

Effetti narcotici dell'etiluretano sulla mosca domestica adulta

Gli esperimenti da noi effettuati con cloruro di carbaminoileolina (1) somministrato ad adulti di *Musca domestica* ci hanno condotto a considerare separatamente i gruppi aventi una loro specifica attività, presenti nella sua molecola; e precisamente da un lato il gruppo dell'azoto quaternario, dall'altro quello dell'uretano o etiluretano: NH₂COOC₂H₅.

La sperimentazione con quest'ultima sostanza ha dato risultati interessanti che rendiamo noti in questa prima comunicazione, lasciando eventua'mente ad un'ulteriore sperimentazione la messa a punto di dati ancora incompleti.

PROPRIETA' FISICHE. — L'etiluretano è una sostanza bianca, cristallina, che fonde a + 48,5° C. e bolle a + 184° C. Le nostre osservazioni sul suo comportamento quando la sostanza venga distesa in sottile velo su superfici lisce, ci hanno dimostrato che esso sublima anche a temperature relativamente basse e con notevole velocità.

In uno dei nostri esperimenti abbiamo disteso sul fondo di una capsula di Petri una soluzione di 15 mg. di uretano in etere, lasciando la capsula ad una temperatura oscillante fra + 15° C. e + 16° C. Evaporando il solvente rapidamente, lascio sul fondo della capsula una patina cristallina sottile; e dopo 7 ore, dei 15 mg. iniziali erano rimasti soltanto 2 mg. di uretano. La prova della parete fredda ci ha dato in pochi minuti cristalli di uretano, per sublimazione di vapori che si sviluppano da uretano solido tenuto a + 20° C.

In un'altra prova eseguita dal dott. RUNZA (2) disponendo ure-

(1) GRANDORI R. e L., FACETTI D. - Effetti tossici selettivi della carbocollina su alcune specie di insetti. - Questo Boll., Vol. XVII, fasc. II, Milano, 1951.

(2) Ringraziamo vivamente il Dott. MANLIO RUNZA della cortese collaborazione prestataci.

tano cristallino disteso, senza alcun intervento di solventi, su superficie di vetro a temperatura di + 43° C., esso ha sublimato in 72 ore per l'85% del suo peso.

PROPRIETA' FARMACOLOGICHE. — L'uretano è per l'uomo adulto un narcotico molto blando quando viene somministrato per via enterica; al radicale C₂H₄ si attribuiscono proprietà narcotiche, mentre il gruppo NH₂ funzionerebbe come eccitante dei centri respiratori.

Con l'uso ripetuto però l'uretano perde la sua efficacia come narcotico. E' stato usato con un certo successo contro alcuni tipi di leucemia (leucemia cronica), ma può provocare tumori polmonari nei ratti da esperimento, per cui è considerato contemporaneamente sostanza cancerigena e anticancerigena.

PROPRIETA' BIOCHIMICHE. — L'etiluretano alla stessa guisa della lewisite e dell'iodoacetato, inibisce la respirazione intracellulare bloccando la deidrogenasi. Esso esercita una forte attività sui fenomeni mitotici di alcuni tipi di cellule, che non è proporzionale al suo coefficiente di ripartizione olio-acqua, agendo su tali cellule a concentrazioni molto più basse di quelle che sono necessarie affinché esso esplichi azione inibitrice della respirazione endocellulare. Inoltre è stata emessa l'ipotesi che l'uretano agisca interferendo sul metabolismo degli acidi nucleici, ipotesi però fino ad oggi non dimostrata.

Esperimenti eseguiti

La facilità con cui l'etiluretano si applica anche a temperature relativamente basse ci ha fatto pensare ad una sua azione sulla Mosca domestica anche per mezzo di vapori penetranti nelle vie respiratorie. Abbiamo quindi disposto le seguenti 4 serie di esperimenti:

1^a Serie. — *Somministrazioni di etiluretano per iniezione.* — Si sono eseguite iniezioni usando micropipette di vetro graduate, e concentrazioni delle soluzioni del 5%, 1%, e 1‰. Un calcolo esatto della quantità assoluta di uretano propinata alle singole mosche non è stato possibile, perchè il più delle volte esse espellevano dalla ferita una parte del liquido iniettato misto ad emolinfia. Le iniezioni venivano effettuate in corrispondenza del protorace.

2^a Serie. — *Somministrazione di etiluretano per contatto libero in ambiente chiuso.* — Per questi esperimenti si usava uretano che

ricopriva a guisa di patina cristallina il fondo di una capsula di Petri dopo aver lasciato evaporare i solventi (acqua o etere). La quantità di sostanza cristallina che rimaneva sul fondo delle capsule era in ragione di gr. 1, 2, 4, 6, 8, di uretano per m². Le capsule venivano poi chiuse col relativo coperchio di vetro, e quindi venivano immerse le mosche nelle capsule. Data l'evidente sublimazione dell'etiluretano, ogni capsula veniva usata al massimo per due prove consecutive. Altre prove sono state effettuate entro una campana di vetro avente una superficie interna di cm. 3850, ricoperta da una patina di uretano in ragione di 2 gr. per m². La campana, della capacità di cm³. 14.000, possedeva due aperture che venivano chiuse con batuffoli di cotone.

3^a Serie. — *Somministrazione di etiluretano per contatto libero in ambiente aperto a scambi gassosi.* — Le mosche sono state introdotte in capsule di Petri col fondo ricoperto da una patina di uretano come nella serie precedente e chiuse superiormente con tulle anziché con vetro.

4^a Serie. — *Somministrazione di etiluretano in ambiente a chiusura ermetica impedendo il contatto delle mosche con l'uretano solido.* — Un esperimento è stato eseguito ponendo uretano in cristalli sul fondo di un cristallizzatore coperto con tulle e introdotto sotto una campana di vetro chiusa a tenuta d'aria mediante vaselina. Altri esperimenti furono effettuati con capsule di Petri il cui fondo veniva ricoperto da una patina sottile e uniforme di uretano ottenuta mediante evaporazione del solvente (etere) in ragione di gr. 2 e gr. 1 per m². Le capsule venivano coperte con tulle in modo che le mosche non potessero giungere a contatto con la sostanza solida. Le mosche e le capsule di Petri così preparate venivano introdotte sotto un cristallizzatore della capacità di cm³. 600.

Risultati degli esperimenti

1^a Serie. — Alla concentrazione del 5% l'uretano fulmina le mosche (caduta immediata senza reviviscenza). Invece, alla concentrazione dell'1% possiamo distinguere 3 fasi del quadro sintomatologico. 1^a fase: caduta immediata della mosca in seguito all'iniezione, con perdita di movimenti spontanei e scarsa reazione agli stimoli meccanici. 2^a fase: ripresa dei movimenti normali di deambulazione più o meno stentata, dei movimenti di pulitura e, in qualche individuo,

del volo spontaneo: tale fase può durare da un'ora a 18 ore. 3^a fase: caduta progressiva in narcosi, con movimenti riflessi energici; gli insetti in narcosi conservano per lo più la posizione consueta di riposo, senza rovesciarsi, e il passaggio dalla narcosi alla morte era per noi reso certo dalla immobilità dell'insetto, anche se sottoposto a stimoli meccanici energici. Non si esclude che da uno stato iniziale di narcosi blanda l'insetto potesse passare ad uno stato di anestesia generale, e da questo alla morte. In ogni modo, per essere sicuri che la narcosi fosse irreversibile dopo lo stadio da noi giudicato di morte, gli insetti furono mantenuti sotto osservazione per 8-10 giorni, senza che mai si verificasse alcun caso di reviviscenza.

Alla concentrazione dell'1%₁₀₀ la prima fase (che si riscontra con la concentrazione dell'1%) non si verifica, e dopo 24 ore di comportamento normale delle mosche cominciano ad apparire gli effetti narcotici dell'uretano.

2^a Serie. — I quantitativi di uretano usati per gli esperimenti di questa serie e precedentemente indicati, sono quelli che corrispondono al momento di inizio degli esperimenti stessi, poichè durante il corso delle prove, si formavano vapori di uretano, che rendevano difficile stabilire quanta parte dell'azione dell'uretano era dovuta al contatto e quanta ai vapori penetrati attraverso le vie respiratorie. In ogni modo gli individui sottoposti all'azione di contatto dell'uretano, partendo da un quantitativo di gr. 2 per m² fino ad un quantitativo di gr. 8 per m², sono stati tutti definitivamente abbattuti entro due ore, tanto quelli immessi nelle capsule Petri come quelli immessi nella campana. E' evidente che in questo caso le reazioni prodotte dall'uretano non dipendono dalle quantità somministrate. I sintomi sono sempre gli stessi: agitazione per qualche minuto, poi rapido rallentamento dei movimenti spontanei di deambulazione e di volo, entrata in narcosi con lunghi periodi di immobilità e diminuzione progressiva dei riflessi a stimoli meccanici, infine immobilità permanente.

3^a Serie. — La narcosi in questo esperimento si è manifestata con un certo ritardo rispetto agli esperimenti della 2^a serie, e soltanto entro 9 ore dall'inizio della prova, 7 dei 9 individui sperimentati sono entrati in narcosi irreversibile senza reagire a stimoli meccanici, ma 2 individui manifestavano ancora qualche movimento spontaneo.

4^a Serie. — Gli effetti narcotici dell'uretano attraverso le vie respiratorie per azione dei vapori di questo composto che si svolgono per sublimazione, si manifestano dopo breve tempo, qualche volta dopo pochi minuti, dall'immissione delle mosche in ambiente chiuso a tenuta d'aria, ove per 24 ore si è lasciato preventivamente sublimare il composto (esperimenti in campana di cm³. 14.000). Entro 2 ore dall'immissione le mosche cadono tutte in narcosi irreversibili, assumendo per lo più immobilità permanente nella posizione di riposo, dopo aver presentato i seguenti sintomi: rallentamento, dopo pochi minuti dall'immissione, dei movimenti di deambulazione, di volo, e successivamente di pulitura; entro 1 ora tutte le mosche sono torpide e rigurgitano abbondantemente. Dopo un'ora e mezza si fermano in una posizione in cui permangono stabilmente, e per lo più non rovesciate.

Risultati simili abbiamo ottenuto con le capsule di Petri col fondo ricoperto da uno strato di uretano in ragione di gr. 1 e gr. 2 per m², introdotte sotto cristallizzatori di cm³. 600 nei quali le mosche venivano immesse contemporaneamente alle capsule. In questo caso l'azione è risultata sensibilmente più lenta, pur ottenendosi sempre narcosi irreversibile.

Comparazione dei risultati e considerazioni

Dalla comparazione dei risultati si deduce che una rapida azione narcotica irreversibile dell'uretano si ottiene sulle mosche domestiche adulte, sia mediante contatto in ambiente limitato, sia introducendo le mosche in ambiente in cui si sono precedentemente fatti svilupparsi vapori di uretano. Un'azione meno rapida si ha quando le mosche, senza subire contatto con la sostanza solida, vengono introdotte, contemporaneamente a questa, in un recipiente a tenuta d'aria. Il fenomeno si spiega facilmente considerando che i vapori incominciano a svolgersi all'inizio dell'esperimento, e richiedono un certo tempo per diffondersi nell'ambiente in quantità sufficiente per spiegare azione narcotica.

Ma ciò che più sorprende a prima vista, è che il contatto fra mosche e uretano in ambiente aperto conduce a sintomi uguali a quelli che si ottengono per contatto in ambiente chiuso o per azione di vapori di uretano attraverso le vie respiratorie; vi è soltanto differenza

nella velocità di azione, minore nel primo caso, maggiore negli altri due. Non è quindi la limitazione dell'ambiente il fattore che ha maggiore importanza nel determinare l'azione dell'uretano. Bisogna tener presente che le mosche, appena a contatto con l'uretano, come del resto con altri farmaci, eseguono per un certo periodo attivissimi movimenti di pulitura delle zampe fra di loro e di queste con le ali e con tutto il corpo; ed è quindi ammissibile che esse distribuiscano una buona parte dell'uretano che rimane aderente alle zampe, su tutta la superficie relativamente vasta di sublimazione, dalla quale si generano, a contatto di tutto il corpo dell'insetto, vapori di uretano che possono penetrare, attraverso gli stigmi, nelle vie respiratorie, fino alle ultime tracheole. E poiché si ammette che le estreme ramificazioni delle tracheole penetrino nell'interno delle cellule (almeno di quelle che spiegano maggiore attività metabolica), se ne conclude che l'insieme di queste strutture presenta le condizioni naturali più opportune per consentire l'apporto di un farmaco gassoso nell'interno delle cellule, superando le barriere offerte dalle membrane cellulari. Quindi secondo noi, l'azione dell'uretano per contatto è, in ultima analisi, anche in ambiente aperto, un'azione dovuta a vapori penetrati nell'apparato respiratorio delle mosche, forse con un meccanismo molto simile a quello ammesso da Mc. INDOO per la nicotina.

La somministrazione di uretano all'1% per iniezione produce fenomeni iniziali (1^a fase) molto simili a quelli che producono altri farmaci nelle stesse mosche; e cioè subito dopo l'iniezione si assiste a un blocco istantaneo di tutte le funzioni di movimenti spontanei, e in alcuni individui anche di quelli riflessi; ossia l'animale giace in uno stato di morte apparente che può durare parecchie ore, per poi riprendersi compiendo movimenti spontanei di deambulazione, e in qualche individuo anche di volo. Nel caso speciale dell'uretano, dopo questo periodo di ripresa che può durare da un'ora a 18 ore circa, subentra la narcosi che conduce più o meno lentamente alla morte.

Poiché il quantitativo di uretano introdotto in questo caso è approssimativamente di mgr. 0,04 ciò che equivale a circa 2 gr. per Kg. di peso corporeo (quantitativo molto forte), è necessario pensare che l'uretano, qualora sia somministrato in soluzione acquosa nell'emolinfia, trovi qualche impedimento a raggiungere quegli elementi cellulari che rapidamente vengono raggiunti quando agisce in forma di vapori penetranti nelle vie respiratorie. Se ne deduce come probabile

che la prima fase di morte apparente che segue immediatamente l'iniezione di uretano alla concentrazione dell'1%, sia dovuta a un'azione generica di blocco che esercitano l'emolinfia e le membrane avvolgenti gli organi e le cellule; tanto è vero che questa prima fase si osserva anche dopo le somministrazioni di prostigmina al 2,5‰ e 1‰. Il fatto che questa prima fase non si manifesta somministrando l'uretano all'1‰, può far pensare che tale concentrazione sia inferiore a quella necessaria per provocare una violenta reazione interna dell'insetto.

Non sembra quindi arrischiato ammettere che l'azione narcotica irreversibile dell'uretano per iniezione all'1%, si manifesti soltanto nella terza fase d'azione, cioè dopo che l'etiluretano è riuscito a varcare le barriere interne. E' del resto noto come nella Blatta i nervi si siano dimostrati impermeabili all'acetilcolina (1).

Lo studio anatomo-citologico, iniziato nel nostro Laboratorio, di mosche trattate con vapori di etiluretano, ha dato risultati indicativi molto interessanti che renderemo noti in una successiva pubblicazione.

RIASSUNTO

- 1) L'etiluretano, disciolto in sottile patina cristallina, e in ambiente limitato, sublima a temperatura di +16°C. in un tempo relativamente breve (8 ore circa per mgr. 0,23 per cm²) e i suoi vapori hanno energica azione narcotica irreversibile sugli adulti di *Musca domestica*.
- 2) L'etiluretano esercita azione narcotica irreversibile sugli adulti di *Musca domestica* tanto allo stato di vapore attraverso le vie respiratorie quanto per contatto e per iniezione.
- 3) L'azione per contatto in ambiente aperto può spiegarsi ammettendo la formazione di uno strato di vapori di etiluretano intorno al corpo della mosca.

RÉSUMÉ

- 1) L'éthyluréthane, répandu en mince épaisseur, et dans une boîte fermée, sublime à +16°C. dans un temps relativement bref (8 heures à peu près pour mgr. 0,23/cm²) et ses vapeurs ont une énergique action narcotique irréversible sur imago de *Musca domestica*.
- 2) L'éthyluréthane exerce action narcotique irréversible sur imago de *Musca domestica*, soit à l'état de vapore par les voies respiratoires, soit par contact, soit par injection.
- 3) On peut expliquer l'action par contact libre en admettant la formation d'une couche de vapeurs d'éthyluréthane sur le corps de la mouche.

SUMMARY

1) The ethylurethane spread on a thin and cristalline layer and in a closed spot sublimates at +16°C. in a rather short time that is about 8 hours for mg. 0,23 per cm², and his vapours have a strong, narcotic and irreversible action on *Musca domestica* so like

2) The ethylurethane has a narcotic and irreversible action on *Musca domestica* so like vapours through the respiratory apparatus as for contact and injection.

3) His action by mean of contact in an opened spot may be explained by admitting the development of a layer of vapours around the house-fly's body.

Fondamenti di una lotta razionale contro la Piralide del Mais

I danni ingenti che questa Piralide arreca in tutto il mondo ai raccolti che gli agricoltori attendono dalla cultura del Granturco e la ben scarsa efficienza dei metodi di lotta fin qui escogitati ed attuati, sono ben conosciuti dagli entomologi, dagli agronomi e dai coltivatori. La bibliografia registra migliaia di lavori, di articoli, di scritti di varia indole sull'argomento. Economisti agrari hanno calcolato in via largamente approssimativa il danno arrecato dalla Piralide in centinaia di milioni di lire per la sola Italia negli anni che precedettero la seconda guerra mondiale; tale cifra è ragguagliabile oggi — a prescindere dal crescente aggravamento dei danni — a parecchie decine di miliardi.

Di questa imponente perdita di prodotti il gran pubblico degli agricoltori non si rende conto se non molto vagamente, ed assiste impotente alla grave falcidia del raccolto, limitandosi e denunciare di tanto in tanto l'aggravarsi del danno e a chiedere consiglio sui possibili mezzi di lotta.

Il Ministero dell'Agricoltura e Foreste è intervenuto fin dal 1931 a dettare norme generali di lotta e a renderla obbligatoria con uno speciale decreto in tutto il territorio dello Stato. Basandosi sul fatto biologico ben noto dello svernamento delle larve mature della Piralide nell'interno degli steli del Mais, il decreto stabiliva che non più tardi del 30 aprile (termine recentemente anticipato al 15 aprile) gli steli dovevano essere distrutti col fuoco, oppure usati come lettiera per il bestiame e successivamente affondati in concimaia, o altrimenti utilizzati in modo da garantire l'uccisione delle larve dei predetti parassiti.

Quali sono — dopo un quindicennio di applicazione di questo decreto — i risultati? Semplicemente un continuo aggravarsi dell'infestazione e dei conseguenti danni; segno evidente che i mezzi di lotta