

O NOUA METODĂ PENTRU PREPARAREA SEMIINDUSTRIALA A ALFA NAFTILTIOUREEI CONTRIBUȚIUNI LA STUDIUL TOXICITAȚII SALE

Dr. Soós P., Dr. Vilhelem A.

Cercetarea substanțelor raticide prezintă o mare importanță alit din punct de vedere al economiei naționale, cit și din punct de vedere igienico-sanitar. Deratizarea are o mare însemnătate igienico-sanitară, fiindcă șobolanii sînt factorii vectori ai diferitelor boli transmisibile (pesta, febra tifoidă, trichinoza, spirochetoza, etc.). În capitala țării noastre s-a creat un institut de cercetări științifice (Institutul D.D.D.), care are drept sarcină rezolvarea acestei probleme de mare importanță. I.M.F. și Institutul de igienă din Tg.-Mureș, avînd la bază rezultatele de pînă acum doresc să contribuie și în viitor, prin munca lor de cercetare științifică la realizarea acestei sarcini de plan.

Deratizările cele mai însemnate au fost obținute prin folosirea raticidelor. Substanțele raticide pot fi împărțite în două categorii după cum sînt specifice pentru șobolani, sau dacă sînt toxice și față de alte animale și oameni. Intrebuițarea toxicelor generale este foarte periculoasă pentru populație deoarece în timpul deratizărilor intense cu asemenea substanțe s-au observat nenumărate victime în oameni și animale. Cele mai însemnate toxice de acest fel sînt trioxidul de arsen, care se folosește sub forma unor momeli cu 1—5% otravă, fosforul galben și fosfitul de zinc, comercializate sub forma unor paste de 0,5—2%, sulfatul de taliu, fluorura de sodiu, fluorosilicatul de sodiu, carbonatul de bariu, etc.

Dintre toxicele mai noi sînt în uz fluoracetatul de sodiu și de bariu (așa numită compoziție „1080”) și așa numitul „Castrix” descoperit de germani (2-clor-4-dimetilamino-6-metilpirimidină). Deși nici-o substanță chimică nu poate concura cu toxicitatea celor două substanțe din urmă, totuși întrebuițarea lor pentru deratizări în masă este riscantă.

Rezultă din cele spuse pînă acum, că deratizările masive, întinse pe întreaga suprafață a țării pot fi efectuate numai cu substanțe care au o acțiune electivă asupra șobolanilor. După datele cercetărilor de pînă acum, astfel de substanțe sînt numai două: ceapa maritimă (ceapa de mare) și alfa naftiltioureea.

Ceapa de mare, și în special varietatea ei roșie este foarte toxică pentru șobolani, este în același timp o otravă selectivă dar reprezintă o serie de dezavantaje: trebuie importată din străinătate, substanța activă se descompune repede, din care cauză preparatele scumpe străine pot fi complet inactice.

Alt raticid selectiv este alfa naftiltiureea a cărei preparare semiindustrială precum și prezentarea experimentelor fiziologice formează obiectul lucrării de față.

Alfa naftiltiureea este cel mai ideal raticid, deoarece se poate prepara ușor este ieftin, nu se descompune și este aproape inofensiv pentru om și animale domestice. Acest raticid modern este folosit aproape pretutindeni, în Uniunea Sovietică se numește „Crișid”, în R. P. Ungară „Alfa”, în țările de vest „Antu”.

Alfa naftiltiureea este un praf alb, conținând impurități de alfa naftilamină, ea are o culoare cenușie sau neagră. Practic este insolubilă în apă și în cei mai mulți solvenți organici la temperaturi obișnuite. Recristalizată din alcool fierbinte formează plăci albe ca zăpada. Punctul de topire al acestei substanțe pure este de 195 C°. Punctul de topire al produselor tehnice variază după gradul de puritate. Preparatele sovietice au punctul de topire între 176—179 C°. Preparatul tehnic produs de institutul nostru are punctul de topire la 172—175 C°.

Prepararea

Prepararea alfa naftiltiureei s-a făcut pînă în prezent prin fierbere timp de 24 de ore a alfa naftilamini cu sulfocianură de amoniu în mediu de acid clorhidric. Rețeta de preparare a fost publicată în Nr. 1, 194 din 1947 al revistei *Chemisches-Zentralblatt*.

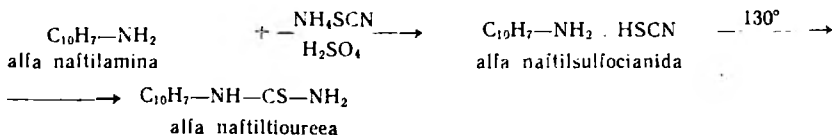
În anul 1950 secția de chimie a Institutului de igienă Tg.-Mureș, prin tov. chimist Szöcs Iosif a experimentat părțile necomunicate ale rețetei de mai sus, elaborind amănuntele preparării.

După Szöcs Iosif se dizolvă 143,17 g alfa naftilamină într-un amestec de 83 cmc acid clorhidric (greut. sp. 1,19) și 600 cmc apă, prin încălzire. La soluția astfel obținută se adaugă 107,8 g NH₄SCN sau 83,8 g KSCN, cantități care întrec cu 10% valorile calculate, se încălzește timp de 16 ore într-un vas termorezistent prevăzut cu un refrigerent ascendent, prin agitație continuă.

După trecerea celor 16 ore de fierbere, produsul obținut este filtrat, spalat cu apă, apoi cu alcool, pînă ce naftilamina netransformată se extrage complet, iar filtratul devine incolor. Produsul spălat cu alcool se usucă, apoi se pulverizează. Se obține un praf cenușiu cu punctul de topire la 180—186 C°. Randamentul nu este indicat în lucrarea publicată. Executînd prepararea după rețeta de mai sus, am găsit un randament de 76,3%.

Luînd ca bază metoda de preparare expusă, am încercat să găsim o metodă din care lipsurile metodei de mai sus să fie eliminate. Ne-am gîndit în primul rînd la simplificarea aparatului, întrucît fierberea într-un vas de sticlă termorezistent sau un alt vas acido-rezistent ridică mult costul de preparare industrială a raticidului. Am reușit să executăm prepararea într-un vas simplu emailat. Un alt deziderat ar fi fost reducerea timpului lung de reacție. Am reușit să reducem timpul de reacție de la 16 ore la 10 minute. În sfîrșit am intenționat să ridicăm productivitatea. Am reușit să ridicăm această productivitate cu 10%. Metoda de preparare elaborată diferă de aceea expusă mai sus prin faptul că am reușit să efectuăm condensarea printr-o reacție de topire la 120—130 C°.

Bazele teoretice ale preparării sînt expuse în ecuațiile de mai jos:



Din alfa naftilamină și NH₄SCN în mediu de acid sulfuric ia naștere alfa naftilamin-sulfocianidă care sub acțiunea temperaturii înalte trece printr-o transformare izometrică în alfa naftiltiuree. În prima parte a experiențelor am intenționat stabilirea temperaturii necesare pentru această reacție. Am găsit că temperatura cea mai favorabilă este cea de 120—130 C°. Dacă am ridicat temperatura la 170 C° producția a scăzut cu 23%.

În ceea ce privește timpul optim pentru reacție, am găsit că cel mai favorabil este de 10—15 minute. Executând reacția timp de o oră nu am observat nici o creștere a producției. În ceea ce privește cantitatea și concentrația acidului sulfuric, am găsit ca amestecul — înainte începerii procesului de transformare — trebuie să aibă o reacție acidă (pH = 2—3) întrucât în mediu neutru sau alcalin, reacția nu are loc.

În prima instanță se execută pulverizarea și amestecarea alfa naftilaminei cu sulfocianura de amoniu. Cu cât pulverizarea și amestecarea se face mai bine, cu atât reacția va fi mai desăvârșită.

La 1 kg. de alfa naftilamină se adaugă 532 g de NH_4SCN (cantitatea calculată). După amestecarea intimă a acestora într-un vas emailat de trei litri, se adaugă 360 ml. H_2SO_4 de 50% vol.

În general se adaugă H_2SO_4 până când reacția amestecului ajunge la un pH 2—3. Se amestecă repede și cit se poate de bine, după ce amestecul se încălzește la o flacără mică. Amestecând mereu la început se topește alfa naftilamina (la 50 °C) și ajungând la 110° se declanșează o reacție intensă, temperatura amestecului ridicându-se spontan la 120—130 °C.

Datorită faptului că la această temperatură alfa naftilamina emite vapori toxici, este important ca reacția să aibă loc sub o nișă cu un tiraj bun.

După încetarea reacției intense temperatura masei semifluide se menține și mai departe la 120—130°, se amestecă mereu până ce primește o consistență solidă granulată. Până la solidificarea masei avem nevoie de 10—15 minute. Amestecarea continuă este necesară și importantă în scopul de a împiedica ridicarea temperaturii în anumite puncte peste limitele amintite, fapt care ar avea drept consecință scăderea producției.

Se adaugă produsului obținut 2 l. apă în prealabil încălzită, fierbem 10 minute, filtrăm, spălăm cu 1 l apă fierbinte, presăm și-l întindem pe o foaie de hirtie. Uscarea se face la temperatura obținută. Randament. 1220 gr. producție: 87%.

Toxicitatea.

Alfa naftiltiureea este un toxic raticid foarte eficace contra șobolanilor obișnuți (*Epimys norvegicus*) pe care-i omoară în doze de 6—8 mg/kg. greutate în decurs de 12—48 ore. Alfa naftiltiureea este un raticid specific nefiind toxică pt. majoritatea animalelor domestice și oameni. Tabelul de mai jos arată dozele toxice în mg/kg greutate, capabile a provoca moartea animalelor de experiență într-o proporție de 50% (L. D. 50).

Valoarea L. D. 50. a alfa naftiltiureei pt diferite animale

Șobolanul obișnuit (<i>Epimys norvegicus</i>)	6—7 mg/kg
Șoareci	35 ..
Ciini	50 ..
Porci	50 ..
Cobai	100 ..
Iepuri	200 ..
Găini	1000 ..
Maimuțe	2000 ..

Din tabelul de mai sus rezulta că șoarecii sînt mai puțin sensibili față de acest toxic decît șobolanii. Destul de sensibili sînt ciinii, care de obicei vomită toxicul, rămîind astfel în viață, pe cînd șobolanii nu-l vomitează. S-a observat că doza toxică depinde și de regimul alimentar al șobolanilor. Ea este mai mică pentru șobolanii carnivori decît pentru cei cu un regim vegetarian. Richter a găsit o varietate de șobolani de cîmp care au suportat doza de 1830 mg/kg. Antu. Animalele tinere sînt mai rezistente decît cele adulte.

Alfa naftiltiureea provoacă un edem pulmonar care omoară animalul prin reducerea suprafeței respiratorii. După Richter edemul pulmonar este provocat printr-o creștere exagerată a permeabilității capilarelor pulmonare. A fost dovedit prin experiențe pe ciini, că alfa naftiltiureea accelerează viteza circulației limfatice a pulmonilor de 80 de ori față de viteza normală.

După unii autori ar avea un efect inhibitor asupra proceselor de oxidație din celule, prin care scade și temperatura corpului. Influențează și creșterea părului și pigmentația. Până când feniltioureea distruge celulele pigmentare fără a influența creșterea părului, alfa naftiltioureea inhibă atât creșterea părului cât și pigmentația.

S-a arătat că acest efect al alfa naftiltioureei este anihilat prin administrare de cistină, ceea ce a dus la concluzia că derivații tiocarbamidei au un efect anticisticinic. Alfa naftiltioureea are un efect și asupra glandei tiroide, dând naștere unei hiperplazii a acestui organ. Din acest motiv preparatele tiocarbamidice și-au găsit o întrebuințare în afecțiunile glandei tiroide.

Modul de întrebuințare.

Alfa naftiltioureea are un gust amărui dar probabil ca acest gust nu este perceput de șobolani, care consumă și momeliile preparate cu 20% Antu.

Antuul se întrebuințează mai frecvent în momeli care se aleg în concordanță cu regimul alimentar al șobolanilor de extirpat. În cazul șobolanilor carnivori vom întrebuința momeli din făinoase și invers în cazul celor cu regim vegetarian. Concentrația Antuului în momeli este de obicei între 1—3%.

Se poate otrăvi și apa de băut a șobolanilor întrebuințând pentru acest scop un Antu fin pulverizat cu care se presară suprafața apei.

În ultima vreme au dat rezultate bune pulverizările. Se întrebuințează în acest scop un amestec de Antu fin pulverizat, trecut prin sită și de talc în proporție de 1 : 4. Acest amestec se pulverizează cu ajutorul unui pulverizator special chiar în gaurile de șobolani, calculând pentru fiecare gaură 0,5 g. Antu pur. Antuul pătrunde în căile subterane ale șobolanilor, unde șobolanii vin în contact cu substanța pulverizată. Animalele lingându-și tălpile și blana se intoxică și pier.

Toxicitatea alfa naftiltioureei depinde și de dimensiunile particulelor de Antu. Administrat pe cale bucală, el are un efect optim având dimensiunile în jurul a 100 de microni. Pentru pulverizare este mai corespunzător un Antu cu dimensiuni între 5—10 microni. O particularitate însemnată prezintă și faptul că Antu-ul se resoarbe mai bine într-un mediu uleios, mărindu-și astfel toxicitatea. Antidotul Antuului nu se cunoaște până în prezent.

Studiul toxicității alfa naftiltioureei preparate după metoda descrisă mai sus s-a făcut pe șobolani albi de laborator. Pentru experiențe am folosit animale adulteținute anterior la un regim obișnuit vegetarian-lactat.

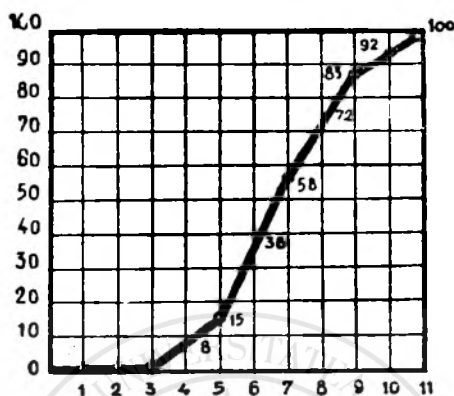
Mortalitatea la șobolanii albi în funcție de creșterea dozei toxicului.

Administrând alfa naftiltioureea dozată exact după greutatea animalelor, am obținut următoarele rezultate:

Doza administrată în mgr./kg. greutate corporală	Nr. animalelor intoxicate	Din acestea		Mortalitatea în %
		au pierit	au supravieț.	
3 mgr	20	—	20	0
5 ..	13	2	11	15,3
7 ..	7	4	3	57,1
9 ..	8	7	1	87,5
10 ..	11	10	1	90,9
11 ..	13	13	—	100,0
13 ..	16	16	—	100,0
20 ..	22	22	—	100,0
40 ..	32	32	—	100,0
60 ..	38	38	—	100,0

Din cele de mai sus rezultă că o mortalitate de peste 50% a început de la doza de 7 mg/kg. greutate corporală. Începând de la doza de 11 mgr/kg. greutate corporală în sus s-a obținut o mortalitate de 100,0%.

Reprezentind mortalitatea in mod grafic, obținem urmatoarea curbă:



Graficul Nr. 1. Corelația dintre cantitățile de alfa naftilthiouree și proporția procentuală a mortalității.

Comparind datele noastre cu rezultatele altor autori, găsim urmatoarea situație: Dozele minime (in mgr/kg. corp) de Antu necesare pentru a omori 50% din animalele de experiență (L. D. 50) sînt următoarele:

Vaşkov—Polikarpov—Paseşnik	4.5—5 mgr/kg.
Richter—Dicke	6—7 "
Sztankai—Zoltai	30—35 "
Rezultatele noastre	6—7 mgr

Influența temperaturii mediului asupra toxicității alfa naftilthioureei.

Dat fiind faptul că unii autori semnalează observația că mortalitatea după administrarea alfa naftilthioureei variază mult în legătură cu temperatura mediului și anume toxicitatea acestui produs ar fi mai mare în anolimpul călduros decît în cel de iarnă, iar unii indică chiar toxicitatea la diferite temperaturi, afirmînd că toxicitatea Antuului ar fi de trei ori mai mare la 32 C° decît la 20 C°; noi ne-am propus verificarea acestor observațiuni împărțind animalele intoxicate cu dozele între 5—60 mgr/kg. corp în două loturi și anume:

Lotul I (36 animale) ținute la o temp. de 20 C°.

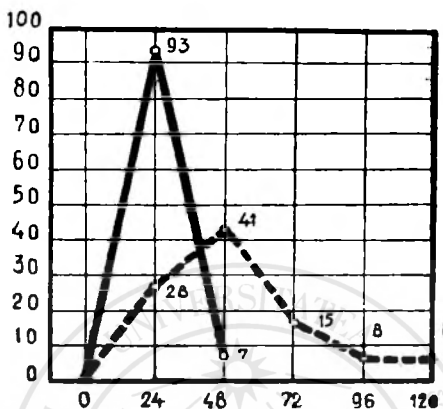
Lotul II (34 animale) ținute la o temp. de 32 C°.

Tabelul de mai jos redă mortalitatea obținută la cele două loturi de animale:

Lotul	Temperatura mediului	Nr. de animale	Din toate acestea		Mortalitatea
			au pierit	au supravieț.	
I.	20 C°	36	34	2	94.4
II.	32 C°	34	32	2	94.1

Experiența nu a confirmat părerea autorilor mai sus amintiți deoarece mortalitatea celor două loturi nu diferă esențial în raport cu temperatura. Este interesant de amintit că moartea acestor animale a survenit într-un interval de timp diferit, în

timp ce animalele ținute la 32 C° au pierit în proporție de 94,1% în maximum 48 de ore socotite din momentul intoxicării, animalele ținute la 20 C° au supraviețuit un interval de timp mult mai lung, atingând mortalitatea finală de 94,4%, numai în 120 de ore. Graficul de mai jos redă în ore și procente mersul mortalității în cazul celor două loturi de animale.



• Graficul Nr. 2. Influența temperaturii mediului.
 ---- mortalitatea la 32 C°, - - - - - mortalitatea la 20 C°.

Din aceste curbe de mortalitate rezultă că animalele ținute la 32 C° au pierit în primele 24 de ore într-o proporție de 92,3% pe când cele la 20 C° au atins acest procent de mortalitate numai după 72 de ore. Din cele de mai sus rezultă că temperatura ar avea o influență asupra acțiunii Antuului numai în ceea ce privește durata supraviețuirii nu și asupra efectului toxic final. Acest fenomen s-ar putea explica prin metabolismul mai intens la o temperatură mai ridicată care facilitează absorbția toxicului și dezvoltarea leziunilor consecutive.

*Cercetarea toxicității alfa naftiltioureei preparată prin metoda semiindustrială.
 prin pulverizare.*

Intr-o altă serie de experiențe am încercat toxicitatea Antuului preparat după metoda prezentată la începutul acestei lucrări asupra șobolanilor albi, lăsându-i să parcurgă distanțe diferite pe o suprafață presărată cu un amestec de antu-talc în proporție de 20% substanță activă. Pulverizarea s-a făcut folosind 60 de grame de amestec pentru o suprafață de 1 m², ceea ce reprezintă 6,0 mg. amestec sau 1,2 mgr. Antu pur pe o suprafață de 1 cm². Am preparat amestecul folosindu-ne de alfa naftiltioureei fin pulverizată în care particulele au avut următoarele dimensiuni:

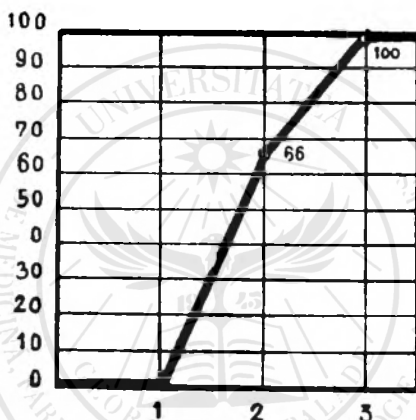
sub 5 microni	23,1%
între 6—10 microni	40,7%
între 11—20 microni	20,6%
peste 21 microni	15,6%

Animalele împărțite pe loturi au fost lăsate să parcurgă distanțe (o singură dată) de 1, 2 și 3 metri pe această suprafață. Rezultatele obținute sînt cuprinse în tabelul de mai jos:

Distanța parcursă în metri	Nr. de animale	Dintre acestea		Mortalitatea
		au pierit	au supravieț.	
1 m	8	—	8	0
2 m	13	9	4	69,2%
3 m	8	8	—	100,0%

S-a observat că mai ales acele animale pier care vin în contact cu suprafața pulverizată nu numai cu labele ci și cu blana și în special cu coada.

Reprezentînd în mod grafic această mortalitate vom găsi următoarea curbă:



Graficul Nr. 3. Corelația dintre distanța parcursă pe teren pulverizat și proporția procentuală a mortalității.

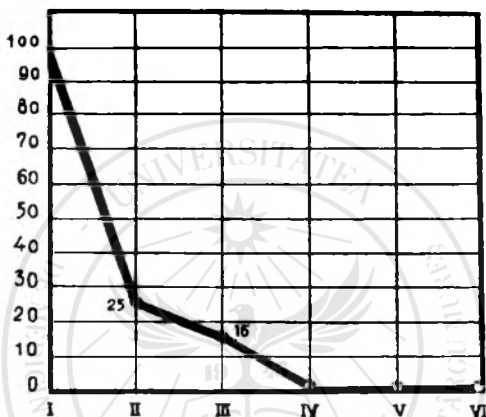
Trebuie să amintim și faptul că deși mortalitatea mai accentuată începe la 2 metri distanță parcursă, totuși toate animalele s-au îmbolnăvit avînd simptome evidente de intoxicație. Cele care au supraviețuit ne-au servit mai departe pentru studiul rezistenței ciștigale după intoxicația cu Antu.

Problema rezistenței ciștigale

După datele literaturii de specialitate în cazul animalelor intoxicate cu doze subletale apare o rezistență față de Antu, rezistență care durează aproximativ o luna de zile și în care timp aceste animale nu mai pot fi intoxicate cu acest raticid. Dorind a lămurii această problemă, am supus animalele supraviețuitoare după prima intoxicație la reintoxicări în intervale de timp diferite. Am constatat că aceste animale consumă momeala a doua oară numai după o oarecare ezitare, unele o refuză chiar pentru un timp, consumînd-o totuși în decurs de 24 de ore. Amintim aici că animalele nu au fost înfometate înainte de administrarea momelii. La intoxicațiile următoare doza a fost de fiecare dată 40,0 mgr/kg. corp, deci aproape de patru ori doza absolut mortală. Mortalitatea procentuală a acestor animale după intoxicațiile următoare a arătat modificări după cum urmează:

Nr. și intervalele intoxicațiilor următoare	Mortalitatea ‰
A doua intoxicare la 7 zile de la prima	26,6%
A treia intoxicare la 7 zile de la a doua	16, %
A patra intoxicare la 30 zile de la a treia	0 %
A cincia intoxicare la 30 zile de la a patra	0 %
A șasea intoxicare la 45 zile de la a cincea	0 %

Reprezentind grafic fenomenul de mai sus vom obține următoarea curbă :



Graficul Nr. 4 Dezvoltarea rezistenței.

Animalele reintoxicate se îmbolnăvesc de fiecare dată însă prezintă simptome din ce în ce mai atenuate. La a șasea intoxicare aceste simptome sînt greu observabile; durează numai cîteva ore. Animalele rămîn vivoaie, atente și efectul Antuului se trădă numai printr-o polipnee puțin accentuată și de scurtă durată.

Institutul nostru dispune în prezent de un lot de animale care practic vorbind nu pot fi intoxicate cu Antu. Observațiile continuă mai ales în ceea ce privește rezistența la cea de a două generație.