

ISTITUTO DI FARMACOLOGIA DELLA UNIVERSITA' DI PARMA
DIRETTORE PROF. V. ERSPAMER

**AZIONE ANTAGONISTA DI ALCUNI DERIVATI
DELL'ACIDO LISERGICO
SULLA ANTIDIURESI DA 5-IDROSSITRIPTAMINA**

With Summary

DI

GIUSEPPE DE CARO

(Manoscritto ricevuto il 18-12-1961).

Nel 1953 GADDUM ha individuato nella dietilamide dell'acido lisergico (LSD) un agente anti-5-idrossitriptaminico (anti-5-HT) di straordinaria efficacia. Successivamente si è visto che numerosi altri derivati dell'acido lisergico sono dotati di una azione enteraminolitica altrettanto (e talora più) spiccata.

I derivati dell'acido lisergico costituiscono oggi il gruppo dei più potenti antagonisti della 5-idrossitriptamina (5-HT). L'azione da essi posseduta si esplica sia *in vitro*, sull'organo isolato, che *in vivo*, sull'animale integro.

L'LSD previene l'azione della 5-HT sull'utero isolato di ratto in dosi di 0,5-1 µg per litro di soluzione nutritizia, e nelle stesse dosi inibisce la vasocostrizione da enteramina nell'orecchio isolato di coniglio (ERSPAMER, 1954-1961). A tali dosi l'azione dell'LSD può essere risolta dal lavaggio, ma a dosi maggiori (20-100 µg/l) l'effetto è irreversibile e l'antagonismo insormontabile (SAVINI, 1956).

La potente azione anti-5-HT si manifesta anche sull'ileo di cavia, colon di ratto, tenue di coniglio, utero di cavia, però l'attività esplicita su tali organi è inferiore a quella dimostrata nei confronti dell'utero di ratto in estro (SOLLERO e COLL., 1956).

Numerosi derivati dell'acido lisergico saggiati su tali tests hanno dimostrato di possedere tutti una notevole azione anti-5-HT, talora inferiore ma talora parecchio superiore a quella dell'LSD, il derivato per primo conosciuto e studiato.

Rifere
uguale a
1961) l'a
di sosta

Dietilan
2-Bromo
1-Metil-
1-Metil-
1-Metill

Anche i
una evic
L'LSD
tale test
(JQUES
confront
(HERXHI
la prote:

L'LSD
dalla inc
su tale
vamente
Scopo
da 5-HT
scelti fra
alta atti

Gli es
maschi,

Nel p
dieta ric
privati d

Al me
carico ic
sonda ga
100 gr c
I ratti
diuresi,

Riferendoci all'attività esplicata sull'utero di ratta, e considerando uguale a 100 quella propria dell' LSD, possiamo così valutare (ERSPAMER, 1961) l'attività di alcuni dei più potenti rappresentanti di questo gruppo di sostanze :

Dietilamide dell'acido lisergico (LSD)	: 100
2-Bromo-LSD (BOL)	: 70-150
1-Metil-LSD (MLD)	: 370
1-Metil-BOL (MOB)	: 530
1-Metilbutanolamide dell'acido lisergico (UML)	: 600-700

Anche *in vivo*, come s'è detto, i derivati dell'acido lisergico dimostrano una evidente azione anti-5-HT.

L' LSD previene il broncospasmo indotto nella cavia dalla 5-HT, e su tale test il preparato si dimostra altrettanto attivo che sull'utero di ratta (JAQUES e Coll., 1956). Analoga azione protettiva LSD esplica nei confronti dello shock anafilattoide della cavia da inalazione di 5-HT (HERXHEIMER, 1955), già in dosi di 5 µg/kg, mentre in dosi di 400 µg/kg la protezione è dell'85-100 %.

L' LSD si dimostra, inoltre, capace di prevenire l'edema prodotto dalla inoculazione di 5-HT nella regione plantare della zampa di ratto; su tale test MLD e MOB hanno attività quantitativamente e qualitativamente uguale a quella dell' LSD.

Scopo delle nostre ricerche è stato di studiare, sul test della antidiuresi da 5-HT, l'azione enteraminolitica di alcuni derivati dell'acido lisergico, scelti fra quelli che hanno dimostrato di possedere, su altri tests, la più alta attività anti-5-HT.

METODI E MATERIALI

Gli esperimenti sono stati condotti su circa 200 ratti albinetti adulti, maschi, del peso di 150-250 gr.

Nel pomeriggio precedente l'esperimento i ratti sono stati tenuti a dieta ricca di acqua (pane bagnato, verdura). Nella notte essi sono stati privati del cibo, ma è stata loro concessa acqua a volontà.

Al momento dell'esperimento gli animali sono stati sottoposti a un carico idrico mediante introduzione direttamente nello stomaco, con sonda gastrica, di una dose unica di 5 ml di acqua di fonte, tiepida, per 100 gr di peso.

I ratti sono stati riuniti, in gruppi di quattro animali, in gabbie da diuresi, e le urine raccolte in cilindri graduati. L'emissione delle urine è

stata seguita per 6 ore, a intervalli da 30 a 60 minuti (ERSPAMER e OTTOLENGHI, 1953).

Sono state studiate le seguenti sostanze: LSD, MLD, BOL, MOB e UML.

Le sostanze in esame sono state disciolte in soluzione fisiologica e introdotte in peritoneo (1 ml di soluzione per 100 gr di peso) in dosi di 100-500 $\mu\text{g/kg}$, 30' prima che venisse eseguito il carico idrico e che venisse somministrata la 5-HT.

Quest'ultima è stata introdotta sotto cute, immediatamente dopo il carico idrico, in dosi di 2 mg/kg di base libera, disciolta in soluzione fisiologica. Anche di tale soluzione se ne è inoculato 1 ml per 100 gr di peso.

In ogni esperimento il controllo è stato eseguito su di un gruppo di ratti sottoposti a semplice carico idrico e su di un secondo gruppo di animali trattati con carico idrico e 5-HT.

RISULTATI

La risposta dei diversi gruppi di ratti trattati con carico idrico e 5-HT è stata diversa da esperimento a esperimento: si è infatti passati da un blocco totale della diuresi della durata di oltre 2 ore, a un blocco parziale, con eliminazione, già nelle prime 2 ore, di circa l'8-10 % dell'acqua somministrata.

In media, dopo 60, 90 e 120', si è avuta una eliminazione del 2, del 4 e del 7 % circa dell'acqua introdotta. I controlli trattati con il semplice carico idrico hanno eliminato, nello stesso periodo di tempo, il 35, il 60 e l'80 % circa del carico.

Incostante è stata anche la risposta alle varie sostanze saggiate, come risulta dalla tabella I nella quale sono riuniti i dati relativi ad alcuni degli esperimenti da noi condotti.

Diciamo subito che nessuno dei composti studiati è stato capace, alle dosi da noi usate, di vincere completamente l'antidiuresi da 5-HT, pur presentando tutte, in grado più o meno elevato, la capacità di antagonizzare l'azione dell'enteramina. Questo è stato osservato anche nel corso di alcuni esperimenti preliminari nei quali la dose di 5-HT somministrata è stata notevolmente inferiore (0,5 mg/kg di base) a quella successivamente adottata per indurre l'antidiuresi.

I valori hanno subito oscillazioni talora notevoli, ma in complesso appare evidente quanto segue:

1. — Il BOL; e X; l'LSD non sono mai stati capaci di vincere, nei primi 60-90', l'antidiuresi da 5-HT. L'LSD ha provocato, dopo 120',

TABELLA I

No.	Sostanze	O R A						
		1	1,30	2	3	4	5	6
1	Co	25	42	73	77	80	90	96
	5-HT	2	4	5	15	32	50	65
	BOL	—	3	8	42	57	76	85
	MOB	9	13	26	65	73	82	85
2	Co	31	56	73	83	90	92	98
	5-HT	—	—	6	32	55	61	70
	BOL	—	17	31	49	62	72	78
	MOB	17	38	50	66	80	84	88
3	Co	35	56	70	78	82	85	90
	5-HT	3	5	9	18	38	51	56
	LSD	1	8	20	52	75	87	90
	UML	1	5	14	56	75	87	90
4	Co	50	82	97	110	115	117	119
	5-HT	4	6	8	19	38	59	65
	MLD	7	17	30	77	95	104	112
	UML	5	5	25	70	90	97	103
5	Co	26	51	67	80	83	88	90
	5-HT	2	4	5	13	28	40	50
	LSD	1	3	16	48	68	84	98
	MLD	4	8	29	67	90	100	102

Eliminazione % dell'acqua somministrata, nei tempi indicati. I numeri in grassetto indicano il momento in cui è stato raggiunto il 50 % della eliminazione.

La 5-HT è stata somministrata in dosi di 2 mg/kg di base; LSD, MLD, BOL, MOB e UML in dosi di 100 µg/kg.

una eliminazione di urina circa doppia di quella osservata nei controlli trattati con 5-HT, ma circa cinque volte inferiore a quella dei controlli sottoposti a semplice carico idrico (FIG. 1-3).

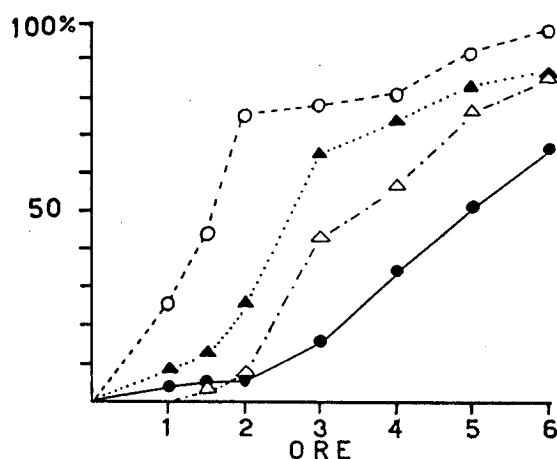


FIG. 1

- — — — ○ Controllo.
 ● — — — ● 5-HT, 2 mg/kg di base s.c.
 ▲ ····· ▲ MOB, 100 µg/kg e.p.
 △ — · — △ BOL, 100 µg/kg e.p.

Il ascisse il tempo in ore, in ordinate l'eliminazione urinaria percentuale dell'acqua somministrata.

Nei tempi successivi si assiste, sia per il BOL che per l'LSD, a una lisi quasi completa dell'antidiuresi da 5-HT.

2. — Agenti dotati di una più energica azione anti-enteraminica si sono dimostrati, nell'ordine, il MOB, il MLD e l'UML.

Il MOB ha prodotto, nei primi 60', una eliminazione di urine pari a 3 volte quella dei controlli trattati con 5-HT, e pari a circa 1/3 di quella dei controlli non trattati con 5-HT ma sottoposti a semplice carico idrico. Questi rapporti si sono grossolanamente mantenuti nei tempi successivi, dopo 90 e 120' (FIG. 1).

E' interessante il comportamento del MLD la cui azione si è progressivamente intensificata con il passare del tempo: ha raddoppiato, rispetto ai controlli trattati con 5-HT, l'escrezione urinaria nei primi 90', l'ha triplicata dopo 120', quintuplicata dopo 180', provocando una eliminazione di urine di poco inferiore a quella dei controlli sottoposti a carico idrico ma non iniettati con 5-HT.

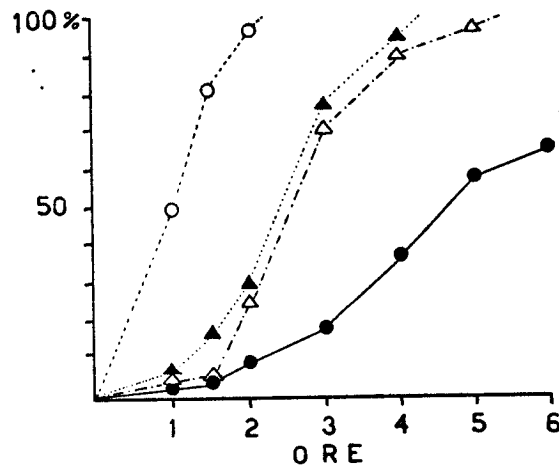


FIG. 2

- — — — ○ Controllo.
 ● — — — ● 5-HT, 2 mg/kg di base s.c.
 △ — — — △ UML, 100 µg/kg e.p.
 ▲ ▲ MLD, 100 µg/kg e.p.

In ascisse il tempo in ore, in ordinate l'eliminazione urinaria percentuale dell'acqua somministrata.

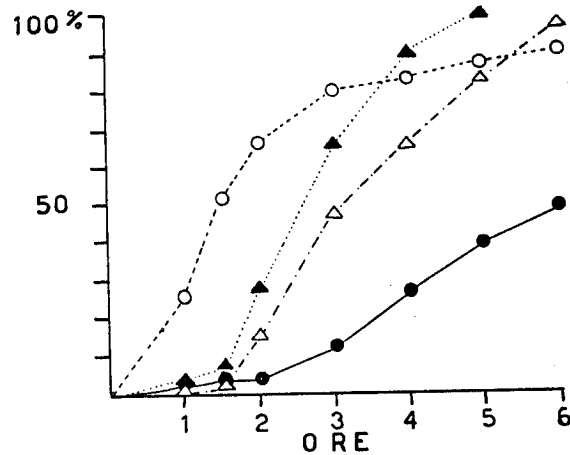


FIG. 3

- — — — ○ Controllo.
 ● — — — ● 5-HT, 2 mg/kg di base s.c.
 △ — — — △ LSD, 100 µg/kg e.p.
 ▲ ▲ MLD, 100 µg/kg e.p.

In ascisse il tempo in ore, in ordinate l'eliminazione urinaria percentuale dell'acqua somministrata.

Nelle esperienze da noi eseguite, infine, sembra all'incirca uguale Sia il MOB che il MLD si sono dimostrati circa due volte più attivi dell'UML.

Anche questi composti, come i primi due, hanno provocato, nelle ultime ore dell'esperimento, uno sblocco quasi completo dell'antidiuresi da 5-HT.

3. — Non si sono avute differenze degne di nota, nè quantitative nè qualitative, fra le risposte dei ratti trattati con dosi di 100 µg/kg e quelle degli animali inoculati con 500 µg/kg di sostanza.

DISCUSSIONE

La valutazione dei dati in nostro possesso incontra un grave ostacolo nella incostanza delle risposte dei diversi gruppi di animali a dosi uguali di una stessa sostanza, manifestata sia nei confronti della 5-HT che nei confronti degli inibitori della 5-HT saggianti.

Si deve anzitutto notare che una completa lisi dell'azione antidiuretica enteraminica non si è mai ottenuta, per quanto alte fossero le dosi degli antagonisti somministrate. Questo fatto induce a ritenere che nessuno dei composti da noi saggianti sia dotato, sul test della antidiuresi da 5-HT, di una azione enteraminolitica totale, pur essendo indiscutibile che alcuni di essi (MOB, MLD) siano da considerarsi, anche su tale test, antagonisti della 5-HT di indubbia potenza.

E' interessante sottolineare come le sostanze prese da noi in esame sul test dell'antidiuresi da 5-HT presentino una attività che possiamo definire modesta in paragone alla potente azione anti-5-HT che hanno dimostrato di possedere su altri reattivi (ERSPAMER, 1961; FLÜCKIGER e SALZMANN, 1961).

I dati in nostro possesso ci permettono di affermare, a conferma dei dati della letteratura (DOEPFNER e CERLETTI, 1958) che i derivati metilati in posizione 1 sono dotati di maggiore attività rispetto alle sostanze madri non metilate, come risulta dagli esperimenti condotti saggiando in parallelo le prime contro le seconde.

Sotto questo aspetto è particolarmente indicativo il comportamento del BOL e del MOB, come risulta dalla tabella I la quale dimostra che nei primi 60' il BOL è incapace di vincere l'antidiuresi da 5-HT, mentre il MOB induce una eliminazione urinaria del 9-17 %, e che dopo 120' a una emissione di urine dell'8-26 % degli animali trattati con BOL corrisponde una diuresi del 38-50 % da parte dei ratti iniettati con MOB.

Meno clamorosa, ma sempre evidente, è la differenza fra l'attività dell'MLD e dell'LSD, l'uno tre volte circa più attivo dell'altro.

circa uguale
e più attivi

ocato, nelle
l'antidiuresi

ntitative nè
/kg e quelle

ve ostacolo
dosi uguali
HT che nei

ntidiuretica
e dosi degli
he nessuno
si da 5-HT,
utibile che
a tale test,

esame sul
mo definire
dimostrato
SALZMANN,

nferma dei
ati metilati
anze madri
ggiando in

ortamento
nostra che
T, mentre
dopo 120'
i con BOL
i con MOB.
a l'attività

l'attività del BOL e dell'LSA, da una parte, e dell'MLD e MOB dall'altra
mentre una attività di valore intermedio sembra posseduta dall'UML.

RIASSUNTO

L'attività anti-5-HT dell'LSA, MLD, BOL, MOB e UML è stata studiata
sul test dell'antidiuresi da 5-HT nel ratto.

Su tale test tutti gli antagonisti saggiati hanno dimostrato una attività
anti-5-HT inferiore a quella esplicata su altri tests. Una lisi completa
dell'antidiuresi enteraminica non è stata mai raggiunta.

E' stato confermato il dato della maggiore attività dei derivati metilati
in posizione 1 rispetto ai relativi prodotti non metilati. L'UML è ap-
parso meno attivo degli altri derivati metilati, MLD e MOB.

Ringraziamo il Dr. J. RENZ, Direttore dei Laboratori Sandoz di Basilea per generosi
campioni dei derivati dell'acido lisergico.

SUMMARY

The anti-5-HT activity of LSD, MLD, BOL, MOB and UML was studied using
as a test-object the antidiuretic action of 5-HT in the rat.

All the examined compounds were less active in counteracting 5-HT antidiuresis
than in blocking the action of 5-HT in other preparations or tests. A complete block of
5-HT antidiuresis was never achieved.

The 1-methylated compounds appeared more effective than their non-methylated
precursors. UML was less effective than MLD and MOB.

BIBLIOGRAFIA

1. — DOEPFNER, W. e CERLETTI, A. *Int. Arch. Allergy and appl. Immunol.*, 1958, 12, 89.
2. — ERSPAMER, V. e OTTOLENGHI, A. *Arch. int. Pharmacodyn.*, 1953, 93, 177.
3. — ERSPAMER, V. *Pharmacol. Rev.*, 1954, 6, 425.
4. — ERSPAMER, V. *Progress in Drug Research*, 1961, 3, 265.
5. — FLÜCKIGER, E. e SALZMANN, R. *Experientia*, 1961, 17, 131.
6. — GADDUM, J. H. *J. Physiol.*, 1953, 126, 15P.
7. — HERXHEIMER, H. *J. Physiol.*, 1955, 128, 435.
8. — JAKES, R., BEIN, H. J. e MEIER, R. *Helv. physiol. pharmacol., Acta*, 1956, 14, 269.
9. — SAVINI, E. C. *Brit. J. Pharmacol.*, 1956, 11, 313.
10. — SOLLERO, L., PAGE, I. H. e SALMOIRAGHI, G. C. *J. Pharmacol. exp. Ther.*, 1956, 117, 10.