

5. D. BOVET, F. BOVET-NITTI, S. GUARINO e V. G. LONGO. — Proprietà farmacodinamiche di alcuni derivati della benzoilcolina dotati di azione curarica. - Poliesteri aromatici di trialchiletanolammonio ⁽¹⁾.

Riassunto. — Undici prodotti di cui nove non erano stati ancora oggetto di studio e corrispondenti alla formula generale



sono stati esaminati con criteri farmacologici e particolarmente per la azione curarica di cui sono dotati.

Si è osservato che la tossicità si accresce nei derivati in cui $n=2$ e 3 allo stesso tempo che diminuiscono, in generale, gli effetti pressori di origine muscarinica e nicotinica.

I prodotti di cui la molecola comprende più funzioni ammonio quaternarie si rivelano più tossici, e le loro proprietà curariche si esaltano. In quest'ordine d'idee, è possibile di stabilire un parallelo fra gli esteri aromatici descritti in questo lavoro e gli eteri già noti.

Résumé — Onze dérivés, dont neuf n'avaient pas été examinés jusqu'ici, et qui correspondent à la formule générale :



ont été étudiés au point de vue de leurs propriétés pharmacodynamiques et plus particulièrement des effets curarisants qu'ils exercent.

On a constaté que la toxicité augmentait dans les dérivés dans lesquels $n=2$ et 3 en même temps que s'atténuaient, d'une manière générale, les effets tensionnels d'origine muscarinique et nicotinique.

L'accroissement de la toxicité des composés dont la molécule comporte plusieurs fonctions ammonium quaternaires correspond à l'exaltation des propriétés curarisantes de la molécule, et il est à cet égard possible d'établir un parallèle entre les esters aromatiques décrits dans cette note et les dérivés éthers déjà connus.

Summary. — Eleven derivatives of which nine have not been examined until now, and which correspond to the general formula :



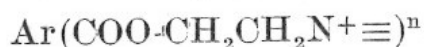
have been studied from the point of view of their pharmacodynamical properties and more particularly the curarising effects which they exert.

⁽¹⁾ Note preliminari: R. FUSCO, G. PALAZZO, S. CHIAVARELLI e D. BOVET, Gazz. Chim. Ital., 78, 511 (1948); D. BOVET, F. BOVET NITTI, S. GUARINO e R. FUSCO, Helv. Physiol. Acta, 6, C 52 (1948).

It has been found that the toxicity increases in the derivatives in which $n=2$ and 3 at the same time as the tensional effects of muscarinic and nicotinic origin, in a general way, were weakened.

The increase of toxicity of compounds in which the molecule includes several quaternary ammonium groups corresponds to the augmentation of curarising properties of the molecule and for this reason it is possible to establish a parallel between the aromatic esters described in this note and the ether derivatives already known.

Zusammenfassung. — Zwei bereits untersuchte und neun noch ungeprüfte Substanzen von der allgemeinen Formel



wurden hinsichtlich ihrer pharmakologischen Eigenschaften und speziell ihrer Curarewirkung untersucht.

Es wurde beobachtet, dass die Toxizität der Produkte, bei denen $n=2$ oder 3 ist, steigt, währenddem im allgemeinen gleichzeitig die Pressoraktivität muscarinischer oder nikotinischer Herkunft sich verkleinert.

Stärkste Curareigenschaften zeigten diejenigen Verbindungen, deren Molekül verschiedene quaternäre Ammoniumfunktionen enthält. Diese Feststellung weist auf einen Parallelismus zwischen den hier erwähnten aromatischen Estern und den bereits beschriebenen Aethern hin.

Nell'introduzione generale allo studio dei curari ⁽²⁾ così come all'inizio degli studi chimici che precedono ⁽³⁾, abbiamo già indicato le ragioni per le quali si può pensare a un rapporto di struttura esistente fra i due gruppi di sostanze antagonistiche rappresentate dall'acetilcolina da una parte e dalle sostanze curarizzanti dall'altra.

Nella serie aromatica, mentre le proprietà fisiologiche dell'estere benzoico della colina ci sono note già dal 1909 in seguito alle ricerche ormai classiche di Hunt e Taveau ⁽⁴⁻⁵⁻⁶⁾ quelle degli esteri che formano con la colina e gli ammino-alcoli vicini, i di- e i poli-acidi aromatici, non hanno fatto finora oggetto di nessuno studio.

E' per queste ragioni che ci siamo proposti di prospettarne noi i diversi aspetti con

(2) D. BOVET e F. BOVET-NITTI, Questi Rendiconti.

(3) R. FUSCO, G. PALAZZO e S. CHIAVARELLI, Questi Rendiconti.

(4) R. HUNT e R. DE M. TAVEAU, J. Pharmacol. exp. Ther., 1, 303 (1909).

(5) R. HUNT e R. DE M. TAVEAU, Public Health and Marine Hospital Service of U. S. Hygienic Laboratory Bulletin, n. 73, 1 (1911); gli autori fanno anche notare che la ftalilcolina «non ha quasi nessun effetto sulla pressione arteriosa».

(6) R. HUNT, J. Pharmacol. exp. Therap., 6, 485 (1914).

1) la sintesi di nuovi composti dotati di proprietà curariche;
2) lo studio dei rapporti fra la struttura chimica e attività farmacodinamica in quei derivati di cui la molecola comporta più funzioni ammonio quaternarie;

3) il problema del parallelismo che appare fra gli effetti manifestati dai vari derivati sulla trasmissione neuro-muscolare e l'antagonismo da essi esercitato sulla contrattura acetilcolinica della fibra muscolare striata;

4) il problema che pone l'idrolisi enzimatica degli esteri organici della colina nell'organismo da parte degli enzimi colinesterasici. Da un punto di vista puramente teorico, il confronto fra gli esteri aromatici d'ammino-alcoli con gli eteri aromatici già noti e con i derivati omologhi della serie grassa, ha aperto nuovi orizzonti che verranno poi discussi nelle conclusioni generali di quest'articolo.

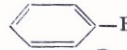
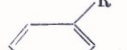
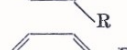
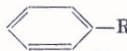
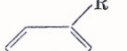
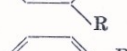
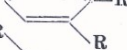
Il prof. R. Fusco, G. Palazzo e S. Chiavarelli hanno preparato undici derivati di cui nove non erano stati descritti finora ⁽³⁾. Si tratta

TABELLA I.

I	$C_6H_5COOCH_2CH_2N(CH_3)_3I$	Iodometilato di carbossi- β -dimetilamminoetil-benzolo (benzoilcolina)
II	$C_6H_5COOCH_2CH_2N(C_2H_5)_3I$	Iodoetilato di carbossi- β -dietilamminoetil-benzolo (benzoato di trietiletanolammonio)
III	$1,2-C_6H_4[COOCH_2CH_2N(CH_3)_3I]_2$	Bisiodometilato di 1,2-bis-(carbossi- β -dimetilamminoetil)-benzolo (ftalicolina)
IV	$1,2-C_6H_4[COOCH_2CH_2N(C_2H_5)_3I]_2$	Bisiodoetilato di 1,2-bis-(carbossi- β -dietilamminoetil)-benzolo
V	$1,3-C_6H_4[COOCH_2CH_2N(CH_3)_3I]_2$	Bisiodometilato di 1,3-bis-(carbossi- β -dimetilamminoetil)-benzolo
VI	$1,3-C_6H_4[COOCH_2CH_2N(C_2H_5)_3I]_2$	Bisiodoetilato di 1,3-bis (carbossi- β -dietilamminoetil)-benzolo
VII	$1,4-C_6H_4[COOCH_2CH_2N(CH_3)_3I]_2$	Bisiodometilato di 1,4-bis-(carbossi- β -dimetilamminoetil)-benzolo (320 I.S.)
VIII	$1,4-C_6H_4[COOCH_2CH_2N(C_2H_5)_3I]_2$	Bisiodoetilato di 1,4-bis(carbossi- β -dietilamminoetil)-benzolo (302 I.S.)
IX	$1,2,3-C_6H_4[COOCH_2CH_2N(CH_3)_3I]_3$	Triiodometilato di 1,2,3-tri-(carbossi- β -dimetilamminoetil)-benzolo
X	$1,2,3-C_6H_4[COOCH_2CH_2N(C_2H_5)_3I]_3$	Triiodoetilato di 1,2,3-tri-(carbossi- β -dietilamminoetil)-benzolo
XI	$1,3,5-C_6H_4[COOCH_2CH_2N(C_2H_5)_3I]_3$	Triiodoetilato di 1,3,5-tri-(carbossi- β -dietilamminoetil)-benzolo

TABELLA II.

PROPRIETÀ FARMACODINAMICHE DEI POLIESTERAROMATICI DI TRIALCHILETANOLAMMONIO

mg/kg		EFFETTI CURARIZZANTI					EFFETTI SECONDARI			
		Coniglio			Cane dose cur. (⁽¹⁾) IV	Rana dose cur. s. l.	Effetti pressione sul cane (⁽²⁾) E. V.	Intestino di coniglio (⁽³⁾)	Secrezione salivare cane (⁽⁴⁾)	
		HDD (⁽¹⁾) IV	D. T. (⁽²⁾) IV	Durata (⁽³⁾)						
R = COO CH ₂ CH ₂ N(CH ₃) ₃ I										
I.	 -R benzoilcolina	50	150	40 min.		200	Ipotensione (0,1 mg) Ipertensione (1 mg)	++		
III.	 -R	25	45	1 h.		50	—	0	+	Muscarinica Nicotinica
V.	 -R	40	50	30 min.	5	contraz.	Ipertensione	(+)	0	—
VII.	R-  -R (320 I.S.)	7	10	15 min.	5	100	—	+++	+	Nicotinica
IX.	 -R	13	16	1 h. 30		50	—	0	++	Eserinica
R = COO CH ₂ CH ₂ N(C ₂ H ₅) ₃ I										
II.	 -R	60	100	40 min.	60	75	Ipotensione debole	—	0	—
IV.	 -R	7	8	1 h. 15	8	10	Ipotensione debole	0	0	—
VI.	 -R	18	25	10 min.	10	25	Ipotensione debole	(+)	+	Debolmente eserinica
VIII.	R-  -R (302 I.S.)	3	4	10 min.	2	25	—	++	+++	Eserinica
X.	 -R	2	3		2	25	Ipotensione a 5 mg	0		
XI.	 -R	2	3	20 min.	2	25	Ipotensione breve a 5 mg	0		

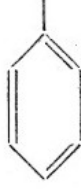
(¹) Dose head-drop; (²) Dose tossica; (³) Durata della curarizzazione, nell'animale in narcosi cloraloalica; pressione dalla carotide; (⁴) Prove sull'intestino di coniglio; (⁵) Prove sulla spirazione controllata, dopo l'iniezione di 10 dosi tossiche; (⁶) Valore approssimativo, determinato sul cane; effetto dell'iniezione endov. di 10 mg/kg. nato su alcuni animali soltanto, della dose che deprime la respirazione; (⁷) Prove sul cane in nar-

degli esteri dell'acido benzoico (I, II), dell'acido ftalico (III, IV), dell'acido isoftalico (V, VI), dell'acido tereftalico (VII, VIII), dell'acido emimellitico (IX, X) e dell'acido trimesinico (XI) con la colina e il trietiletanolammonio (tabella I).

TOSSICITÀ

Gli esteri formati dalla colina e dall'idrato di trietiletanolammonio con gli acidi ftalico, emimellitico e trimesinico appaiono come dotati di una tossicità più elevata, un'attività curarica più intensa ma di un'azione sulla pressione meno importante di quella che manifestano la benzoilcolina e il benzoato di trietiletanolammonio.

Mentre la tossicità globale della benzoilcolina (I) per il coniglio (via e. v.) è di 0,150 g/kg, essa è di 0,045 g/kg per il diestere dell'acido ftalico (III) e di 0,016 g/kg per il diestere dell'acido emimellitico (IX) (tab. II).

$\text{COOCH}_2\text{CH}_2\text{N}(\text{CH}_3)_3\text{I}$ 	$\text{COOCH}_2\text{CH}_2\text{N}(\text{CH}_3)_3\text{I}$ 	$\text{COOCH}_2\text{CH}_2\text{N}(\text{CH}_3)_3\text{I}$ 
I.	III.	IX.
Dose tossica (coniglio, via e. v., g/kg):		
0,150	0,045	0.016

Nell'intossicazione da benzoilcolina (I) la morte è provocata soltanto in parte dalla paralisi dei centri respiratori; noi abbiamo infatti constatato che se il coniglio è sottoposto alla respirazione artificiale, esso tollera una dose della base 10 volte superiore a quella che è normalmente tossica. In queste prove la curarizzazione è durevole e completa. Il meccanismo della morte appare analogo a quello ammesso per la nicotina.

Vedremo in seguito come il benzoato di trietiletanolammomio (II) (tabella II), manifesti anch'esso un'azione curarizzante soltanto quando viene iniettato in dosi elevate. Gli esteri di di- e triacidi mostrano invece un parallelismo fra l'aumento della tossicità e quello dell'attività curarica (tabella II).

ATTIVITÀ MUSCARINICA

La benzoilcolina (I) $\text{C}_6\text{H}_5\text{COOCH}_2\text{CH}_2\text{N}(\text{CH}_3)_3\text{I}$ essendo un estere della colina, esercita alcuni effetti che possono interpretarsi come la manifestazione d'una azione parasimpaticomimetica. Essendo nello stesso senso che l'acetilcolina, essa è suscettibile di provocare, appena introdotta nell'organismo, un'ipotensione ed una bradicardia che però non mascherano che in parte altri effetti d'origine nicotinica e cioè la contra-

zione di diversi gruppi di muscoli lisci e particolarmente dell'intestino e dei bronchi, e infine un'ipersecrezione delle glandole salivari.

Noi abbiamo ritrovato nel cane i risultati osservati da Hunt nel coniglio. L'ipotensione si manifesta solo dopo l'iniezione di piccole dosi.

Il rapporto fra l'attività muscarinica della benzoilcolina e dell'acetilcolina sulla pressione è di circa 1/500; se ci si attiene all'intensità della contrazione ottenuta, l'estere benzoico della colina sarebbe anche, sull'intestino isolato di coniglio, in un rapporto di 1/1000 meno attivo dell'estere acetico.

Nessuno di questi effetti periferici si manifesta più nel benzoato dell'idrato del trietiletanolammonio (II).

ATTIVITÀ ESERINICA

L'esame degli effetti farmacodinamici appare più complesso nel gruppo degli esteri dei poliacidi di quanto non lo sia nel caso degli esteri benzoici; in questi derivati difatti se l'azione ipotensiva caratteristica dei farmaci muscarinici scompare completamente, sussiste per alcuni gli effetti sulle glandole salivari e sulla muscolatura liscia dell'intestino.

Queste reazioni colinergiche non appaiono dovute a un'azione parasimpaticomimetica propria della molecola ma risultano effetti secondari dovuti all'effetto anticolinesterasico del prodotto.

Se consideriamo per esempio l'azione del prodotto 302 I. S. (bis-iodoetilato di 1,4-bis(carbossi- β -dietilamminoetil)benzolo (VIII)



vediamo che esso fa contrarre l'intestino isolato di coniglio, quello « in situ » del cane e provoca un accrescimento della salivazione; senza poi essere per se stesso ipotensivo il 302 I. S. esercita, come l'eserina stessa, un'azione cardio-inibitrice tardiva e soprattutto accresce considerevolmente l'intensità e la durata dell'effetto di piccole dosi di acetilcolina iniettate al cane in narcosi cloralosica (fig. 1).

Sulla preparazione di intestino isolato di coniglio il tereftalato di colina (320 I. S., VII) si dimostra più attivo che non il benzoato di colina (I) (fig. 3); il tereftalato dell'idrato d'etossitrietilammonio (VII), 302 I. S.) fa anch'esso contrarre l'intestino isolato di coniglio mentre il benzoato (II) ne provoca invece il rilasciamento (tabella III).

Il confronto fra gli esteri formati dalla colina con i tre acidi ftalici isomeri (III, V e VII) dimostra che essi esercitano sull'intestino isolato di coniglio (fig. 4) degli effetti di intensità assai diversa. Il bisiodometilato di 1,4-bis-(carbossi- β -dimetilamminoetil)-benzolo (VII, 320 I. S.) è il solo di questi derivati veramente attivo.

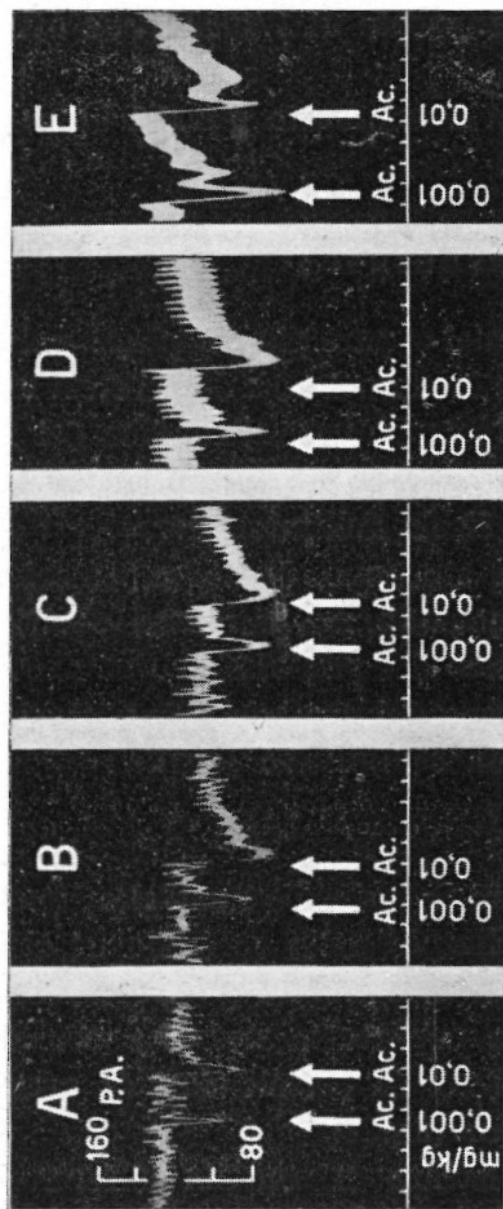


FIG. 1. - Sensibilizzazione degli effetti ipotensori dell'acetilcolina dal bis-iodotilato di 1,4-bis(carbossi-β-dietilamminoetil)-benzolo (302 I. S., VIII).

Cane in narcosi cloralosica, pressione arteriosa. Il tracciato rappresenta l'azione dell'iniezione e. v. di 0,001 e 0,01 mg/kg di cloruro d'acetilcolina.

Il cane riceve successivamente per via endovena:

Fra A e B	.	.	.	.	.	0,5 mg/kg di 302 I. S.
Fra B e C	.	.	.	.	.	1
Fra C e D	.	.	.	.	.	2
Fra D e E	.	.	.	.	.	10

Si può notare che l'iniezione di una stessa dose d'acetilcolina provoca una ipotensione sempre più marcata e più durevole.

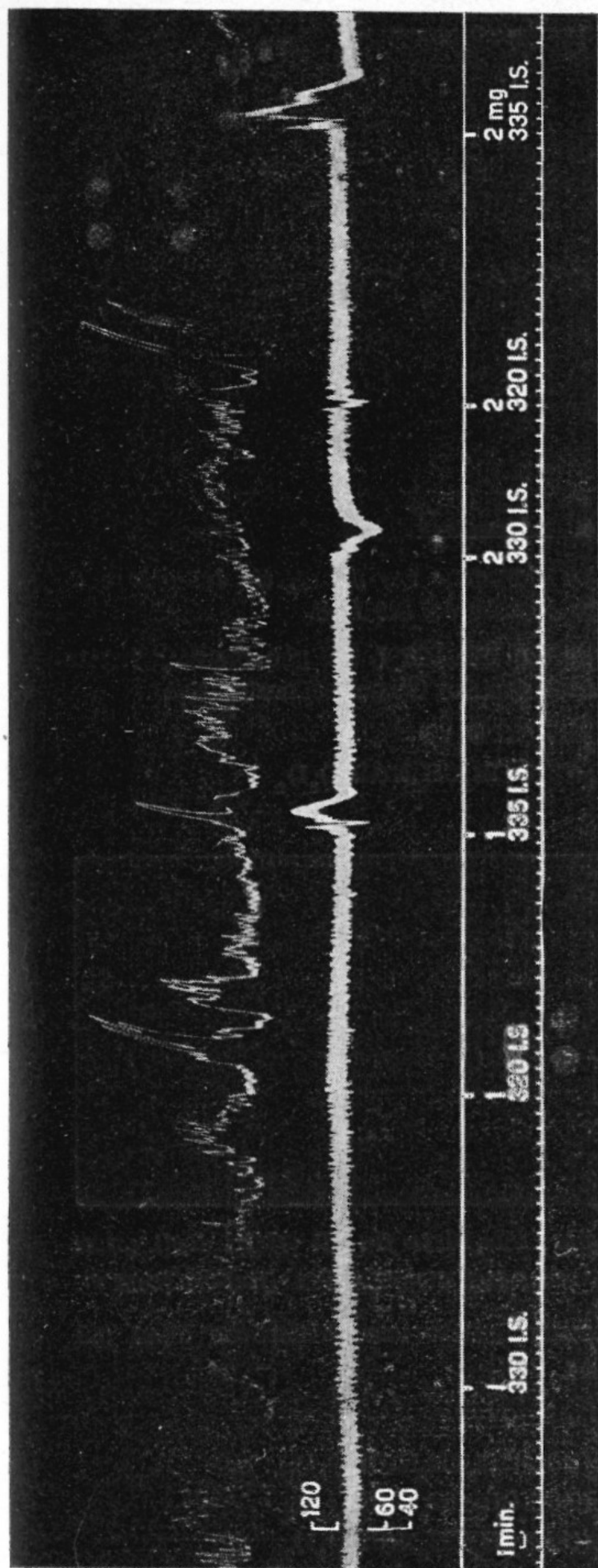


FIG. 2. - Confronto fra gli effetti prodotti sulla motilità intestinale e sulla pressione dal ioduro di benzoilcolina (335 I. S. I) e da due esteri formati dalla colina con acidi aromatici dicarbossilici (330 I. S. III e 320 I. S. VII).

Gli effetti ipertensivi della benzoilcolina (335 I. S.) non si riscontrano negli esteri degli acidi dicarbossilici; d'altra parte il 320 I. S. ha sull'intestino un'azione più marcata che non i due altri derivati



Cane in narcosi cloralosica e respirazione artificiale. Dosi in mg/kg endovena.

Tracciato superiore: registrazione del tono intestinale.

Tracciato medio: pressione arteriosa.

Tracciato inferiore: tempo in minuti.

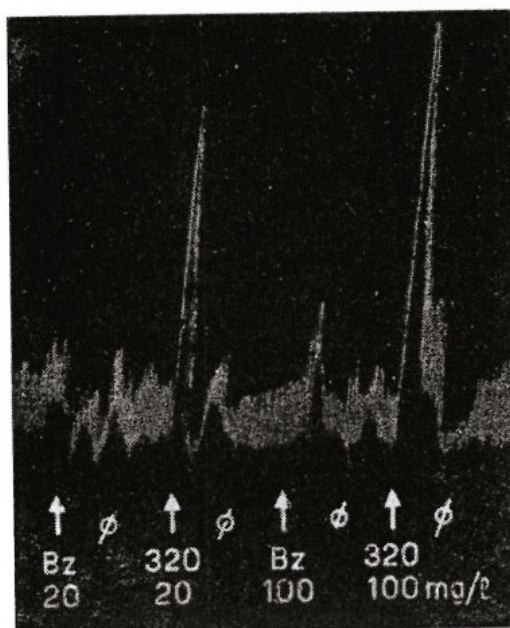


FIG. 3. - Intestino isolato di coniglio: Paragone tra gli effetti del ioduro di benzoilcolina (Bz) e quelli del 320 I. S.

La contrazione più intensa provocata dal 320 I. S. può essere spiegata dal fatto che questo derivato si dimostra anche un anticolinesterasico.

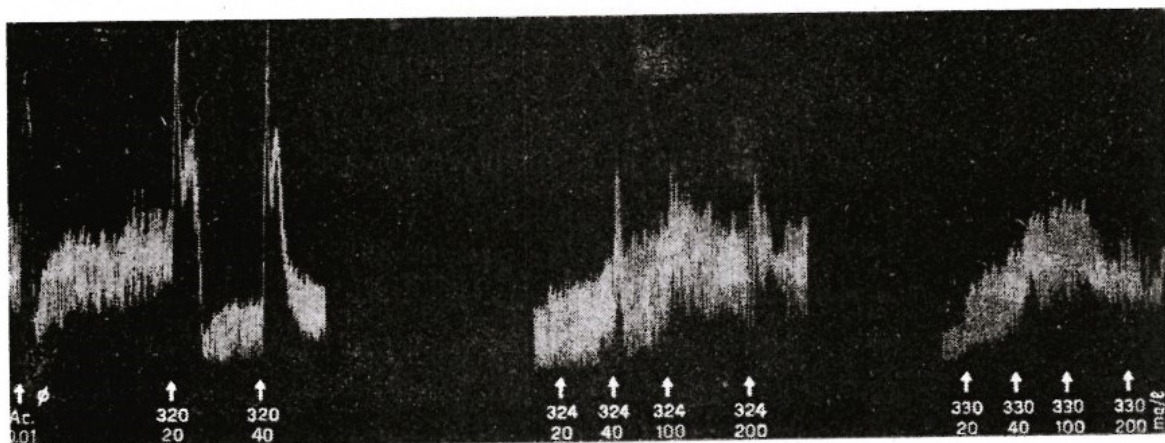
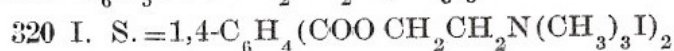
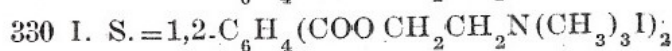
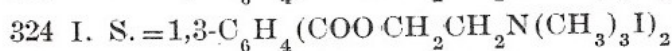


FIG. 4. - Intestino isolato di coniglio: Confronto fra gli effetti degli esteri della colina e quelli di tre acidi aromatici dicarbossilici (ftalici) isomeri.

Il 320 I. S. provoca nell'intestino isolato una contrazione assai più marcata che non i suoi due isomeri.

Ac = Acetilcolina

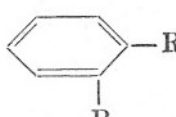
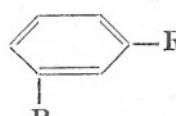
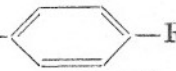


Dosi in mg/l.

In altre esperienze si può osservare che anche sul cane il derivato 320 I. S. senza manifestare azione ipertensiva apprezzabile provoca una ipersecrezione caratteristica (fig. 5).

TABELLA III.

PARAGONE TRA GLI EFFETTI ESERINICI ESERCITATI DAGLI ESTERI
DEI DI-ACIDI AROMATICI AL LIVELLO DEI DIVERSI VISCERI

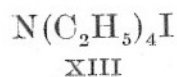
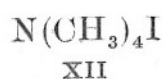
$R=COOCH_2CH_2N(C_2H_5)_3I$	Contrazione dell'intestino insitu (Cane) ⁽¹⁾	Secrezione salivare (cane) ⁽²⁾	Contrazioni del- l'intestino iso- lato (coniglio) ⁽³⁾	Inibizione della "true-choline- sterase,, ⁽⁴⁾	Inibizione della "pseudo-choli- nesterase,, ⁽⁴⁾
IV. 	0	0	0	0	++
VI. 	(+)	+	(+)	++	0
VIII.  302 I.S.	+++	+++	++	++	0

(¹) v. fig. 2. (²) v. fig. 5. (³) v. fig. 4. (⁴) v. F. BOVET-NITTI, questi Rendiconti.

ATTIVITÀ NICOTINICA

Come abbiamo già notato nel paragrafo precedente, la benzoilcolina (I) iniettata al cane in narcosi cloralosica, subito dopo l'ipotensione e la bradicardia che dimostrano l'effetto muscarinico della base provoca una ipertensione di tipo nicotinico che corrisponde all'azione della sostanza sui gangli del sistema neuro-vegetativo. In questo caso come in quello della nicotina, la reazione ipertensiva si accompagna ad iperpnea, ad amplificazione dei movimenti respiratori, e ad azione sull'intestino «in situ», con effetto difasico, contrazione brusca seguita da paralisi. La reazione ipertensiva consecutiva all'amministrazione di dosi non elevate può essere evitata con l'amministrazione preventiva di nicotina, di sparteina o di benzoilcolina stessa.

La grande differenza che esiste negli effetti manifestati sulla pressione dalla benzoilcolina (I) e il benzoato di trietiletanolammonio (II) era già stata segnalata da Hunt e De Taveau (fig. 6); la stessa differenza può notarsi sull'insieme delle proprietà di queste due ammine (tabella IV) e conferma l'opposizione ormai classicamente riconosciuta fra gli effetti manifestati dai sali di tetrametilammonio (XII) e da quelli di tetraetilammonio (XIII).



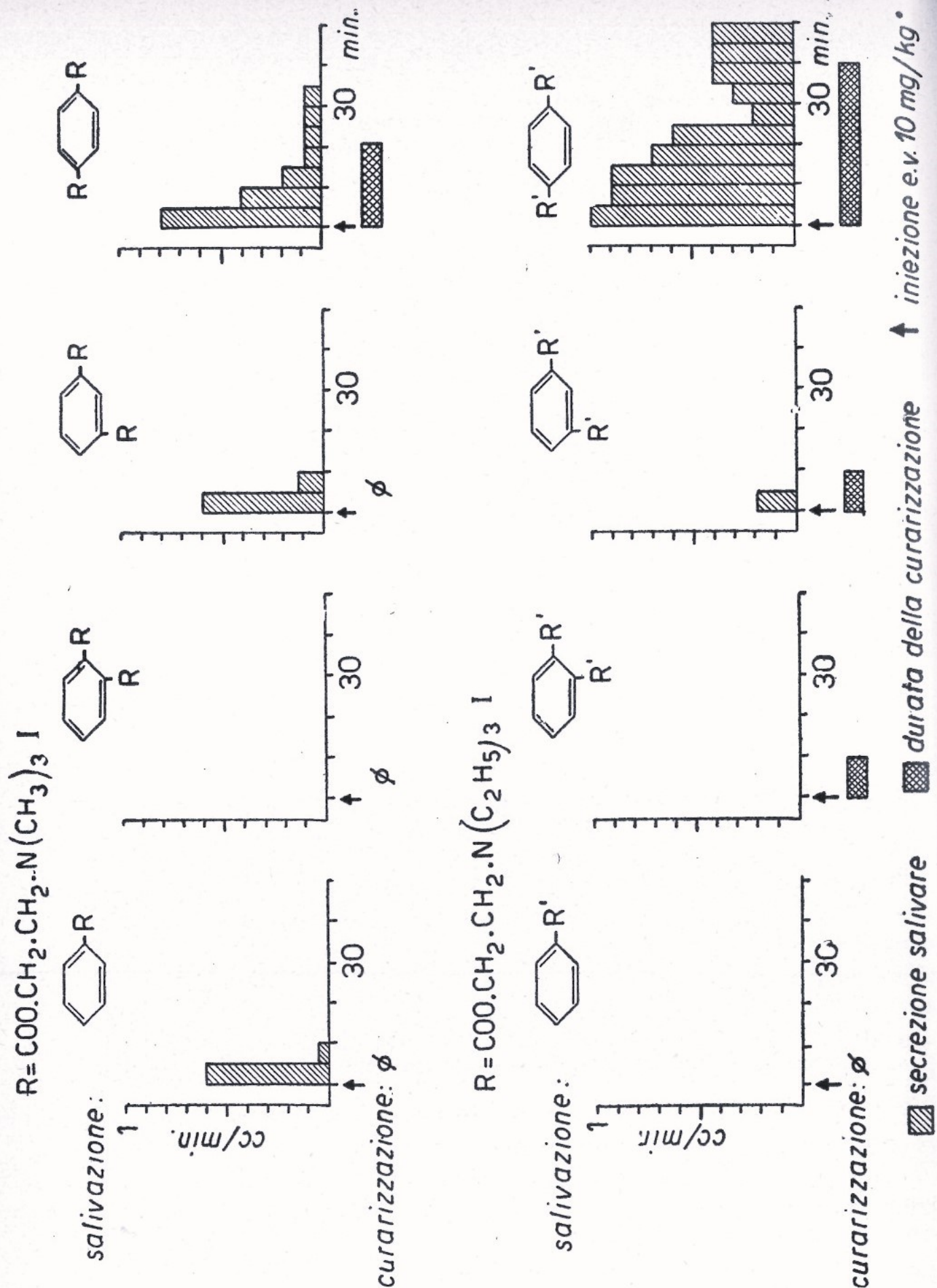


FIG. 5. - Proprietà farmacologiche manifestate dagli esteri formati dalla colina e dall'idrato del trietiletanolammonio con l'acido benzoico e gli acidi aromatici dicarbossilici.

Azione di una dose unica di 10 mg/kg iniettata endovena sulla secrezione salivare e la trasmissione neuro.muscolare (curarizzazione).

Il cane è stato messo in respirazione controllata nell'ipotesi che la curarizzazione fosse completa.

Le diverse proprietà manifestate dagli esteri dei tre diacidi isomeri appare assai nettamente.

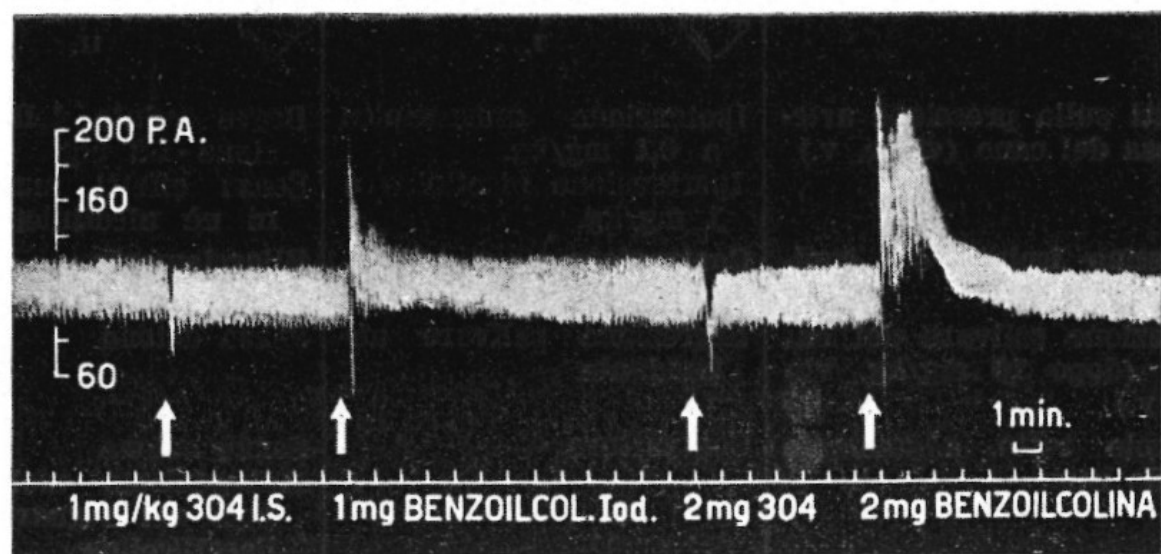


FIG. 6. - *Paragone fra gli effetti manifestati sulla pressione arteriosa del cane dalla benzoilcolina e dal benzoato di trietiletanolammonio.*

Cane in narcosi cloralosica. La benzoilcolina, a dosi di 1 e 2 mg/kg provoca degli effetti eccitanti di tipo nicotinico che non si riscontrano dopo l'iniezione dell'estere benzoico del trietiletanolammonio (304 I. S.).

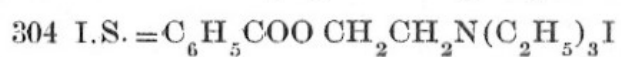
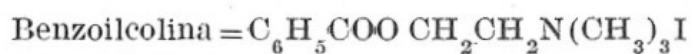


TABELLA IV.

PARAGONE FRA LE PROPRIETÀ FARMACODINAMICHE DELLA BENZOILCOLINA (I)
E DEL BENZOATO DI TRIETILETANOLAMMONIO (II)

	$\text{COO CH}_2\text{CH}_2\text{N}(\text{CH}_3)_3\text{I}$  I.	$\text{COO CH}_2\text{CH}_2\text{N}(\text{C}_2\text{H}_5)_3\text{I}$  II.
Effetti sulla pressione arteriosa del cane (via e. v.)	Ipotensione muscarinica a 0,1 mg/kg. Ipertensione nicotinica a 1 mg/kg.	Breve caduta della pressione - 1-2 mg. Senza effetti muscarinici nè nicotinici
Intestino isolato del coniglio	Contrazione	Rilasciamento
Secrezione salivare del cane (dopo 10 mg/kg. via e. v.)	Secrezione salivare abbondante	Senza azione
Muscolo retto addominale della rana	Contrattura	Senza azione Antagonismo molto debole nei riguardi dell'acetilcolina
Effetto curarizzante nel coniglio, (via e. v.)		
Dose head-drop	50 mg/kg.	60 mg/kg.
Dose tossica	150 mg/kg.	100 mg/kg.
Effetto dell'iniezione di 10 d. tos. al coniglio in respirazione controllata	Sopravvivenza Curarizzazione di 40'	Sopravvivenza Curarizzazione di 40'
Effetto sull'uccello (via e. m.)	Contrattura (230 mg/kg.)	Curarizzazione completa (280 mg/kg.)
Effetto sulla rana (via l.)	Curarizzazione (200 mg.)	Curarizzazione (75 mg/kg.)

Per l'azione da essi esercitata sul sistema neuro-vegetativo e in particolare sulle sinapsi ganglionari di questo sistema, gli esteri dei poliacidi si apparentano al benzoato di trietiletanolammonio (II).

Lo studio degli effetti sulla pressione rivela un solo segno caratteristico di un'azione puramente colinergica che è quello della paralisi dei gangli traduentesi con la sparizione degli effetti cardiomoderatori quando si eccita il moncone periferico del nervo vago. La sparizione dei riflessi ipertensivi simpatici si osserva, ma soltanto dopo dosi elevate di prodotto.

AZIONE CURARIZZANTE

La benzoilcolina così come numerose ammine quaternarie e gli esteri e gli eteri della colina, manifesta un'azione sulla trasmissione neuromuscolare.

Le prime prove sono state realizzate sul coniglio. I primi segni di curarizzazione appaiono dopo una dose di 0.050 g/kg e la morte che segue la dose di 0.150 g/kg è, com'è stato detto prima, dovuta in gran parte all'asfissia che risulta dall'arresto delle contrazioni del diaframma. Noi abbiamo difatti osservato che, se tenuto in respirazione artificiale, l'animale poteva resistere a 10 dosi tossiche; in questo caso l'animale resta privo di ogni movimento, il riflesso della cornea che è il primo a ritornare, non appare che 40 minuti dopo l'iniezione (tab. v).

TABELLA V.

**AZIONE SUL CONIGLIO DELLA BENZOILCOLINA (I) E DEL BENZOATO
DI TRIETILETANOLAMMONIO (II)**

Ioduro di benzoilcolina. (I)

a) Coniglio e. v. g/kg

- | | |
|-------------|---|
| 0.030 . . . | Nessun sintomo. |
| 0.050 . . . | L'animale poggia la testa per terra (reazione head-drop) non respira più durante due minuti, poi si riprende e torna normale. |
| 0.120 . . . | Idem, gli stessi sintomi ma con asfissia più prolungata. |
| 0.150 . . . | Morte. |

b) Coniglio in respirazione artificiale

- | | |
|-----------|---|
| 1.5 . . . | (dose che corrisponde a 10 dosi mortali) Data la poca solubilità del prodotto, la dose è iniettata in 80 cm ³ d'acqua. Curarizzazione completa, sparizione del riflesso della cornea, che torna dopo 40 minuti. Dopo 1 ora e mezza si sospende la respirazione artificiale. L'animale sopravvive più di un mese. |
|-----------|---|

Ioduro di benzoato di trietiletanolammonio. (II)

a) Coniglio e. v. g/kg

- | | |
|-------------|---|
| 0.050 . . . | Nessun sintomo su 5 conigli. Il sesto ha la reazione head-drop. |
| 0.060 . . . | Reazione head-drop con gli stessi sintomi descritti per la benzoilcolina. |
| 0.075 . . . | Idem. |
| 0.100 . . . | 2 conigli sui 4 in esperienza muoiono. |

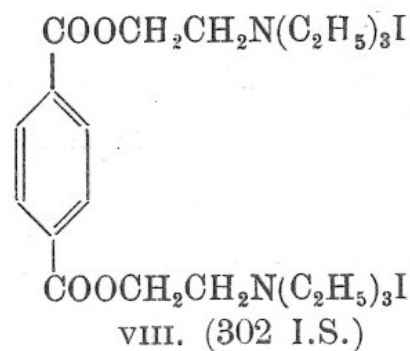
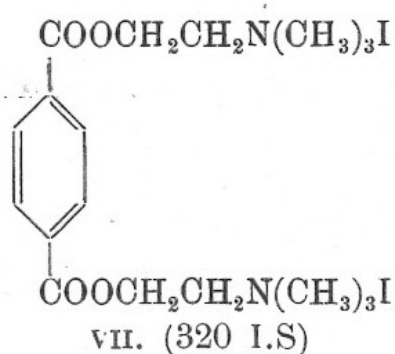
b) Coniglio in respirazione artificiale

- | | |
|-----------|--|
| 1.0 . . . | (dose che corrisponde a 10 dosi mortali) Curarizzazione completa. Sparizione del riflesso della cornea che ritorna dopo 40 minuti. |
|-----------|--|

A dosi analoghe il benzoato di trietiletanolammonio (II) provoca nel coniglio una curarizzazione molto simile (tabella v).

Appare a prima vista come l'azione curarica di questi due derivati si trovi esaltata negli esteri dei di- e dei tri-acidi (tabella II).

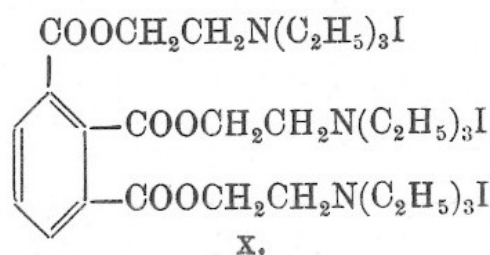
I derivati dotati di maggiore attività sono da una parte i due esteri dell'acido tereftalico, il bisiodometilato di 1,4-bis(carbossi-β-dimetil-amminoetil)-benzolo (320 I. S., VII) e il bisiodoetilato di 1,4-bis (carbossi-β-dietilamminoetil)-benzolo (302 I. S., VIII) (fig. 7).



Dose head-drop (coniglio e.v.):
7 mg/kg

3 mg/kg

e d'altra parte i triesteri degli stessi acidi: il triiodoetilato di 1, 2, 3-tri-(carbossi-β-dietilammino-etil)benzolo (X) e il triiodoetilato di 1, 3, 5-tri-(carbossi-β-dietilamminoetil)benzolo (XI).



Dose head-drop nel coniglio:
2 mg/kg

Tutti i derivati sono generalmente più attivi sul cane che non sul coniglio. Nell'animale sveglio l'azione appare come pura e la sintomatologia curarica evolve senza che si manifesti nessun segno di una intossicazione centrale secondaria: al più si può osservare e particolarmente nel caso del derivato 302 I. S. (VIII) qualche segno d'ipertonìa parasimpatica: miosi e salivazione.

Nel cane in narcosi cloralosica, la registrazione contemporanea della respirazione e delle contrazioni del gastrocnemio consecutive all'eccitazione del nervo sciatico mostrano che l'apnea è effettivamente legata alla sparizione dell'eccitabilità indiretta del muscolo striato.

Mentre tutti i derivati di cui la molecola comportava 2 o più funzioni ammonio-quaternarie si sono dimostrati curarizzanti per i mammiferi, le prove realizzate sull'uccello e sulla rana non permettono sempre di riconoscere i segni caratteristici della curarizzazione.

Nell'uccello (*Passer domesticus*) l'azione curarica di questi derivati non si manifesta che dopo dosi molto elevate. Il 302 I. S. che curarizza il coniglio per via sottocutanea alla dose di 6 mg/kg non agisce nell'uccello che alla dose di 200 mg/kg endomuscolare (tab. vi). Il derivato 320 I. S. è ancora meno attivo. Si può ammettere che ciò sia dovuto alla rapida idrolisi di questo derivato dal siero di questa specie animale. Soltanto gli esteri dell'idrato di trietiletanolammonio hanno dimostrato di esercitare delle proprietà tipicamente curarizzanti nella rana.

TABELLA VI.

AZIONE CURARICA DEI POLIESTERI AROMATICI DEL TRIALCHILETANOLAMMONIO NELL'UCCELLO (*Passer domesticus*) IN CONFRONTO CON GLI EFFETTI DELLA D-TUBOCURARINA, DELLA β -DIIDRO-ERITROIDINA E DEL 2559 F.

(*Passer Domesticus* via e. m. mg/kg)

		Dose curarizzante	Dose tossica
	d-tubocurarina	0,5	1
	β -diidro-eritroidina	3	4
	2559 F.	2	3
II.	$C_6H_5COOCH_2CH_2N(C_2H_5)_3I$	280	320
IV.	$1,2C_6H_4[COOCH_2CH_2N(C_2H_5)_3I]_2$	400	440
VII.	$1,4C_6H_4[COOCH_2CH_2N(CH_3)_3I]_2$ (320 I. S.)	1000	
VIII.	$1,4C_6H_4[COOCH_2CH_2N(C_2H_5)_3I]_2$ (302 I. S.)	200	280

Tutti i derivati di questo gruppo esercitano egualmente un effetto sulle preparazioni neuro-muscolari e manifestano un antagonismo sulla contrattura acetilcolinica del muscolo retto addominale; tutti i dati che si riportano a questo fatto, poichè costituiscono un fatto di un interesse teorico particolare per l'interpretazione del meccanismo dell'azione curarizzante, faranno l'oggetto di uno studio particolare (7).

L'attività curarica è molto meno caratteristica nel gruppo degli esteri della colina stessa (III, V, VII, X).

I muscoli striati della rana sono violentemente contratti sotto l'azione dei diversi isomeri dell'estere ftalico (III, V, VII) e contrariamente

(7) F. BOVET-NITTI, Questi Rendiconti.

a ciò che si osserva sui mammiferi, gli animali presentano un quadro tipico dell'intossicazione nicotinic.

Se si considera la d-tubocurarina e i derivati sintetici descritti fino ad oggi, gli esteri dei poliacidi aromatici esercitano un'attività facilmente reversibile.

Le esperienze fatte sul coniglio son da questo punto di vista particolarmente dimostrative. Se nell'animale mantenuto in respirazione artificiale si inietta per via endovenosa una dose di curaro 10 volte maggiore della dose tossica, si noterà che la curarizzazione si prolunga di circa 1 ora e 45 con la tubocurarina e il triiodoetilato di 1, 2, 3-tri- β -dietilamminoetossi-benzolo (2559 F); essa non durerà che 40 minuti con la benzoilcolina (1), e 15 e 10 minuti soltanto dopo l'iniezione del bisiodometilato di 1,4-bis-(carbossi- β -dimetilamminoetil)-benzolo (320 I. S., VII) e del bisiodoetilato di 1,4-bis-(carbossi- β -dietilamminoetil)-benzolo (302 I. S., VIII).

Nelle pagine seguenti vedremo più in dettaglio le caratteristiche dei diversi isomeri. L'idrolisi enzimatica di questi derivati che è in misura di chiarire almeno in parte le differenze della loro azione nell'organismo come anche i dati che riguardano il sinergismo paradossale manifestato dall' eserina nei riguardi dei curari del gruppo, faranno l'oggetto di pubblicazioni distinte (8).

Indichiamo qui i risultati che riguardano l'azione del 302 I. S. nel coniglio (tabella VII).

RAPPORTI FRA LA STRUTTURA CHIMICA E L'AZIONE CURARICA

Paragone fra i derivati aromatici a funzione etere e estere. — Dale⁽⁸⁾ nel 1914 ha segnalato l'analogia che può stabilirsi fra le proprietà farmacologiche di cui fra prova l'acetilcolina e quelle di cui è dotato l'etere etilico della colina, derivati i quali manifestano entrambi intensi effetti muscarinici.

Lo stesso parallelismo può essere stabilito fra le proprietà dell'etere fenolico della colina (9) e quelle dell'estere benzoico dello stesso amminoalcol (4-5) descritti entrambi da Hunt.

Per quanto riguarda le proprietà curariche, noi abbiamo egualmente constatato che esse appaiono sia nella serie degli esteri che in quelle degli eteri. A dosi molto più elevate la benzoilcolina (1) fa prova di un'azione curarica analoga a quella dello ioduro di fenossi-etil-trimetilammonio (XIV) (10).

(8) H. DALE, J. Pharmacol., 6, 147 (1914).

(9) R. HUNT e R. R. RENSHAW, J. Pharmacol. exper. Ther., 35, 99 (1929).

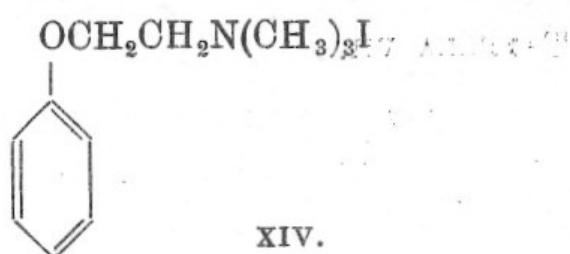
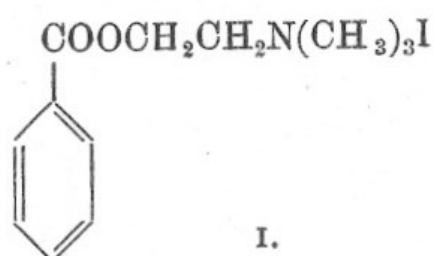
(10) D. BOVET, F. DÉPIERRE e Y. DE LESTRANGE, C. R. Ac. Sc., 225, 74 (1947).

TABELLA VII.

BISIODOETILATO DI 1,4-BIS-(CARBOSSI- β -DIETILAMINOETIL)-BENZOLO
E D-TUBOCURARINA. - DURATA DELLA CURARIZZAZIONE NEL CONIGLIO
SOTTOPOSTO ALLA RESPIRAZIONE ARTIFICIALE

Prova N.	Coniglio Kg.	Dose mg/kg	Numero delle dosi tossiche	Durata della curarizzazione		Sopravvivenza
				302 I.S. (Dose tossica = 4 mg/kg.)		
1	1.700	8	2	2 minuti	Sospensione dei movimenti respiratori senza sparizione del riflesso corneo-palpebrale	Più di un mese
2	2.000	40	10	10 minuti	Sospensione della respirazione artificiale 10 minuti dopo il ritorno del riflesso corneale ⁽¹⁾	Morte accidentale
3	2.000	80	20	35 minuti	Sospensione della respirazione artificiale dopo 2 ore	Più di un mese
4	2.000	200	50	1 h 20	Sospensione della respirazione artificiale dopo 3 ore e 20'	Più di un mese
5	2.000	400	100	2 ore	Salivazione abbondante. Penicillina: 30.000 U. Sospensione della respirazione artificiale dopo 5 ore 30'. Salivazione abbondante. Penicillina 30.000 U.	Più di un mese
				<i>d-tubocurarina</i> (dose tossica 0,2 mg/kg.)		
6	2.070	2	10	2 h 05	Sospensione della respirazione artificiale dopo 2 ore 45 minuti. Penicillina 160.000 U. in 3 giorni	Più di un mese
7	1.750	4	20	4 h	Sospensione della respirazione artificiale dopo 4 ore 30'. Vie respiratorie ingombrate dal muco. Penicillina 20.000 U. Esame delle urine: sedimento abbondante e numerosi cilindri	10 giorni
8	1.700	10	50	12-15 h	All'autopsia, epatizzazione del lobo superiore; urine sanguinose. Penicillina: 60.000 U.	2 giorni
9	1.650	20	100	12-20 h		10 h
10	1.900	40	200	Morto nel corso della curarizzazione dopo 12 ore.	Nefrosi da eliminazione	
11	2.090	80	400	Morto durante la curarizzazione dopo 60 ore.	Penicillina ogni 3 ore; siero glucosato. Nefrosi da eliminazione	

⁽¹⁾ Morto un'ora dopo, in seguito ad asfissia consecutiva alla formazione di un grumo di sangue nella trachea.



Dose head-drop (coniglio mg/kg via e.v.):

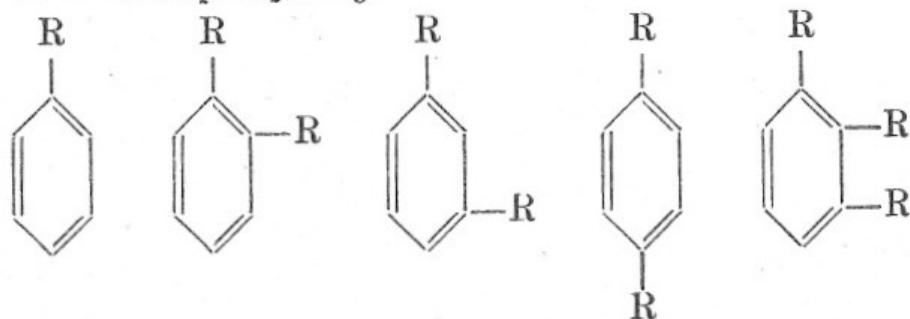
50 mg

4 mg

Il parallelismo è ancora più accentuato se si osservano gli effetti curarizzanti manifestati dai derivati del trietiletanolammonio delle due serie in cui si vede particolarmente rinforzarsi l'attività farmacodinamica consecutiva all'introduzione nella molecola di una seconda o una terza funzione ammonio quaternaria.

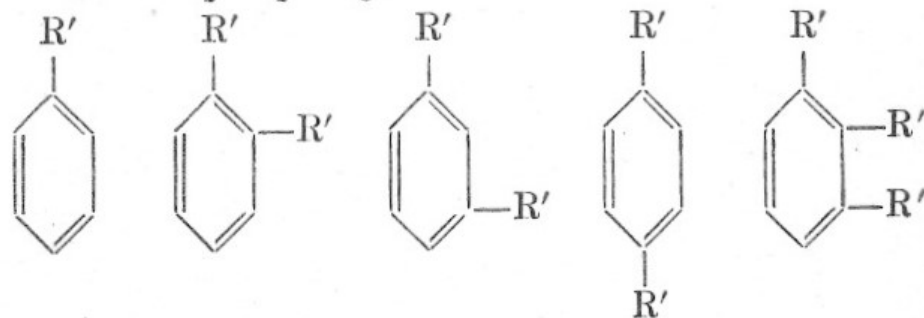
TABELLA VIII.

$\text{R} = \text{OCH}_2\text{CH}_2\text{NEt}_3\text{I}$



Dose head-drop (1)	20	1,5	1	3,5	0,5
Durata della curarizzazione	20 min.	1 h	1 h	1 h	1h 45

$\text{R}' = \text{COOCH}_2\text{CH}_2\text{NEt}_3\text{I}$



Dose head-drop	60	7	18	3	2
Durata della curarizzazione	40 min.	1h 15	10 min.	10 min.	

(1) Coniglio, mg/kg, via endovenosa; la durata della curarizzazione è stata determinata nell'animale in respirazione artificiale, dopo l'iniezione di 10 dosi tossiche.

Si osserverà che nella serie degli eteri fenolici l'ordine di attività crescente dei derivati di sostituzione è

$$m > o > p$$

mentre che in due serie di esteri è

$$p > o > m$$

Gli esteri dello ioduro di trietiletanolammonio sono costantemente dei curari più attivi dei derivati corrispondenti della colina e a questo

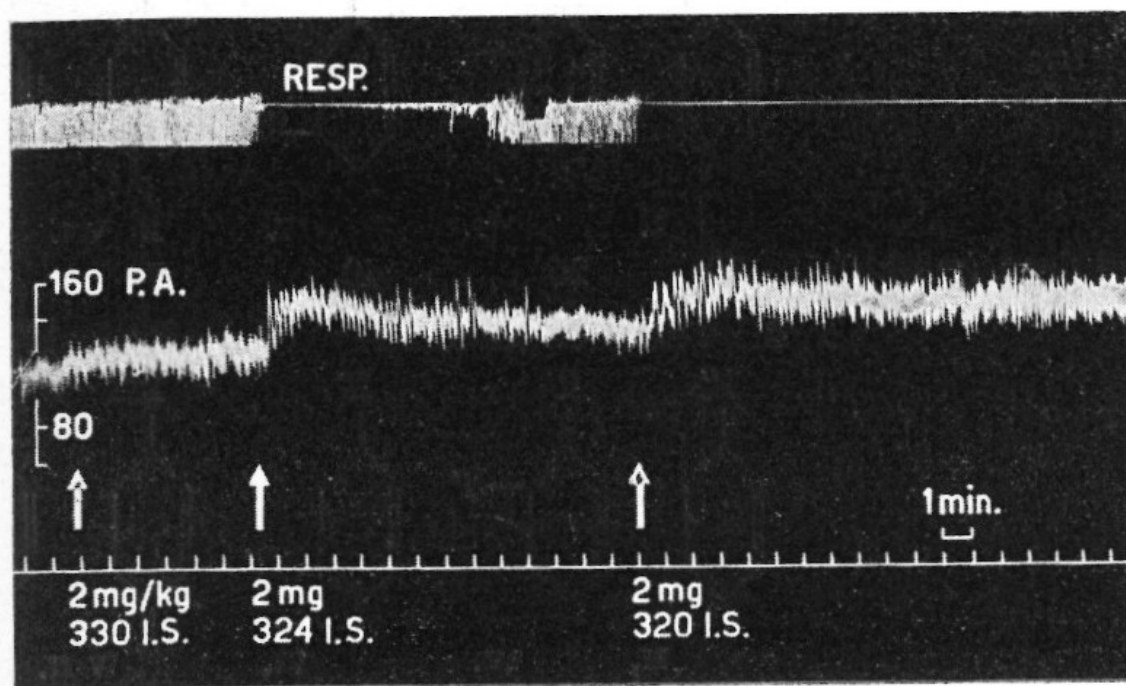
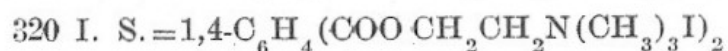


FIG. 8. - *Paragone tra gli effetti curarici manifestati dagli esteri isomeri che forma la colina con i tre acidi dicarbossilici.*

L'attività si può esprimere con l'ineguaglianza seguente:

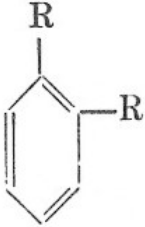
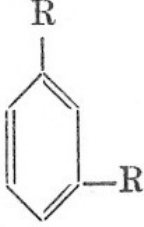
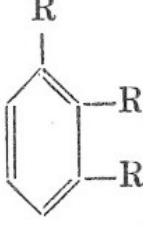
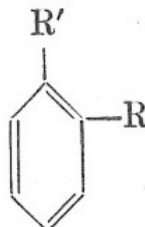
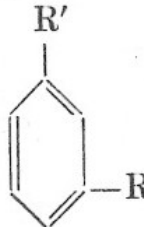
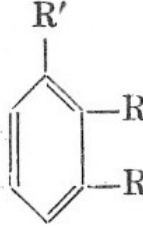
$$o < m < p$$



Cane in narcosi cloralosica. Registrazione dei movimenti respiratori e della pressione arteriosa. Durante la curarizzazione la respirazione è assicurata mediante una corrente di ossigeno portata con una sonda direttamente al livello dei grossi bronchi.

proposito è possibile di riavvicinare i risultati ottenuti nelle due serie degli eteri e degli esteri aromatici.

TABELLA IX.

$R = \text{COOCH}_2\text{CH}_2\text{NMe}_3\text{I}$					
					
I.	III.	V.	VII.	XI.	
Dose head-drop (mg/kg):	50	25	40	7	13
$R' = \text{COOCH}_2\text{CH}_2\text{NEt}_3\text{I}$					
					
II.	IV.	VI.	VIII.	X.	
Dose head-drop (mg/kg):	60	7	18	3	2

Si vedrà che le nostre ricerche sugli esteri della serie alifatica ⁽¹¹⁾ hanno dimostrato che in questo caso, al contrario, i derivati della colina erano costantemente più attivi.

IMPORTANZA DELLA FUNZIONE ESTERE

Azione del bis-iodoetilato di 1,4-bis-(β-dietilamminoetil)-benzolo. — Dopo aver esaminato l'azione curarica degli esteri dei poliacidi aromatici e averli paragonati agli eteri dei polifenoli, restava da analizzare l'importanza conferita dalla presenza di queste due funzioni nella molecola dei curari sintetici da noi descritti.

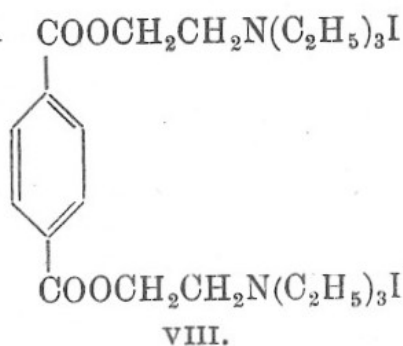
In realtà appare evidente che nè la funzione estere nè il « ponte » costituito da un atomo di ossigeno e che si ritrova così spesso nelle molecole dei derivati muscarinici, abbiano una funzione essenziale per l'attività curarizzante. Benchè presente nella molecola della d-tubocurarina, è stato riconosciuto che la funzione eterea non aveva una grande importanza.

Se si paragona all'estere dell'acido tereftalico [bis-iodoetilato di 1,4-bis-(carbossi-β-dietilamminoetil)-benzolo, VIII, 302 I. S.] il bis-iodoetilato di 1,4-bis-(β-dietilamminoetossi)-benzolo (xv), il bis-iodoetilato di

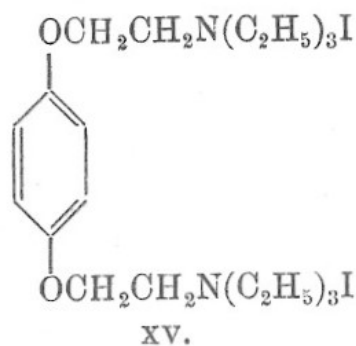
⁽¹¹⁾ D. BOVET, F. BOVET-NITTI, S. GUARINO, V. LONGO e M. MAROTTA. Questi Rendiconti.

1-(β -dietilamminoetossi)-4-(carbossi- β -dietilamminoetil)-benzolo (xvi) e il bis-iodoetilato di 1,4-bis-(β -dietilamminoetil)-benzolo (xvii, 347 I. S.).

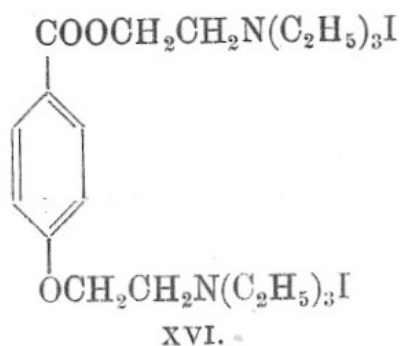
TABELLA X.



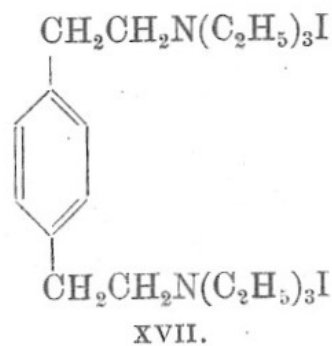
Dose head-drop: (mg/mg) 3



3



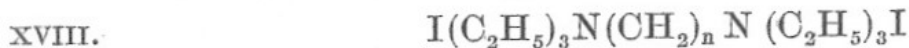
Dose head-drop: (mg/kg) 4



3

si vede che l'attività curarica è sensibilmente la stessa nei quattro derivati; nel coniglio i quattro derivati si distinguono soprattutto per la durata degli effetti esercitati. Gli esteri (VIII e XVI) hanno un'azione assai più breve che l'etere (XV) e il composto arilalifatico (XVII) che si mostrano più stabili.

Lo studio del bis-iodoetilato di 1,4-bis-(β -dietilamminoetil)-benzolo (XVII, 347 I. S.) è stato condotto sul cane con cura particolare (fig. 9) in ragione dell'analogia presentata da questa molecola con quella dei derivati alifatici (XVIII) in C_8 e in C_{10} studiati recentemente da Barlow e Ing ⁽¹²⁾



e di cui l'attività raggiunge nei derivati più attivi i 2/3 di quella della tubocurarina.

CONFRONTO FRA L'AZIONE CURARICA DEI DERIVATI BIS AMMONIO QUATERNARI APPARTENENTI ALLA SERIE AROMATICA E ALIFATICA

Il fatto che il nucleo aromatico non è indispensabile all'azione curarica risulta già dalle vecchie osservazioni di Crum Brown e Fraser effettuate sugli effetti esercitati dallo ioduro di tetrametilammonio nella trasmissione neuro-muscolare della rana.

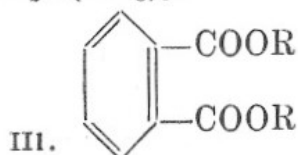
(12) R. B. BARLOW e H. R. ING, Nature, 16, 718 (1948).

Ciò è stato dimostrato nella serie degli idrati degli idrocarburi alifatici bis-ammonio quaternari da Willstaetter e Heubner ⁽¹³⁾ e recentemente da Barlow e Ing ⁽¹²⁾ e Paton e Zaimis ⁽¹⁴⁾.

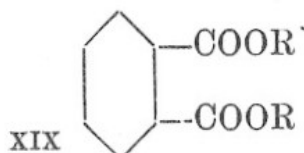
Ci è dunque parso interessante di completare queste osservazioni finora un po' frammentarie con lo studio sistematico degli esteri dei diacidi alifatici.

Per riduzione del nucleo aromatico del bis-iodoetilato del 1,2-bis-(carbossi-β-dietilamminoetil)-benzolo (iv, tab. xi) derivato di cui si conosceva l'azione notevole, si ottiene il bis-iodoetilato dell'esaidroftalato di dietilamminoetile (xx); semplificando sempre di più la molecola si arriva al bis-iodoetilato del succinato di β-dietilamminoetile (xxii) nel quale le due funzioni ammonio quaternarie sono ancora separate dallo stesso numero di atomi di carbonio; i tre prodotti manifestano sul coniglio proprietà farmacologiche analoghe.

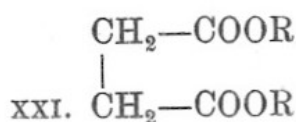
TABELLA XI.



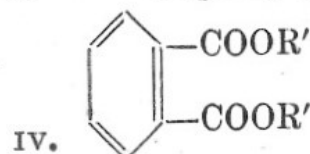
Dose head-drop: (mg/kg) 25



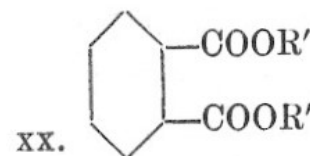
D. h-d: 25



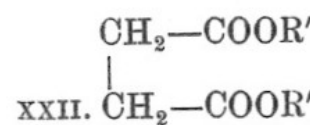
D. h-d: 0,3



Dose head-drop: (mg/kg) 7



D. h-d: 10



D. h-d: 8

La tabella xi indica il riavvicinamento che si può fare fra la ftalilcolina (bis-iodoetilato di 1,2-bis-(carbossi-β-dimetilamminoetil)-benzolo (iii) il bis-iodoetilato dell'esaidroftalato di β-dimetilamminoetile (xix) e la succinilcolina (bis-iodometilato del succinato di β-dimetilamminoetile, xxi).

Lo studio di questi esteri della colina ha messo in luce che non esiste una notevole differenza tra il composto aromatico derivato dall'acido ftalico (iii) e il composto ciclico derivato dall'acido esaidroftalico (xix), mentre che il derivato alifatico a catena normale, la succinilcolina, (xxi) è 50 volte più attivo. Svolgeremo quest'argomento in una seconda nota ⁽¹⁵⁾.

⁽¹³⁾ R. WILLSTAETTER e W. HEUBNER, Ber. deutsch. chem. Ges., 40, 3369 (1907); D. ACKERMANN, Münchn. Med. Wschr., 68, 12 (1921).

⁽¹⁴⁾ W. D. M. PATON e E. J. ZAIMIS, Nature, 16, 718 (1948).

⁽¹⁵⁾ D. BOVET e Coll., Questi Rendiconti.

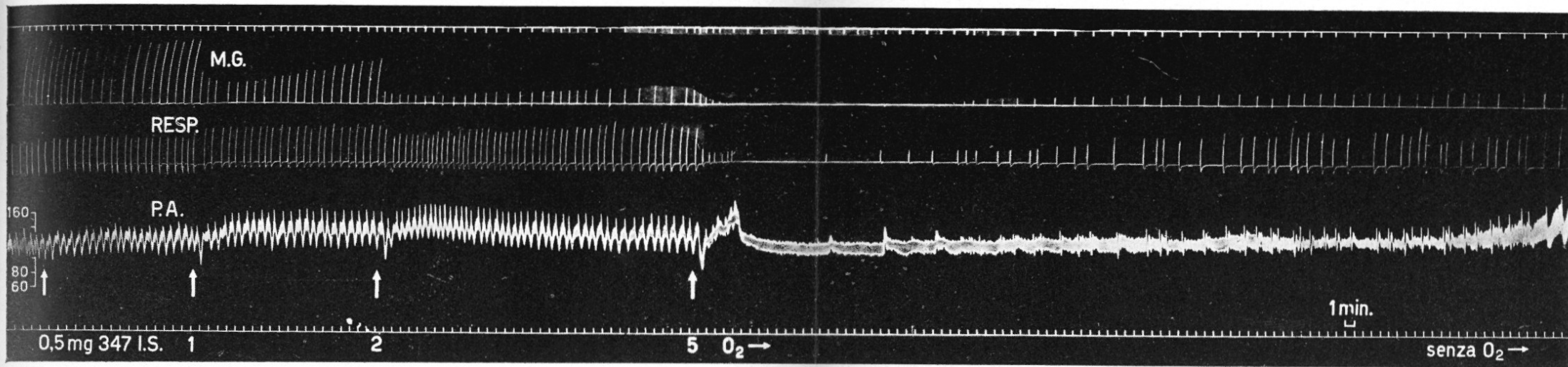
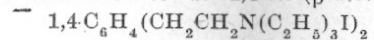


FIG. 9. - Azione curarizzante del bisiodoetilato di 1,4-bis-(β -diethylamminoetil)benzolo (347 I. S., XVII).



In seguito all'iniezione del 347 I. S. si osserva una depressione (0,5 mg 1 e 2 mg) poi la scomparsa degli effetti dell'eccitazione indiretta del muscolo gastrocnemio.

La diminuzione dell'ampiezza dei movimenti respiratori evolve parallelamente all'azione curarizzante.

La pressione arteriosa non appare quasi mutata.

Cane in narcosi cloralosica. Dosi in mg/kg. Endovena.

Prima linea: Contrazione del muscolo gastrocnemio (M. G.) consecutiva all'eccitazione ritmica del nervo sciatico.

Seconda linea: Registrazione dei movimenti respiratori spontanei (RESP)

Terza linea: Pressione arteriosa (P. A.).

Quarta linea: Tempo in minuti.