

86. V. G. LONGO, B. SILVESTRINI e D. BOVET. — Studio delle proprietà convulsivanti del 5-7-difenil-1-3-diazadamantan-6-olo (1757 I. S.) (*)

Riassunto. — Sono state studiate le proprietà farmacologiche del 5-7-difenil-1-3-diazadamantan-6-olo (1757 I. S.), che ha dimostrato di possedere una spiccata attività convulsivante.

Uno studio dettagliato del 1757 I. S. è stato eseguito osservandone gli effetti sull'attività elettrica cerebrale, comparandolo ad altri farmaci convulsivanti, come la stricnina, la picrotossina, il pentametilente-trozolo e la dietilamide dell'acido nicotinico.

I risultati ottenuti con l'indagine elettrofisiologica hanno confermato le somiglianze tra il 1757 I. S. e la stricnina.

Summary. — Pharmacological and neurophysiological properties of a new synthetic agent, 5-7-diphenyl-1-3-diazadamantan-6-ol (1757 I. S.) were studied.

1757 I. S. exhibited a strong convulsant activity in mice, rats, and rabbits which was remarkably similar to that of strychnine.

The effects of 1757 I. S. on the cortical, subcortical and spinal electrical activity of curarized unanesthetized rabbit were compared with those of strychnine, pentylenetetrazol, picrotoxin and nikethamide.

The result obtained indicate a striking analogy between 1757 I. S. and strychnine also from the view point of the electrographic patterns.

La sintesi del 5-7-difenil-1-3-diazadamantan-6-olo è stata recentemente descritta da CHIAVARELLI e SETTIMI (1).

In prove preliminari alcuni prodotti di questa serie avevano dimostrato di possedere una spiccata attività convulsivante, che presentava notevoli analogie con quella della stricnina. Uno studio più accurato di questi prodotti ci è sembrato perciò giustificato dato il grande interesse teorico che presenta il meccanismo di azione della stricnina e dato che fino ad ora nessun prodotto di sintesi aveva presentato proprietà analoghe.

In passato il problema del meccanismo e del luogo di azione dei convulsivanti veniva affrontato principalmente praticando delle sezioni a vari livelli dell'asse cerebro-spinale ed osservando le eventuali modi-

(*) Questo lavoro è stato pubblicato in J. Pharmacol. exp. Therap., 126: 41 (1959).

fiche del quadro convulsivo. Nei testi di Farmacologia infatti questi farmaci [cfr. DRILL (2)] sono tradizionalmente classificati, con un criterio eminentemente topografico, in base al loro probabile punto di attacco, in corticali (canfora), sottocorticali (Pentametilentetrazolo) e spinali (stricnina). Più recentemente lo sviluppo dell'elettrofisiologia ha fornito nuovi metodi per analizzare e differenziare fra loro i vari tipi di attività convulsiva. La registrazione della attività elettrica ai vari livelli del nevrasso, ad esempio, ha messo in evidenza che notevoli differenze esistono nei quadri elettrici provocati dai vari convulsivanti, tra i quali i più studiati sono stati la stricnina, il Pentametilentetrazolo, la picrotossina [cfr. la rivista generale di TOMAN e DAVIS (3)] e più recentemente la dietilamide dell'acido nicotinico o Coramina [DRIESEN e coll. (4)], il 10-(2-dimetilamino-propil)-9-acridone [« convulsant acridone », MAYER e REIN (5)] e la β -etil, β -metil glutarimide [MEGIMIDE, RODIN e coll. (6)].

Nell'analisi delle proprietà farmacologiche dei prodotti di questa serie, oltre alle comuni tecniche di osservazione del quadro di intossicazione, della registrazione dell'attività motoria e degli antagonismi farmacologici, sono stati impiegati metodi elettrofisiologici. L'impiego di indagini più dettagliate si è dimostrato particolarmente utile in quanto si è potuto osservare come sostanze molto vicine dal punto di vista chimico esercitassero azioni sensibilmente diverse.

TECNICHE

Per le esperienze di tossicità acuta sono stati usati topini e conigli. Nei topini è stata determinata con il metodo dei probit la dose media letale di tutti i derivati. Lo stesso animale è stato usato per esperienze di antagonismo tra i vari prodotti e farmaci depressivi ed anticonvulsivanti. I conigli sono stati impiegati soprattutto per una indagine più dettagliata dei vari sintomi della intossicazione.

L'azione sul respiro, la pressione arteriosa e l'elettrocardiogramma è stata studiata sul cane in narcosi cloralosica. Per meglio documentare la concomitanza dei fenomeni vegetativi e motori, in alcune esperienze eseguite su questo animale si effettuava anche una registrazione dei movimenti convulsivi; una delle gambe posteriori veniva fissata all'anca e al ginocchio, il muscolo quadricipite veniva poi liberato dall'inserzione ossea e il tendine veniva connesso a un miografo a molla.

Le prove sull'attività elettrica corticale e sottocorticale sono state eseguite sul coniglio non anestetizzato curarizzato con gallamina (3 mg/kg) e posto in respirazione artificiale. Sotto leggera anestesia eterea si pro-

cedeva alla tracheotomia alla fissazione degli elettrodi. I potenziali della corteccia cerebrale e cerebellare venivano registrati in derivazione bipolare mediante due elettrodi avvitati a 1-2 mm di distanza sull'area frontale, parietale e occipitale di entrambi i lati e sul lobo anteriore del verme. Gli elettrodi concentrici profondi erano inseriti a livello dei nuclei anteromediali talamici e della sostanza reticolare mesencefalica all'altezza dei corpi quadrigemini anteriori. I potenziali midollari venivano registrati a mezzo dei due elettrodi avvitati sull'arco di una vertebra in corrispondenza del rigonfiamento lombare.

Gli esperimenti di applicazione locale sulla corteccia sono stati eseguiti sia nel cane che nel coniglio. In anestesia eterica veniva messo allo scoperto, mediante craniotomia ed incisione della dura, la zona rolandica o rispettivamente quella masticatoria di un lato. Dopo avere atteso che gli effetti della narcosi fossero completamente dissipati, si iniziavano le registrazioni dell'attività elettrica corticale con metodo monopolare, tramite un filo d'argento clorurato. Dischetti di carta bibula imbevuti dei vari farmaci a concentrazioni varie, venivano quindi depositi sulla corteccia scoperta.

RISULTATI (*)

TOSSICITA' ACUTA. — Nel topino il 1757 I.S. si è dimostrato altamente tossico: la dose letale media calcolata con il metodo dei probit è per la via endovenosa 1,1 mg/kg (Tab. 1). I primi sintomi, che compaiono pochi secondi dopo la somministrazione per via intravenosa e 3-6 minuti dopo l'ingestione, consistono in fini tremori e crampi, seguiti da un attacco convulsivo tonico e da morte.

Se gli animali, nel primo periodo della intossicazione, vengono sottoposti a stimoli di vario tipo, essi reagiscono con movimenti incoordinati e con salti. I topini sopravvivono molto raramente al primo attacco convulsivo e in questo caso possono riprendersi e ritornare alla normalità in 30-40 minuti passando attraverso un periodo in cui attacchi convulsivi tonici si alternano con fasi paralitiche.

Nel coniglio il quadro convulsivo acquista una ulteriore caratterizzazione. Pochi secondi dopo l'iniezione di 1757 I. S. per via venosa lo animale, sia spontaneamente che in seguito ad uno stimolo esterno, ha

(*) Il 3-7-difenil-3-diazadamantan-6-olo si presenta sotto forma di una base cristallina aghiforme a p.f. 273-76. La base è insolubile in acqua ma solubile in cloroformio, alcool bollente e in soluzioni acquose di acido cloridrico e citrico. Per le nostre esperienze è stata adoperata una soluzione acquosa all'1% in acido citrico (pH 6).

un attacco tonico: gli arti posteriori appaiono in iperestensione, gli anteriori in flessione e il capo in opistotono. Questi attacchi si possono ripetere molte volte, inframmezzati con periodi di paralisi in cui l'animale si presenta coricato sul fianco, e possono essere provocati da un qualsiasi stimolo esterno, auditivo, tattile o dolorifico. Durante uno di questi attacchi l'animale può venire a morte. La dose minima con cui si osserva l'attacco tonico è 0,3-0,5 mg/kg; la dose letale si aggira intorno a 1,5 mg/kg (Tab. I). Il 1757 I. S. è stato somministrato inoltre a

TABELLA I

Tossicità acuta del 1757 I.S. nei vari animali di laboratorio

	Intravenosa	Intra peritoneale	Sottocutanea	Orale
Topino	1,1	1,5	2	17
Ratto	2	3		
Coniglio	1,8		5	
Cane (cloralosato) . .	2			

Le dosi sono espresse in mg/kg e si riferiscono al peso della base. I valori di tossicità (LD₅₀) che si riferiscono ai topini sono stati calcolati col metodo dei probit. Per le altre specie i dati sono approssimativi.

6 animali che avevano subito 24 ore una ablazione della corteccia sotto narcosi eterea; gli animali così trattati presentavano lo stesso quadro tossico degli animali normali ed anche le dosi di prodotto necessarie per scatenare le convulsioni non differivano da quelle attive nell'animale integro.

Nel coniglio sono stati inoltre osservati i vari quadri tossici provocati da altri convulsivanti: stricnina, picrotossina, Pentametilentetrazolo (Cardiazol, Metrazol), e dietilamide dell'acido nicotinic (Nikethamide, Coramina).

Il quadro di intossicazione provocato dal 1757 I. S. si è dimostrato completamente sovrapponibile a quello ottenuto con la stricnina, iniettata in dosi variabili da 0,1 a 0,5 mg/kg. Gli altri farmaci hanno invece dato luogo a quadri convulsivi che presentavano caratteristiche diverse. Il Pentametilentetrazolo (20-25 mg/kg) provoca un attacco tonico, segui-

to da un periodo di convulsioni tonico-cloniche e da un altro in cui l'animale, coricato su un fianco, presenta dei movimenti con le zampe che simulano una intensa attività locomotoria. La somministrazione di picrotossina, in dosi di 1-2 mg/kg è seguita da un quadro convulsivo molto simile a quello del Pentametilentetrazolo, che insorge però dopo un certo periodo di latenza (da 5 a 15 minuti) e dura molto più a lungo. La Nikethamide, in dosi di 75-100 mg/kg provoca uno stato eccitatorio dell'animale che presenta una intensa deambulazione, ha scosse cloniche e spicca dei salti. Questo quadro eccitatorio può estinguersi progressivamente in 15-20 minuti e può essere il solo sintomo dell'intossicazione, ma in alcuni casi può essere seguito da convulsioni toniche e da morte.

EFFETTI DI FARMACI ANTICONVULSANTI E DEPRESSIVI SULLA INTOSSICAZIONE DA 1737 I. S. — Gli effetti del Barbital, Fenobarbital e Uretano nei riguardi delle convulsioni provocate dal 1737 I. S. sono riassunti nella

TABELLA II

1737 I. S.	200 mg/kg Barbital + 1737 I. S.	50 mg/kg Fenobarbital + 1737 I. S.	1000 mg/kg Uretano + 1737 I. S.
1,1	7,2	6,1	5,8

Antagonismo esercitato da farmaci anticonvulsivanti e anestetici generali nei riguardi della tossicità acuta del 1737 I.S. nel topino. Gli animali ricevevano i vari prodotti per via orale 10 minuti dalla somministrazione endovenosa del 1737 I.S. Le DL_{50} sono state calcolate con il metodo dei probit.

Tabella II. Tutti e tre i farmaci sono antidoti efficaci, in quanto diminuiscono in modo molto significativo la mortalità da 1737 I. S.

Va fatto notare però che, anche se il caratteristico attacco tonico è abolito, sono sempre presenti delle manifestazioni convulsive a carattere clonico.

Per quanto concerne il fenomeno inverso, vale a dire l'antagonismo esercitato dal 1737 I.S. contro l'intossicazione da barbiturici, è stato osservato che alla dose di 1 mg/kg s. c. il 1737 I.S. protegge i topini cui è stata somministrata una dose letale di Pentobarbital. Va fatto notare che dosi maggiori del prodotto (2 e 3 mg/kg) non impediscono la morte dei topini.

AZIONE DEL 1737 I. S. SUL SISTEMA CARDIOVASCOLARE E RESPIRATORIO. — Nelle esperienze eseguite sul cane cloralosato il prodotto si è

rivelato dotato di una certa proprietà analettica, come già aveva indicato l'antagonismo verso gli effetti tossici del Pentobarbital nel topino. Già dopo 0,05-0,1 mg/kg, l'ampiezza e la frequenza respiratoria aumentano sensibilmente e l'animale tende a risvegliarsi. La pressione arterio-

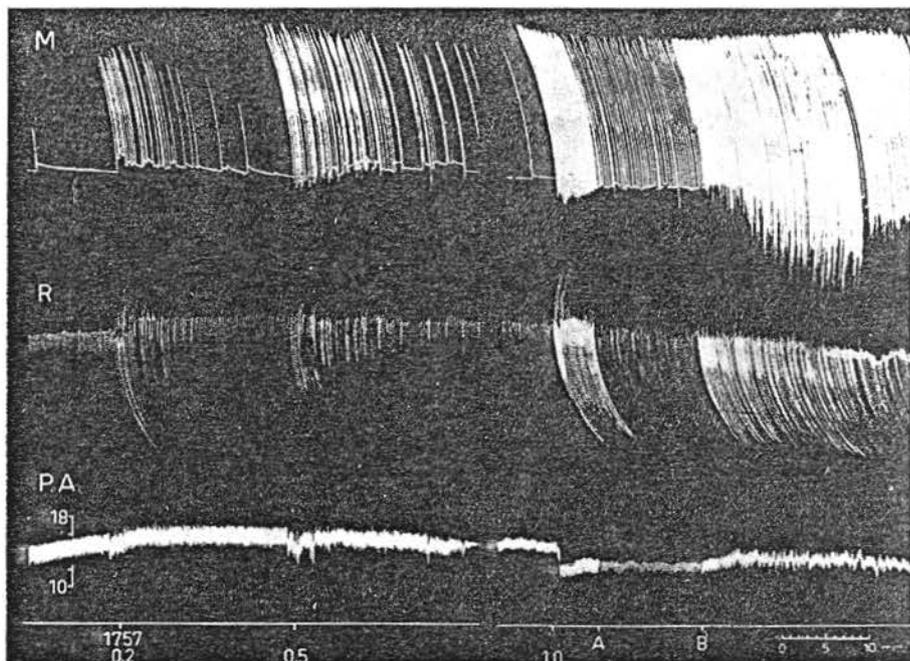


Fig. 1. - Effetti del 1737 I.S. sulla pressione arteriosa, sul respiro e sulla muscolatura volontaria. A sinistra: La somministrazione di 0,2 e 0,5 mg/kg di prodotto provocano iperpnea e convulsioni cloniche senza influenzare la pressione arteriosa. A destra: Effetto della somministrazione di 1 mg/kg. Cane in narcosi cloralosica (120 mg/kg). P.A - pressione arteriosa alla carotide; R - respirazione; M - meccanogramma del muscolo quadricipite. Tra A e B la velocità del chimografo è stata raddoppiata per mettere in evidenza la frequenza delle convulsioni.

sa, dopo piccole dosi (da 0,1 a 0,5 mg/kg), presenta solo trascurabili modifiche; dosi maggiori (1-2 mg/kg) possono provocare sia una caduta di pressione di 20-30 mm di Hg, che un aumento della stessa entità. Già dopo 0,2 mg/kg compaiono movimenti convulsivi degli arti che diventano tonico-clonici dopo dosi più alte. Molto probabilmente a causa dell'anestesia cui l'animale è sottoposto, l'attacco tonico non è stato mai osservato (Fig. 1). L'EKG non ha mai presentato modifiche particolari, una tachicardia si osserva solo dopo dosi di 0,5-1 mg/kg. Il prodotto non ha proprietà simpatolitiche, vagolitiche o ganglioplegiche degne di rilievo. Nella maggior parte delle esperienze eseguite sui conigli cura-

rizzati ma senza narcosi, riguardanti le registrazioni elettroencefalografiche, è stata controllata la pressione arteriosa alla femorale. In questi casi si è osservato, concomitante agli attacchi parossistici di onde rapide che seguivano la somministrazione del prodotto, un brusco aumento della pressione che saliva di 60-70 mm di Hg per poi ritornare lentamente alla norma.

Elettroencefalogramma del coniglio. — Una ulteriore caratterizzazione delle proprietà convulsivanti del 1737 I. S. si è ottenuta con lo studio della sua azione sulla attività elettrica registrata a livello corticale, sottocorticale, cerebellare e midollare. Sono stati trattati con il prodotto complessivamente 8 conigli, 7 dei quali erano curarizzati e uno non anestetizzato né curarizzato. Sono state iniettate dosi variabili da 0,1 a 1 mg/kg.

Le prime modifiche si possono notare già dopo somministrazione di 0,1-0,2 mg/kg e sono a carico soprattutto delle derivazioni cerebellari e midollari. L'attività elettrica che si registra normalmente dal cervelletto nell'animale curarizzato consiste in onde irregolari a frequenza variabile tra 4 e 6 c/sec e a voltaggio basso (20-30 μ V), sovrapposta alla quale a volte si può notare una attività più rapida (10-15 c/sec) a minore voltaggio; dalla derivazione midollare, alla amplificazione da noi usata, non si registra in condizioni normali nessuna attività (cfr. Fig. 2). Dopo dosi di 0,1-0,2 mg di 1737 I. S. si nota immediatamente l'insorgenza, nelle derivazioni cerebellari, di una attività a 10-15 c/sec a 100 μ V di ampiezza; onde sincrone della stessa frequenza compaiono nella derivazione midollare. Le registrazioni dalla corteccia cerebrale mettono in evidenza solo un abbassamento del voltaggio ed un aumento della frequenza, quale si vede durante la cosiddetta « reazione di attivazione » che segue gli stimoli esterni. Nelle derivazioni talamica e reticolare compaiono onde sincrone e regolari a 5 c/sec, anche queste caratteristiche in queste derivazioni della « reazione di attivazione ».

Le dosi che provocano queste prime modifiche nell'animale curarizzato corrispondono più o meno a quelle che nel normale causano una leggera iperreflessia. Dopo ulteriori somministrazioni di prodotto, fino a raggiungere dosi di 0,7-1 mg/kg, che nell'animale normale provocano l'attacco tonico, si nota che la frequenza delle onde cerebellari e midollari aumenta fino a 20-25 c/sec. Anche nel talamo la frequenza delle onde sincrone aumenta, fino a raggiungere gli 8 c/sec, mentre nella reticolare compaiono, sovrapposte al ritmo di 8 c/sec, delle onde rapide a frequenza uguale a quella cerebellare. Le modifiche a livello corticale permangono di scarso rilievo: solo in 3 casi su 8 sono state osservate delle onde rapide a basso voltaggio a frequenza uguale a quelle midol-

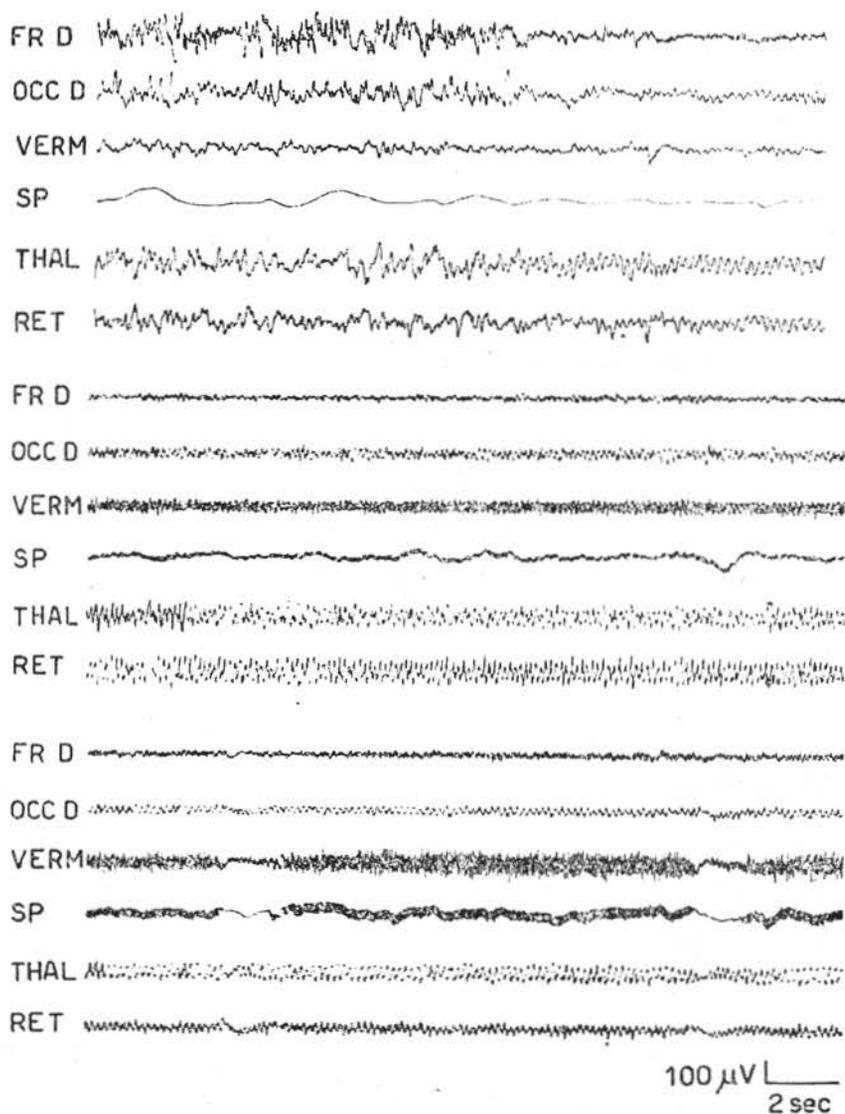


Fig. 2. - Effetto del 1757 I.S. sul tracciato elettrico cerebrale del coniglio. A - tracciato normale; B - 7 minuti dopo la somministrazione di 0,5 mg/kg di 1757 I.S. Comparsa di onde a 20 c/sec nella derivazione spinale e cerebellare; C - 10 minuti dopo B. Le onde spino-cerebellari sono aumentate di voltaggio, il parossismo convulsivo è interrotto da brevi periodi di silenzio. Coniglio curarizzato ed in respirazione artificiale. Derivazioni: frontale, occipitale, cervelletto, spinale, talamo, reticolare mesencefalica.

lare assimilabili alle onde di « ripercussione » descritte da BREMER (7) per la stricnina (Fig. 2).

Il quadro sopradescritto di onde sincrone a livello midollare e cerebellare perdura immutato per 20-30 minuti; il tracciato ritorna alla norma progressivamente e senza presentare il periodo di silenzio elettrico che normalmente segue gli attacchi di grande male provocati dagli altri convulsivanti. Quando il tracciato era ritornato normale era possibile con uno stimolo tattile fare ritornare l'attacco, che aveva in questo caso una breve durata (Fig. 3).

Nell'animale non curarizzato si è potuto seguire abbastanza accuratamente la corrispondenza tra fenomeni motori e alterazioni dell'attivi-

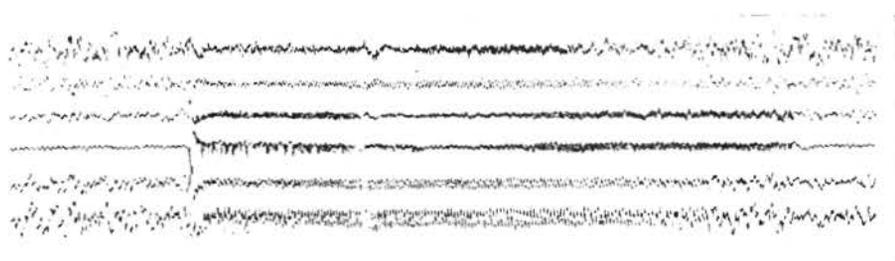


Fig. 3. - Attacco parossistico spino-cerebellare provocato da una stimolazione tattile in un animale trattato con 1737 I.S. Tracciato registrato 35 minuti dopo la somministrazione di 0,7 mg/kg di prodotto e 5 minuti dalla fine dell'attacco parossistico. Alla freccia una stimolazione tattile sulla gamba provoca un nuovo breve attacco. A livello spinale e cerebrale le onde convulsive durano più a lungo che nelle altre derivazioni. Si notano le onde di « ripercussione » della derivazione frontale. Stesse condizioni sperimentali della Fig. 2.

tà elettrica. Venivano ripetutamente iniettate dosi di 0,1 mg/kg fino all'insorgenza dell'attacco tonico. Dopo una dose totale di 0,2 mg/kg si notava una iperreflessia che corrispondeva alla insorgenza delle onde a 10-15 c/sec (per evitare l'influenza dei muscoli della nuca sul tracciato cerebellare era stato praticato un completo distacco delle inserzioni muscolari sulla cresta occipitale). L'attacco tonico comparve quando venne raggiunta la dose totale di 0,7 mg/kg. L'attività rapida cerebellare aveva raggiunto i 25 c/sec, le derivazioni corticali presentavano solo un'attivazione e quelle talamiche e reticolari onde sincrone a 8 c/sec.

Solo in due animali su otto al parossismo di onde rapide faceva seguito un attacco di grande male con la comparsa di grandi onde su tutte le derivazioni; a questo attacco succedeva il silenzio elettrico e dopo un certo periodo di riorganizzazione sul tracciato cerebellare ricomparivano le onde rapide caratteristiche.

CONFRONTO CON GLI ALTRI CONVULSIVANTI.

Stricnina. — Nove conigli, di cui uno non anestetizzato né curarizzato, sono stati usati per le esperienze con la stricnina, che è stata iniettata in dosi variabili da 0,03 a 0,3 mg/kg. Il quadro provocato dall'aloide è esattamente sovrapponibile a quello del 1757 I. S. (Fig. 4). In tutti gli animali infatti si notavano le onde rapide (20-23 c/sec) in derivazione cerebellare e spinale. Le derivazioni corticali, talamica e reti-

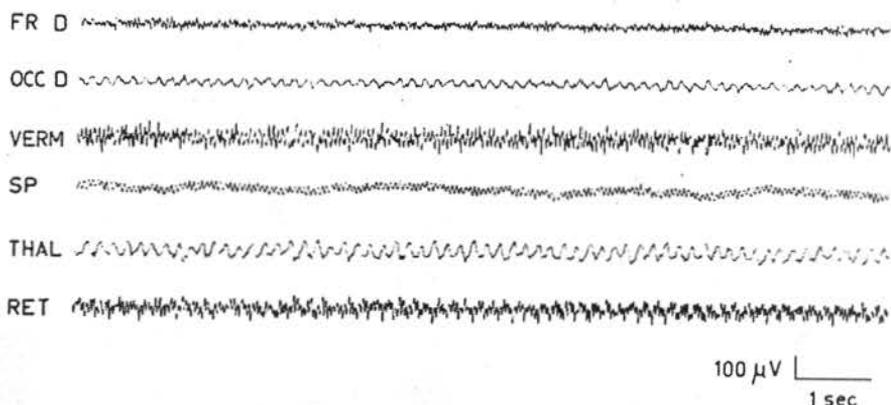


Fig. 4. - Azione della stricnina sull'EEG del coniglio. Tracciato registrato 5 minuti dopo la somministrazione di 0,1 mg/kg di stricnina. Le onde a 20 c/sec nelle derivazioni spinali cerebellari e reticolare sono ben visibili alla velocità di 3 cm/sec. Stesse condizioni sperimentali della fig. 2.

colare si presentavano desincronizzate: in tre casi anche della derivazione reticolare sono state registrate onde rapide alla stessa frequenza di quelle midollari e cerebellari, in questi casi erano visibili anche sulla derivazione corticale a livello della zona sensitivo-motoria delle onde rapide a basso voltaggio. In tre animali, solo dopo somministrazione delle dosi più forti, è stato notato un attacco di grande male generalizzato a tutte le derivazioni.

Pentametilentetrazolo. — Il quadro EEG provocato dalla somministrazione di questo farmaco si differenzia nettamente da quello che si osserva dopo stricnina o 1757 I. S. Nel quadro generale delle modifiche EEG provocate dal Pentametilentetrazolo si possono distinguere due fasi: la prima, provocata da dosi subconvulsive (3-10 mg/kg), che consiste in grandi onde a 4-6 c/sec che compaiono nelle derivazioni occipitali e talamica e che, estendendosi a tutta la corteccia, acquistano l'aspet-

to, specie nelle derivazioni anteriori, di complessi onda-cuspide (spikes and waves). Se una ulteriore dose di Pentametilentetrazolo è somministrata, fino a raggiungere un totale di 15-20 mg/kg, un attacco convulsivo consistente in onde a 12-20 c/sec ad alto voltaggio (fino a 1 mV) compare più o meno contemporaneamente in tutte le derivazioni: in quella midollare le onde non presentano l'alta frequenza che si nota dopo stricnina (Fig. 5). Questo attacco ha una durata variabile da 30'' a 120''

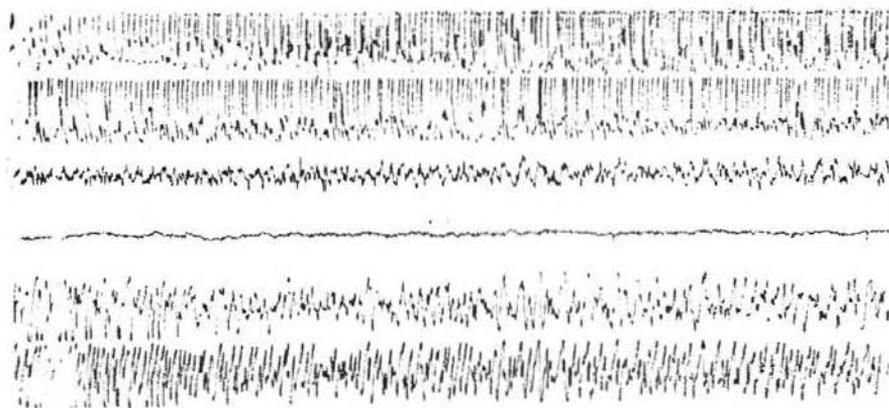


Fig. 5. - Azione del pentametilentetrazolo sull'EEG del coniglio. 2 minuti dopo la somministrazione di 20 mg/kg di prodotto, compare un attacco di « grande male » in tutta la derivazione ad eccezione di quella spinale. Stesse condizioni sperimentali della fig. 2.

ed è seguito dapprima da un periodo di depressione ed eventualmente da altri brevi attacchi e infine da una profonda disorganizzazione dell'EEG che presenta onde lente non sensibili agli stimoli esterni.

Picrotossina. — Il quadro EEG provocato dalla picrotossina presenta notevoli analogie con quello del Pentametilentetrazolo. Dosi di 0,5-0,75 mg/kg provocano la comparsa di complessi onda-cuspide, e 1-1,5 mg/kg il quadro di « grande male » generalizzato. Un certo periodo, variabile da 5 a 15 minuti, passa tra la somministrazione del prodotto e l'insorgenza delle modifiche EEG, che durano molto a lungo; molto spesso l'animale muore in stato di male epilettico.

Dietilamide dell'acido nicotinico (Nikethamide, Coramina). — Rispetto agli altri convulsivanti da Nikethamide si è rivelata poco attiva. Modifiche significanti del tracciato si possono notare solo dopo iniezione rapida di 75-100 mg/kg. Caratteristiche dell'EEG dopo Nikethamide ci

sono sembrate delle onde a punta a discreto voltaggio (200-400 μ V) che si possono notare, specie a livello occipitale, su uno sfondo di attività a 15 c/sec. Queste spikes si ritrovano anche nelle altre derivazioni, ma sono particolarmente evidenti a livello talamico (Fig. 6). Questo quadro può durare 20-30' per poi ritornare lentamente al normale. La Niketamide ha però dato dei risultati piuttosto incostanti ed in alcuni casi dosi fino a 250 mg/kg hanno solo provocato un aumento della frequenza ed una diminuzione dell'ampiezza del tracciato.

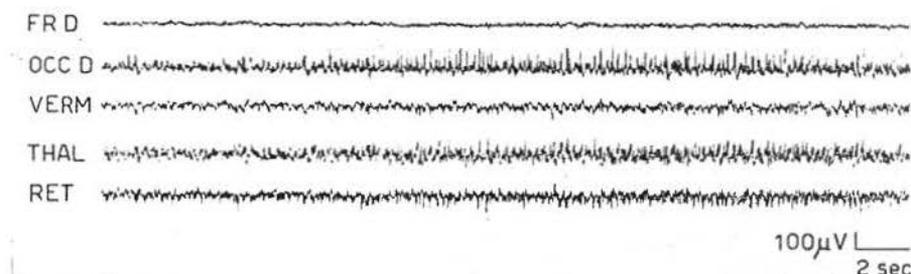


Fig. 6. - Azione della Niketamide sull'EEg del coniglio. Tracciato registrato 4 minuti dopo 100 mg/kg di prodotto. Le spikes sono evidenti soprattutto in derivazioni occipitale e talamica. Stesse condizioni sperimentali della fig. 2.

Applicazione locale sulla corteccia. — L'applicazione locale di stricnina e di altri convulsivanti (Pentametilentetrazolo, « convulsant acridone » ecc.) sulla corteccia provoca l'insorgenza di spikes. Anche il 1757 I. S., deposto sulla corteccia di concentrazioni dal 3 al 5%, provoca l'insorgenza di spikes aguzze seguite da un'onda lenta bifasica. Questa attività ipersincrona presenta però un carattere di estrema labilità; infatti, se si leva il dischetto imbevuto di prodotto, scompare quasi immediatamente. La stricnina invece ha un'azione più intensa e duratura ed è attiva a concentrazioni più basse (0,2-0,5%).

DISCUSSIONE

Benchè proprietà analettiche e convulsivanti siano state descritte per farmaci appartenenti a gruppi chimici diversi, allo stato attuale un'analisi comparativa dei vari tipi di azione sull'attività elettrica registrata ai vari livelli del nevrasso non appare chiaramente dai dati della letteratura. Questa è la ragione per cui abbiamo confrontato i dati ottenuti

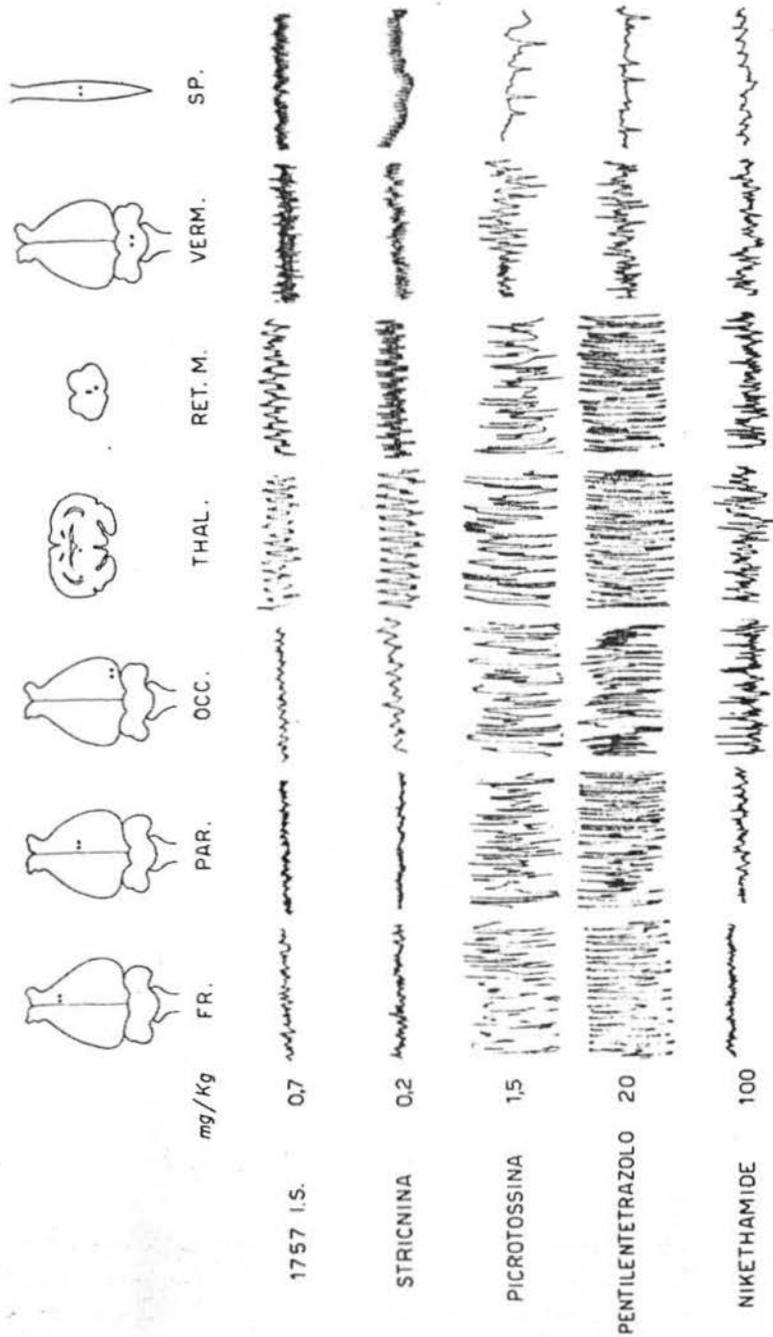


Fig. 7. - Quadro riassuntivo delle alterazioni dell'attività elettrica registrata ai vari livelli dell'asse cerebro-spinale provocate da cinque farmaci convulsivanti. Per ulteriori spiegazioni vedi il testo. Tutti i dati si riferiscono al coniglio curarizzato ed in respirazione artificiale.

con lo studio del 1737 I.S. con quelli dei più rappresentativi tra i farmaci convulsivanti.

Di una serie di derivati del difenildiazadamantanolo e del difenildiazadamantanone, in questo lavoro è stato preso in particolare considerazione il 5-7-difenil 1-3-diazadamantan-6-olo (1937 I.S.), che aveva dimostrato nelle prove di screening di possedere una spiccata attività convulsivante stricnino-simile.

La tecnica EEG si è rivelata particolarmente utile per una ulteriore caratterizzazione dell'azione del prodotto. Era già noto dai risultati di altri autori che la stricnina provocava un'alterazione dell'attività elettrica ben differente da quella ottenuta con gli altri farmaci convulsivanti. Le onde sincrone parossistiche da noi ritrovate a livello spinale erano state già descritte da BREMER (7), da WESCOE e GREEN (8) e da AIMONE-MARSAN e MAROSSERO (9); gli attacchi localizzati a livello cerebellare e mesencefalico erano stati riportati da MARKHAM e coll. (10), e da JOHNSON (11). Tutti questi autori erano inoltre d'accordo che le modificazioni dell'attività elettrica corticale e talamica erano invece di scarso rilievo.

Per quanto ci risulta, nessuno dei farmaci convulsivanti finora descritti in letteratura possiede delle analogie con la stricnina. Anche per il « convulsant acridone » [MAYER e BEIN (5)] e per la Megimide [RODIN e coll. (6)] sono stati descritti dei quadri EEG molto simili a quelli del Pentametilentetrazolo. AIMONE-MARSAN e coll. (12) hanno invece descritto un quadro elettrospinografico molto simile a quello provocato dalla stricnina dopo somministrazione al cane curarizzato di forti dosi di cloruro di ammonio (50-100 mg/kg).

Nella figura 7 sono riuniti i risultati ottenuti con le cinque sostanze ad azione convulsivante prese in esame, ed i reperti elettrici ottenuti ai vari livelli dell'asse cerebro-spinale sono esposti in modo da avere un quadro facilmente comparabile. Il parossismo di onde rapide che la stricnina ed il 1737 I.S. provocano a livello spinale e cerebellare non si ritrova dopo picrotossina e Pentametilentetrazolo, mentre d'altra parte queste ultime sostanze provocano imponenti variazioni a livello della corteccia. Reperto caratteristico della Nikethamide, (la quale è attiva solo a forti dosi) sono delle spikes che si notano soprattutto a livello della corteccia associativa e del talamo.

Se noi volessimo perciò inserire nel quadro generale della azione dei convulsivanti il 1737 I.S., i risultati ottenuti indicano che questo prodotto può essere senz'altro ravvicinato alla stricnina. In particolare il 1737 I.S. possiede in comune con la stricnina le seguenti caratteristiche: 1) l'iperreflessia e il tipo tonico delle convulsioni; 2) il quadro elet-

troencefalografico; 3) il quadro elettrospinografico. La stretta analogia dei quadri provocati da due sostanze così diverse dal punto di vista chimico suggerisce un analogo meccanismo di azione, probabilmente una interferenza con i meccanismi biochimici.

Risultati ottenuti da BRADLEY e coll. ⁽¹³⁾ indicherebbero che la stricnina avrebbe un'azione specifica, paralizzante sui sistemi inibitori presenti ai vari livelli del sistema nervoso centrale e che a questa sua azione sarebbe dovuto il quadro di iperreflessia e di convulsioni toniche che si nota dopo somministrazione dell'alcaloide. Sarebbe interessante vedere se anche da questo punto di vista il 1757 e la stricnina agiscano in maniera analoga.

Roma — Istituto Superiore di Sanità - Laboratori di Chimica terapeutica.

BIBLIOGRAFIA

- (¹) CHIAVARELLI S. e SETTIMI G. - Gazz. chim. ital., 88: 1234 (1958).
- (²) DRILL V. A. - Ed.: Pharmacology in Medicine, Second Edition, McGraw-Hill N.Y., 1958.
- (³) TOMAN J. E. P. e DAVIS J. P. - Pharmacol. Rev., 1: 25 (1949).
- (⁴) DRIESEN W., HAHN F. e RUMMEL W. - Arch. exp. Path. Pharmacol., 212: 243 (1951).
- (⁵) MAYER S. E. e BEIN J. A. - J. Pharmacol. exp. Therap., 111: 210 (1954).
- (⁶) RODIN E. A., RUTHLEDGE L. T. e CALHOUN H. D. - Electroenceph. clin. Neurophysiol., 10: 719 (1958).
- (⁷) BREMER F. - Arch. int. Physiol., 51: 211 (1941).
- (⁸) WESCOE W. C. e GREEN R. E. - J. Pharmacol. exp. Therap., 94: 78 (1948).
- (⁹) AIMONE MARSAN C. e MAROSSERO F. - Electroenceph. clin. Neurophysiol., 2: 133 (1950).
- (¹⁰) MARKHAM J. W., BROWNE K. M., JOHNSON H. C. e WALKER A. E. - Res. Publ. Ass. nerv. ment. Dis., 30: 282 (1952).
- (¹¹) JOHNSON B. - J. Neurophysiol., 18: 189 (1955).
- (¹²) AIMONE MARSAN C., FUORTES M. G. e MAROSSERO F. - Electroenceph. clin. Neurophysiol., 1: 291 (1949).
- (¹³) BRADLEY K., EASTON D. M. e ECCLES J. C. - J. Physiol., 122: 474 (1953).

87. G. B. MARINI-BETTOLO, R. LANDI VITTORY, M. A. JORIO, F. BOVET-NITTI e O. ORSINGHER. — Ricerche nella serie del benzodiossano - Nota XIX. Derivati idrazinici dell'1,4-benzodiossano. Sintesi e proprietà farmacologiche.

Riassunto. — Sono state sintetizzate alcune idrazine derivate dall'1,4-benzodiossano, facendo reagire il 2-bromometil-1,4-benzodiossano sulle idrazine alifatiche ed arilalifatiche sostituite. Le corrispondenti idrazidi sono state ottenute per azione dell'idrato di idrazina sugli esteri degli acidi monocarbossilici del benzodiossano.

Le prove farmacologiche hanno messo in evidenza una attività inibitrice delle monoammino-ossidasi ed un antagonismo nei riguardi degli effetti sedativi della reserpina, particolarmente significativi nel caso della N-[2-(1,4-benzodiossano)]-metil-idrazina ed in quello della N-[2-(1,4-benzodiossano)]-metil-N-(benzil)-idrazina.

Summary. — A number of hydrazine derivatives of 1,4-benzodioxane have been synthesized reacting 2-bromomethyl-1,4-benzodioxane with aliphatic or arylaliphatic substituted hydrazines. The corresponding hydrazides have been obtained by the action of hydrazine hydrate on the monocarboxylic acid esters of benzodioxane.

Pharmacological tests show that these hydrazines are monoamino-oxidase inhibitors and antagonistic to the sedative effect of reserpine. These effects are particularly significant in the cases of N-[2-(1,4-benzodioxane)]-methyl-hydrazine and N-[2-(1,4-benzodioxane)]-methyl-N-(benzyl)-hydrazine.

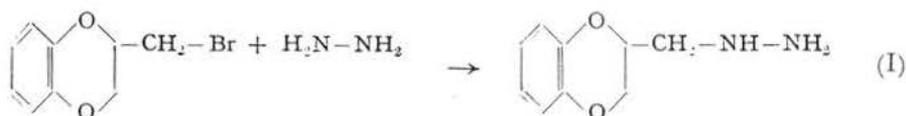
Un insieme di osservazioni cliniche e sperimentali compiute su una serie di idrazine sostituite le cui proprietà antitubercolari avevano, in primo tempo, attirato l'attenzione dei clinici, ha messo in luce il fatto che questi derivati hanno anche effetti stimolanti, euforici e analettici attribuibili ad un'azione tanto sulle monoammino-ossidasi del cervello (1) che sul sistema nervoso centrale.

Ricerche successive hanno permesso di stabilire le relazioni fra la struttura di alcuni metaboliti che costituiscono i substrati dell'azione enzimatica (nor-adrenalina, tiramina, 5-idrossitriptamina ecc.) e quella degli inibitori più attivi dell'enzima stesso (fenilettil-idrazina o fenalzina, β -metil-fenilettil-idrazina o feniprazina) (2).

Il 1,4-benzodiossano, nelle ricerche effettuate in questi ultimi anni, si è dimostrato particolarmente interessante nei suoi derivati sostituiti in posizione 2, come molecola fondamentale per la sintesi di una serie di farmaci ad azione sia simpaticolitica che centrale (3).

Nel considerare le relazioni di struttura che esistono fra simpaticolitici e simpaticomimetici e d'altra parte gli effetti stimolanti esercitati da alcuni derivati del 2-amminometil-1,4-benzodiossano, ci è parso di grande interesse preparare dei derivati idrazinici dell'1,4-benzodiossano e studiarne le proprietà farmacologiche.

Per azione dell'idrazina sul bromometilbenzodiossano si ottiene il N-[2-(1,4-benzodiossano)]-metil-idrazina (I)

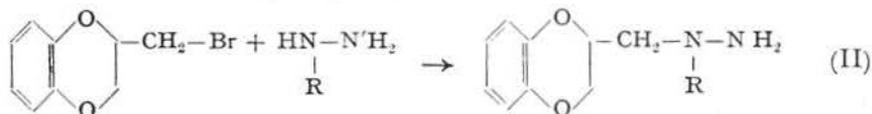


accanto ad una piccola quantità di bis-[2-(1,4-benzodiossano)-metil]-immina.

Alcune proprietà farmacologiche di questa idrazina (I) sono state descritte da BIEL e coll (4) i quali peraltro non fanno alcun accenno alla sua preparazione ed alle sue caratteristiche chimico-fisiche.

Analogamente si preparano le idrazine sostituite a partire da altri alogeno-benzodiossani (5).

Per la preparazione dei derivati sostituiti asimmetrici, poichè è noto che le idrazine simmetriche sono poco attive o inattive del tutto (6), abbiamo fatto reagire il 2-bromometil-1,4-benzodiossano con le alchil o aril-idrazine:

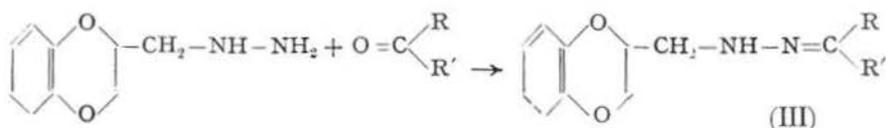


Sebbene la reazione possa avvenire sia sull'atomo di azoto N, che N', è stato osservato, ad es. nel caso del N-[2-(1,4-benzodiossano)]-metil-N-(benzil)-idrazina, che reagisce l'idrogeno unito all'atomo di azoto N in accordo con la legge della sostituzione sull'atomo di azoto più ricco.

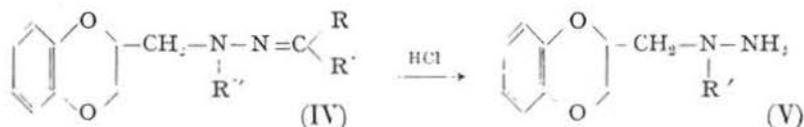
A conferma dell'esattezza di questo punto di vista sta il fatto che lo spettro I.R. del composto risultante presenta una doppietta di assorbimento tra 3500 e 3300 cm^{-1} , caratteristica del gruppo NH_2 , ed un assorbimento molto forte tra 1650 e 1590 cm^{-1} , caratteristico della frequenza di deformazione del gruppo NH. (Fig. 3).

La formula dei composti asimmetrici si può anche dimostrare con le reazioni che seguono.

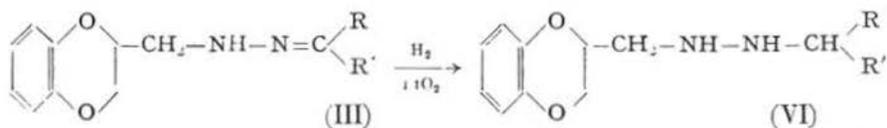
Se si fa reagire la N-[2-(1,4-benzodiossano)]-metil-idrazina (I) con un chetone od una aldeide si ottiene il corrispondente idrazone (alchiliden o arilalchiliden-idrazina) (III):



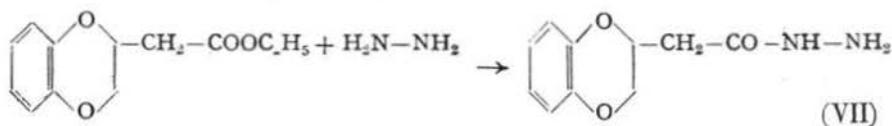
dal quale per alchilazione sull'atomo di azoto si ha l'alchilidrazone (IV) che viene poi idrolizzato con acido ossalico o acidi minerali diluiti ad alchil-idrazina asimmetrica (V):



Per riduzione catalitica dell'idrazone (III) con ossido di platino in etanolo o in etanolo-acido acetico si possono invece avere le idrazine simmetriche (VI):



Sono state inoltre preparate alcune idrazidi (VII) analoghe alle idrazine precedentemente descritte per poter confrontare le proprietà biologiche fra idrazine e idrazidi corrispondenti. Esse sono state ottenute facendo reagire l'idrato di idrazina con gli esteri degli acidi monocarbosilici del benzodiossano, da noi precedentemente preparati (7, 8, 9):



Riportiamo una serie di idrazine, variamente sostituite, preparate seguendo i metodi sopra descritti.

SINTESI

<i>N</i> -[2-(1,4-benzodiossani)]-metil-idrazina	(2520 I.S.)
<i>N</i> -[2-(1,4-benzodiossani)]-etil-idrazina	(2684 I.S.)
<i>N</i> -[2-(1,4-benzodiossani)]-propil-idrazina	(2625 I.S.)
<i>N</i> -{3-[2-(1,4-benzodiossani)]-2-metil}-propil-idrazina	(2725 I.S.)
<i>N</i> -{3-[2-(1,4-benzodiossani)]-2-etil}-propil-idrazina	(2659 I.S.)
<i>N</i> -{3-[2-(1,4-benzodiossani)]-2-benzil}-propil-idrazina	(2626 I.S.)
<i>N</i> -[2-(1,4-benzodiossani)]-metil- <i>N</i> -(<i>n</i> -butil)-idrazina	(2668 I.S.)
<i>N</i> -[2-(1,4-benzodiossani)]-metil- <i>N</i> -(benzil)-idrazina	(2596 I.S.)
<i>N</i> -[2-(1,4-benzodiossani)]-metil- <i>N</i> -(fenil)-idrazina	(2621 I.S.)
<i>N,N'</i> -bis-({3-[2-(1,4-benzodiossani)]-2-fenil}-propil)-idrazina	(2664 I.S.)
<i>N,N'</i> -bis-({3-[2-(1,4-benzodiossani)]-2-benzil}-propil)-idrazina	(2639 I.S.)

Moli 0,1 dell'alogenuro, variamente sostituito, derivato dall'1,4-benzodiossano, cm³ 100 di etanolo e moli 0,5 di idrato di idrazina al 85% o di idrazina monosostituita, si fanno bollire a ricadere per 10 ore. Al termine della reazione si concentra la soluzione, si estrae con cloroformio in ambiente alcalino.

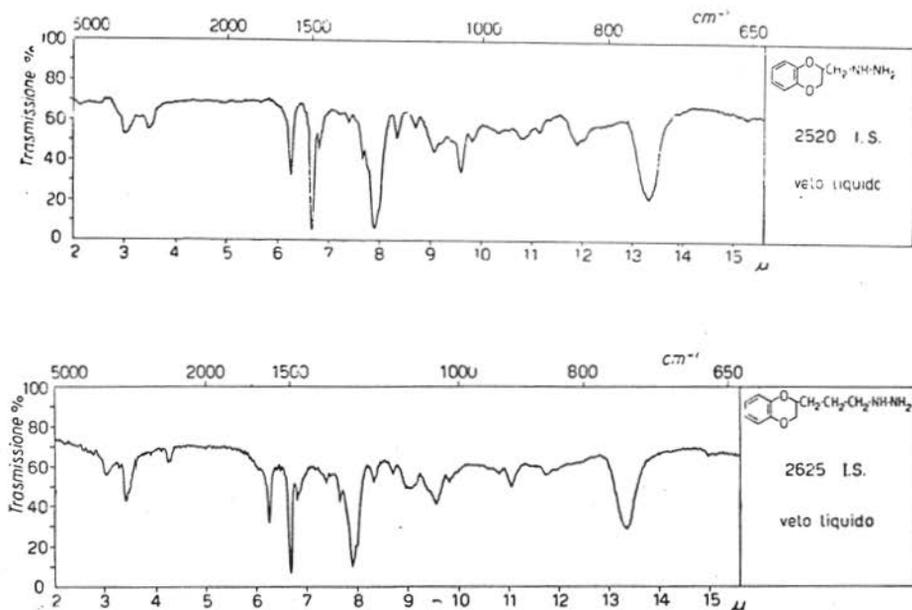


Fig. 1. - Spettri I.R. di idrazine.

di ebollizione si aggiungono cm^3 30 di etanolo per evitare surriscaldamenti. Al termine della reazione si allontana il reattivo in eccesso e l'eventuale solvente ed il residuo si rettifica sotto vuoto. Si ottengono dei liquidi oleosi, abbastanza stabili, le caratteristiche dei quali sono riportate nella tabella II.

$N[2-(1,4\text{-benzodiossan})_2\text{-metil-N(metil)-N'-isopropiliden-idrazina}$ (2673 I.S.)

$N[2-(1,4\text{-benzodiossan})_2\text{-metil-N(etil)-N'-isopropiliden-idrazina}$ (2681 I.S.)

$N[2-(1,4\text{-benzodiossan})_2\text{-metil-N(benzil)-N'-isopropiliden-idrazina}$ (2679 I.S.)

Ad una soluzione di moli 0,1 di N-(2-metil-1,4-benzodiossan)-N'-isopropiliden-idrazina in 50 cm^3 di acetone anidro, si aggiungono moli 0,12 di ioduro alchilico o aril-alchilico desiderato e moli 0,06 di carbonato potassico anidro. La miscela si riscalda a ricadere per 4-5 ore. Si allontana il solvente ed il residuo si riprende con acqua e si estrae con cloroformio mantenendo l'ambiente alcalino. Si disidrata su carbonato potassico e, dopo aver allontanato il solvente, il prodotto si rettifica nel vuoto ottenendo un liquido denso oleoso. Per le caratteristiche vedi tabella II.

$N[2-(1,4\text{-benzodiossan})_2\text{-metil-N(metil)idrazina}$ (2674 I.S.)

$N[2-(1,4\text{-benzodiossan})_2\text{-metil-N(etil)idrazina}$ (2682 I.S.)

$N[2-(1,4\text{-benzodiossan})_2\text{-metil-N(n-butil)idrazina}$ (2668 I.S.)

$N[2-(1,4\text{-benzodiossan})_2\text{-metil-N(benzil)idrazina}$ 2596 I.S.)

Moli 0,1 di isopropiliden-idrazina sostituita in 20 cm^3 di etanolo si idrolizzano con 20 cm^3 di acido cloridrico al 15% all'ebollizione per due ore.

La soluzione del cloridrato di idrazina così ottenuta si alcalinizza a freddo con idrato sodico al 40% e si estrae la base libera con cloroformio. L'estratto cloroformico, seccato su carbonato potassico, dopo eliminazione del solvente si rettifica nel vuoto. Si ottengono in questo modo le idrazine bisostituite asimmetriche sotto forma di olii incolori, che con acidi organici, quali ossalico, tartarico o picrico, danno sali facilmente cristallizzabili. Le caratteristiche di questi composti e dei loro derivati sono riportate nelle tabelle I e III.

$N-[2(1,4\text{-benzodiossan})_2\text{-metil-N'-isopropil-idrazina}$ (2331 I.S.)

$N-[2(1,4\text{-benzodiossan})_2\text{-metil-N'-metilpropil-idrazina}$ (2627 I.S.)

$N-[2(1,4\text{-benzodiossan})_2\text{-metil-N'-benzil-idrazina}$ (2720 I.S.)

Moli 0,1 di idrazone sostituito, sciolte in 30 cm^3 di una soluzione di etanolo-acetato di etile (4:1), si idrogenano a temperatura ambiente e alla

TABELLA I

Numero	R = 	p. f.	p. e.	formula bruta	A N A L I S I						no	Solvente di cristall.
					C %		H %		N %			
					calc.	trov.	calc.	trov.	calc.	trov.		
2520 I.S.	R-CH ₂ -NH-NH ₂	—	112°-115°/0.1								1,5640/21 ^o	
	picrato	152 ^o	—	C ₉ H ₁₂ O ₂ N ₂	59,98	60,03	6,71	6,81	—	—	—	Etanol
	ossalato	185 ^o	—	C ₁₃ H ₁₅ O ₆ N ₅ C ₁₁ H ₁₄ O ₆ N ₂	44,02	44,29	3,70	3,94	17,11	17,30	—	Etanol-acqua
2684 I.S.	R-CH ₂ -CH ₂ -NH-NH ₂	—	125°-127°/0,5								1,5521/24 ^o	
	ossalato	173 ^o	—	C ₁₃ H ₁₆ O ₂ N ₂ C ₁₂ H ₁₆ O ₆ N ₂	61,83	61,87	7,27	7,33	14,42	14,19	—	Etanol
2625 I.S.	R-CH ₂ -CH ₂ -CH ₂ -NH-NH ₂	—	105°-109°/0,005								1,5450/22 ^o	
	ossalato	182 ^o	—	C ₁₁ H ₁₆ O ₂ N ₂ C ₁₃ H ₁₈ O ₆ N ₂	63,44	63,67	7,74	7,68	13,45	13,14	—	Etanol
2725 I.S.	R-CH ₂ -CH-CH ₂ -NH-NH ₂ CH ₃	—	108°-109°/0,03								1,5430/21 ^o	
	ossalato	159 ^o	—	C ₁₂ H ₁₈ O ₂ N ₂ C ₁₃ H ₂₀ O ₆ N ₂	—	—	—	—	—	—	—	Etanol
2659 I.S.	R-CH ₂ -CH-CH ₂ -NH-NH ₂ C ₂ H ₅	—	98°-104°/0,002								—	
	ossalato	187 ^o	—	C ₁₃ H ₂₂ O ₆ N ₂ C ₁₃ H ₂₂ O ₆ N ₂	55,20	55,06	6,80	7,09	8,58	8,59	—	Etanol

pressione di 3 atmosfere in presenza di ossido di platino. L'idrogenazione è completa in 6-7 ore.

La sospensione si filtra per allontanare il catalizzatore, il filtrato si concentra ed il residuo si rettifica nel vuoto. I prodotti, le caratteristiche dei quali sono riportate nella tabella III, si presentano come oli densi e stabili.

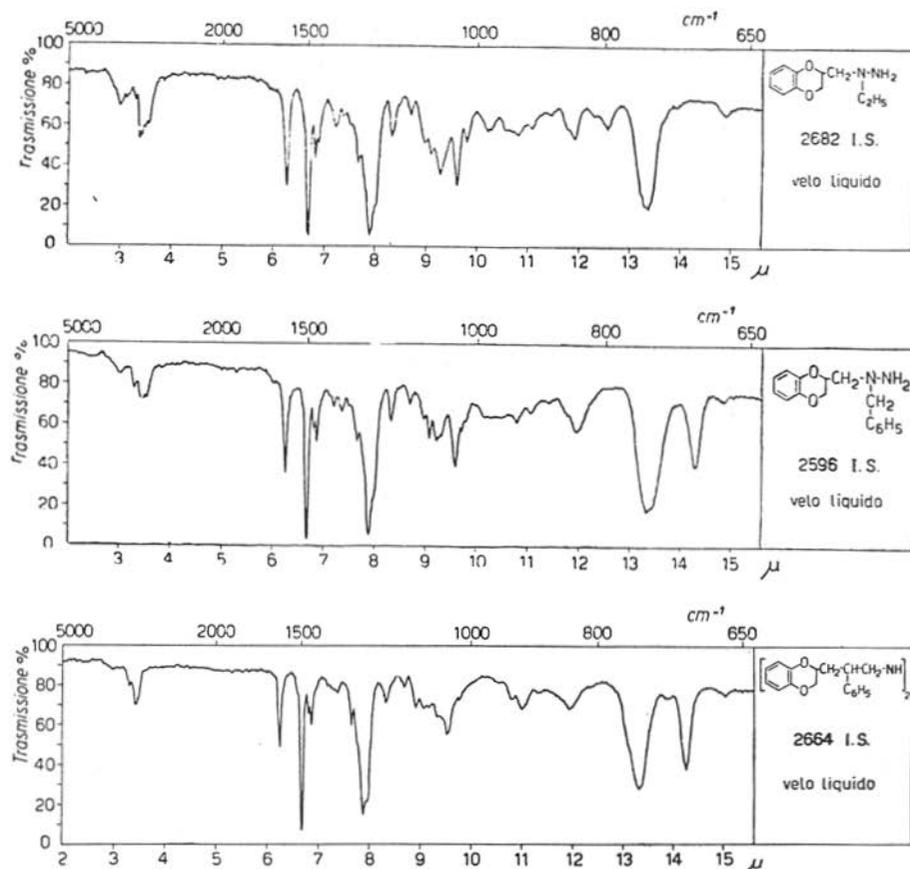


Fig. 3. - Spettri I.R. di idrazine asimmetriche.

<i>Idrazide dell'acido 1,4-benzodiossan-2-carbossilico</i>	(2578 I.S.)
<i>Idrazide dell'acido 1,4-benzodiossan-2-acetico</i>	(2582 I.S.)
<i>Idrazide dell'acido 1,4-benzodiossan-α-metil-2-propionico</i>	(2580 I.S.)
<i>Idrazide dell'acido 1,4-benzodiossan-α-etil-2-propionico</i>	(2577 I.S.)
<i>Idrazide dell'acido 1,4-benzodiossan-α-fenil-2-propionico</i>	(2592 I.S.)

Moli 0,1 di estere etilico dell'acido carbossilico corrispondente, preparato secondo il metodo precedentemente descritto (8, 9), si riscaldano a

TABELLA II

Numero	R = 	p. e.	formula bruta	A N A L I S I						no
				C %		H %		N %		
				calc.	trov.	calc.	trov.	calc.	trov.	
2576 I.S.	$\text{R-CH}_2\text{-NH-N}=\text{C} \begin{array}{l} \text{CH}_3 \\ \text{CH}_3 \end{array}$	93 - 95 / 0,05	$\text{C}_{12}\text{H}_{16}\text{O}_2\text{N}_2$	65,43	65,67	7,32	7,10	—	1,5419	23'
2591 I.S.	$\text{R-CH}_2\text{-NH-N}=\text{C} \begin{array}{l} \text{CH}_3 \\ \text{C}_2\text{H}_5 \end{array}$	110 - 112 / 0,1	$\text{C}_{13}\text{H}_{18}\text{O}_2\text{N}_2$	66,67	66,38	7,74	7,75	—	1,5369	21°
2722 I.S.	$\text{R-CH}_2\text{-NH-N}=\text{CH-C}_6\text{H}_5$	160' - 165' / 0,1	$\text{C}_{16}\text{H}_{18}\text{O}_2\text{N}_2$	71,62	71,59	6,01	5,73	—	—	—
2590 I.S.	$\text{R-CH}_2\text{-NH-N}=\text{C} \begin{array}{l} \text{CH}_3 \\ \text{C}_6\text{H}_5 \end{array}$	148 - 152 / 0,05	$\text{C}_{17}\text{H}_{18}\text{O}_2\text{N}_2$	72,32	72,12	6,43	6,17	—	—	—
2673 I.S.	$\text{R-CH}_2\text{-N-N}=\text{C} \begin{array}{l} \text{CH}_3 \\ \text{CH}_3 \\ \\ \text{CH}_3 \end{array}$	105 - 112 / 0,2	$\text{C}_{13}\text{H}_{18}\text{O}_2\text{N}_2$	66,64	66,57	7,74	7,81	—	1,5250 / 28'	—
2681 I.S.	$\text{R-CH}_2\text{-N-N}=\text{C} \begin{array}{l} \text{CH}_3 \\ \text{CH}_3 \\ \\ \text{C}_2\text{H}_5 \end{array}$	105 110 / 0,5	$\text{C}_{14}\text{H}_{20}\text{O}_2\text{N}_2$	67,71	67,42	8,12	7,91	—	1,5225	19'
2679 I.S.	$\text{R-CH}_2\text{-N-N}=\text{C} \begin{array}{l} \text{CH}_3 \\ \text{CH}_3 \\ \\ \text{CH}_2\text{-C}_6\text{H}_5 \end{array}$	125 - 127' / 0,05	$\text{C}_{19}\text{H}_{22}\text{O}_2\text{N}_2$	73,52	73,23	7,14	7,03	—	1,5640	20'

TABELLA III

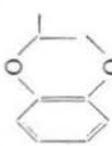
Numero	R = 	p. f.	p. e.	formula bruta	ANALISI						no	Solvente di cristall.	
					C % calc. trov.	H % calc. trov.	N % calc. trov.						
2674 I.S.	R-CH ₂ -N-NH ₂ C ₂ H ₅ ossalato	—	110°-112°/0,7	C ₁₀ H ₁₄ O ₂ N ₂	—	—	—	—	—	—	1,5335 20°	—	Etanolo-H ₂ O
2582 I.S.	R-CH ₂ -N-NH ₂ C ₂ H ₅ ossalato	187°	—	C ₂₂ H ₃₀ O ₂ N ₄	55,22	55,36	6,32	6,36	11,70	11,67	—	—	—
2581 I.S.	R-CH ₂ -NH-NH-CH CH ₃ CH ₃	—	107°-109°/0,5	C ₁₁ H ₁₆ O ₂ N ₂	—	—	—	—	—	—	1,5339, 20°	—	—
2627 I.S.	R-CH ₂ -NH-NH-CH CH ₃ C ₂ H ₅	—	88 - 90°/0,001	C ₁₂ H ₁₈ O ₂ N ₂	64,84	65,06	8,16	7,90	12,60	12,57	1,5251/22°	—	Etanolo
2720 I.S.	R-CH ₂ -NH-NH-CH ₂ -C ₆ H ₅	—	110 - 112°/0,1	C ₁₃ H ₂₀ O ₂ N ₂	66,07	65,90	8,53	8,31	11,86	11,68	1,5192 22°	—	—
		—	152 - 155°/0,1	C ₁₆ H ₁₈ O ₂ N ₂	71,09	71,24	6,71	6,44	10,36	10,25	1,6195/22°	—	—

TABELLA IV

Numero	 R =	p. f.	p. e.	formula bruta	A N A L I S I						Solvente di cristalli.
					C%		H%		N%		
					calc.	trov.	calc.	trov.	calc.	trov.	
2578 I.S.	R-CO-NH-NH ₂	112-114°	—	C ₉ H ₁₀ O ₃ N ₂	55,66	55,47	5,19	5,18	14,43	14,64	Etanol-H ₂ O
2582 I.S.	R-CH ₂ -CO-NH-NH ₂	(*)	—	C ₁₀ H ₁₂ O ₃ N ₂	—	—	—	—	13,46	13,16	
2580 I.S.	R-CH ₂ -CH(CO-NH-NH ₂) CH ₃	—	130°-140°, 0,001	C ₁₂ H ₁₆ O ₃ N ₂	61,00	60,68	6,83	6,64	—	—	
2577 I.S.	R-CH ₂ -CH(CO-NH-NH ₂) C ₂ H ₅	115°	—	C ₁₃ H ₁₈ O ₃ N ₂	62,38	62,21	7,25	7,02	11,19	11,26	Acqua
2592 I.S.	R-CH ₂ -CH(CO-NH-NH ₂) C ₆ H ₅	160°-162°	—	C ₁₇ H ₁₈ O ₃ N ₂	68,44	68,22	6,08	6,25	9,39	9,56	Etanol

* Massa solida vetrosa solubile in acqua.

ricadere per 6-8 ore con moli 0,5 di idrato di idrazina al 83%. All'inizio dell'ebollizione si hanno due strati che scompaiono con il procedere del riscaldamento. La reazione si può considerare avvenuta quando si ha una unica fase a caldo.

Dopo raffreddamento, aggiungendo acqua, si ottiene una massa solida che si cristallizza da acqua o etanolo. In un unico caso abbiamo ottenuto un prodotto oleoso che, dopo estrazione con etere e lavaggio con acqua, è stato distillato a pressione ridotta. Per le caratteristiche di questi prodotti vedi tabella IV.

Spettroscopia IR. Gli spettri IR sono stati eseguiti in velo liquido con apparecchio a doppio raggio Perkin Elmer 21, sui composti caratteristici, come riportato nelle Fig. 1, 2, 3.

PROPRIETA' FARMACOLOGICHE

Fra i composti sintetizzati, degni di particolare menzione si sono rivelati l'N-[2-(1,4-benzodiossan)]-metil-idrazina (2320 I.S.) e l'N-[2(1,4-benzodiossan)]-metil-N-(benzil)-idrazina (2396 I.S.) (19) sia per la loro azione anti monoammino-ossidasi che per il loro potere stimolante centrale e per l'antagonismo dimostrato nei riguardi degli effetti della reserpina. Riportiamo qui parte dei risultati farmacologici:

TOSSICITA' E SINTOMI D'INTOSSICAZIONE.

I due derivati presentano una debole tossicità che può essere considerata come intermedia fra quella dell'iproniazide e della fenalzina. (Tab. V).

I sintomi di un'eccitazione centrale si verificano dopo un tempo di latenza di qualche ora e si manifestano nel topino con un aumento della attività spontanea, segno di Straub, dispnea e fenomeni convulsivi. Nel ratto e nel coniglio le manifestazioni d'iper-eccitabilità, egualmente caratteristiche, si producono sia tardivamente, sia soprattutto in seguito a dosi ripetute.

AZIONE INIBITRICE SULLE MONOAMMINO-OSSIDASI « IN VIVO ».

Abbiamo determinato nel ratto, che rappresenta l'animale più generalmente adoperato, l'attività delle monoammino-ossidasi del cervello e del fegato. Le misure sono state fatte con il metodo manometrico di Warburg,

TABELLA V

Attività comparata di alcuni inibitori delle monoammino-ossidasi

	Tossicità topina mg/kg s. c.		% Inibizione delle monoammino-ossidasi latto: 10 mg/kg dopo 24 ore				% antagonismo verso la reserpina (a) s. c.	
	s. c.	per os	s. c.		per os		10 mg/kg	20 mg/kg
			Fegato	Cervello	Fegato	Cervello		
2520 I.S.	200	250	62	79	25	52	79	100
2336 I.S.	225	250	74	86	54	66	75	97
IPRONIAZIDE (fosf.) (Marsilid)	732(b)	950 b ₁	74	70	66	54	—	—
NIALAMIDE (base) (Niamid)	—	1000 c ₁	88	76	23	7	47	100
ISOCARBOXAZIDE (base) (Marplan)	150	193(d)	70	72	76	73	68	100
FENALZINA (solfato) (Nardil)	150(e)	156(e)	17	63	60	43	76	92
FENIPRAZINA (cloridr.) (Catron)	100	100	54	62	46	50	100	100

(a) Inibizione della ptosi palpebrale provocata dalla reserpina (2mg/kg s. c.) 4 ore prima della somministrazione dell'inibitore.
 (b) Benson 1952. (c) Chessin 1959. (d) Randall 1959. (e) Plotnikoff e coll. 1960.

mettendo in contatto gli omogenati di questi organi e la tiramina utilizzata come substrato, nelle condizioni descritte da BEYER (11).

L'attività enzimatica degli organi prelevati è stata paragonata a quella di animali test.

Le dosi dei due derivati che inibiscono le monoammino-ossidasi sono molto lontane da quelle tossiche (Tab. V). Si può tuttavia osservare che malgrado il carattere duraturo degli effetti provocati in seguito all'iniezione di una dose unica (Tab. VI), dosi ripetute (10 mg/kg per via sottocutanea tutti i giorni per trenta giorni) si dimostrano estremamente ben tollerate (Tab. VII).

TABELLA VI

Durata dell'inibizione delle monoammino-ossidasi nel ratto dopo una dose unica di 10 mg/kg via s. c. (% d'inibizione)

	Iproniazide		2520 IS		2596 IS	
	Fegato	Cervello	Fegato	Cervello	Fegato	Cervello
24 ore	74	70	62	79	74	86
2-3 giorni	49	76	33	81	35	84
5-7 giorni	43	76	39	60	23	81
10-15 giorni	0	31	2	20	6	27

TABELLA VII

% di inibizione delle monoammino-ossidasi nel ratto trattato ogni giorno con 10 mg/kg per via s. c.

	Dopo 15 giorni			Dopo 30 giorni		
	% perdita di peso dell'animale	Inibizione delle MAO Fegato	Inibizione delle MAO Cervello	% perdita di peso dell'animale	Inibizione delle MAO Fegato	Inibizione delle MAO Cervello
2520 I.S.	4.18 %	47	86	4.15 %	70	100
2596 I.S.	1.78 %	70	100	3.15 %	77	80

I dati si riferiscono alle medie di due animali.

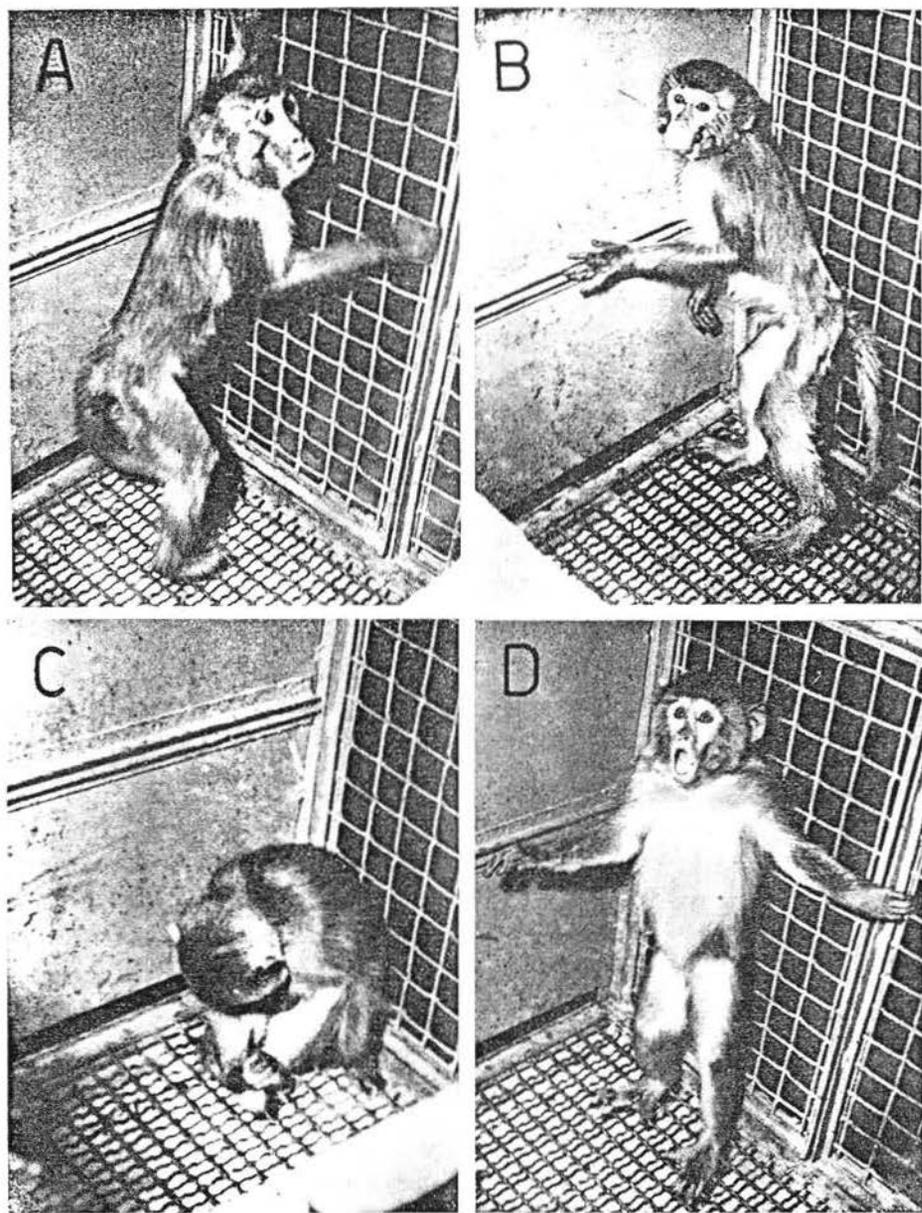


Fig. 4 — Antagonismo della N-[2-(1,4-benzodiossano)]-metil-N-(benzil)-idrazina (2596 I.S.) nei riguardi degli effetti sedativi della reserpina nella scimmia *Macacus Rhesus*.

A - Scimmia I (2.250 kg) normale. **B** - Scimmia II (2.300 kg) trattata con 2596 I.S. (0,10 mg/kg s.c.) per 3 giorni di seguito; si osserva l'atteggiamento eccitato dell'animale trattato con 2596 I.S. **C** - Scimmia I (2.250 kg) 2 ore dopo l'iniezione di reserpina (0,5 mg/kg s.c.); si osserva la prostrazione della scimmia in relazione con l'effetto sedativo della reserpina. **D** - Scimmia II (2.300) 2 ore dopo l'iniezione di reserpina (0,5 mg/kg s.c.); nell'animale pretrattato con 2596 I.S., l'iniezione di reserpina non provoca più l'attività sedativa osservata nell'animale normale, ma accentua ancora di più il comportamento aggressivo.

ANTAGONISMO NEI RIGUARDI DEGLI EFFETTI SEDATIVI DELLA RESERPINA.

L'antagonismo caratteristico che gli inibitori delle monoammino-ossidasi esercitano nei riguardi della reserpina (12) è stato ritrovato durante lo studio che abbiamo operato del 2520 I.S. e del 2596 I.S. su animali di laboratorio diversi e nelle condizioni sperimentali più svariate.

Nel topino i due derivati esercitano un antagonismo caratteristico nella ptosi palpebrale provocata dalla reserpina, secondo la tecnica descritta da RUBIN e coll. (13).

Nella scimmia (*Macacus Rhesus*) i due derivati dimostrano scarsa tossicità. Per il 2596 I.S. è stato inoltre studiato in questo animale l'effetto di una dose di 10 mg/kg somministrata 24 ore prima e il comportamento dell'animale dopo 1 mg/kg di reserpina. L'animale trattato assume un atteggiamento più attivo e aggressivo, e contrariamente alla scimmia normale, non viene tranquillizzato da somministrazione di reserpina (fig. 4).

Altre prove ugualmente dimostrative hanno permesso di mettere in evidenza l'attività di questi due derivati sulla reazione di fuga nel ratto condizionato nella gabbia di Warner e sul comportamento e l'elettroencefalogramma del coniglio normale o trattato con la reserpina.

RAPPORTI TRA STRUTTURA ED AZIONE.

Nella tabella VIII sono riportati i dati farmacologici caratteristici corrispondenti ai derivati esaminati ottenuti sia determinando l'attività inibitrice sulle monoammino-ossidasi, sia misurando l'antagonismo dimostrato nei riguardi della reserpina.

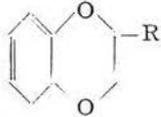
Da questi risultati si può desumere che:

a) nella serie delle N-[2-(1,4-benzodiossani)]-alchil-idrazine l'azione anti-monoammino-ossidasi tende ad attenuarsi a misura che la catena alchilica si allunga;

b) nella serie delle N-{3-[2-(1,4-benzodiossani)]}-propil-idrazine, sostituite nella catena propilica, tale attività enzimatica decresce con l'aumento del peso molecolare del radicale alchile o arile sostituito in 2;

c) nella serie delle N-[2-(1,4-benzodiossani)]-metil-idrazine sostituite in N, l'attività anti-monoammino-ossidasi è minore nel derivato N-metil

Attività farmacologica comparata dei derivati idrazinici dell'1,4-benzodiossano

	% antagonismo reserpina nel topino (a)		% inibizione della mono-ammino-ossidasi (b)				
	via s. c.		via s. c.		per os		
	10 mg/kg	50 mg/kg	Fegato	Cervello	Fegato	Cervello	
a) 2320	CH ₂ NH NH ₂	86		62	79	25	52
2684	CH ₂ CH ₂ NH NH ₂	76		34	80	47	80
2623	CH ₂ CH ₂ CH ₂ NH NH ₂	43	100	17	56	19	8
b) 2723	CH ₂ CH(CH ₂ CH ₂ NH NH ₂)	65	100	0	51	20	0
2639	CH ₂ CH(C ₂ H ₅)CH ₂ NH NH ₂	23	90	12	54	0	0
2626	CH ₂ CH(C ₆ H ₅)CH ₂ NH NH ₂	9	36	15	42	8	0
c) 2674	CH ₂ N(CH ₂) ₃ NH ₂	19	45	0	6	0	24
2682	CH ₂ N(C ₂ H ₅) ₂	42		36	62	50	64
2668	CH ₂ N(C ₄ H ₉) ₂	60	100	48	88	48	71
2396	CH ₂ N(CH ₂ C ₆ H ₅) ₂	64	100	79	92	78	60
d) 2720	CH ₂ N(CH ₂ C ₆ H ₅)NH ₂	13	38	0	65	17	35
e) 2378	CONH NH ₂	—	0	3	0	0	0
2382	CH ₂ CONH NH ₂	23	100	27	73	26	18

(a) Inibizione della ptosi palpebrale provocata dalla reserpina (2 mg/kg s. c. 4 ore prima della somministrazione dell'inibitore. (b) Inibizione dell'attività enzimatica dei tessuti prelevati dopo 24 ore nei ratti trattati con 10 mg/kg dell'inibitore.

(2674 I.S.) e maggiore nei derivati N-etil (2682 I.S.), N-butil (2668 I.S.) con ritmo crescente;

d) i dati della letteratura che indicano la scarsa attività delle idrazine bisostituite simmetriche possono essere nuovamente confermati dal confronto fra i derivati N'-benzil (2720 I.S.) e N-benzil (2396 I.S.) della serie delle N-[2-(1,4-benzodiossano)-metil-idrazine];

e) nei due casi in cui sono stati esaminati nella serie delle idrazidi l'idrazide dell'acido 1,4-benzodiossano-2-carbossilico (2378 I.S.) e l'idrazide dell'acido 1,4-benzodiossano-2-acetico (2382 I.S.) queste non hanno dimostrato attività anti-monoammino-ossidasi e sono apparse pertanto meno attive delle idrazine corrispondenti.

BIBLIOGRAFIA

- (1) ZELLER E. A. - *J. biol. Chem.*, 214: 267 (1955); *Pharmacol. Rev.*, 387 (1959).
- (2) HORITA A. - *J. Pharmacol. exp. Ther.*, 122: 176 (1958).
- (3) MARINI-BETTÒLO G. B., LANDI VITTORY R. e BOVET D. - *Gazz. chim. ital.*, 83: 444 (1953); BOVET D. - *Gazz. chim. ital.*, 89: 196 (1959).
- (4) BIEL J. H., NCFER P. A. e CONWAY C. A. - *Ann. New York Acad. Sci.*, 80: 568 (1959).
- (5) LANDI VITTORY R., GIORA F. e MARINI-BETTÒLO G. B. - *Farmaco ed. sci.*, 15: 788 (1960).
- (6) ZELLER P., PLETSCHER A., GEY K. F., GUTMANN H., HEGEDÛS B. e STRAUB O. - *Ann. New York Acad. Sci.*, 80: 333 (1959).
- (7) MILANI C., LANDI VITTORY R. e MARINI-BETTÒLO G. B. - *Rend. Ist. sup. Sanità*, 22: 207 (1959).
- (8) LANDI-VITTORY R., MILANI C. e MARINI-BETTÒLO G. B., *Rend. Ist. sup. Sanità*, 22: 217 (1959).
- (9) MARINI-BETTÒLO G. B., LANDI VITTORY R. e CARVALHO FERREIRA P. - *Gazz. chim. ital.*, 89: 2280 (1959).
- (10) BOVET-NITTI F., LANDI VITTORY R., ORSINGER O. e BOVET D. - *C.R. Ac. Sci. in corso di stampa*.
- (11) BEYER K. H. - *J. Pharmacol. exp. Ther.*, 79: 285 (1943).
- (12) BRODIE B. B., PLETSCHER A. e SHORE P. A. - *Science*, 122: 968 (1935); CHESSIN M., KRAMER E. R. e SCOTT C. C. - *J. Pharm. exp. Ther.*, 119: 433 (1937); RANDALL L. O. e BAGDON R. E. - *Ann. New York Acad. Sci.*, 80: 626 (1959); BIGNAMI G. - *C.R. Ac. Sci.*, 250: 3731 (1960).
- (13) RUBIN B., MALONE M. H., WAUGH M. H. e BURKE J. C., - *J. Pharmacol. exp. Ther.*, 120: 423 (1957).