

15. Maria MAROTTA. — Il parallelismo tra l'azione curarica di alcuni prodotti di sintesi e l'antagonismo con gli effetti dell'acetilcolina.

Sommario. — Il paragone degli alcaloidi puri e dei curari di sintesi appartenenti a differenti serie chimiche permette in modo generale di constatare un parallelismo fra la loro azione curarizzante e l'antagonismo che esercitano con gli effetti contratturanti dell'acetilcolina sulla rana.

Résumé. — La comparaison des alcaloïdes purs et des curares de synthèse appartenant à différentes séries chimiques permet d'une manière générale de constater un parallélisme entre leur action curarisante et l'antagonisme qu'ils exercent vis-à-vis des effets contracturants de l'acetylcholine sur la grenouille.

Summary. — The comparison of pure alkaloids and synthetic curares belonging to different chemical series permitting in a general manner the consideration of a parallelism between their curarising action and the antagonism which they exercise against the contractions caused by acetylcholine on the muscle of the frog.

Zusammenfassung. — Der Vergleich der reinen Alkaloide und der synthetischen Curare, die verschiedenen chemischen Serien angehören, erlaubt allgemein, eine Parallelität zwischen der Curarewirkung und dem Antagonismus, der durch sie auf die kontrahierenden Effekte des Acetylcholins beim Frosch ausgeübt wird, festzustellen.

E' noto da tempo che il muscolo striato sotto l'influenza dell'acetilcolina si contrae. Per la prima volta ciò fu messo in evidenza da Riesser (1922) ⁽¹⁾ che operò sul muscolo gastrocnemio di rana. Lo stesso anno Frank, Northmann, Hirsch-Kaufmann ⁽²⁾ e poi Dale e Gasser ⁽³⁾ studiarono l'azione dell'acetilcolina anche sul muscolo di mammifero. Lo stesso Riesser con ulteriori esperienze trovò anche il fattore che si opponeva alla contrazione acetilcolinica. Iniettando infatti piccole dosi di un qualsiasi curaro sotto la pelle della rana, dall'aspetto rilasciato ed inerte che assumeva, osservò come esso si opponeva alla contrazione prodotta dall'acetilcolina e ne desensibilizzava il muscolo. Da allora, quindi, il curaro fu considerato come l'antagonista dell'acetilcolina. Gli stessi esperimenti furono poi eseguiti con curari più puri e non più costituiti da

⁽¹⁾ O. RIESSER, Arch. exp. Path., 91, 342 (1921).

⁽²⁾ E. FRANK, M. NOTHMANN, H. HIRSCH-KAUFFMANN, Arch. Ges. Physiol., 197, 270 (1922).

⁽³⁾ H. H. DALE e H. S. GASSER, J. Pharmacol., 29, 53 (1926).

un miscuglio di vari alcaloidi. I risultati nei confronti dell'acetilcolina furono gli stessi.

Alcuni fra i più attivi curari come la d-tubocurarina, la diidro- β -eritroidina e il 2559 F. ⁽⁴⁾, avendo una forte azione curarizzante, hanno dimostrato un antagonismo con l'azione contratturante dell'acetilcolina. In particolare è stata studiata l'azione sull'acetilcolina del 2559 F., curaro di sintesi, che è riferita in un'altra nota ⁽⁵⁾. R. Wien ⁽⁶⁾ (1948) ha voluto confrontare la d-tubocurarina e il 2559 F. Con la preparazione del muscolo retto addominale di rana, dopo aver fatto eseguire al muscolo una contrazione con l'aggiunta alla soluzione di 0,01 mg/l di acetilcolina, ha constatato che la d-tubocurarina è più attiva del 2559 F.

Ma se finora è stato considerato solo l'antagonismo tra il curaro e l'acetilcolina, nello studio del potere di azione dei curari di sintesi, noi abbiamo voluto considerare il parallelismo tra l'attività curarica dei vari prodotti e quello antagonista dell'acetilcolina. Infatti se l'azione del curaro è legata al blocco dei ricettori dei muscoli striati su cui agisce l'acetilcolina, in una serie chimica di diversi prodotti dotati di diverso potere curarizzante, l'ordine di attività dei vari composti deve essere dello stesso ordine di attività degli stessi composti verso l'acetilcolina.

In questa nota preliminare riferiamo i risultati ottenuti con alcune nuove serie chimiche di curari sintetizzati in questo laboratorio, con due preparazioni differenti. la preparazione neuro-muscolare dello sciatico gastrocnemio e la contrazione del muscolo retto addominale di rana.

TECNICA

Per la preparazione neuro-muscolare è stato isolato tutto un arto posteriore della rana, a cui è stata tolta la pelle e messo in evidenza il nervo sciatico. La preparazione è stata immersa in un bagno di Ringer di 50 cm³ nel quale sono stati sciolti i vari curari in modo che la concentrazione fosse dell'1/1000. Le quantità di curaro usate sono state sempre le stesse per potere distinguere l'effetto curarizzante dal diverso tempo necessario per ottenere la curarizzazione. Coll'eccitazione del nervo per mezzo dell'induttore a slitta di Du Boys-Reymond, è stato osservato il tempo necessario per la scomparsa dell'eccitabilità indiretta, cioè della trasmissione del nervo al muscolo dell'influsso nervoso. Per la prepara-

(4) Questo prodotto la cui azione curarica è stata descritta da D. Bovet, F. Depierre e Y. De Lestrangé, C. R. Ac. Sc., 225, 74 (1947), è il triiodoetilato di tri-(β -dietilamminoetossi)1,2,3 benzene, ugualmente conosciuto sotto il nome di 3967 R. P., TEP, Flaxedil e Sincurarina.

(5) S. GUARINO e D. BOVET, questi Rendiconti.

(6) R. WIEN, Arch. Intern. Pharmacodyn., 77, 96 (1948).

zione del muscolo retto addominale, il muscolo è stato sospeso a una leva isotonica e immerso in una soluzione di Ringer. Il bagno è stato di 100 cm³. Le prove sono state eseguite ogni 30 minuti. Dopo almeno due contrazioni con la sola acetilcolina, si sono aggiunte 5 minuti prima delle contrazioni le varie quantità dei curari. In un chimografo si sono registrate le curve di contrattura del muscolo. Le percentuali sono state calcolate riferendosi all'altezza raggiunta dal muscolo con la sola acetilcolina a cui si è dato il valore di 100.

PARTE SPERIMENTALE

Mediante queste due preparazioni si è osservato che l'azione curarizzante e l'antagonismo di diverse sostanze sulla contrattura acetilcolinica seguono lo stesso ordine. I risultati ottenuti sono stati differenti seguendo le serie chimiche alle quali ci siamo indirizzati. Il primo problema che ci siamo posto è stato quello di paragonare fra loro le proprietà dei curari sia naturali che sintetici più attivi, scegliendo i prodotti appartenenti a serie chimiche molto diverse. Riprendendo in esame la d-tubocurarina, la diidro- β -eritroidina, il TEP, 2559 F. (triidoetilato di tri-

TABELLA I.

	Preparazione retto addominale	Preparazione sciat. gastrocnemio	Curarizzazione in vivo
	PA ₂ ⁽¹⁾	Tempo di curarizzazione ⁽²⁾	Mg/Kg
Diidro- β -eritroidina	0,07 mg/1	29 min.	1,5 mg/kg
d-Tubocurarina	0,18 mg/1	31 min.	5 mg/kg
2559 F.	1,9 mg/kg	38 min.	8 mg/kg
C ₄₀	(contrae)	40 min.	6 mg/kg

⁽¹⁾ Quantità necessaria a rendere l'effetto di 0,8 mg/1 di acetilcolina equivalente a quello di 0,4 ml/1.

⁽²⁾ Risultati ottenuti con la concentrazione dell'1/1000.

- β -dietilamminoetossi)-1,2,3-benzene), si è potuto constatare che le due azioni variano con lo stesso ordine; come era già stato osservato da R. Wien la d-tubocurarina è risultata più attiva del 2559 F. Con le due preparazioni la diidro- β -eritroidina è nettamente più attiva degli altri due prodotti (tab. 1); da questo punto di vista i risultati sulla rana sono differenti da quelli che si osservano sul coniglio e sul cane. Queste ricerche, tuttavia, pur essendo molto interessanti, non si possono estendere a tutti i curari. Avendo per esempio preso in esame lo ioduro di decametilene- ω -bitrimetilammonio, la cui azione è stata descritta da Ing e

Barlow, Paton e Zaimis ⁽⁷⁾ abbiamo osservato che mentre esso curarizza normalmente la rana, ha invece un'azione contratturante sul muscolo retto addominale (fig. 1).

1. - In una seconda serie di esperienze abbiamo pensato di paragonare tra loro gli effetti, tanto sulla conduzione neuro-muscolare che sull'an-

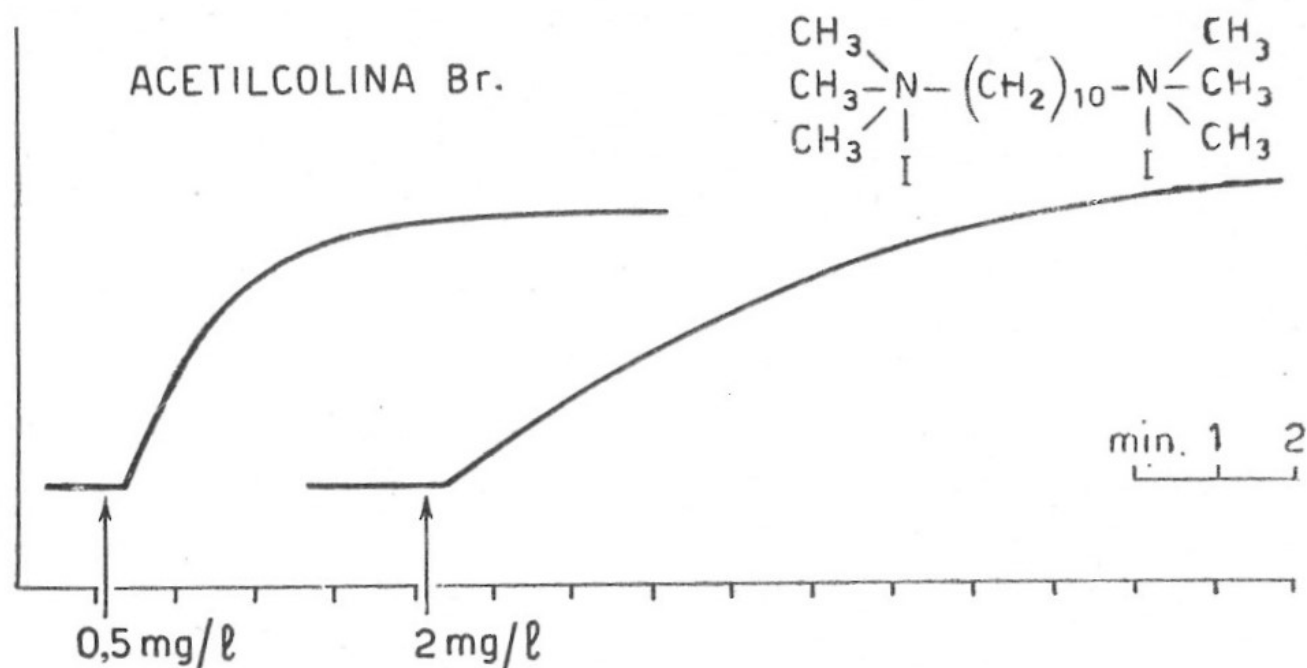


FIGURA 1.

Azione contratturante del prodotto curarizzante C_{10} sul muscolo retto addominale della rana. Confronto con l'acetilcolina.

tagonismo che esercitano con l'acetilcolina, di alcuni derivati fenolici vicini al 2559 F., i cui effetti curarizzanti sono stati ugualmente descritti da Bovet e Depierre. I prodotti paragonati sono stati lo iodoetilato di β -dietilamminoetossi benzene, il diiodoetilato di 1,4-bis-(β -dietilamminoetossi)-benzene e il triiodoetilato di tri-(β -dietilamminoetossi)-1,2,3-benzene (2559 F.); da questi esperimenti il 2559 F. è risultato più attivo degli altri due prodotti (fig. 2). Contrariamente a quello che si osserva nei mammiferi il dietere dell'idrochinone è in questo caso meno attivo dell'etere del fenolo. La stessa anomalia si riscontra quando si osservano gli effetti antagonisti di questi due composti con l'acetilcolina sul muscolo retto.

II. - Prendendo in esame gli esteri dell'idrato di trietiletanolammonio, se si confronta lo iodoetilato di carbossi- β -dietilamminoetilbenzene con il diiodo etilato di 1,4-di[carbossi- β -dietilamminoetil]benzene e con il triiodoetilato di 1,2,3-tri[carbossi- β -dietilamminoetil]benzene, si osserva che l'ordine di azione è lo stesso per le rane e per i conigli.

(7) H. R. ING, R. B. BARLOW, W. D. M. PATON, E. J. ZAIMIS, Nature, 16, 718 (1948).

Con gli esperimenti sulle rane, mediante le due preparazioni, tenendo conto del tempo che occorre perchè il muscolo eccitato indirettamente non si contragga più e dell'inibizione % dell'acetilcolina da parte di questi prodotti, si osserva che l'azione con l'acetilcolina segue la stessa legge dell'azione curarica come è dimostrato dal seguente schema (fig. 3).

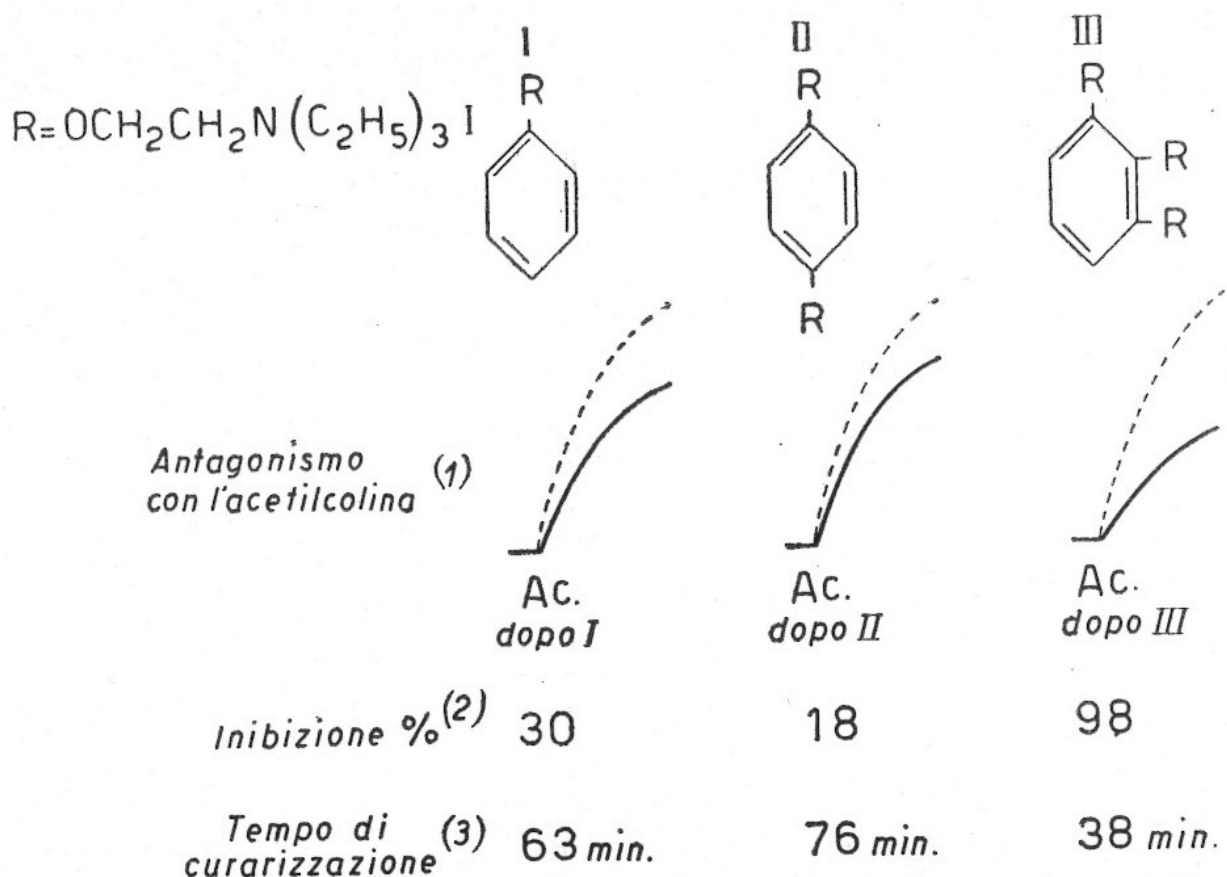


FIG. 2. - Azione curarizzante e antagonismo nei riguardi dell'acetilcolina di diversi prodotti appartenenti alla serie degli eteri fenolici

(1) Preparazione del muscolo retto addominale. Le linee tratteggiate rappresentano le contrazioni eseguite dalla sola acetilcolina. Le linee intere le contrazioni ottenute con la stessa quantità di acetilcolina più il curaro. La dose di acetilcolina impiegata è stata di 0,5 mg/l; la dose di curaro di 2 mg/l.

(2) I numeri indicano le percentuali ottenute misurando l'altezza della curva ottenuta con l'aggiunta del curaro e riferendola alla contrazione con l'acetilcolina a cui si è dato il valore di 100.

(3) Preparazione neuro muscolare. I minuti indicano il tempo occorrente perchè il nervo sciatico stimolato elettricamente non faccia più contrarre il muscolo gastrocnemio. Nel bagno di Ringer è stata sciolta la dose di curaro alla concentrazione di 1/1000.

Poichè nell'azione curarizzante ha molta importanza la natura del radicale unito all'azoto quaternario, di queste due serie di prodotti si sono presi in considerazione solo quelli aventi il radicale etilico; quelli con il radicale metilico, infatti hanno dimostrato di avere azione contratturante.

III. - Nella serie degli esteri alifatici sulla preparazione neuro-muscolare il bisiodoetilato dell'ossalato di β -dietilamminoetile (I) è poco curarizzante; l'azione è massima per il succinato (bisiodoetilato del succinato di β -dietilamminoetile) (II), che provoca alla concentrazione di 1/1000 una paralisi completa in 36 minuti, e diminuisce poi regolarmente negli

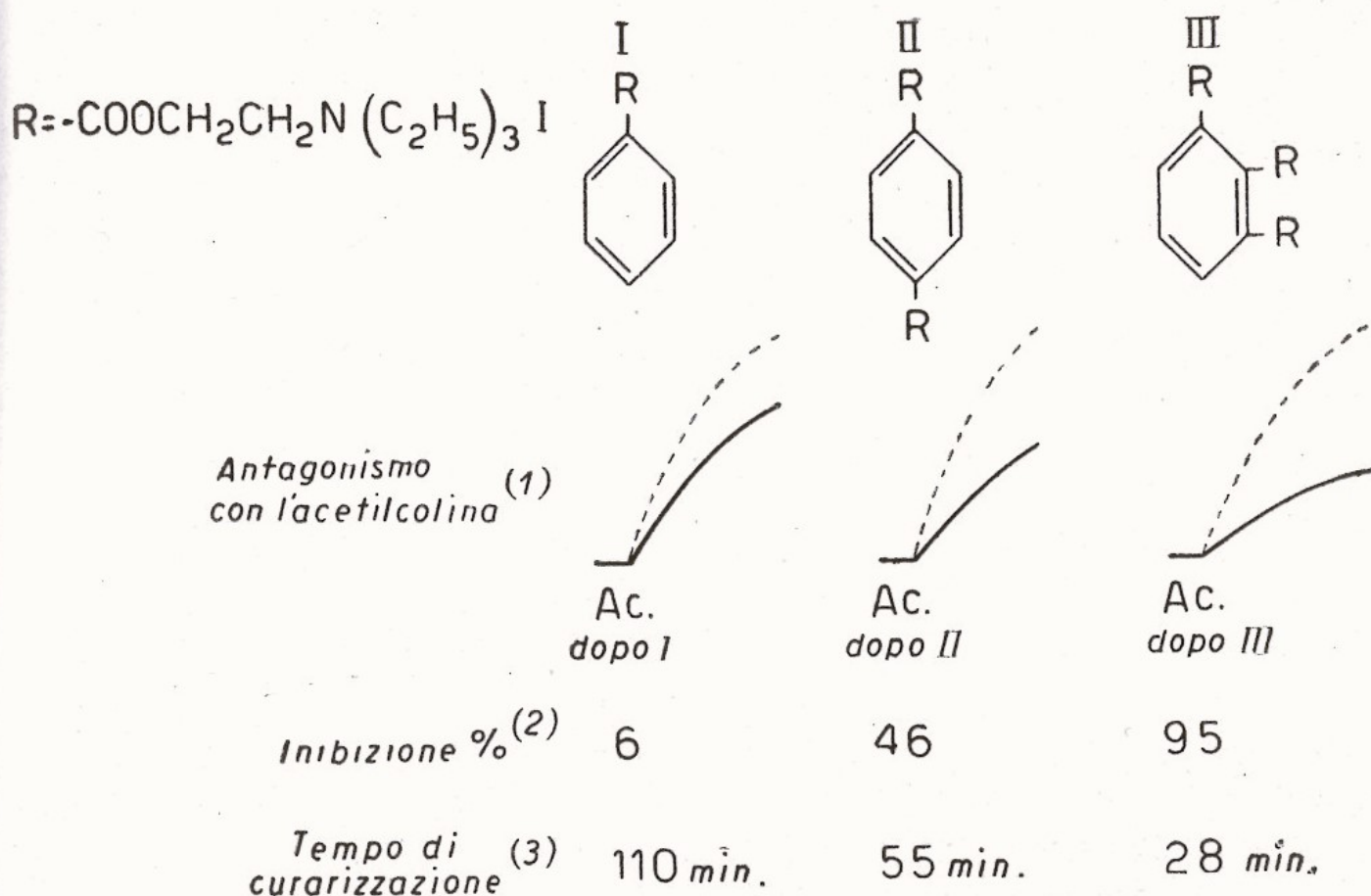


FIG. 3. - Azione curarizzante e antagonismo nei riguardi dell'acetilcolina di diversi prodotti appartenenti alla serie degli aromatici carbossilici.

(1) Preparazione del muscolo retto addominale. Le linee tratteggiate rappresentano le contrazioni eseguite dalla sola acetilcolina. Le linee intere le contrazioni ottenute con la stessa quantità di acetilcolina più il curaro. La dose di acetilcolina impiegata è stata di 0,5 mg/l; la dose di curaro di 2 mg/l.

(2) I numeri indicano le percentuali ottenute misurando l'altezza della curva ottenuta con l'aggiunta del curaro e riferendola alla contrazione con l'acetilcolina a cui si è dato il valore di 100.

(3) Preparazione neuro-muscolare. I minuti indicano il tempo occorrente perchè il nervo sciatico stimolato elettricamente non faccia più contrarre il muscolo gastrocnemio. Nel bagno di Ringer è stata sciolta la dose di curaro alla concentrazione di 1/1000.

esteri a peso molecolare elevato ($n=3,4,5,8$). In questo caso l'antagonismo con l'acetilcolina segue un ordine interamente differente (tab. II).

Nella serie studiata si osserva che esso cresce con l'aumento del numero degli atomi di carbonio. Lo studio di questo gruppo rivela una divergenza fra i risultati ottenuti con i due metodi; essa può probabilmente

TABELLA II.

R = CH ₂ CH ₂ N(C ₂ H ₅) ₃ I	Antagonismo con acetilcolina	Azione curarizzante
	Preparazione retto addominale Inibizione %	Preparazione scia- tico-gastrocnemie Tempo di curarizzazione
I = ROCO(CH ₂) ₂ COOR . .	2	234 min.
II = ROCO(CH ₂) ₃ COOR . .	38	36 min.
III = ROCO(CH ₂) ₄ COOR . .	54	100 min.
IV = ROCO(CH ₂) ₅ COOR . .	42	112 min.
V = ROCO(CH ₂) ₆ COOR . .	52	130 min.
VI = ROCO(CH ₂) ₈ COOR . .	84	212 min.

essere messa in rapporto con il fatto che gli esteri dei termini superiori della serie dei diacidi sono molto rapidamente idrolizzati dalla colinesterasi ⁽⁸⁾. Poco stabili, essi non si fisserebbero in modo durevole alla placca motrice, che, come si sa, è molto ricca di fermento.

DISCUSSIONE

Da questi esperimenti è possibile dimostrare che esiste un parallelismo tra l'azione curarica e l'azione antagonista dell'acetilcolina. Gli uguali risultati ottenuti con le due differenti preparazioni e soprattutto i paragoni fra i termini vicini di una stessa serie chimica, ne danno una conferma. Tuttavia ci sono numerosi casi in cui, sia a causa dell'azione nicotinic propria, sia per la fragilità delle molecole antagoniste, il fenomeno non può essere messo in evidenza sulla rana le cui azioni si rivelano molto differenti da quelle dei mammiferi.

I risultati precedenti, che meriteranno di essere estesi ad altre serie chimiche, presentano un certo interesse tanto dal punto di vista della farmacologia che dal punto di vista della fisiologia e della trasmissione neuro-muscolare.

Se c'è un accordo presso a poco generale per ciò che riguarda il ruolo dell'acetilcolina come mediatore nel sistema nervoso autonomo, la concezione neuro umorale non si è imposta nello stesso modo nel campo della trasmissione sinaptica fra il nervo motore e la fibra muscolare striata. Le ricerche degli elettrofisiologi fanno in effetti apparire che non esiste differenza di natura nella trasmissione dell'influsso sia che abbia luogo nell'interno del neurone o attraverso la sinapsi.

In questo caso i risultati qui ottenuti e che mettono in evidenza il parallelismo tra l'azione curarizzante dei differenti prodotti e l'antagonismo che esercitano con l'acetilcolina, dovrebbero essere interpretati non tanto come l'effetto del blocco di una mediazione colinergica, quanto come una dimostrazione supplementare del fatto che l'attività elettrica è legata alla presenza dell'acetilcolina stessa.

⁽⁸⁾ F. BOVET-NIRTI, questi Rendiconti.