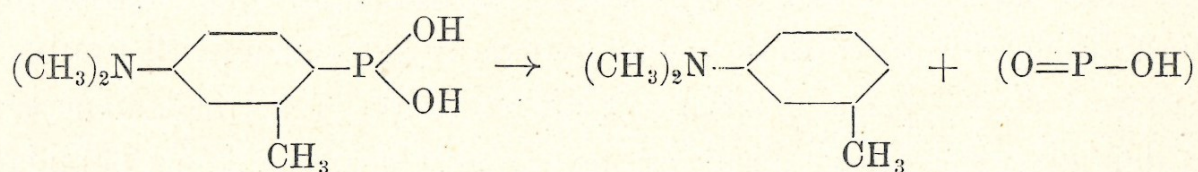


5. Olga MARELLI. — Le soluzioni iniettabili del 2-metil-4-di-metilammino-fenilfosfinito monosodico.

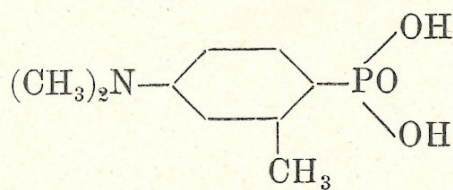
A motivo delle spiccate proprietà ricostituenti e neurotoniche, le preparazioni del 2-metil-4-dimetilammino-fenilfosfinito monosodico, che per brevità indicheremo in questa Nota col nome abbreviato di « fosfinito », hanno assunto una grande diffusione. Di questa combinazione mancano in letteratura reazioni specifiche che permettano il sicuro riconoscimento nelle preparazioni farmaceutiche dove si trova di solito in piccole quantità (la dose terapeutica è di 1-2 cg); come pure mancano saggi capaci di mettere in rilievo le sue alterazioni.

Il fosfinito difatti è stabile allo stato cristallino, ma lo è assai meno in soluzioni acquose. Per stabilire il valore terapeutico delle preparazioni iniettabili è necessario, perciò, non solo riconoscerne la presenza ma anche cercare se esso ha subito una alterazione ed in quale misura.

Ho trovato che l'alterazione che il fosfinito subisce in soluzione acida non è rappresentabile con una equazione semplice: solo una parte della sostanza, circa una metà, più o meno a seconda delle condizioni, si trasforma secondo l'equazione seguente:



mentre la restante subisce una dismutazione, cioè un processo di ossidazione e riduzione contemporanee (al quale si può aggiungere un eventuale processo di ossidazione da parte dell'ossigeno dell'aria) con formazione probabile di un acido fosfonico, forse della seguente composizione:



Viene a mancare perciò un sicuro criterio quantitativo per giudicare le alterazioni delle soluzioni di fosfinito mentre rimane un criterio

qualitativo che qualche volta può costituire anche una base per un giudizio approssimativo sull'entità dell'alterazione.

Costante però rimane la formazione della N-dimetil-m-toluidina sotto l'azione degli acidi e l'identificazione di questa, unita al risultato di qualche altra ricerca, costituisce un saggio specifico per il riconoscimento del fosfinito. Caratteristico e facile ad ottenere è il picrato della N-dimetil-m-toluidina che fonde a 130° - 131° , e la cui forma cristallina è riportata in figura.

Si giudica invece l'eventuale alterazione che il fosfinito ha subito dalla quantità di frazione basica che si può estrarre dalla soluzione acquosa alcalinizzata. Nel caso che il fosfinito faccia parte di una preparazione contenente altre sostanze basiche egualmente estraibili con etere — il che in pratica si incontra di rado — il giudizio sulla alterazione è meno facile e deve basarsi su altri indizi: concentrazione idrogenionica, odore, colore, limpidezza, ecc.

In rapporto alla limitata stabilità delle soluzioni di fosfinito stanno i problemi della sterilizzazione e successiva conservazione.

La reazione che è necessario impartire alla soluzione per poterla sterilizzare col calore — mezz'ora a vapore fluente — senza alterarla, non deve essere inferiore a pH 9: un'alcalinità superiore, prossima a pH 11-12, non nuoce anzi stabilizza maggiormente la soluzione. Ma evidentemente un'alcalinità così forte deve essere evitata nella soluzione definitiva da iniettare e d'altra parte abbassare l'alcalinità dopo la sterilizzazione e prima dell'infialettamento complica notevolmente la preparazione obbligando a lavorare in asepsi.

Dopo alcune prove, che non hanno dato risultato soddisfacente, eseguite con soluzioni di borato a pH 8 circa, nelle quali si è cercato di raggiungere lo scopo di tenere il pH più basso possibile e di ottenere soluzioni isotoniche col sangue, ho pensato di ricorrere al bicarbonato. Questo avrebbe dovuto presentare, a priori, notevoli vantaggi: 1) è un componente normale del sangue ed iniettato a piccole dosi non produce alcuna azione dannosa; 2) realizza un pH di circa 8, molto adatto per soluzioni iniettabili e facilmente aumentabile per aggiunta di quantità molto piccole di carbonato; 3) ha una grande azione tamponante rispetto agli acidi ed una leggera azione tamponante rispetto alle basi; 4) durante la sterilizzazione una parte dell'anidride carbonica si libera con formazione di

una quantità corrispondente di carbonato ciò che produce un notevole aumento del pH proprio durante la sterilizzazione, quando cioè, per l'elevata temperatura è più necessaria una maggiore alcalinità per impedire l'alterazione del fosfinito.

Questo è evidentemente il vantaggio preminente: basta che solo $\frac{1}{10}$ del bicarbonato si trasformi in carbonato nelle condizioni di sterilizzazione delle fiale, cioè temperatura di 100° in ambiente chiuso, perchè l'alcalinità della soluzione raggiunga quella corrispondente a pH 11,0-11,5 (considerata la soluzione a temperatura ordinaria agli effetti del pH): si realizza cioè la migliore delle condizioni per sterilizzare le fiale senza alterare il prodotto. Quando poi la soluzione ritorna a temperatura ordinaria, l'anidride carbonica viene totalmente, o quasi, riassorbita dal carbonato ed il pH ritorna automaticamente al valore prossimo a quello iniziale di 8,0-8,5.

Le esperienze hanno dimostrato che effettivamente lo scopo viene pienamente raggiunto con quelle quantità di bicarbonato che rendono isotoniche le soluzioni di fosfinito delle usuali concentrazioni dell' $1 \div 2$ %.

PARTE SPERIMENTALE

1) Ad un volume di soluzione contenente circa g 0,10 di fosfinito si uniscono 10 cm^3 di una soluzione acquosa di acido picrico all'1 %; si evapora a piccolo volume su bagno maria bollente. Si lascia raffreddare, si raccoglie per piccolo filtro il deposito che si è formato, lo si lava con poca acqua fredda e lo si cristallizza da poca acqua bollente. Si ottengono aghetti esili, lunghi, che fondono a 128° e che ricristallizzati nello stesso modo da poca acqua fondono a 130° - 131° .

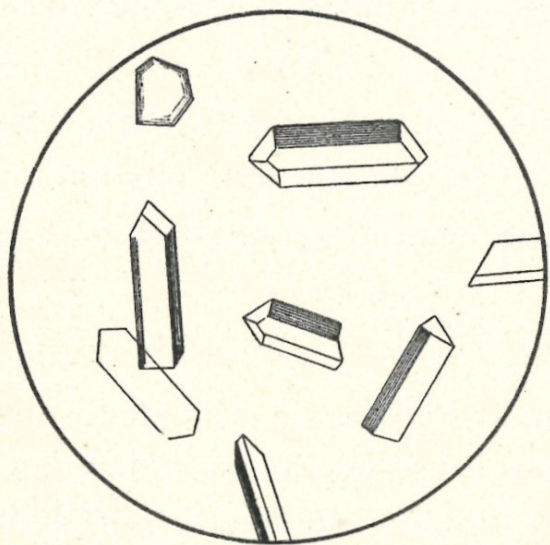
Si distinguono nettamente dai cristalli di acido picrico per il loro colore giallo più intenso, per la forma cristallina (v. fig.), per la minore solubilità in acqua, ed alla prova di fusione: danno un liquido colore arancione mentre l'acido picrico fonde a 122° in un liquido giallo chiaro.

Che il picrato ottenuto non sia senz'altro il picrato della base fosforata corrispondente al fosfinito, lo si rileva già dal fatto che una soluzione concentrata del fosfinito non precipita con una soluzione concentrata di acido picrico; ma lo conferma l'analisi del picrato: non contiene fosforo ed in esso un peso molecolare di acido picrico è combinato con una base di peso equivalente 135.

Difatti a g 0,0495 del picrato sciolti in acqua calda si aggiungono 3 cm^3 di soluzione $\frac{N}{10}$ di idrato sodico, si porta la soluzione al volume

di 50 cm³ e si filtra. Cm³ 34 di acido picrico 0,040 N vengono portati al volume di cm³ 100, dalla soluzione si prelevano cm³ 10, si uniscono a 3 cm³ di idrato sodico $\frac{N}{10}$ e si porta la miscela al volume di 50 cm³. Confrontate al fotometro di Pulfrich le due soluzioni mostrano un'identica concentrazione in picrato sodico. G 0,0495 di picrato contengono perciò la quantità di acido picrico corrispondente a cm³ 3,4 di soluzione 0,040 N, cioè g 0,0312, e g 0,0495 — 0,0312 = 0,0183 di base; da cui si ricava il peso equivalente di $\frac{0,0183}{0,0312} \times 229 = 134$, valore assai prossimo al peso molecolare della N-dimetil-m-toluidina che è 135.

Del resto il picrato di questa base, che non è descritto in letteratura, preparato direttamente dalla N-dimetil-m-toluidina presenta lo stesso punto di fusione ed alla prova di miscela non dà alcuna depressione.



Anche il cloridrato, preparato attraverso il picrato ottenuto per decomposizione del fosfinito o direttamente dal fosfinito come verrà detto più avanti, fonde a 151° come quello della N-dimetil-m-toluidina riportato in letteratura e contiene la percentuale di acido cloridrico che si calcola per questo.

2) 2 g di fosfinito vengono uniti ad 1 cm³ di acqua e ad 1 cm³ di acido cloridrico concentrato ed eva-

porati a secco su bagno maria. Il residuo viene ripreso con potassa alcolica diluita, la soluzione alcolica viene filtrata e dopo essere stata acidificata con acido cloridrico concentrato, evaporata di nuovo a secco su bagno maria. Il residuo viene ripreso con alcole assoluto caldo, filtrato ed evaporato: si ottengono g 0,4862 di un residuo cristallino che fonde verso 150°.

G 0,2140 di fosfinito vengono sciolti in acqua acida per acido cloridrico e la soluzione tenuta a bagno maria bollente per mezz'ora; dopo alcalinizzazione con carbonato sodico ed estrazione con etere si ottiene un residuo eterico di g 0,057.

G 0,2232 di fosfinito vengono sciolti in acqua; alla soluzione si aggiunge un eccesso di acido picrico e si porta a piccolo volume su bagno maria bollente; dopo alcalinizzazione, estrazione con etere, lavaggio di questo con idrato sodico ed evaporazione della soluzione eterica, si ottiene un residuo di g 0,0728.

I residui ottenuti in queste tre prove sono rispettivamente il 36,4, il 50,7 ed il 62,1 % della quantità teorica corrispondente alla trasformazione rappresentata dall'equazione segnata al principio di questa Nota.

Il metodo che permette di giudicare l'alterazione di una soluzione di fosfinito è il seguente:

Una quantità di soluzione contenente circa g 0,2 di fosfinito si alcalinizza con carbonato sodico e si estrae più volte con etere; si lava l'etere una volta con acqua, lo si essicca su solfato di sodio, e lo si concentra fino a secco su bagno maria in palloncino pesato che poi si asciuga in stufa a 100° per mezz'ora. Si ripete la stessa operazione su una soluzione acquosa di fosfinito appena preparata operando nelle stesse condizioni: questa dovrebbe dare un residuo non superiore a g 0,002. Un residuo maggiore ottenuto nell'altra prova costituisce il criterio cercato per giudicare dell'alterazione.

Questo saggio eseguito su 13 cm³ di una soluzione di fosfinito all'1,5 % preparata, infialettata e sterilizzata parecchi mesi prima, ha dato un residuo di g 0,0100. Ciò ha confermato una netta alterazione della preparazione che del resto era già rilevabile dal colore rossastro delle medesima e da un leggero velo di sostanza resinosa depositata sulle pareti delle fiale.

4) Non vengono qui riportate le prove di sterilizzazione eseguite alcalinizzando la soluzione del fosfinito con idrato sodico e quelle eseguite con soluzioni di borato che realizzavano un pH di circa 8. Mentre le prime hanno confermato la stabilità del fosfinito in soluzione fortemente alcalina, quelle eseguite con l'aggiunta di una opportuna miscela di borato ed acido cloridrico, in quantità così piccola, sufficiente per raggiungere il pH di circa 8 ma tale da rendere la soluzione isotonica rispetto ad una soluzione al 0,9 % di cloruro sodico, hanno mostrato che durante la sterilizzazione il pH della soluzione si abbassa notevolmente e conduce, o durante la sterilizzazione o durante la successiva conservazione, ad una soluzione più o meno leggermente alterata.

Per precisare quanto è stato detto nella parte introduttiva, posso affermare però che queste ultime soluzioni, benchè leggermente alterate, alla prova clinica non hanno dimostrato tossicità apprezzabile ed hanno dato risultato terapeutico evidentemente buono.

La diminuzione del pH e la conseguente alterazione spiegano facilmente che il pH iniziale prossimo ad 8 non è sufficiente per stabilizzare la soluzione a caldo. Gli acidi inorganici ed organici fosforati che si formano così durante la sterilizzazione abbassano notevolmente il pH a valori in corrispondenza dei quali l'alterazione procede più rapida. L'os-

sigeno dell'aria contenuto nella fiala contribuisce a rendere più profonda e visibile l'alterazione.

5) G 0,2 di fosfinito vengono sciolti in cm^3 20 di acqua insieme a g 0,17 di bicarbonato e la soluzione viene tenuta in disparte come prova in bianco.

Una soluzione fatta come sopra, il cui pH misura 8,3 circa, viene chiusa alla fiamma in provettone e tenuta a bagno maria bollente (98°) per un'ora e mezza; aperta dopo completo raffreddamento si misura il pH che risulta uguale a quello iniziale.

In un'altra prova dove si aggiungono, oltre al bicarbonato, due gocce di soluzione $\frac{N}{1}$ di carbonato sodico il pH iniziale misura 8,6 circa; sterilizzata come sopra a bagno maria bollente per un'ora e mezza ed aperta dopo raffreddamento si riscontra che il pH rimane invariato sul valore di 8,6.

Il liquido di un'ultima prova eseguita come sopra ma con l'aggiunta di una goccia di acido cloridrico diluito (20 %) misura prima della sterilizzazione pH 7,7 e dopo pH 7,9 circa.

Tutte queste soluzioni, alcalinizzate con carbonato sodico ed estratte con etere etilico, danno residui eteri appena visibili e comunque sempre inferiori a 2 mg senza che si possa riscontrare una netta differenza tra la prova in bianco e le altre; nessun indizio di alterazione è possibile rilevare dal colore, odore e limpidezza delle soluzioni stesse.

RIASSUNTO

Fondato sull'identificazione del picrato della N-dimetil-m-toluidina che si forma nella decomposizione del 2-metil-4-dimetilammino-fenil-fosfinito monosodico (Tonofosfan), si dà un metodo di riconoscimento specifico per questo prodotto di importanza farmaceutica. Viene descritto un saggio che permette di riconoscere l'eventuale alterazione delle soluzioni iniettabili di questa sostanza e un metodo di preparazione e sterilizzazione delle stesse soluzioni fondato sull'aggiunta di piccole quantità di bicarbonato.

SUMMARIUM

Methodus quaedam peculiaris proponitur, eademque innixa agnitione picrati N.-dimethyl-m-toluidinae, quod gignitur e 2-methyl-4-dimethyl-ammino-phosphinito-monosodici dissolutione; qua methodo adhibita medicamentum illud plane exploratur.

Experimentum insuper describitur, cuius ope pronum est agnoscere an huius medicamenti solutiones iniectionabiles sint forte inmutatae atque corruptae. Postremo ratio ac via nunc primum profertur, qua solutiones illae confici et immunes reddi possint exigui bicarbonati additis numeris.

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