

# EL CONTROL BIOLÒGIC DEL TETRAIODEFENOLFTALEÏNAT SÒDIC

per

J. BARBA GOSÉ

Aquesta anàlisi té per objecte determinar si el mateix producte obtingut en diferents centres industrials presenta diferències tòxiques apreciables que facin necessari controlar sistemàticament aquests derivats iodats abans de llançar-los al comerç.

Les impureses que determinen la toxicitat anormal del tetraiode procedeixen tant del procés de la seva síntesi com de la seva descomposició per acció de l'aire i la llum en el transcurs del temps.

El tetraiodofenolftaleïnat sòdic s'obté a partir del fenol i de l'anhídric ftàlic, halogenant la fenolftaleïna que resulta i convertint-la després en la sal sòdica, com a continuació s'indica.

Preparació de la fenolftaleïna a partir de l'anhídrid ftàlic i el fenol, emprant com agent de condensació el clorur estànnic, l'àcid sulfúric o el clorur de zinc.

Una solució de 250 parts d'anhídric ftàlic en 200 d'àcid sulfúric concentrat es barregen amb 800 de fenol os. S'escalfa la barreja a 115-120°, durant deu o dotze hores. (La solució de l'anhídrid ftàlic en l'àcid sulfúric

es fa en calent, refredant després fins a 115°.) Es bull la mescla; s'escalfa amb aigua per a separar el fenol de l'àcid ftàlic; es dissol l'àcid ftàlic obtingut en una solució calenta de sosa càustica, s'acidula amb àcid acètic i, després, lleugerament, amb àcid clorhídric.

La fenolftaleïna es precipita sota forma d'una pols blanca-groguenca, que es cristal·litza en alcohol calent. Per a obtenir-ne la alfa-tetraiodefenolftaleïna, es poden seguir diversos procediments : a) Es tracta directament una solució alcalina de fenolftaleïna amb una solució de iode en iodur potàssic o de clorur de iode en àcid clorhídric; b) Per acció del clorur de iode sobre una solució de fenolftaleïna en àcid acètic. (En la indústria s'usen aquests diferents procediments segons els laboratoris que la preparen.) Aquest compost té com a sinònim els noms de Nosophen i Yodophen.

És una pols insoluble en l'aigua, de color bru, que es fon a 255°, desprenent vapors de iode.

La sal sòdica d'aquest compost és el tetraiodefenolftaleïnat sòdic. Es presenta cristal·litzat en prismes de color blau pàl·lid que, mirats al microscopi, són pràcticament incoloros. Es dissol fàcilment en l'aigua i en l'alcohol i dona solucions de color blau-morat. Aquesta coloració s'intensifica en escalfar-se, i torna al seu color primitiu en refredar-se. L'acció de la llum i dels raigs solars, en actuar directament, decoloren la solució, degut a què s'altera el compost per oxidació.

Aquest compost fou incorporat entre els productes farmacèutics l'any 1923, quan, després de diferents assaigs i temptatives, s'adoptà com un dels millors productes per a fer radiològicament assequible la bufeta biliar.

Els assaigs per a l'ús d'aquesta substància tenen llur antecedent en els treballs d'Abel i Rowntree l'any

1910, que experimentaren l'acció de certs preparats ftaleínics i llur electivitat d'eliminació per la bilis, i pensaren en emprar-los per a estudiar la capacitat funcional del fetge. Aquests treballs foren els que suggeriren a Graham, Cole i Copher la idea que, buscant un compost fenolftaleínat de pes atòmic elevat, com són el iode o el brom, fóra possible obtenir una bilis opaca als raigs X i, així, una imatge radiològica de la bufeta biliar.

Els treballs començaren l'any 1923, i la substància emprada fou el tetraiodofenolftaleínat sòdic per via intravenosa, però en els primers assaigs aquesta substància donà resultats poc satisfactoris, ja que, per la seva toxicitat, es registraren alguns resultats funestos.

Essent deguda aquesta anormal i perillosa toxicitat a impureses del tetraiode, s'aconseguí obtenir aquesta substància en millors condicions de puresa (1924), i els resultats foren, aleshores, satisfactoris.

Paral·lelament a les recerques amb els derivats iodats, s'experimentaren els efectes dels derivats ftaleínics bromats, i el mes de gener del 1925, Whitaker i Milliken, en el *Sur. Gynec. and Obs.*, varen publicar un treball en el qual posaven de manifest com es poden obtenir els mateixos efectes radiològics amb els preparats de iode i amb els de brom, àdhuc emprant-los en quantitats més petites.

La toxicitat d'ambdues sèries de derivats bromats i iodats, per quilogram d'animal és aproximadament la mateixa; però en obtenir-se els mateixos efectes d'opacitat radiològica amb la meitat de la dosi de derivats iodats, l'efecte tòxic d'aquests queda reduït a la meitat.

Una característica del fenolftaleínat sòdic és que, a més d'excretar-se pel fetge en quantitat suficient per a

poder obtenir bones imatges vesiculars de la bufeta, ho fa també pel ronyó, i es pot reconèixer en l'orina després d'alcalinitzar-la.

A més s'ha de tenir en compte que el iode té un pes atòmic de 126'92 i el brom de 79'95, i que l'opacitatradiològica està en raó directa del pes atòmic dels elements.

Establerta ja l'eficàcia i excel·lència d'aquesta droga per a la radiografia de la bufeta biliar, els únics esculls estan : a) en les dosis (administrar les adequades), i b) en les impureses (analitzar la toxicitat que, degut a cossos estranys, pot ésser anormal i excessiva).

a) Administrada aquesta substància intravenosament, el gos tolera dosis de fins 0'2 gr. per quilogram d'animal.

En l'home pot considerar-se una mitjana prudent la de 0'1 gr. per quilogram de pes.

En rates és difícil d'apreciar la dosi tolerada, ja que no poden observar-se bé els efectes tòxics i no mortals, però una mitjana de dosi mortal mínima està entre 0'35 i 0'40 gr. per quilogram de pes.

b) Quant a la puresa en funció de la toxicitat, poden veure's les corbes obtingudes assajant mostres trameses pels laboratoris anglesos Allen & Hanburys, Martindale, British Drug House, Boots, Burroughs Wellcome, Southall i Evans.

El procediment emprat per a aquests assaigs és el mateix que s'empra per a analitzar la toxicitat dels salvarsans en el Medical Research Council, de Gran Bretanya.

L'animal d'experiència és la rata, a la qual s'injecta la solució de la droga a la vena de la cua, segons la tècnica i els detalls indicats a continuació.

I. *Preparació de la solució.* — La solució de la droga

es fa en aigua recentment destil·lada en condensador de vidre (recentment destil·lada a fi d'evitar que pul·lulin els microorganismes). La solució es prepara novament cada vint-i-quatre hores, perquè s'altera en contacte amb l'aire, procurant, a més, durant l'experiència, que el flascó que conté la substància estigui protegit de la llum solar directa.

II. La xeringa per a injeccions convé que sigui tota de vidre, com les emprades per la tuberculina, de capacitat total de 1 cc., dividida en dècimes i centèsimes. L'agulla ha d'ésser fina, com les que s'usen en odontologia.

III. Les rates més adequades són les que oscil·len entre 15 i 25 gr. de pes i de colors clars, perquè sigui possible distingir bé les venes de la cua.

Les rates es guarden en caixes de dimensió suficient, perquè no estiguin agombolades. Durant les vint-i-quatre hores anteriors a la injecció se les deixa en dejú.

Seguint l'operació amb alguns detalls, procedirem primer a pesar la rata, i prendrem nota del pes; després prendrem nota d'algun caràcter aparent de l'animal (color, per exemple).

A continuació es posa la rata en un cilindre de cartó que, per a rates de pes entre 15 i 25 gr., ha de tenir unes dimensions de 8 cm. de llarg per 3 de diàmetre. Es tapa amb un tros de cotó fluix l'extrem que correspon al cap, i amb un tap amb un forat perquè surti i quedi lliure la cua, l'altre.

Aquest cilindre que conté la rata se subjecta verticalment a un suport, de manera que la cua quedi submergida en un recipient que conté aigua a 50° (aquesta temperatura pot mantenir-se constant gràcies a unes bombetes elèctriques adequades) durant un temps d'uns dos minuts.

Després, es col·loca en les pinces d'un altre suport, en posició un xic inclinada, la més còmoda per a l'operador.

Es dona la injecció, i es deixa immediatament la rata lliure en una gàbia amb menjar. Es poden posar diverses rates, a les quals hem injectat les mateixes quantitats en la mateixa gàbia.

S'apunta per a cada rata la dosi administrada i el volum de líquid injectat.

S'observen les gàbies, per veure els efectes, a les cinc hores de la injecció, a les vint-i-quatre, a les quaranta-vuit i a les setanta-dues, i s'apunten cada cop les rates que es troben mortes.

Més enllà de setanta-dues hores ja no hi ha variació en la mortalitat, com pot veure's en la gràfica que representa la mortalitat en relació amb el temps.

Tenint en compte que les corbes de toxicitat són més representatives i aproximades a la veritat com més gran és el nombre d'elements dels quals treiem les mitjanes, per a cada dosi emprem trenta rates, i per a cada mostra assagem un mínim de quatre dosis, la qual cosa representa cent-vint rates per a cada assaig.

Com que el que fem és un assaig comparatiu, prenem com a punt de referència, per a veure les variacions, la dosi que correspon al 50 per 100 de mortalitat.

Els resultats trobats són els següents:

	Mil·ligrams pes 20 gr. per rata
Allen & Hanburys.....	7'2
Martindale.....	6'7
British Drug Houses.....	5'2
Boots.....	6'5
Borroughs Wellcome.....	5'9
Southall.....	7'1
Evans.....	5'7

Com a conseqüència d'aquests resultats veiem que la mitjana de dosis 50 per 100 mortals és 6'3, la desviació standard és

$$\sqrt{\frac{\sum d^2}{n}} = \sigma = 0'83,1$$

o sigui que les dosis, fent ús de la fórmula establerta per a veure si les diferències són significatives,

$$\left( \frac{x_1 - x_2}{\sqrt{\sigma_1^2 + \sigma_2^2}} = \geq 3 \right)^2$$

Si, segons el concepte biològic, la diferència és digna o no d'ésser apreciada. En el nostre experiment la valor trobada per a l'anterior relació és inferior a 3, la qual cosa indicaria, segons aquella i en general, que la diferència no és significativa; però, tanmateix, si tenim en compte que la forma de les corbes obtingudes és gairebé vertical en la seva part mitjana i, per tant, que dosis molt properes ocasionen una notable diferència de mortalitat, es pot, en aquest cas concret, prendre en consideració la diferència, encara que sigui petita.

Com a complement d'aquestes observacions de toxicitat, des del punt de vista de l'èxit letal, hem realitzat a l'Institut de Fisiologia de Barcelona diverses observacions en gossos, a fi d'estudiar els trastorns i modificacions produïdes per dosis submortalis de tetraiodofenoltaleïna.

Les conclusions provisionals que poden deduir-se dels cinc experiments realitzats són les següents:

A dosis de 2 a 5 gr. en gossos de pesos entre 11 i 17 kg., s'observa:

1. J. H. BURNS, *Methodes of Biological Assays*, pàg. 117.
2. J. H. BURNS, pàg. 121.

Vasodilatació gradual i sostinguda, acompanyada de vegades de taquicàrdia; augment de l'amplitud respiratòria, amb augment de freqüència de tipus bulbar, fins arribar de vegades a la dispnea asfíctica : modificacions de la coagulabilitat sanguínia, amb retard dels temps de coagulació i del temps de retracció del coàgul.

En les injeccions practicades amb solucions de tetraïode isotonitzades amb ClNa, els efectes observats han estat els mateixos.

*Pharmacological Laboratory of the Pharmaceutical  
Society of Great Britain.*