

Studio quantitativo dello spettro di fluorescenza della dietilamide dell'acido lisergico *

GIUSEPPE ANDREA BUSCAINO

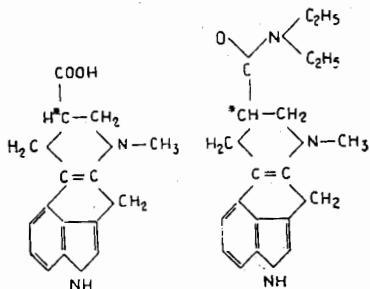
Clinica delle malattie del sistema nervoso dell'Università di Cagliari

Riassunto: L'A. ha ricercato con il procedimento della spettrofotometria fotografica quantitativa (Ornstein, Moll e Burger) i caratteri spettrofotometrici nel visibile della fluorescenza della LSD 25 (tartrato della dietilamide dell'acido d-lisergico) e ne ha definita la curva di distribuzione dell'energia I (λ). La fluorescenza, azzurro-brillante, si risolve spettrograficamente in un'ampia banda continua che va da 3800 A° a 6000 A°; il massimo reale dell'emissione è intorno a 4460 A°. La curva di distribuzione energetica, oltre ad essere caratterizzata dal massimo a 4460 A°, mostra una sensibile inflessione a 4200 A°. Questo spettro, però, non è risultato identificabile nel siero di sangue di un soggetto trattato con LSD 25.

Tutte le sostanze attive specifiche della segale cornuta trovate in natura fino ad oggi contengono un componente caratteristico, l'acido d-lisergico, scoperto, preparato e descritto da Jacobs. L'acido lisergico si forma per scissione idrolitica energetica degli alcaloidi della segale cornuta e chimicamente è stato identificato come un sistema eterociclico insaturo molto complicato, la cui formula (Jacobs) è riportata qui a lato. Successivamente, specie ad opera di ricercatori svizzeri, sono state meglio definite le caratteristiche fisico-chimiche e farmacologiche dell'acido lisergico e di molti altri prodotti ottenuti per sintesi in laboratorio agganciando all'acido lisergico radicali chimici diversi; molto studiati ne sono stati in particolare i derivati amidici. Uno di questi appunto è la dietilamide dell'acido lisergico (LSD), preparata per la prima volta nel 1938 da Stoll e Hofmann condensando acido d-lisergico naturale con un'ammina secondaria, la dietilamina.

La LSD è abbastanza solubile in acqua distillata, ma se l'acqua è alcalina conviene aggiungere per facilitare lo scioglimento un po' di acido tartarico cristallizzato.

Dal punto di vista farmacologico la LSD è notevolmente attiva sull'utero isolato di coniglia, ma non raggiunge gli effetti dell'ergobasina. Anche sull'organo *in*



acido lisergico.

dietilamide dell'acido lisergico (LSD) (*).

(*) Ricerca eseguita usufruendo di una borsa di studio del CNR, presso l'Istituto di zoologia (sezione di isto-spettrofotometria) dell'Università di Napoli.

(†) Errata-Corrige. Tra O e C occorre mettere un doppio legame.

situ la LSD esplica la sua azione in modo evidente. Da notare che gli animali in narcosi, dopo iniezioni di dosi relativamente piccole di LSD, diventano eccitati, cosa non osservata con alcuno degli alcaloidi naturali della segale cornuta finora studiati (Stoll).

Si è anche visto (Stoll) che la LSD, come la bulbo-capnina, è capace di provocare nel cane e nel gatto particolari stati di rigidità motoria che molto somigliano a quadri catatonici.

Ma le proprietà farmacologiche più vistose della LSD, per cui questa sostanza ha destato molto interesse fra i cultori della neuropsichiatria, sono quelle che si osservano sul sistema nervoso. Tali proprietà, per certi aspetti molto paragonabili a quelle della mescalina, sono state scoperte causalmente da Hofmann e studiate a fondo da Stoll prima e poi da Condrau e da Becker e infine da De Giacomo.

In sintesi, la somministrazione in soggetti sani di LSD provoca:

a) disturbi vegetativi: malessere, senso di caldo o di freddo, vertigini, palpitazione, arrossamento del viso, acrocianosi, ipersalivazione, crampi ai polpacci, nausea, vomito, tendenza al rallentamento del polso ed all'abbassarsi della pressione del sangue;

b) disturbi neurologici: lieve atassia, Romberg positivo, menomazione nella pronuncia delle parole o della scrittura, a volte iperreflessia, tendenza all'iperattività (bisogno di muoversi, di « fare qualche cosa »);

c) accentuazione in genere dello stato d'animo preesistente; però comparsa anche di stati d'indifferenza affettiva verso l'ambiente esterno, persino verso i propri bambini; senso forte d'isolamento, mancanza d'impulsi al movimento; taciturnità, di regola anche bisogno immotivato di ridere; a volte idee suicide;

d) diminuzione della capacità di concentrazione attentiva; ideazione interrotta con una certa tendenza alla perseverazione (un ritornare cioè continuo su temi già sviluppati); difficoltà di esprimersi perché le idee ed anche le parole ad un tratto « svaniscono »; spunti paranoidei (impressione di sentirsi guardato, studiato, sorvegliato);

e) illusioni di movimento: gli oggetti sono visti con contorno in continua deformazione, come se si guardasse l'immagine sopra uno specchio d'acqua tremolante (Hofmann); le lettere di uno stampato « ballano » (Stoll);

f) alterazioni del gusto (in specie sapore metallico in bocca);

g) trasformazione illusionale di percezioni acustiche;

h) allucinazioni acustiche;

i) allucinazioni visive non troppo complesse: punti, disegni e striscie, macchie, quadri mosaiceggianti, maschere grottesche, prevalentemente in movimento continuo, continuamente cambianti caleidoscopicamente, di colori vivacissimi (tipo mescalina), a preferenza di tonalità rossa;

l) allucinazioni macroptiche (« occhi di volume decuplo del normale »);

m) vera e propria macropsia (alcune frasi di uno scritto reale viste con caratteri tipografici di corpo triplo delle rimanenti) o micropsia (p. es. il fenomeno tipografico inverso);

n) eterometamorfosie o metamorfosie degli oggetti esterni (o illusioni di forma) visione della sola testa o del solo petto di una persona reale; aumento o diminuzione di volume della testa delle persone circostanti con realizzazione anche asimmetrica tra le due metà, destra o sinistra; il naso delle persone « spesso e gonfio »;

o) autometamorfosie o metamorfosie di parti della propria persona (o illusione di alterazione della forma di parti o del proprio corpo, alterazioni del cosiddetto « schema corporeo »): le proprie mani ingrossate e pesanti o lontane e piccole, come

guardate attraverso un binocolo capovolto (Stoll); il corpo proprio percepito come « spezzettato » come in alcune pitture moderne;

p) autotopoagnosie o mancato riconoscimento di parti del proprio corpo (la bocca, le mani proprie, se toccate, percepite come appartenenti ad estranei o percepite come perse; la propria voce come se venisse dal di fuori);

q) fenomeni di audizione colorata (facilmente comprensibili per chi ricordi in ispecie le visioni colorate provocate da una data nota musicale nelle « Fantasie » di Walt Disney)». (Da Buscaino V. M.).

Importantissimo è il fatto che la LSD agisce in un individuo adulto in dosi straordinariamente piccole (20-30 gamma in tutto per os), che rientrano nelle dimensioni che possono essere assegnate ad eventuali tossine nelle cosiddette psicosi infettive ed endotossiche. E Stoll è del parere che anche nelle psicosi spontanee, la cui natura endotossica è da lungo tempo sospettata ma non ancora dimostrata, possano avere molta importanza sostanze tossiche dello stesso tipo. Somministrando la LSD a schizofrenici Condrau ha osservato che in generale gli ebefrenici diventavano ancora più ebefrenici e i catatonici ancora più catatonici. De Giacomo, infine, è riuscito ad ottenere, con dosi però più elevate, tipici stati catatonici in malati (schizofrenici) che mai erano stati catatonici.

Avendomi la Direzione del laboratorio farmacologico della casa Sandoz di Basilea gentilmente fornito un certo quantitativo di LSD 25, ⁽²⁾ che è risultata notevolmente fluorescente in soluzione acquosa neutra, e dato che contemporaneamente eseguivo ricerche sulla spettrofotometria di fluorescenza del siero di sangue umano, mi sono proposto di stabilire i caratteri spettrofotometrici nel visibile della fluorescenza della LSD e di definirne la curva di distribuzione dell'energia I (λ), che è l'espressione grafica della legge secondo la quale è distribuita l'energia di fluorescenza in funzione della lunghezza d'onda. Sono stato anche invogliato a questa ricerca dal fatto che, essendo tutti i derivati dell'acido lisergico, sia naturali che sintetici, dotati di fluorescenza all'irraggiamento con luce U. V., la caratterizzazione precisa dei vari flussi di fluorescenza, possibile con la metodica da me adoperata, potrebbe essere utile, oltre che per riconoscere e differenziare ulteriormente un composto dall'altro, anche per un'eventuale loro ricerca e dosaggio nell'organismo.

Il procedimento adoperato è stato quello della spettrofotometria fotografica quantitativa ⁽³⁾ (Ornstein, Moll e Burger), introdotta in Italia per la prima volta da De Lerma, la quale, basandosi sul confronto fra l'emissione luminosa in studio e quella di una sorgente continua nota nelle sue caratteristiche fotometriche, permette di definire in maniera obbiettiva il flusso luminoso risalendo dagli annerimenti della lastra alla legge di distribuzione dell'energia nello spettro della sorgente in studio (da De Lerma).

La soluzione acquosa neutra di LSD 25 da me adoperata (1 : 50.000) è stata aspirata in un tubicino capillare di quarzo dal diametro interno di 1,5 mm e mantenuta in condizioni di lento efflusso continuo per evitare azioni fotochimiche in seguito all'irraggiamento U.V. Il tubicino capillare di quarzo, orientato parallelamente alla fenditura dello spettrografo nel piano contenente l'asse del collimatore, era investito da un fascio U.V. emesso da una lampada Osram a vapori di mercurio schermata con filtro di Wood all'ossido di nichelio per l'esclusione del visibile: radiazioni eccitatrici prevalenti intorno ai 3655 Å. Tali radiazioni inoltre venivano

⁽²⁾ 1 cc di soluzione contiene: LSD 25 γ 20, ac. tartarico γ 10, alcool c.c. 0,05, glicerina c.c. 0,15, acqua cc 0,80.

⁽³⁾ La dizione *quantitativa* si riferisce al valore *relativo* dell'energia emessa in corrispondenza delle varie radiazioni (esprese in λ) componenti il flusso luminoso.

concentrate mediante un duplice condensatore di quarzo sulla sezione del tubicino, e quindi della colonna liquida in esso contenuta, in corrispondenza dell'asse del collimatore. Si aveva così un'intensa emissione di fluorescenza del breve tratto di colonna di soluzione di LSD, alto circa 2-3 mm, investito dall'irraggiamento stesso. Il flusso di fluorescenza veniva concentrato e posto a fuoco sulla fenditura dello spettrografo a mezzo di lente acromatica di conveniente apertura. Sul percorso del flusso di fluorescenza verso il collimatore dello spettrografo fu interposta una vaschetta di vetro a facce piane e parallele, spessa 1 cm e contenente una soluzione al 2 % di NaNO_2 , praticamente e con uniformità del tutto trasparente al visibile, ma opaca all'U.V. in modo da assorbire la frazione di raggi eccitatori riflessa dalla parete cilindrica del tubicino di quarzo. Lo spettrografo-spettrometro adoperato è stato uno Zeiss a grande intensità (F. 1 : 4,5) che dà uno spettro lungo 41 mm, con bracci a 90° , a deviazione costante. la cui dispersione è la seguente: 45 A°/mm a 4000 A° ; 54 A°/mm a 4500 A° ; 81 A°/mm a 5000 A° ; 144 A°/mm a 6000 A° .

La fenditura dello spettrografo fu tenuta a 0,15 mm e i tempi di posa più efficaci si sono dimostrati quelli dai 2' ai 5'; i vari spettri furono fotografati uno sotto l'altro sulla medesima lastra.

Siccome in un'emissione a spettro continuo, per l'apprezzamento della posizione reale del massimo nello studio della distribuzione spettrale dell'energia, bisogna tener conto oltre che delle caratteristiche di sensibilità dell'emulsione fotografica anche della legge di dispersione dello spettrografo, è stato necessario l'impiego di un campione fotometrico, costituito da una lampada tarata ad incandescenza, di costruzione Kipp e Zonen di Delft, di 100 Watts 6 Volts, a nastro di tungsteno, munita di certificato di taratura (relazione fra temperatura assoluta e intensità della corrente di alimentazione) rilasciato dal Laboratorio di spettrofotometria dell'Istituto fisico di Utrecht.

« Il flusso emesso dalla sorgente tarata, diffuso da uno schermo all'ossido di magnesio (diffusore praticamente non selettivo, nella zona spettrale del visibile), era inviato sulla fenditura dello spettrografo a mezzo di un condensatore acromatico. Per affievolire la sorgente tarata di riferimento si faceva gradatamente diminuire l'intensità della corrente di alimentazione (mantenuta rigorosamente costante durante le pose...) tenendo conto della legge della distribuzione spettrale dell'energia emessa dal filamento alle varie temperature ». (da De Lerma e Arpino).

Si sono dimostrate rispondenti ai requisiti necessari le lastre pancromatiche Ferrania « Superex », che presentano buona sensibilità in quasi tutto il visibile, da 6700 A° nel rosso al violetto estremo, con un minimo molto pronunciato nel verde intorno a 4950 A° . Una volta impressionate le lastre vennero sviluppate, a distanza di 24 ore circa dalla registrazione degli spettri, immergendole per 6' esatti in un bagno rivelatore a 18° così composto: metolo g 0,7, iposolfito di sodio g 2, idrochinone g 0,5, carbonato di sodio g 4) acqua cc 250.

Gli spettrogrammi così ottenuti furono successivamente fotometrati nel senso delle lunghezze d'onda con il grande microfotometro Zeiss a registrazione fotoelettrica e dalle curve così ottenute (microfotometrie) vennero ricavati ad intervalli di 20-30 A° i valori della densità ottica (annerimento della lastra) (*). Applicando i principi della spettrofotometria fotografica quantitativa, dopo avere definita la curva di sensibilità della lastra alle varie radiazioni e dopo aver calcolato il valore della dispersione dello spettrografo nell'intervallo spettrale in esame in corrispondenza delle

(*) La registrazione delle fotometrie è stata eseguita presso il Laboratorio di fisica dell'Istituto superiore di sanità di Roma.

uguali lunghezze d'onda, fu ricavata per interpolazione la curva $I(\lambda)$ ⁽⁶⁾ relativa al flusso di fluorescenza della LSD, assumendo come ordinata i valori dell'intensità emissiva nello spettro di fluorescenza e come ascissa le corrispondenti lunghezze d'onda.

Ecco i risultati osservati.

La LSD 25 è una sostanza dotata, in soluzione acquosa neutra, di fluorescenza azzurro brillante. Questa resta praticamente invariata durante l'irraggiamento ultravioletto protratto per 20'; si noti che dato il dispositivo sperimentale adoperato (doppio condensatore di quarzo) il fascio U.V. eccitatore era fortemente concentrato, tanto che un irraggiamento di 10' equivaleva a quello che si ottiene in almeno 2 ore con una comune lampada Osram a vapori di mercurio provvista del solo schermo di Wood. In ambiente lievemente alcalino o lievemente acido (pH 6-8) la fluorescenza non subisce variazioni apprezzabili.

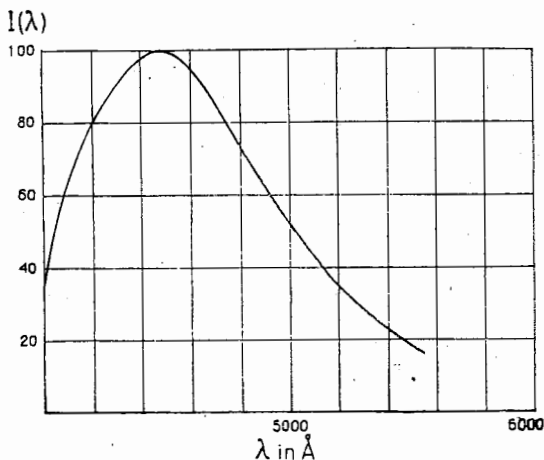
All'esame dei caratteri spettrografici si nota che la fluorescenza si risolve in una ampia banda continua che va da 3800 Å° a 6000 Å°. Il massimo reale dell'emissione è intorno a 4460 Å°. La regione di più intensa emissione intorno al massimo è compresa tra 4150 e 5000 Å°; particolarmente interessante ai fini di una caratterizzazione mediante fotometro munito di opportuno filtro è l'intervallo 4330-4620 Å°, in cui cade il massimo della curva di distribuzione energetica ad ampio raggio.

Nella registrazione spettrografica su lastra pancromatica la banda nell'azzurro appare con un largo tratto di annerimento quasi uniforme tra 4180 e 4600 Å°.

La curva di distribuzione energetica (vedi figura), oltre ad essere caratterizzata dal massimo a 4460 Å°, mostra una caduta abbastanza regolare verso le maggiori lunghezze d'onda sino a 5000 Å°. Oltre tale valore la caduta verso i 6000 Å° va diventando meno ripida. Nel tratto della curva che va dal massimo verso le minori lunghezze d'onda si nota a 4200 Å° un sensibile cambiamento di pendenza, per cui la curva da tale valore si abbassa rapidamente verso l'estremo del prossimo ultravioletto (3800 Å°).

Riassumendo la fluorescenza della LSD può essere caratterizzata dai limiti della banda 3800-6000 Å°, da un massimo intorno a 4460 Å° e dalla sensibile inflessione a 4200 Å°.

Con la stessa metodica ho poi cercato di vedere in un caso se l'introduzione per os di 300 gamma di LSD potesse modificare i caratteri spettrofotometrici del flusso di fluorescenza del siero di sangue. Il soggetto scelto fu un ebefrenico la cui



Curva $I(\lambda)$ di distribuzione energetica dello spettro di fluorescenza della LSD 25.

⁽⁶⁾ Tale curva si ottiene dividendo i valori delle intensità, ricavati dal confronto con la lampada tarata, per il quoziente differenziale $\frac{dx}{d\lambda}$ relativo alla dispersione dello spettrografo usato.

malattia iniziò nel 1944: il prelievo di sangue (*) fu eseguito prima e dopo 90' dall'introduzione della LSD per via orale, mentre l'ammalato era in stato sub-confusionale attonito con tendenza alla sonnolenza e spunti di catalessia. La fluorescenza del siero venne registrata allo spettrografo dopo circa 20 ore. Il risultato fu negativo nel senso che non fu possibile mettere in evidenza alcuna apprezzabile modificazione dei tracciati delle due microfotometrie.

La negatività di tale risultato mi spinge a fare una riflessione. Dopo la somministrazione della LSD certi soggetti, a volte, presentano una sintomatologia così spiccata che uno psichiatra che fosse all'oscuro dell'esperimento potrebbe anche diagnosticare come di tipo schizofrenico. Eppure tali individui, e questo è indiscutibile, si trovano sotto l'azione di una sostanza esogena tossica; sostanza che agisce a dosi così piccole che non si possono mettere in evidenza neppure con un metodo tanto delicato. Tuttavia variazioni biologiche devono essersi verificate! È quindi possibilissimo, estendendo il concetto alla clinica, che tali variazioni in certi casi siano così minime da sfuggire alle nostre attuali capacità di indagini, pure essendo reali e capaci di produrre una così vistosa sintomatologia.

Cagliari, 30 novembre 1950.

(*) Campioni di sangue prelevati dal prof. U. De Giacomo, Direttore dell'Ospedale psichiatrico provinciale di Lecce, nel corso di sue ricerche.

BIBLIOGRAFIA

- BECKER A. M., *Zur Psychopathologie der Lisergsäure-Diäthylamidwirkung*. « Wien. Zeitschr. Nervenheilk. », 2, 402, 1942.
- BUSCAINO G. A., *Ricerche di spettrofotometria quantitativa della fluorescenza del siero di sangue di malati del sistema nervoso, per lo più schizofrenici*. « Acta neurol. », 5, fasc. 6, 1950.
- BUSCAINO V. M., *Psichiatria sperimentale*. « Gazzetta sanit. », n. 11, 1949.
- CONDRAU G., *Klinische Erfahrungen an Geisteskranken mit Lysergsäure-Diäthylamid*. « Acta psychtr. et neurol. », 24, 9, 1949.
- DE GIACOMO U., *Nuovi sviluppi della psichiatria sperimentale*. « Boll. Soc. med.-chir. Salento », 5, 27, 1950.
- DE GIACOMO U., *In corso di stampa su « Acta neurol. », 6, fasc., I, 1951.*
- DE LERMA B., *La spettrofotometria quantitativa in biologia: metodi e problemi*. « Boll. soc. natur. Napoli », 51, 17, 1940.
- DE LERMA B. e SALVI P., *Ricerche di spettrofotometria quantitativa di fluorescenza sul liquor umano in condizioni normali e patologiche*. « Acta neurol. », 5, 64, 1950.
- ORNSTEIN, MOLL u. BURGER, *Objektive Spektralphotometrie - Vieweg, Braunschweig, Berlin, 1932.*
- STOLL W. A., *Lysergsäure-Diäthylamid, ein Phantasticum aus der Mutterkorngruppe*. « Schw. Arch. f. Neurol. u. Psychtr. », 60, fasc. 1-2, 1947.

RÉSUMÉ

L'A. a recherché avec la méthode de la spectrophotométrie photographique quantitative (Ornstein, Moll e Burger) les caractères spectrophotométriques dans le spectre visible de la fluorescence du LSD 25 (tartrate de la diéthylamide de l'acide d-lisergique) et il en a défini la courbe de distribution de l'énergie I (λ). La fluorescence, azur brillant, donne spectrographiquement une ample bande continue qui va de 3800 Å à 6000 Å; le maximum réel de l'émission se trouve presque à 4460 Å. La courbe de distribution éner-

getique est caractérisée, outre que par le maximum à 4460 Å, par une sensible inflexion à 4200 Å. Ce spectre, cependant, n'est résulté pas identifiable dans le sérum d'un sujet traité avec le LSD 25.

SUMMARY

The A. studied by means of the quantitative spectrophotometric photographic method (Ornstein, Moll e Burger) the spectrophotometric characters of visible spectrum of fluorescence of LSD 25 (ac. lysergic-dyethylamide tartrate) and defined the curve of distribution of the energy $I(\lambda)$. The fluorescence, bright light blue, is dissolved spectrographically in a broad unbroken band from 3800 Å to 6000 Å; the actual maximum of emission is around 4460 Å. The curve of energetic distribution, beside being characterised by the maximum at 4460 Å, shows a manifest inflexion at 4200 Å. However this spectrum did not result discoverable in the blood-serum of one subject treated by LSD 25.