empregado é o de Scott-Wilson ou para melhor dizer, o cyanureto duplo de prata e mercurio que já conhecemos a proposito da pesquisa pelo nephelometro, que dá com a acetona precipitados colloidaes absolutamente insoluveis, os quaes se prestam admiravelmente ás comparações de turvação.

Pela combinação destes precipitados e com auxilio do methodo de Folin (corrente de ar) para a expulsão da acetona na urina, podemos determinar a quantidade de acetona livre que ella contem em pouco tempo e com grande precisão.

Eis a technica :

A 1 c.c. de  $\text{SO}^4\text{H}^2$  a 10 %, juntam-se 5 c.c. de urina, para ter 0,5 de acetona livre.

Colloca-se o tubo em um recipiente contendo agua a 35° ou 40° e aspira-se a acetona por meio de uma rapida e moderada corrente de ar, impellida para dentro de um tubo contendo 10 c.c. de solução de bi-sulfito de sodio a 2 %. O bi-sulfito retem a acetona assim como faz o ammoniaco com os acidos.

Em geral, bastam 5 minutos de aspiração, para retirar toda a acetona dos 5 c.c. de urina.

Finda a aspiração, a solução de bi-sulfito-acetona é posta em copo graduado e diluida até 60 c.c.; juntam-se então 15 c.c.

do reactivo cyano-argento-hydrargyrico e completa-se com  $H^2O$ , 100 c.c. misturando bem.

Outro tanto do mesmo reactivo é adicionado a 0,5 de acetona em presença de solução de hypo-sulfito e agua bastante para 50 ou 60 c.c. cujo volume, como o da solução desconhecida é levado a 100 c.c. e misturado convenientemente.

A manipulação das soluções, deve ser feita simultaneamente ou com o menor espaço possível uma da outra e abandonadas ao repouso por 12 ou 15 minutos para serem determinadas no colorimetro.

Como no processo de Marriot, é necessario preparar a escala de soluções acetoadas preferindo sempre o producto de distillação em presença do  $SO^4H^2$ . As soluções da escala, devem ser feitas na occasião, sempre com acetona purissima.

## 2.º Determinação quantitativa do acido diacético

As urinas acetonicas contém de 2 a 10 vezes tanto acido diacético como acetona.

Nas urinas rescentes, a proporção do acido é maior que na urina antiga, devido á decomposição espontanea do acido diacético.

As urinas que com perchlorureto de ferro dão forte reacção, contendo mais de 0,5 de acido por c. c. devem ser diluidas.

A quantidade de urina que contenha de 0,5 até 0,7 de acido, é collocada em um pequeno balão contendo 1 c. c. de solução a 10 % de  $SO^4H^2$ , ligado a outro balõesinho contendo 10 c.c. de solução a 2 % de bi-sulfito de sodio.

O primeiro balão é posto em b. m. enquanto uma corrente de ar, (processo de Folin) extremamente vagarosa o atravessa.

Esta operação durará 10 minutos e no fim se augmentará a intensidade da corrente, durante mais 5 até que a acetona e mais o acido tenham sido acarretados para a solução de hypo-sulfito.

O volume total do liquido é levado a 100 c.c. e a acetona é determinada exactamente como na acetona normalmente existente na urina. 1 milligramma de acetona é equiva'lente a 18 mgm. de acido diacético.

Da quantidade de acetona total da urina em 24 horas, é subtraído o total da acetona já existente e o restante, multiplicado por 18, dá o ácido diacético.

### 3°. Determinação quantitativa do ácido B. oxybutyrico

Dilue-se uma porção de urina equivalente a 2 até 4 mgm. de ácido B. oxybutyrico; colloca-se em um frasco de Kjeldahl de 500 c. c. com 200 c. c. de água e 5 c. c. de ácido sulfúrico a 10 % levando á ebulição por 10 minutos para eliminar a acetona anteformada e o ácido diacético. Ao conteúdo do frasco, são addicionados 25 c. c. de  $\text{SO}^3\text{H}^2$  a 10 % e o frasco ligado a um condensador de Liebig; a mistura é distillada vagarosamente durante 40 a 60 minutos.

Sendo a acetona muito volátil e a sua formação muito lenta, é necessario distillar vagarosamente e depois de alguns minutos diminuir o fogo para depois reavival-o, assim fazendo umas quantas vezes. Bastam 80 a 100 c. c. de distillado que será recebido em outro frasco de Kjeldahl de 500 c. c., com 75 a 100 c. c. de água fria na qual vem immergir a extremidade livre do condensador o que, não sendo feito, haverá perda de acetona.

Ao distillado são addicionados 2,0 de peroxydo de sodio e a distillação é repetida e continuará até obter 80 c. c.

Este segundo-producto, é recebido em um copo graduado de 100 c. c. com 10 c. c. de água, elevando-se o seu volume a 100 c. c. no fim da operação.

A metade do liquido acima é posto em um recipiente cylindrico com 25 c. c. de  $\text{H}^2\text{O}$  e 15 c. c. de reactivo de Scott-Wilson, diluindo em seguida, segundo as exigencias do caso.

Em outro cylindro graduado, de 100 c. c., contendo 0,5 de acetona pura, e 50 c. c. de  $\text{H}^2\text{O}$ , são tambem addicionados 15 c. c. do reactivo cyano-argento-hydrargyrico e água q. b. para igualar o volume do primeiro cylindro.

A reacção com a escala, será feita, tão breve quanto pos-

sível, antes ou depois do distillado desconhecido, ter sido misturado ao precipitante.

Deixa-se em repouso 10 a 15 minutos e a leitura é feita como no caso da acetona normal.

XX Cada milligr. de acetona, corresponde a 178 mgm. de acido B. oxybutyrico.

No caso da existencia de assucar, não é necessario recorrer á destruição desta, nem pela defecação com o acetato de chumbo, nem pela oxydação com o bi-chromato de potassio, pois que a segunda distillação com peroxydo de sodio, remove este inconveniente. Não havendo assucar, a segunda distillação é dispensavel.

## CONCLUSÃO

Dentre os processos de pesquisa e dosagem que collegimos no presente trabalho, além de outros muitos que não fazemos menção porque os achamos destituídos de valor pratico, nem todos são todavia de natureza a convirem na pratica diaria porque, ou são demasiado morosos e de complicada technica ou não possuem as necessarias condições de precisão, havendo alguns que tendo sido modificados, nem por isso são de preferir.

Ha entre as reacções de pesquisa, algumas, cuja sensibilidade é extraordinaria ao passo que outras nos indusiriam a grosseiros erros, si uma technica delicada não presidir as operações.

Observamos que nem todas as reacções praticadas sobre a urina dão resultados satisfactorios, si as compararmos com aquellas que foram feitas sobre o producto da distillação cujos precipitados e colorações são nitidos.

Agindo sobre a urina pura, podemos commeter enganos, si não tivermos informações de que o doente está em uso de certas medicações que dão reacções da acetona com os reactivos proprios a esta, ou não fizermos preliminarmente a operação de distillação que nos porá ao abrigo de taes equívocos.

Assim, é que, preferimos sempre distillar a urina de antemão, operação que para a pesquisa é de grande simplicidade.

Na pratica que fizemos, provocamos propositalmente estes enganos, juntando á urina na qual operavamos, que era isenta de acetona e dos corpos que lhe dão origem, substancias chimicas que nos deram bellissimas reacções de acetona.

Dentre as reacções de pesquisa damos grande valor á de Lieben modificada por Le Nebel e á de Legal modificada por Bonnamour e Imbert, aquella para os productos de distillação e

esta para ser feita directamente sobre a urina. As de Denigès Vournasos, Frommer, Chautard e Sterberg são boas porém inferiores ás de Le Nobel e Imbert.

As de Pensoldt, Solanina, Rosenthaler, Reynold, Bela-Bitto Elram, Fritsch e Bardach não as praticamos porque umas são modificações de outras sendo que a de Bardach segundo diz o autor será positiva em todas as reacções donde entrar o radical  $\text{CH}^3$ .

Quanto aos processos de dosagem, fizemos o de Messinger Huppert, o de Denigès e o densimetrico de Willen que são excellentes.

Os outros que deixamos de fazer, contra a nossa vontade, foi devido a difficuldades de technica.



## BIBLIOGRAPHIA

- E. A. Taylor* — Digestion and metabolism.  
Recent advances in physiology and bio-chemistry — 1908  
— Edição de *Leonardo Hill*.
- Cammidge* — Glycosuria and allied conditions.  
The Journal Of Biological Chemistry — n. 2 — Novembro de 1913.  
Idem, de Julho de 1914.  
Idem, de Outubro de 1916.  
Idem, de Dezembro de 1917.
- Holleman* — Traité de Chimie Organique.
- Domingos Freire* — Chimica Organica.
- Gautier & Delepine* — Cours de Chimie Organique.
- Letienne & Masselin* — Urologia Clinica.  
Journal de Pharmacie et de Chimie — ns. 1, 2, 5 7 de 1897.  
Idem, n.º 1 de 1899.  
Idem, n.º 7 de 1904.
- Pathologia Geral* — Revista n.º 4 — Julho de 1917 — Rio de Janeiro.
- P. Ivon et Ch. Michel* — Analyse des urines.
- E. Carapelle* — Analyse delle urine.
- Barral* — Analyse Chimique qualitative.  
Idem — Analyse Chimique Biologique, pathologique et clinique.  
Idem — Analyse Chimique Biologique générale.
- Ronchese* — Analyse des urines.
- Hugounenq* — Chimie physiologique e Pathologique — III edition.
- E. Sergent* — Semeiologia Clinica.

- Ed. Grimaux* — Chimie Organique.  
*Sonnie-Moret* — Analyse chimique Medicale.  
*Frócs* — Semeiologia da urina.  
*Agasse-Lafont* — Les applications du Laboratoire.  
*Noel Feissinger* — Les diagnostics Biologiques.  
*Tarbouriech* — Analyses chimiques.  
*Veillard* — L'urine humaine.  
*M. Arthus* — Precis de chimie physiologique.  
*E. Lambling* — Precis de Biochimie.  
*J. Ville et E. Derrien* — Chimie Biologique.  
*Guareschi* — Enciclopedia di chimica.  
*R. Lepine* — Le Diabète sucré.  
*Castaigne et Rathery* — Le Diabète.  
*L. Heitzmann* — Urinari Analysis.  
*G. Mercier* — Analyse des urines.  
*L. Bard* — Precis des Exames de Laboratoire.  
*R. Braudais* — L'Urine normal et pathologique.  
*Abdérhalden* — Handbuch der Biochemischen, Arbeitsmethoden.  
*E. Gerhard* — Analyse des urines.  
*Bourget* — Manuel de chimie clinique.  
*C. Neuberg* — Der Harn Sowie die Übrigen Ausscheidungen und Körperflüssigkeiten — 1911.