

3. Maria Ester ALESSANDRINI. — Sulla composizione di prodotti messi in commercio come p. fenolsolfonato di p. amminobenzoato di etile (subcutina).

La subcutina ⁽¹⁾ è il p.fenolsolfonato di anestesina, cioè dell'etere etilico dell'acido p.amminobenzoico. Viene anche chiamata anestesina solubile, perchè mentre l'anestesina si scioglie in acqua solo nella proporzione del 0,08 % a temperatura ambiente e del 0,2 % a 15° (Nota*) ⁽²⁾, la subcutina avrebbe una solubilità dell'1 % a freddo ⁽³⁾.

La subcutina viene usata come anestetico locale per via ipodermica, sia da sola che mescolata ad altre sostanze; la si aggiunge ad es. alle soluzioni acquose di joduro di mercurio e potassio (o sodio) per renderle indolori, non potendo ricorrere ad altri anestetici, quali la novocaina, la stovaina, la percaina, ecc., che danno precipitati con i sali di mercurio. Tale uso non tiene conto del fatto che il p.fenolsolfonato, analogamente al cloridrato e ad altri sali della stessa base con acidi forti, in ambiente acquoso, s'idrolizza impartendo alla soluzione una eccessiva acidità (di pH 2,3 ca.) per una preparazione iniettabile: è il caso appunto della soluzione « De Amicis » di joduro di mercurio e subcutina, consigliata dai manuali di Tecnica Farmaceutica e largamente usata.

Per fare uso dell'anestesina e della subcutina occorrerebbe trovare le condizioni o di facilitare la solubilità in acqua della prima con l'aggiunta di qualche altra sostanza innocua per l'organismo, o di neutralizzare l'acidità della seconda senza provocare la precipitazione della base. Da ciò hanno avuto inizio le ricerche che fanno oggetto della presente Nota.

Per quanto riguarda l'anestesina, Neuberg ⁽⁴⁾ dice che tale sostanza è solubile nella proporzione del 2 % in soluzioni acquose di salicilato

(*) Ho constatato che l'anestesina non si scioglie affatto nella proporzione del 0,2 %, non solo a 15° ma neanche a 30°. Tale solubilità è del resto incompatibile con quella del 0,08 % a temperatura ambiente.

⁽¹⁾ Chem. Zentr., I, 131 (1904), D. R. P. 147790.

⁽²⁾ Beilstein, 13-14, 567, Bayer a Bo. D. R. P. 218389, Frdl., 9, 973.

⁽³⁾ Chem. Zentr., II, 137 (1903).

⁽⁴⁾ Biochem. Z., 76, 175 (1916).

di sodio 4N (cioè al 64 %) e di benzoato di sodio al 50 %. Ho potuto constatare però che per ottenere soluzioni di concentrazioni inferiori al 2 % occorrono, a pari quantità di anestesina, quantità dei sopracitati sali molto superiori a quelle riscontrate da Neuberg; ad es. per preparare una soluzione al 0,25 % di anestesina, che è la concentrazione praticamente necessaria per ottenere una sensibile azione anestetica, non basta una soluzione al 12 % sia di salicilato che di benzoato di sodio, e ciò costituisce un palese inconveniente per l'uso pratico di queste soluzioni.

Salkowski ⁽⁵⁾ dice che a caldo l'anestesina si scioglie negli acidi tartarico e citrico, ma a freddo riprecipita, e che si scioglie abbondantemente nell'acido lattico. Anche qui ho constatato che per sciogliere l'anestesina nella proporzione del 0,25 % non basta una soluzione di acido lattico all'1 %, che possiede già un $pH=3$ e quindi ancora eccessivamente basso per uso ipodermico.

Poichè i tentativi di solubilizzare l'anestesina con quantità limitate di altre sostanze innocue per l'organismo mi hanno dato risultati più o meno negativi agli effetti pratici, ho rivolto la mia attenzione alla subcutina. Su di un campione di subcutina acquistato dal commercio (A), ma non originale, ho constatato che aggiungendo alle sue soluzioni acquose sia al 0,5 che all'1 %, opportune quantità di soluzioni tampone fosfatice $\frac{M}{3}$ di Sørensen si raggiungeva lo scopo di neutralizzare le soluzioni, portandole a pH 7, senza provocare la precipitazione della base. Lo stesso scopo si poteva raggiungere anche con una semplice soluzione di fosfato bisodico.

Ho provato allora a sciogliere l'anestesina in soluzioni di acido p.fenolsolfonico purissimo — da me stessa preparato in laboratorio secondo Paul ⁽⁶⁾ — in quantità tali da ottenere concentrazioni del 0,5 % e dell'1 % espresse in subcutina, e poi ad aggiungere sia soluzioni tampone fosfatice a diversi pH compresi fra 3 e 7, sia quantità varie di soluzioni di fosfato bisodico. Ma già a pH 3 precipitava l'anestesina.

Il diverso comportamento della subcutina acquistata dal commercio e di quella preparata da me in Laboratorio da anestesina e acido p.fenolsolfonico, mi ha fatto ritenere che la subcutina del commercio non fosse

⁽⁵⁾ Biochem. Z., 79, 84-85 (1917).

⁽⁶⁾ Z. angew. Chem., 9, 590 (1896).

effettivamente costituita, almeno in massima parte, di p.fenolsolfonato di anestesina. Infatti, alcalinizzando le sue soluzioni acquose non si otteneva alcun precipitato.

Ho eseguito allora numerose prove, che descriverò nella parte sperimentale, in base alle quali ho potuto accertare che il prodotto venduto come subcutina conteneva solo il 9,5 % di subcutina e l'89 % di p. fenolsolfonato dell'acido p.amminobenzoico. Di questo risultato ho potuto dare anche la probabile spiegazione sperimentale: durante la preparazione, se appena si spostano le condizioni necessarie per la formazione di subcutina (concentrazione della soluzione, durata dell'ebollizione, eccesso troppo forte di acido p.fenolsolfonico), con facilità l'acido p.fenolsolfonico, che è un acido forte, saponifica l'anestesina con conseguente formazione di quantità più o meno rilevanti di acido p.amminobenzoico privo di ogni azione anestetica.

Ho voluto allora esaminare un campione di subcutina originale (B) ed anche su questa ho potuto constatare la stessa alterazione, benchè in misura molto più limitata: conteneva infatti ca. il 55 % di subcutina e ca. il 45 % del p.fenolsolfonato dell'acido p.amminobenzoico.

Da quanto sopra esposto appare la necessità di eseguire un accurato controllo sul contenuto in anestesina dei preparati di subcutina che si trovano in commercio, prima di usarli. Tale controllo può venire opportunamente preceduto, o magari sostituito, da una determinazione di acidità.

Per quanto poi riguarda la possibilità di preparare soluzioni per uso ipodermico di subcutina che abbiano un pH non inferiore a 5, ho potuto accertare che si possono ottenere soluzioni diluite pressochè neutre di subcutina anche partendo dall'anestesina, la quale deve venire disciolta in una soluzione che, per ogni molecola, ne contenga 3 di acido p.fenolsolfonico, o, indifferentemente, 2 di acido p.fenolsolfonico e 1 di acido p.amminobenzoico. La soluzione così ottenuta può poi essere neutralizzata in massima parte così da ottenere un pH compreso fra 5,0-6,5, nel modo migliore con una soluzione $\frac{M}{3}$ di fosfato bisodico.

In ogni caso si possono preparare solo soluzioni di concentrazione non superiore al 0,25 % espresso in subcutina. Per concentrazioni maggiori, anche aumentando proporzionatamente e più le quantità di acidi p.fenolsolfonico e p. amminobenzoico, quando si procede alla neutra-

lizzazione, l'anestesina precipita. Poichè d'altra parte, per avere una sensibile azione anestetica occorre iniettare 1 cm³ di una soluzione di subcutina almeno al 0,5 %, vuol dire che invece di 1 cm³ di soluzione se ne inietteranno, a seconda dei casi, da 2 a 5 cm³.

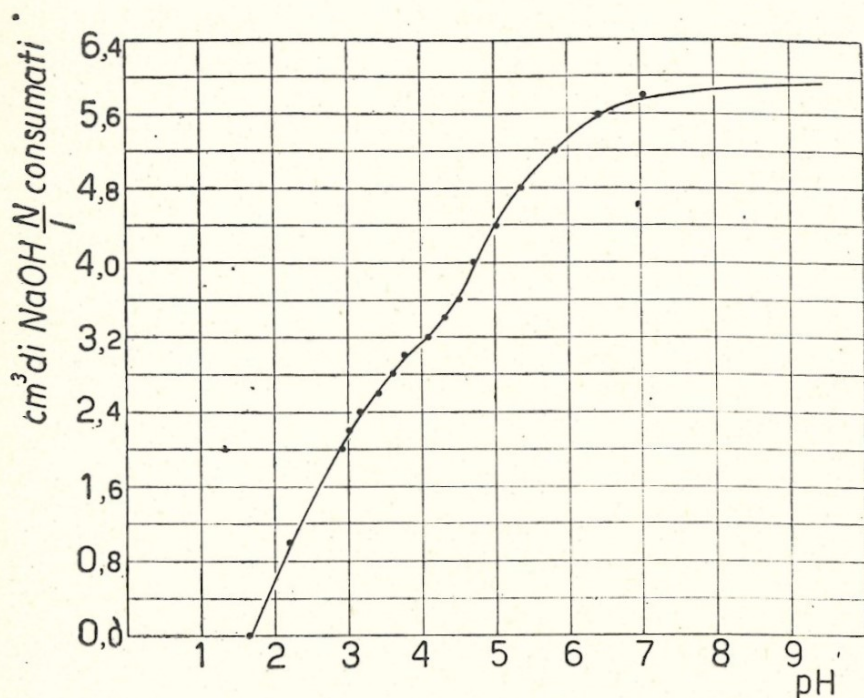


FIG. 1.

Se invece di sciogliere l'anestesina nella soluzione degli acidi p.fenolsolfonico e p.amminobenzoico ed aggiungere poi il fosfato bisodico, si scioglie direttamente l'anestesina nella corrispondente quantità di p.fenolsolfato sodico, col tempo ed a temperature

inferiori a 15°, precipitano piccole quantità di anestesina.

La soluzione di subcutina ottenuta come sopra indicato, serve bene per preparare soluzioni iniettabili indolori e pressochè neutre di b ioduro di mercurio.

PARTE SPERIMENTALE

ESAME E CARATTERISTICHE DEL CAMPIONE « A » DI SUBCUTINA.

Polvere bianca, cristallina, che produce sulla lingua debolissima azione anestetica.

Fonde decomponendosi intorno a 220° (mentre la subcutina dovrebbe fondere a 195-200°). E' molto più solubile in acqua del p.fenolsolfonato di anestesina puro e dalle sue soluzioni gli alcali non precipitano l'anestesina.

La titolazione eseguita in presenza di fenoltaleina su 1,0 g di prodotto ha dato il seguente risultato:

trov. : $\text{NaOH} \frac{\text{N}}{10}$ consumato cm³ 60,0;

per $\text{C}_6\text{H}_6\text{O}_4\text{S.C}_9\text{H}_{11}\text{O}_2\text{N}$ calc. : 29,5.

La ricerca della funzione di ammina primaria aromatica, eseguita per diazotazione con acido nitroso e successiva copulazione con β -naftolo ha dato risultato nettamente positivo.

La ricerca dell'alcole etilico eterificato è stata eseguita sulla soluzione di g 0,5 di prodotto in cm^3 50 di acqua, che è stata alcalinizzata e riscaldata all'ebollizione in modo da raccogliere le prime quantità di distillato sulle quali è stata eseguita la nota reazione con jodio in ambiente alcalino. Si sono formate solo tracce minime di jodoformio. Da ciò si doveva dedurre che il gruppo etilico era presente solo in tracce.

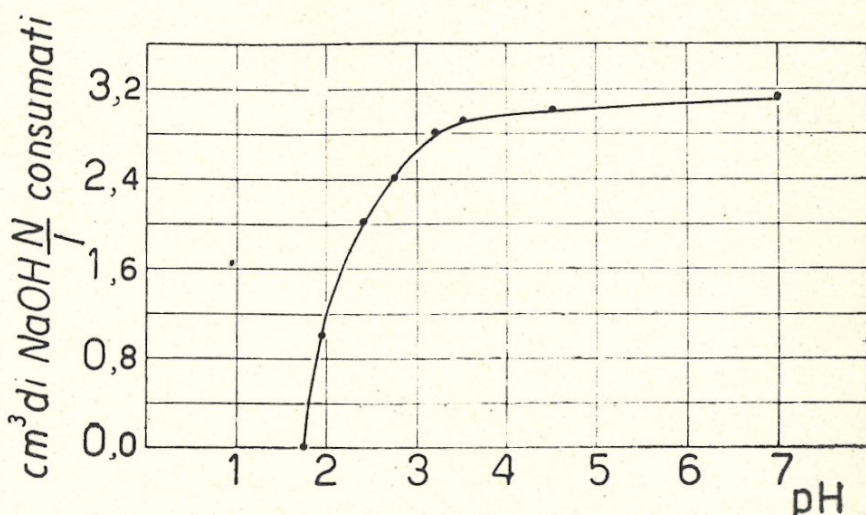


FIG. 2.

La determinazione del contenuto in anestesina ed in acido p.amminobenzoico è stata eseguita nel modo seguente:

la soluzione acquosa di 1,0 g di prodotto è stata leggermente alcalinizzata in modo da portarla ad un pH compreso fra 8 e 9 e quindi estratta con etere etilico. L'etere, lavato e asciugato con solfato sodico anidro, è stato raccolto in palloncino tarato e distillato. Il residuo era costituito di:

p.amminobenzoato di etile (p.f. $90-91^\circ$) trov. : g 0,0464;
 per $\text{C}_6\text{H}_6\text{O}_4\text{S.C}_9\text{H}_{11}\text{O}_2\text{N}$ calc. : 0,4864.

La soluzione acquosa è stata portata ad un pH compreso tra 4,5 e 5,0, di nuovo estratta con etere ed il residuo pesato come sopra. Si è trovato:

acido p.amminobenzoico (p.f. 187°) trov. : g 0,3808;
 per $\text{C}_6\text{H}_6\text{O}_4\text{S.C}_9\text{H}_{11}\text{O}_2\text{N}$ calc. : 0.

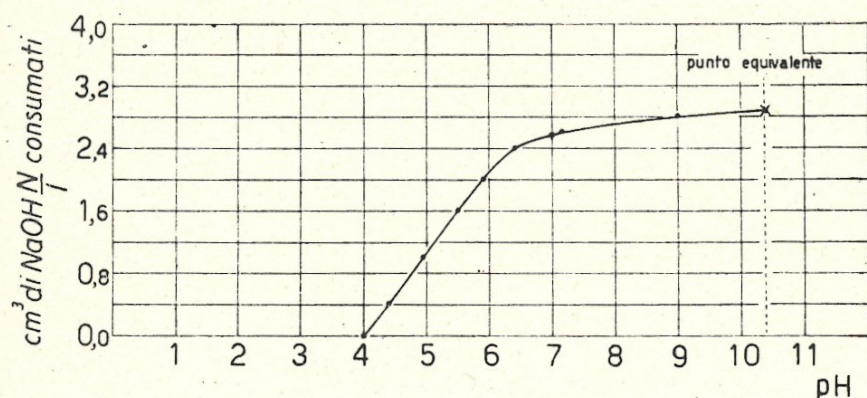


FIG. 3.

Da questi risultati è stato quindi calcolato che 100 parti di prodotto contengono 9,53 p. di subcutina e 89,05 p. di p.fenolsolfato dell'acido p.amminobenzoico, in ottimo accordo con i risultati della titolazione alcalimetrica, con tutte

le altre proprietà sopradescritte e con le determinazioni di azoto e solfo che hanno dato i seguenti valori:

per la miscela sopracitata: trov.: $N = 4,5$; $S = 10,9$;
 calc.: $4,49$ $10,06$;
 per $C_6H_6O_4S.C_9H_{11}O_2N$ calc.: $4,12$ $9,43$.

Ho poi eseguito una titolazione potenziometrica operando su una soluzione di g 1,0 di sostanza sciolti in cm^3 100 di acqua, nella quale ver-

savo, da una microbu-
 retta, una soluzione $\frac{N}{1}$
 d'idrato sodico. I va-
 lori del pH sono sta-
 ti determinati median-
 te il potenziometro di
 Hartmann e Braw ed
 una catena di elettro-
 di calomelano-idrogeno
 poichè con tali sostan-
 ze non si può fare
 uso dell'elettrodo a chi-
 nidrone.

Ho eseguito tale
 titolazione allo scopo
 di distinguere, con suf-

ficiente approssimazione, la quantità di soda consumata dal gruppo sol-
 fonico da quella consumata dal gruppo carbossilico.

I risultati ottenuti sono stati riassunti nel diagramma della fig. 1

e nella relativa tabella. Sulle ordinate sono ri-
 portate le quantità di
 idrato sodico $\frac{N}{1}$ aggiun-
 te, sulle ascisse i relativi
 valori del pH. Come si
 vede dall'osservazione di
 tale diagramma e della
 relativa tabella 1, il
 punto in cui tutto l'a-
 cido solfonico, più for-
 te, è stato neutraliz-
 zato e comincia la neu-

tralizzazione dal gruppo carbossilico resta compreso fra cm^3 3,0 e cm^3 3,2.

Ho seguito poi altre tre titolazioni potenziometriche: una (fig. 2)
 su di una soluzione contenente in cm^3 100 di acqua g 0,5470 di acido

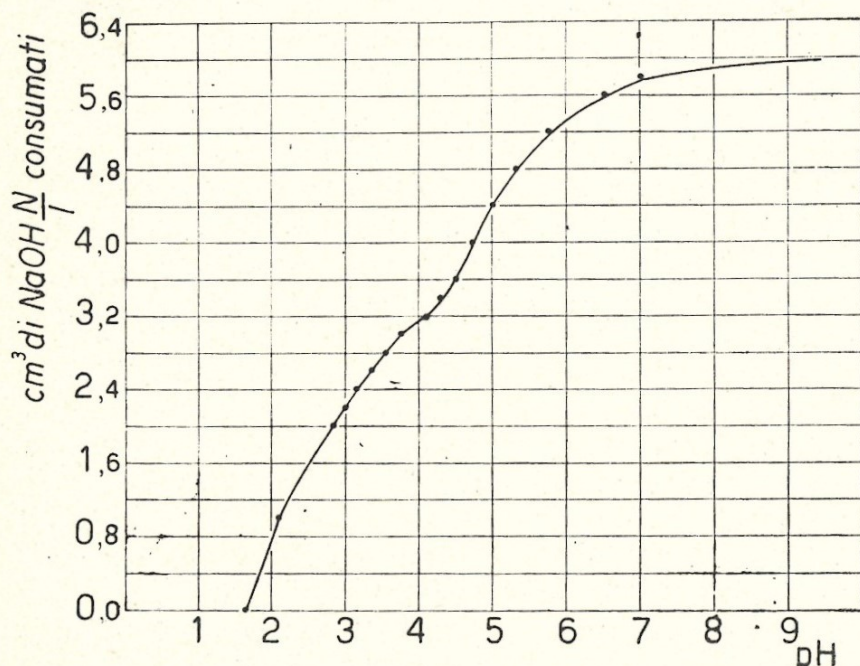


FIG. 4.

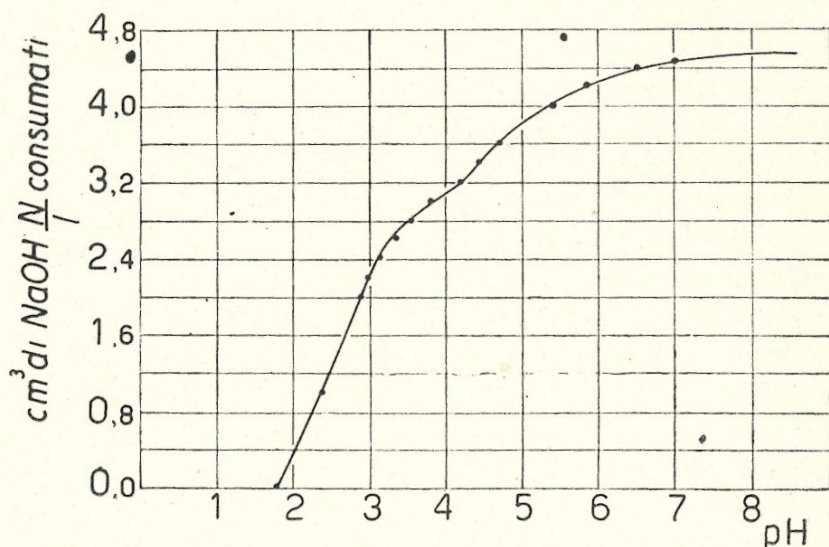


FIG. 5.

TABELLA I.

(riguardante la Fig. 1)

cm ³ Na OH a	pH	Δ pH
0	1,65	
1,0	2,20	
2,0	2,90	
2,2	3,00	
2,4	3,15	0,15
2,6	3,40	0,25
2,8	3,60	0,20
3,0	3,75	0,15
3,2	4,10	0,30
3,4	4,20	0,20
3,6	4,50	0,20
4,0	4,70	
4,4	5,00	
4,8	5,35	
5,2	5,30	
5,6	6,40	
5,8	7,00	

TABELLA II.

(riguardante la Fig. 4)

cm ³ Na OH a	pH	Δ pH
0	1,65	
1	2,10	
2	2,35	
2,2	3,00	
2,4	3,15	0,15
2,6	3,35	0,20
2,8	3,55	0,20
3,0	3,75	0,20
3,2	4,10	0,35
3,4	4,30	0,20
3,6	4,50	0,20
4,0	4,72	
4,4	5,00	
4,8	5,30	
5,2	5,75	
5,6	6,50	
5,8	7,00	

p.fenolsolfonico, che è la quantità complessiva di tale acido contenuta in g 1,0 di prodotto considerandolo costituito del 9,53 % di subcutina e dell'89 % del p.fenolsolfonato dell'acido p. amminobenzoico; una seconda fig. 3) su di

una soluzione contenente, in cm³ 100 di acqua, g 0,3822 di acido p. amminobenzoico che è pure la quantità contenuta in g 1,0 della stessa miscela in esame; ed una terza (fig. 4 e relativa tabella II) su di una soluzione contenente, sempre in cm³ 100 di acqua, g 1,0 di prodotto da me ricostituito in base alla composizione riscontrata per la stessa miscela.

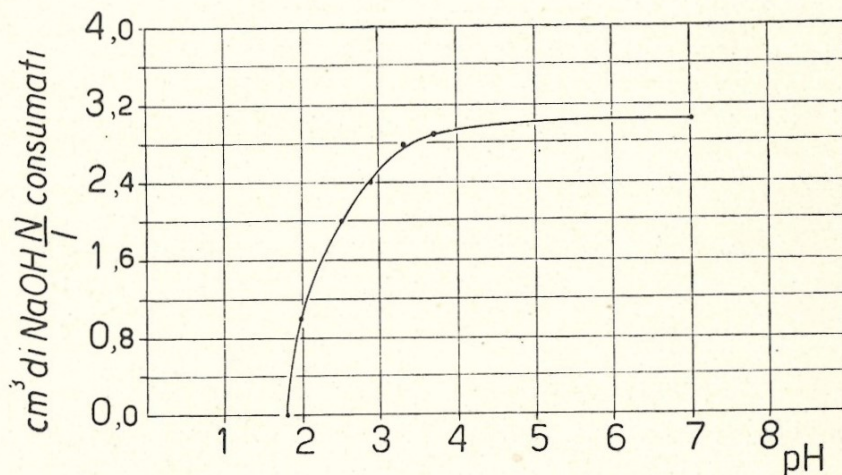


FIG. 6.

Come si vede le curve 1 e 4 si corrispondono perfettamente. La curva 2 mostra che g 0,5470 di acido p.fenolsolfonico richiedono per la neutralizzazione cm³ 3,12 ca. d'idrato sodico normale. Ed infatti dall'osservazione delle curve 1 e 4 e delle relative tabelle I e II il punto di neu-

tralizzazione potenziometrica dell'acido p.fenolsolfonico risulta compreso fra cm^3 3,0 e 3,2.

La curva 3 mostra che g 0,3922 di acido p.amminobenzoico richiedono per la neutralizzazione cm^3 2,6 di $\text{Na OH} \frac{N}{1}$, mentre il punto equivalente (cm^3 2,86) cioè quello corrispondente al p.amminobenzoato di sodio, si trova ad un pH di 10,40. Perciò teoricamente si sarebbero

cm^3 di $\text{NaOH} \frac{N}{1}$ consumati

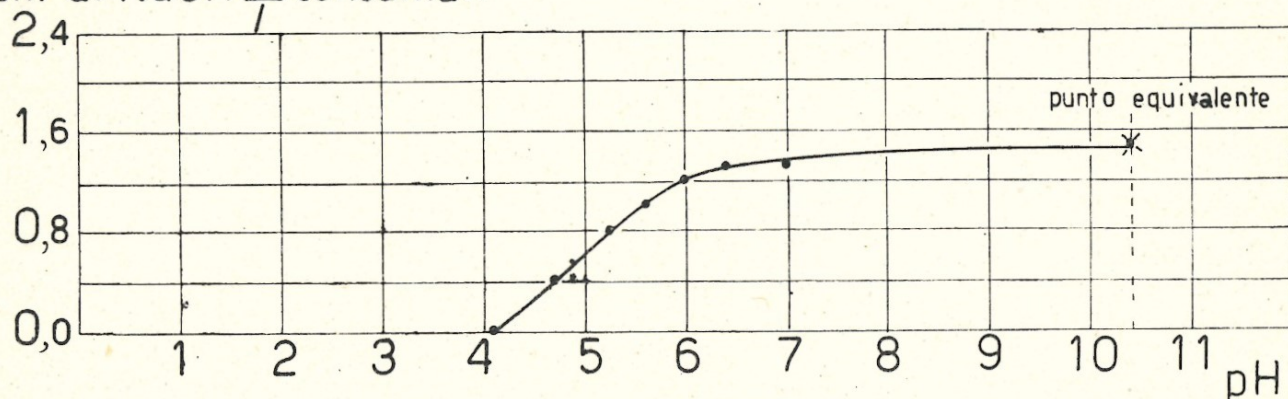


FIG. 7.

dovuti consumare per raggiungere un $\text{pH}=7$, per 1,0 g di prodotto, cm^3 5,72 d'idrato sodico normale, valore molto prossimo a quello sperimentale di 5,80 che risulta dal diagramma della fig. 1. La titolazione eseguita usando come indicatore la fenolftaleina, ha dato un valore (cm^3 6 ca.) leggermente superiore alla titolazione potenziometrica, ma perfettamente concordante quando si consideri l'eccesso di soda consumato per raggiungere il viraggio della fenolftaleina che avviene a pH 9,3 ca.

ESAME E CARATTERISTICHE DEL CAMPIONE « B » DI SUBCUTINA.

Ho ripetuto su di un campione di subcutina originale tutte le ricerche eseguite sul precedente campione di prodotto « A » ed ho ottenuto i seguenti risultati:

Fonde in parte a 197° , in parte a 220° decomponendosi; gli alcali precipitano l'anestesia dalle soluzioni acquose; dà, bene evidente dopo saponificazione, la reazione dell'alcole etilico. La titolazione eseguita in presenza di fenolftaleina su g 1,0 di prodotto ha dato il seguente risultato:

trov. : $\text{NaOH} \frac{N}{10}$ consumato cm^3 45,6;

per $\text{C}_6\text{H}_6\text{O}_4\text{S.C}_9\text{H}_{11}\text{O}_2\text{N}$ calc. : 29,5.

Dai risultati delle determinazioni quantitative di anestesia e di acido p.amminobenzoico si è calcolato la seguente composizione centesimale:

subcutina % : 55,00;
p.fenolsolfonato dell'acido p.amminobenzoico : 45,00.

E' stata eseguita la titolazione potenziometrica con le stesse modalità usate per il precedente campione. Come risulta dall'esame del diagramma della fig. 5 e della relativa tabella III, il punto di neutralizzazione dell'acido solfonico resta compreso, anche in questo caso, fra cm^3 3,0 e cm^3 3,2.

TABELLA III.

(riguardante la Fig. 5)

cm^3 Na OH a	pH	Δ pH
0	1,85	
1,0	2,40	
1,2	2,90	
2,2	3,05	
2,4	3,20	0,15
2,6	3,35	0,15
2,8	3,50	0,15
3,0	3,70	0,20
3,2	4,10	0,40
3,4	4,30	0,20
3,6	4,55	0,25
4,0	5,20	
4,2	5,75	
4,4	6,40	
4,48	7,00	

TABELLA IV.

(riguardante la Fig. 8)

cm^3 Na OH a	pH	Δ pH
0	1,80	
1,0	2,40	
2,0	4,90	
2,2	3,00	
2,4	3,15	0,15
2,6	3,35	0,20
2,8	3,55	0,20
3,0	3,80	0,25
3,2	4,20	0,40
3,4	4,45	0,25
3,6	4,70	0,25
4,0	5,40	
4,2	5,85	
4,4	6,5	
4,46	7,0	

Ho eseguito anche le altre tre titolazioni potenziometriche seguendo gli stessi criteri già usati per il precedente campione: una prima (fig. 6) su di una soluzione

contenente in cm^3 100 d'acqua, g 0,5344 di acido p.fenolsolfonico che è la quantità complessiva di tale acido contenuta in gr 1,0 di prodotto considerando costituito del 55 % di subcutina e del 45 % di p.fenolsolfonato dell'acido p. amminobenzoico; una seconda (fig. 7) su

di una soluzione contenente in cm^3 100 di acqua, g 0,1982 di acido p.amminobenzoico che è la quantità contenuta in g 1,0 di detta miscela ed una terza (fig. 8 e relativa tabella IV) su di una soluzione contenente, sempre in cm^3 100 di acqua, g 1,0 di prodotto da me ricosti-

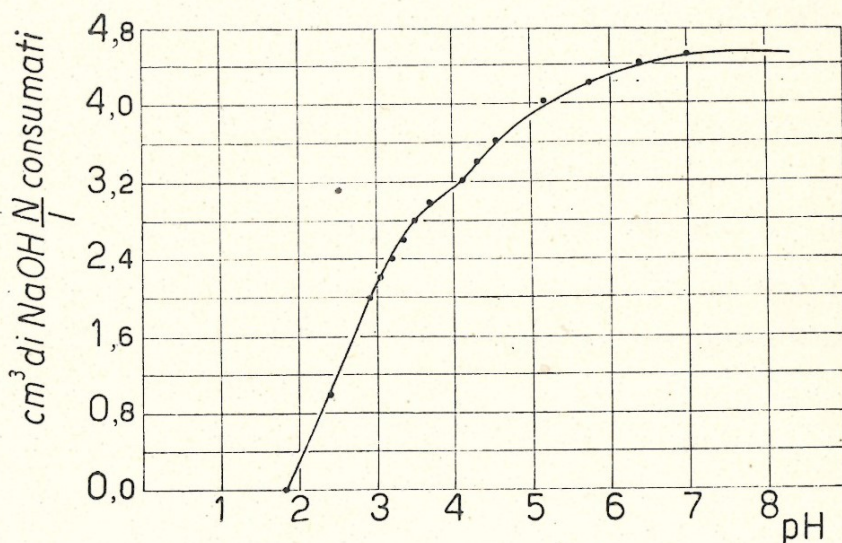


FIG. 8.

tuito col 55 % di subcutina pura ed il 45 % di p.fenolsolfonato dell'acido p.amminobenzoico.

Senza dilungarmi nel ripetere cose già dette, è facile rilevare come i risultati ottenuti sono in buon'accordo fra loro, e con la composizione che è stata assegnata a questo secondo prodotto esaminato.

RIASSUNTO

Si è trovato che alcuni campioni di subcutina acquistati dal commercio non sono costituiti esclusivamente di p.fenolsolfonato di p.amminobenzoato di etile, ma di una miscela di tale prodotto e di p.fenolsolfonato dell'acido p.amminobenzoico. Quest'ultimo componente, che non ha azione anestetica, si forma, molto probabilmente, durante la preparazione della subcutina se appena variano le condizioni opportune, giacchè l'acido fenolsolfonico saponifica con facilità il p.amminobenzoato di etile. Un campione conteneva solo il 9,53 % di p.fenolsolfonato di p.amminobenzoato di etile, un altro ne conteneva il 55 %. Il resto dei due campioni, e precisamente, l'89 % circa e il 45 % era costituito di p.amminobenzoato dell'acido p.amminobenzoico.

Si descrivono i saggi per un controllo della purezza della subcutina, fra cui particolarmente consigliabile è, in ogni caso, quello del tenore in anestesina.

Sono anche state stabilite le condizioni per preparare soluzioni di subcutina a pH non inferiore a 5.

SUMMARIUM

Illud plane perspectum est, nonnulla exempla subcutinae apud vendentes empta non unice constare p. phoenolsulphonato amminobenzoati aethylici, verum huius medicamenti miscela quadam cum p. phoenolsulphonato acidi amminobenzoici: verisimillimum autem est, hoc phoenolsulphonatum tunc gigni cum subcutina comparatur, acido enim phoenolsulphonico p. amminobenozatum aetylis facile saponificatur.

Tum probationes describuntur quae faciendae sunt ad explorandam subcutinae puritatem quarum praeter ceteras ea maxime commendatur, quae ad anaesthesinae pertinet tenorem seu rationem.

Denique condiciones statuuntur, quibus observatis solutiones conficiantur subcutinae, quarum pH infra 5 non descendat.

Roma. — Istituto Superiore di Sanità - Laborat. di Chimica.