

déprime pas les mécanismes physiologiques de l'homéostasie de la pression artérielle<sup>1</sup>. Les réflexes proprioceptifs de l'homéostasie de la pression artérielle furent déclenchés en modifiant la pression endo-vasculaire au niveau des pressor-récepteurs du sinus carotidien. Nous avons utilisé, dans ces expériences, l'Intocostrin<sup>2</sup>, un extrait purifié du curare, qui contient essentiellement de la tubocurarine.

L'ensemble de ces expériences démontre que:

1° La tubocurarine, administrée en injection intraveineuse lente et à des doses cliniques, ne détermine pas ou une très faible diminution de la pression artérielle générale, alors que la paralysie neuromusculaire est toutefois complète.

Dans ces mêmes conditions, la tubocurarine ne déprime pas les mécanismes vasomoteurs réflexes de l'homéostasie de la pression artérielle générale. La tubocurarine ne déprime ou ne paralyse donc pas, à ces doses, la conduction synaptique.

2° La tubocurarine, administrée à des doses cliniques, mais en injection intraveineuse rapide, entraîne une chute, parfois passagère, de la pression artérielle générale et déprime les mécanismes vasomoteurs de l'homéostasie circulatoire. L'éphédrine fait disparaître ces réactions.

3° La tubocurarine, administrée rapidement en injection intraveineuse à des doses élevées, provoque une chute, parfois profonde, de la pression artérielle générale et une suppression des réflexes vasomoteurs de l'homéostasie circulatoire. Ni l'éphédrine, ni la prostigmine ne font disparaître ces réactions dépressives de la tubocurarine sur la circulation sanguine.

4° La prostigmine lève l'action paralysante neuromusculaire de la tubocurarine. Cet antagoniste entre la prostigmine et la tubocurarine n'est toutefois pas liée à une intervention de la cholinestérase.

C. HEYMANS

Institut J. F. Heymans de pharmacodynamie et de thérapie de l'Université de Gand (Belgique), le 17 septembre 1946.

#### Summary

Experiments performed on dogs show that:

- (1) Slow intravenous injection of a clinical dosis of tubocurarine (Intocostrin) does not produce a decrease or only a slight and momentary fall in general arterial blood pressure, although the neuromuscular paralysis is complete. In these conditions, tubocurarine also does not depress the physiological mechanisms of the blood pressure homeostasis. In clinical dosis, tubocurarine thus does not block synaptic conduction.
- (2) Rapid intravenous injection of a clinical dosis of tubocurarine induces a fall in general blood pressure, which is sometimes momentary, and depresses the mechanisms of blood pressure homeostasis. These influences of tubocurarine are counteracted by ephedrine.
- (3) Rapid intravenous injection of a large amount of tubocurarine, produces a marked fall in blood pressure and a paralysis of the blood pressure homeostasis. These influences are not counteracted by ephedrine or prostigmine.
- (4) Prostigmine counteracts, as already known, the neuromuscular depression induced by tubocurarine. This antagonism is however not related to an influence of tubocurarine on the cholinesterase.

<sup>1</sup> C. HEYMANS et F. BAYLESS, Arch. int. Pharmacodyn. 56, 419 (1937).

<sup>2</sup> Curare, Intocostrin (292 pages), published by E. R. Squibb and Sons, New York 1946 (avec large bibliographie).

#### Antibiotico attivo sui bacilli del tifo

Da circa 18 mesi è stata studiata nel nostro Laboratorio una muffa ad azione antibiotica su germi del tifo. La muffa in questione è stata isolata da frutti del caco dal D.<sup>r</sup> CALLERIO che ne ha iniziato lo studio saggiandone l'attività su germi diversi e sperimentando diversi terreni di coltura.

Vi sono buoni elementi per identificare tale muffa con il *Penicillium expansum*.

Tra i terreni culturali liquidi sperimentati si è trovato più rispondente allo scopo quello di brodo di carote opportunamente integrato con l'aggiunta di sostanze minerali e glucosio.

Con tale terreno la sporificazione è completa al 5.<sup>o</sup>/6.<sup>o</sup> giorno dopo la semina.

Fra i terreni solidi il più confacente è l'agar malto; il ciclo evolutivo è raccorciato avendosi completa sporificazione già al 4.<sup>o</sup> giorno.

L'optimum di temperatura è a 24°-25° C. La muffa risente molto di variazioni di temperatura e di umidità ambiente, essendo favorita da un'umidità relativamente elevata e da buone condizioni di aerobiosi.

L'attività più alta riscontrata nel filtrato culturale grezzo, con il metodo delle diluizioni, era di 1/640 su germi del tifo. Per le prove di attività su piastre, col metodo indicato da CALLERIO<sup>1</sup>, si hanno valori corrispondenti a circa 1/8-1/10 di quelli ottenuti con il metodo delle diluizioni.

Il  $p_H$  inizialmente scende, nei terreni non tamponati, sintetici tipo Czapek-Dex, a 3,4-4; risale poi lentamente fino alla neutralità al 5.<sup>o</sup> o 6.<sup>o</sup> giorno, sale poi fino a 8. Il glucosio parallelamente discende, essendo però sempre largamente presente anche dopo parecchi giorni di coltura. L'attività è massima in corrispondenza della completa sporificazione al 5.<sup>o</sup>/6.<sup>o</sup> giorno di coltura; diminuisce nei giorni successivi fino a scomparire del tutto con l'alcalinizzazione del terreno.

Nei terreni nei quali la crescita è deficiente o la sporificazione manca o è fortemente ritardata la muffa non dà per nulla attività o comunque questa è molto scarsa. Così ad es. su terreno di Raulin Dierks.

Sono stati compiuti tentativi d'incrementare la produzione dell'antibiotico mediante ripetuti passaggi della muffa in presenza di bacilli di tifo. La presenza di questi vivi o morti nel terreno culturale della muffa è senza effetto. Si è anche seguito il seguente procedimento: su piastre di agartifo si seminava un piccolo numero di spore, si portava in termostato a 24° C per 4 giorni, prelevando quindi per la semina dalle colonie così ottenute. In qualche caso si è potuto con questo procedimento ottenere qualche ceppo lievemente più attivo.

#### Saggi di estrazione e purificazione della sostanza attiva

Un primo procedimento di estrazione del principio attivo è basato sull'adsorbimento diretto del terreno di coltura con carboraffina. L'attività del liquido dopo adsorbimento cade a zero; pochi granelli di polvere di carbone posti su piastra di agar germi danno un esteso alone d'inibizione.

L'eluizione della sostanza attiva dal carbone è molto difficile e riesce solo in parte e con scarso rendimento; possono essere usate a questo scopo miscele di etere + alcool metilico 2%, oppure alcool etilico puro o etere puro.

<sup>1</sup> CALLERIO, Boll. Soc. ital. Biologia sperimentale 20, 487 (agosto 1945).

L'eluizione non riesce con acetone nè con acidi diluiti. Una certa concentrazione del principio attivo si può anche ottenere per congelamento del filtrato colturale e disgelo frazionato. La prima frazione ottenuta per disgelo è diverse volte più attiva del liquido di partenza.

I migliori risultati sono però stati ottenuti mediante estrazione con forti volumi di etere a  $p_H$  6-7.

1 volume di filtrato colturale viene estratto per 6 volte, ogni volta con volume di etere = a quello del filtrato eterico.

Si procede poi alla concentrazione dell'estratto mediante distillazione a temperatura non superiore a  $45^\circ C$  — in tal modo si sono ottenuti campioni attivi a  $1:10^6$  su tifo. Nella concentrazione si ottengono costantemente alla titolazione biologica attività lievemente superiori alle teoriche. Con le successive concentrazioni si ottiene una sostanza gommosa di color rosso mattone e delle frazioni gialle che aderiscono alla parete del recipiente. La purificazione si è ottenuta mediante cromatografia su adsorbenti vari, il più adatto di questi è l'idrossido Al lavato ed essicato. La cromatografia è effettuata sull'estratto eterico opportunamente concentrato; il liquido, con colonne di altezza adatta, filtra incolore, o lievemente colorato in giallo, ed è completamente inattivo.

L'attività è localizzata negli ultimi strati incolori della colonna cromatografica, come si può direttamente constatare portando piccole frazioni essicate della polvere su piastre di agar germi.

L'eluizione della sostanza attiva può essere ottenuta con miscele di etere con il 2% di alcool metilico o etilico. Evaporando questi eluati in presenza di piccoli volumi di acqua si possono ottenere delle sospensioni incolori fortemente attive.

La sostanza attiva presente nei filtrati colturali viene distrutta per riscaldamento a  $80^\circ C$  per 30', i concentrati sospesi in acqua perdono il 50% dell'attività per riscaldamento a  $100^\circ C$  per 15'.

Mediante dialisi attraverso cellofan o pergamena parte della sostanza passa nel dialisato. Una lieve alcalinità è sufficiente a produrre la distruzione della sostanza che resiste invece agli acidi a freddo fino a  $p_H$  1,5-2.

La conservazione dei filtrati colturali a  $0^\circ C$  è di circa 10 gg; gli estratti si conservano per un periodo maggiore; su carbone l'attività si conserva per un lungo periodo anche a temperatura ambiente.

#### Proprietà biologiche

L'antibiotico non è inattivato da brodo di carne, peptone, siero; è invece inattivato da lievi spostamenti del  $p_H$  verso l'alcalinità. Non è emolitico verso i globuli rossi di montone anche ad alte concentrazioni. È notevolmente tossico: dell'estratto grezzo bastano poche gocce iniettate per via parenterale nel topino bianco per provocare la morte istantanea con convulsioni, alterazioni del respiro e del ritmo cardiaco.

Estratti purificati mediante due cromatografie, sospesi in  $H_2O$  o in soluzione fisiologica attivi a  $1:2000$ , provocano la morte entro le 24 h con emorragie ed edemi polmonari se iniettati parenteralmente, alla dose di  $0,5\text{ cm}^3$ .

L'azione dell'antibiotico sui germi del tifo è prevalentemente batteriostatica.

*Spettro di attività*, determinato mediante estratto cromatografato ad attività sul tifo  $1/4000$  determinato secondo il metodo delle diluizioni in brodo insemato con  $0,1\text{ cm}^3$  di un'agar-cultura di 24 h sospesa in  $10\text{ cm}^3$  di brodo.

+++ sta ad indicare inibizione completa dello sviluppo.

	1/2000	1/3000	1/4000
Coli . . . . .	—	—	—
Paratifo A . . . . .	—	—	—
Paratifo B . . . . .	—	—	—
Tifo . . . . .	+++	+++	+++
FLEXNER . . . . .	—	—	—
Hiss . . . . .	—	—	—
Carbunchio . . . . .	+++	+++	++
Melitense . . . . .	+++	+++	+++
Stafilo 114 . . . . .	—	—	—
Stafilo albo . . . . .	—	—	—
Streptococco piogeno .	—	—	—
Meningococco . . . . .	—	—	—

Siamo grati al Prof. BALDACCI dell'Università di Pavia per gli studi compiuti nell'identificazione della muffa; al Prof. MAMOLI del nostro Laboratorio, per l'assistenza dataci nei saggi di estrazione.

A. DI MARCO

Laboratorio ricerche «Farmitalia», sezione biologica, Milano, il 25 settembre 1946.

#### Résumé

Les cultures d'un *Penicillium*, probablement identique à *P. expansum*, fournissent des filtrats dont l'action antibiotique sur le Bacille d'Eberth a été étudiée. La substance active, concentrée par extractions successives, a été purifiée par des procédés chromatographiques. Par ses propriétés, cette substance diffère des antibiotiques déjà connus: son action est remarquablement sélective et sa haute toxicité ne laisse pas espérer d'application thérapeutique.

#### Istamina «condizionatore positivo» dell'azione purgativa di alcuni drastici

È ormai acquisito come le «sostanze attive tessutali» (gruppo non omogeneo e comprensivo di sostanze, deputate in genere a espletare mansioni di «regolazioni locali») possano, in quanto insite in tutti i tessuti e proprie di tutti i tessuti, fungere da «mediatrici» e «condizionatrici», «positive» o «negative» (DI MATTEI<sup>1</sup>), di fenomeni fisiologici, di fenomeni patologici e di fenomeni farmacologici che nei tessuti stessi abbiano luogo e possano anche essere, a loro volta, influenzate da agenti esterni di ogni genere, ma soprattutto da farmaci, nei loro processi, fisiologici e patologici, di liberazione e di inattivazione.

La più interessante, la più importante e la più studiata delle sostanze attive tessutali è senza dubbio l'istamina, identificata ormai ad opera di tutta una serie di indagini i cui risultati possono essere considerati definitivi come il «condizionatore positivo» dello choc anafilattico e peptonico, come il «condizionatore positivo» e il «mediatore» di parte o di tutte le azioni farmacologiche

<sup>1</sup> P. DI MATTEI, Romania medicala, 1 mai 1941.