

95. M. BOCCACCI e S. BETTINI. — Potere insetticida per contatto dell'acido cloroacetico e di alcuni suoi esteri per le mosche "resistenti" (*)

Riassunto. — Gli AA. hanno saggiato il potere insetticida degli acidi iodo-, bromo- e cloroacetico, e di 20 esteri dell'acido cloroacetico da loro sintetizzati, su ceppi di mosche domestiche « sensibili » e « resistenti » impiegando due metodi: su carta da filtro e su muro. E' stato messo in evidenza che l'acido cloroacetico ed alcuni suoi esteri hanno un potere insetticida, nelle condizioni sperimentali adottate dagli AA., dello stesso ordine di grandezza di quello posseduto dai noti insetticidi organici.

Gli AA. riportano di non aver ottenuto, in seguito ad un lungo processo selettivo della durata di 53 generazioni, alcun aumento della resistenza verso l'acido cloroacetico, nei due ceppi di mosche in esperimento, e sottolineano la relativa bassa tossicità di questi prodotti verso i vertebrati.

Résumé. — Les auteurs ont fait des essais pour déterminer le pouvoir insecticide des acides iodo-, bromo- et chloroacétique et de 20 esters de l'acide chloroacétique dont ils avaient fait la synthèse, sur des mouches domestiques « sensibles » et « résistantes » en se servant de deux méthodes: sur du papier filtre et sur le mur. On a mis en évidence que l'acide chloroacétique et quelques uns de ses esters ont un pouvoir insecticide, dans les conditions expérimentales adoptées par les auteurs, du même ordre de grandeur que celui que possèdent les insecticides organiques bien connus.

Les auteurs rapportent qu'ils n'ont obtenu, après une longue sélection sur 53 générations, aucune augmentation de la résistance envers l'acide chloroacétique, chez les deux souches de mouches soumises à l'expérience et ils soulignent la toxicité relativement basse de ces produits envers les vertébrés.

Summary. — Iodo-, bromo- and chloroacetic acids and 20 esters of chloroacetic acid prepared by the authors, were tested against «susceptible» and «resistant» strains of houseflies on filter paper and on walls. Chloroacetic acid and some of its esters were shown to possess an insecticidal power of the same order of magnitude as the known organic insecticides.

(*) Il presente lavoro rientra nel piano di ricerche sulla resistenza della mosca domestica concordato fra la Fondazione Rockefeller e l'Istituto Superiore di Sanità.

ticidal power of the same order as that of the well-known organic insecticides.

No increase in the resistance of the two strains of flies against chloroacetic acid was obtained after a long selective process lasting 53 generations. The relatively low toxicity of the tested insecticides against vertebrates has been pointed out.

Zusammenfassung. — Die Verfasser haben das insektizide Vermögen der Jod-, Brom- und Chloressigsäure sowie von 20 Estern der Chloressigsäure, die sie selbst angefertigt hatten, untersucht, und zwar auf « empfindliche » wie auch auf « resistente » Arten der Hausfliege. Es kamen zwei Methoden zur Anwendung: auf Filterpapier sowie auf Mauer. Es konnte gezeigt werden, dass die Chloressigsäure und einige ihrer Ester unter den von den Verfassern geschaffenen Bedingungen ebenso insektizid sind wie die bekannten organischen Produkte.

Die Verfasser erklären, dass auch nach langen Versuchen über 53 ausgewählte Generationen die Resistenz gegen die Chloressigsäure keineswegs erhöht war bei den beiden untersuchten Arten von Fliegen; sie weisen ausserdem auf die nur kleine Toxität dieser Produkte gegenüber den Vertebraten hin.

Il potere insetticida di sali ed esteri degli acidi cloro-e bromoacetico era già stato riscontrato nel passato da vari AA. Nella Tabella I sono riportati i dati relativi ai composti di questo tipo indicati come insetticidi. La letteratura fino all'anno 1944 è stata tratta da FREAR (6).

Da tutti i lavori consultati non risulta che il potere insetticida delle sostanze elencate sia mai stato messo in relazione con il meccanismo di azione tossico proprio degli acidi iodo-, bromo- e cloroacetico e derivati. La tossicità di tali sostanze è dovuta all'azione alchilante esplicata sui gruppi tiolici, soprattutto di alcuni enzimi; questa azione, già ben conosciuta per i vertebrati, è stata da noi studiata sugli insetti in precedenti ricerche (1, 2, 3, 4, 5).

Accertata la tossicità di « gruppo » di queste sostanze per gli insetti, tossicità che come da noi accertato si estende anche agli insetti resistenti ai noti insetticidi organici, abbiamo ritenuto opportuno preparare una serie di esteri dell'acido cloroacetico con vari alcoli e fenoli e saggiarne il potere insetticida per contatto verso un ceppo sensibile ed un ceppo resistente di *Musca domestica*.

Poichè la tossicità degli acidi iodo-, bromo- e cloroacetico è dello stesso ordine di grandezza (vedi Parte Sperimentale, Tabella II) ci siamo

limitati a studiare gli esteri del solo acido cloroacetico che, dei tre, è quello più facilmente reperibile in commercio ed è di più basso costo.

In considerazione del fatto che un buon insetticida per contatto ad effetto residuo deve possedere una alta liposolubilità, una bassa idrosolubilità ed una bassa tensione di vapore, ci siamo limitati a preparare esteri con bassa tensione di vapore e privi di funzioni idrofile.

PARTE SPERIMENTALE

Preparazione dei cloroacetati. — Gli esteri dell'acido cloroacetico sono stati preparati facendo reagire, a temperature comprese tra 100° e 130°C, quantità stechiometriche di cloruro di cloroacetile e dell'alcool, o del fenolo, da esterificare. Al termine della reazione che, a seconda dei casi, dura da 30 minuti a qualche ora, il prodotto viene versato in acqua, lavato due o tre volte, per decantazione, sempre con acqua, quindi sciolto in etere. La soluzione eterica viene lavata con acqua, con soluzione di carbonato di sodio, poi ancora con acqua ed infine essiccata su solfato di sodio anidro. Evaporando l'etere si ottengono gli esteri con rese dell'80-90%.

Con alcuni fenoli polisostituiti, come ad esempio il pentaclorofenolo, le rese sono invece molto basse o insignificanti. Per preparare i cloroacetati di questi fenoli, abbiamo usato il metodo di SCHOTTEN-BAUMANN con una variante, resa necessaria dal fatto che il cloruro di cloroacetile in ambiente di alcali caustici viene troppo rapidamente idrolizzato. Al fenolo da esterificare viene aggiunta una quantità stechiometrica di NaOH, e poi acqua sino a completa dissoluzione del sale sodico. Si raffredda la soluzione in acqua e ghiaccio, si aggiunge una piccola quantità di cloruro di cloroacetile (1/10 della quantità stechiometrica) e si sbatte energicamente la beuta per 1-2 minuti; si aggiunge quindi NaOH in ragione di 1/2 equivalente rispetto alla quantità di cloruro di cloroacetile introdotto, e si pone di nuovo in acqua e ghiaccio. Si continua in tal modo con aggiunte successive di cloruro di cloroacetile e di soda fino ad aver consumato 2,0-3,0 equivalenti di cloruro di cloroacetile. Durante l'operazione ci si accerta ogni tanto che il pH della soluzione sia decisamente alcalino, aggiungendo, quando occorre, ancora idrato di sodio.

Infine la sospensione acquosa del cloroacetato viene filtrata e il prodotto lavato a lungo con acqua e quindi essiccato.

I cloroacetati ottenuti con ambedue i metodi di preparazione sono

TABELLA I. - Derivati degli acidi cloroacetico e bromoacetico indicati come insetticidi.

Prodotto	Impiego	Indicazione bibliografica
Cloroacetato di calcio	Lotta contro le blatte e contro le larve di mosca (<i>Lucilia cuprina</i>)	G. E. Gould: Soap Sanit. Chem. 49: 90 (1943).
Complesso del trifluoruro di boro con l'acido cloroacetico	Tarnicida	I. G. Farbenindustrie A. G. - Brevetto germanico 534543 (1927). A second index of patented mothproofing materials. USDA Bur. Chem. and Soils Insect. Div. - Mimeo pubbl. pg. 409 (1933).
Cloroacetato di benzile	Lotta contro il Diaspino (<i>Aonidiella awantii</i>) e l'acaro <i>Tetranychus telarius</i>	H. L. Cupples: Jour. Econ. Entom. 29: 644 (1936).
» del dodecanolo	Lotta contro le mosche (per irrorazione)	E. W. Bousquet: Brev. U.S.A. 20869 (1938) rist.; C. W. Bovan: Synt. org. comp. patented for use as substitutes for Pyretrum, USDA Bur. Entom. and Plant Quar. Div. Insect. Invest. Mimeo pubbl. - Febbrato, 1944.
Cloroacetati di metile, etile, isopropile, butile e isobutile	Lotta contro le mosche (per irrorazione) Lotta contro mosche, zanzare, parassiti delle piante, del legno e della lana	R. C. Roark e R. T. Cotton: Brev. USA 478922 (1934).
Cloroacetati e bromoacetati di metile, etile e isopropile	Fumiganti (1-2 libbre/1000 piedi cubici)	R. C. Roark e R. T. Cotton: Ind. Eng. Chem., 20: 543 (1928).
Cloroacetati e bromoacetati di metile, etile, isopropile e butile	Lotta contro la Calandra del riso (<i>Calandra oryzae</i>) e l'acaro <i>Tetranychus telarius</i>	USDA Tech. Bull., 462 (1929).
Cloroacetati di alcoli alifatici saturi	Insetticidi in genere	C. H. Peet: Brev. USA 4816441 (1934).
Bromoacetati di metile e di etile	Lotta contro la cocciniglia degli agrumi (<i>Chironaphalus aurantii</i>)	H. L. Cupples e coll.: Jour. Econ. Entom. 29: 644 (1936).
Cloroacetati in genere	Insetticidi in genere	N. N. Mel'nikov: Comp. Rend. Acad. Sc. URSS (in inglese) 34: 610 (1944).
Cloroacetato di tricloroisobutile	»	S. Somazzi: Brev. Italiano 442561 (1948).
Cloroacetato di etile	Tossico per uova e larve della mosca della frutta (<i>Dacus orientalis</i>)	J. W. Balock: Journ. Econ. Entom., 44: 637 (1951).
Cloroacetati di metile, etile, propile, isopropile, butile e amile	Come fumiganti nella lotta contro vari parassiti dei cereali	C. Harukawa e coll.: Chem. Abstr., 46: 3208c (1952).
Acido bromoacetico	Saggiato come insetticida di contatto per il pidocchio dell'uomo, larve di zanzare, pulci, zecche ed acari	W. V. King: Chemicals Evaluated as Insecticides and Repellents at Orlando, Fla. U. Dent. Agr., Agr. Handbook n. 69, May 1954 (*).
Bromoacetato del 2-(2-butossietossi) etanolo	»	»
Bromoacetato del tetraidrofurfurolo	»	»
Cloroacetato dell'alcool benzilico	»	»
» (bis) dell'1,3-butandiolo	»	»
» del 2-nitroisobutanolo	»	»
» dell'isoborneolo (clorurato)	Saggiato come insetticida di contatto ad effetto residuo per <i>M. domestica</i> e <i>Aedes aegypti</i>	»
» del 3,3,3-trimetilcicloesanololo	»	»

(*) Tra i numerosi bromo- e cloroacetati riportati da King, si segnalano solo quelli che hanno dato i migliori risultati.

di sufficiente purezza per essere usati come tali nelle prove di attività insetticida.

Materiale biologico. — Abbiamo usato come materiale biologico i seguenti ceppi di *Musca domestica*:

1) Ceppo sensibile proveniente da Roma (S-Roma), allevato in laboratorio;

2) Ceppo poliresistente, proveniente dalla Sardegna (R-Sardegna), allevato in laboratorio e selezionato periodicamente verso il Chlordane. Risulta altamente resistente al Chlordane e notevolmente resistente al DDT ed analoghi, ed al Lindano.

Metodi di valutazione del potere insetticida. — Il potere insetticida (delle sostanze preparate) è stato determinato con due diverse tecniche: su carta da filtro (Metodo I) e su muro (Metodo II).

Metodo I. - Questo metodo è già stato descritto per esteso in un nostro precedente lavoro ⁽³⁾. Esso consiste, in breve, nell'esporre, per la durata di un'ora, gruppi di 50-100 mosche al contatto di superfici di carta bibula previamente trattate con soluzione o dispersione in olio d'oliva del prodotto in esame.

Metodo II. - Le prove su muro sono state effettuate su pareti intonacate ed imbiancate a calce da almeno sei mesi. La dispersione acquosa da spruzzare sul muro veniva preparata aggiungendo 4 volumi di soluzione acquosa al 2% di gomma arabica ad 1 volume della soluzione alcolica del prodotto. Le mosche, in gruppi di 50-100, venivano poste a contatto della superficie trattata in apposite gabbiette metalliche appese alla parete.

Selezione di ceppi di M. domestica con acido cloroacetico. — Per il metodo seguito rimandiamo ad un precedente lavoro ⁽³⁾.

RISULTATI

Prove su carta da filtro. — Nella Tabella II vengono riportate le tossicità per *M. domestica* (ceppo R-Sardegna) degli acidi iodo-, bromo- e cloroacetico. Con il metodo usato le tre sostanze presentano una tossicità dello stesso ordine di grandezza.

TABELLA II. - Tossicità degli acidi iodo-, bromo-, e cloroacetico verso individui femmine di *M. domestica* del ceppo R-Sardegna, secondo il Metodo I (carta da filtro).

	Acido iodoacetico	Acido bromoacetico	Acido cloroacetico
DL ₅₀ g/m ²	1,5	1,5	2,5

Nella Tabella III sono riportati i risultati ottenuti, su mosche del ceppo R-Sardegna, con una serie di esteri dell'acido cloroacetico. Dei prodotti provati, il solo cloroacetato di fenile ha mostrato di possedere una attività maggiore di quella dell'acido cloroacetico, il cloroacetato di cresile una attività eguale ed i seguenti 5 esteri nell'ordine hanno mostrato una minore, seppure ancora sensibile attività.

TABELLA III. - Potere insetticida, relativo all'acido cloroacetico, di vari cloroacetati verso individui femmine di *M. domestica* del ceppo R-Sardegna, secondo il metodo I (carta da filtro).

Sostanza	mM mq	Durata del contatto	Potere insetticida relativo
Acido cloroacetico	25,0	1 ora	1,0 (*)
Cloroacetato del fenolo	»	»	1,5
» del cresolo	»	»	1,0
» (tris) del glicerolo	8,35	»	0,5
» del p-clorofenolo	25,0	»	0,5
» dell'ottanolo sec.	»	»	0,5
» del 2,4,6-triclorofenolo	»	»	0,2
» del pentaclorofenolo	»	»	0,1
» (bis) dell'α cloridrina glicerica	12,5	»	0,1
» (bis) del glicol propilenico	»	»	0,0
» del cicloesanoolo	25,0	»	0,0
» dell'alcool laurilico	»	»	0,0
» del p-ossibenzoato di metile	»	»	0,0
» (bis) del 4-clororesorcinolo	12,5	»	0,0
» (bis) del 4,4'-diidrossibenzofenone	»	»	0,0
» del 2-fenossietanolo	25,0	»	0,0
» del 3-idrossi-4,3-dimetilbenzene	»	»	0,0
» (bis) del 2-metil-2-nitro-4,3-propandiolo	12,5	»	0,0
» del p-fenilfenolo	25,0	»	0,0
» del p-dimetilbenzilfenolo	»	»	0,0
» dell'alcool cetilico	»	»	0,0

(*) Corrispondente ad una mortalità del 60-70%.

Prove su muro. — Nella Tabella IV sono riportati i risultati ottenuti con esteri dell'acido cloroacetico su mosche resistenti del ceppo R-Sardegna, secondo il Metodo II. Alcuni dei cloroacetati provati hanno dato risultati soddisfacenti, però il solo cloroacetato di 2,4,6-triclorofenile ha mostrato una discreta azione residua.

TABELLA IV. - Potere insetticida di vari cloroacetati verso individui femmine di *M. domestica* del ceppo R-Sardegna, secondo il metodo II (su muro).

Sostanza	g/mq.	Tempo trascorso dal trattamento	Durata del contatto	Mortalità %
Cloroacetato del p-clorofenolo	5	24 ore	24 ore	100
» »	»	6 giorni	»	60
» dell'alcool ottilico sec.	»	24 ore	»	100
» » »	»	3 giorni	»	8
» (bis) del glicol etilenico	»	24 ore	»	75
» p-ossibenzoato di metile	»	»	»	30
» dell'alcool cetilico	»	»	»	60
» del pentaclorofenolo	»	»	»	100
» »	»	3 giorni	»	0
» del 2,4,6,-triclorofenolo	»	24 ore	»	100
» »	»	48 ore	3 ore	100
» »	»	3 giorni	3 ore	100
» »	»	4 giorni	24 ore	95
» »	»	8 giorni	»	30
» del p.fenilfenolo	»	24 ore	»	0
» (bis) del p-idrossibenzofenone	»	»	»	0
» (bis) del 4-clororesorcinolo	»	»	»	0
» del (-dimetilbenzil) fenolo	»	»	»	0
» del 2-fenossietanolo	»	»	»	0
» del 2-metil-2-nitro-4,3-propan-diolo	»	»	»	0
» del 5-idrossi-4,3-dimetilbenzene	»	»	»	0

Rapporto fra potere insetticida dell'acido cloroacetico e quello di altri noti insetticidi.

Nella Tabella V sono riportati i dati comparativi del potere insetticida di varie note sostanze e dell'acido cloroacetico alla concentrazione di 1 g/m², su carta.

TABELLA V. - Potere insetticida di alcuni noti insetticidi organici e dell'acido cloroacetico, alla concentrazione di 4g/m² su carta (Metodo I), per individui femmine di *M. domestica* del ceppo S-Roma (sensibili).

Sostanza	N. di individui a contatto	Mortalità %
Lindano	130	100
Piretro (1)	100	20
Chlordane	100	84
DDT	110	72
Acido cloroacetico	100	60

(1) Estratto al 25%. Alla fine del periodo di contatto, tutti gli individui erano abbattuti; nelle successive 24 ore, l'80% di essi si sono ripresi.

Selezione con acido cloroacetico. — La selezione dei due ceppi di *M. domestica* (S-Roma ed R-Sardegna) con acido cloroacetico, i cui risultati fino alla F₃₀ sono stati già riportati in un precedente lavoro (3), è stata continuata fino alla F₅₃, senza ottenere un aumento sensibile della tolleranza all'acido cloroacetico. Difatti, la DL₅₀ per femmine di *M. domestica* dei due ceppi è rimasta dopo 53 generazioni di circa 1,5-2,5 g/m² (Metodo I, su carta).

DISCUSSIONE

Dall'esame dei risultati si può rilevare come l'acido cloroacetico ed alcuni suoi esteri abbiano un potere insetticida, nelle condizioni sperimentali da noi adottate, dello stesso ordine di grandezza di quello posseduto da alcuni noti insetticidi organici (Lindano, DDT, Piretro, Chlordane). Mentre però queste ultime sostanze non esplicano nessuna azione insetticida verso alcuni ceppi di mosche (« resistenti »), ceppi che si vanno man mano espandendo proprio a seguito dell'impiego su vasta scala delle sostanze suddette, l'acido cloroacetico ed i suoi esteri, invece, hanno mostrato di possedere potere tossico sia per i ceppi di mosche sensibili che per quelli di mosche resistenti.

Inoltre, non abbiamo notato, in seguito ad un lungo processo selettivo della durata di 53 generazioni, alcun aumento della resistenza verso l'acido cloroacetico, dei due ceppi (S-Roma ed R-Sardegna) in esperimento.

E' da notare che nella serie dei vari esteri dell'acido cloroacetico sperimentati, solo alcuni posseggono un potere insetticida degno di rilievo.

TABELLA VI. - Tossicità orale degli acidi iodo-, bromo- e cloroacetico (sale sodico) e di alcuni noti insetticidi per alcuni vertebrati.

Sostanza	DL ₅₀ in mg/Kg	Animale trattato
Acido cloroacetico	255 (a), 165 (b)	topino
» »	76 (a)	ratto
» »	80 (a)	cavia
Acido bromoacetico	100 (b)	topino
Acido iodoacetico	83 (b)	»
DDT	250 (c)	ratto
Lindano	125 (c)	»
Chlordano	500 (c)	»
Aldrin	50 (c)	»
Dieldrin	65 (c)	»
Toxaphene	150 (c)	»
Parathion	10 (c)	»

(a) WOODARD J. ⁽¹⁰⁾.

(b) MORRISON J. ⁽⁸⁾.

(c) TILEMANS E. e DORMAL S. ⁽⁹⁾.

In linea di massima sembra che il potere insetticida sia maggiore per le sostanze più volatili. Una discreta azione residua, della durata di circa una settimana, è stata dimostrata per il solo cloroacetato del 2,4,6-triclorofenolo.

Altra caratteristica dei cloroacetati è la loro relativamente bassa tossicità per i vertebrati. Nella Tabella VI vengono paragonate le DL₅₀ per i vertebrati di varie sostanze insetticide, e degli acidi iodo-, bromo- e cloroacetico.

Roma — Istituto Superiore di Sanità - Laboratorio di Parassitologia.

BIBLIOGRAFIA

- (1) BETTINI S. e BOCCACCI M. - Riv. Parass., 13: 165 (1954).
- (2) BETTINI S. e BOCCACCI M. - Rend. Ist. Sup. Sanità, 17: 188 (1954).
- (3) BETTINI S. e BOCCACCI M. - Riv. Parass., 16: 43 (1955).
- (4) BETTINI S. e BOCCACCI M. - Experientia, 11: 1 (1955).
- (5) BETTINI S., BOCCACCI M. e ROSSI C. - Riv. Parass., 16: 103 (1955).
- (6) FREAR D. E. H. - A Catalogue of Insecticides and Fungicides. Waltham, Mass., U.S.A., 1947.
- (7) KING W. V. - Chemicals Evaluated as Insecticides and Repellents at Orlando, Fla., U. S. Dept. Agr., Handbook No. 69, 1954.
- (8) MORRISON J. - J. Pharm., 86: 336 (1946).
- (9) TILEMANS E. e DORMAL S. - Parasitica (Gembloux), 8: 64 (1952).
- (10) WOODARD J. - J. Indust. Hyg. Tox., 23: 78 (1941).