

ANNALES
UNIVERSITATIS MARIAE CURIE-SKŁODOWSKA
LUBLIN — POLONIA

VOL. XXIX, 6

SECTIO D

1974

Instytut Patologii Klinicznej Akademii Medycznej w Lublinie
Dyrektor: prof. dr med. Jarosław Billewicz-Stankiewicz
Zakład Farmakodynamiki. Wydział Lekarski. Akademia Medyczna w Lublinie
p.o. Kierownik: doc. dr med. Zdzisław Kleinrok
Instytut Chorób Wewnętrznych. Śląska Akademia Medyczna w Katowicach
Dyrektor: prof. dr med. Kornel Gibiński
Klinika Chorób Wewnętrznych i Zawodowych
Kierownik: prof. dr med. Witold Zahorski

Sylvia FIDECKA, Zdzisław KLEINROK,
Stanisław KOŚMIDER

Ośrodkowe działanie 4 nowo zsyntetyzowanych detergentów

Центральное действие четырех новосинтезированных detergentов

The Central Action of Four New Detergents

Rozwój chemii spowodował wprowadzenie wielu nowoczesnych środków chemicznych między innymi środków powierzchniowo czynnych, zwanych detergentami. Są to wielkocząsteczkowe związki posiadające zdolność obniżenia napięcia powierzchniowego. Działanie powierzchniowe każdego detergentu uwarunkowane jest obecnością części hydrofobowej i części hydrofilowej cząsteczki (13). W zależności zaś od charakteru elementu hydrofilowego detergenty dzielimy na 1) jonotwórcze anionowe, 2) jonotwórcze kationowe i 3) niejonotwórcze. Ostatnie z wymienionych są estrami wyższych kwasów tłuszczowych z alifatycznymi alkoholami wielohydroksylowymi (4). Związki te znalazły szerokie zastosowanie w przemyśle włókienniczym, chemicznym, spożywcym, górniczym, a także w lecznictwie oraz w gospodarstwie domowym. Jak wszystkie nowo wprowadzone związki chemiczne detergenty budzą niepokój i obawy z uwagi na możliwość wpływu na organizmy żywe. Potwierdzeniem tego jest potęgowanie narkozy heksobarbitalowej przez detergenty (5). Z drugiej strony Seeman i Bialy (15) wykazali, że leki neuroleptyczne — takie, jak rezerpina czy pochodne fenotiazyny — obniżają napięcie powierzchniowe płynu Ringera. Również niektóre środki nasenne i narkotyki chirurgiczne obdarzone są tymi właściwościami (16). Można więc przypuszczać, że związki posiadające zdolność obniżania napięcia powierzchniowego mogą powodować zaburzenia czynności ośrodkowego układu nerwowego.

Powyższe dane skłoniły nas do przebadania wpływu na ośrodkowy układ nerwowy zwierząt doświadczalnych czterech substancji powierzchniowo czynnych, wyprodukowanych przez Nadodrzańskie Zakłady Przemysłu Organicznego Rokita w Brzegu Dolnym. Budowę chemiczną tych substancji przedstawiono w tab. 1.

MATERIAŁ I METODY

Do doświadczenia użyto białe myszy (o ciężarze ciała 18—28 g) oraz białe szczury szczeru Wistar (o ciężarze 170—350 g). Badane substancje podawano dootrzewnowo w roztworach wodnych w takich stężeniach, aby na 10 g ciężaru ciała myszy stosowana dawka znajdowała się w 0,1 ml roztworu, a w przypadku szczurów na każde 100 g ciężaru ciała stosowana dawka mieściła się w 0,5 ml roztworu. Zwierzęta grup kontrolnych otrzymywały dootrzewnowe iniekcje takich samych objętości rozpuszczalnika. W doświadczeniach ostrych, przeprowadzonych na szczurach badane substancje stosowano dożylnie w fizjologicznym roztworze NaCl. Wykonano następujące badania:

1. **Toksyczność ostra.** Badania przeprowadzono na myszach podzielonych na grupy po 8 zwierząt, którym podawano dootrzewnowo wzrastające dawki badanych substancji. LD_{50} oznaczono po upływie 48 godz. posługując się metodą Lichtfielda i Wilcoxon'a (12). W trakcie oznaczania LD_{50} prowadzono obserwacje zachowania się zwierząt.

2. **Wpływ na ruchliwość spontaniczną.** Badania przeprowadzono posługując się metodą fotokomórkową na myszach podzielonych na grupy po 8 zwierząt. 1 godz. przed rozpoczęciem doświadczenia myszy otrzymywały dootrzewnowe iniekcje badanych substancji w dawkach odpowiadających 1/80, 1/40, 1/20, 1/10 i 1/5 LD_{50} . Czas pomiaru wynosił 30 min.

3. **Wpływ na zachowanie się szczurów w teście „wolnego pola” (Open-field).** Badania przeprowadzono posługując się metodą Fontenay'a (7). Zwierzęta obserwowano przez 5 min. notując liczbę przekroczonych kwadratów, liczbę wspięć, liczbę epizodów toalety, liczbę epizodów zainteresowania się klockami (badania przedmiotów) oraz liczbę epizodów defekacji. Badane substancje podawano dootrzewnowo w dawkach stanowiących 1/20, 1/0 i 1/5 LD_{50} grupom po 8 szczurów. Szczury grupy kontrolnej otrzymywały rozpuszczalnik.

4. **Wpływ na zachowanie się myszy w teście „płyty z otworami” (planche á trous).** Badania przeprowadzono metodą opisaną przez Boissier'a i Simon'a (3). Mysz umieszczono pośrodku płyty i prowadzono obserwacje przez 5 min. Każde zaglądniecie zwierzęcia do otworu było liczone automatycznie przez układ wzmacniający. Badane substancje podawano dootrzewnowo grupom myszy po 8 zwierząt w dawkach stanowiących 1/10 lub 1/5 LD_{50} . Równolegle badano zwierzęta grup kontrolnych.

5. **Wpływ na ciepłotę ciała zwierząt normotermicznych.** Wpływ substancji w dawkach stanowiących 1/20, 1/10 i 1/5 LD_{50} na ciepłotę ciała przebadano na myszach posługując się termometrem termistorowym. Doświadczenia przeprowadzono w pomieszczeniach o stałej temperaturze ok. 22°C na grupach po 8 myszy zawsze równocześnie z odpowiednią grupą zwierząt kontrolnych. Za temperaturę wyjściową przyjmowano średnią otrzymaną z 3 pomiarów uzyskanych w półgodzinnych odstępach czasu przed podaniem badanych substancji.

6. **Badania własności przeciwbólowych.** Badania przeprowadzono przy użyciu testu „gorącej płytki” według Eddy i Leimbach'a (6). Każdą mysz umieszczano na płytce i oznaczano czas (w sek.), po upływie którego występowały reakcje obronne (lizanie łap, podskok, wyskok). Pomiarów takich dokonywano 0,5 godz. przed podaniem badanych substancji oraz w 0,5, 1,0, 1,5, 2,0 i 3,0 godz. po podaniu. Badane związki stosowano w dawkach odpowiadających 1/10 lub 1/5 LD_{50} . Równolegle z grupami badanymi kontrolowano reakcje myszy, które otrzymały rozpuszczalnik.

7. Wpływ na koordynację ruchową. Doświadczenia przeprowadzono na myszach podzielonych na grupy po 8 zwierząt postępując się metodą pręta obrotowego, opisaną przez Grossa i wsp. (9). Myszy umieszczano na poziomym obracającym się pręcie o średnicy 1 cm, wykonującym 3 obroty/min. Czas obserwacji wynosił 2 min. Za mysz nieutrzymującą się na pręcie, uznawano taką, która spadała z pręta przynajmniej 4 razy na 7 ekspozycji. Badane związki stosowano w dawkach odpowiadających 1/10 i 1/5 LD₅₀, a uzyskane wyniki porównywano z wynikami grup kontrolnych.

8. Wpływ na czas trwania snu narkotycznego wywołanego heksobarbitaliem. Doświadczenia przeprowadzono na grupach myszy po 8 zwierząt. Badane substancje w dawkach stanowiących 1/40, 1/20, 1/10 i 1/5 LD₅₀ podawano dootrzewnowo 1 godz. przed również dootrzewnowym podaniem soli sodowej heksobarbitalu w ilości 75 mg/kg. Za czas trwania snu przyjmowano okres od utraty do powrotu odruchu postawy u myszy.

9. Wpływ na drgawki kardiazolowe. Wpływ badanych substancji na działanie kardiazolu przebadano na myszach zgrupowanych po 8 zwierząt. W 60 min. po dootrzewnowym podaniu związków w dawkach stanowiących 1/10 lub 1/5 LD₅₀ podawano podskórnie kardiazol w dawkach 110 mg/kg (dawka drgawkowa) oraz 75 mg/kg (dawka progowa). Następnie prowadzono obserwacje myszy umieszczanych pojedynczo przez 1 godz. notując liczbę zwierząt wykazujących drgawki kloniczne, toniczne oraz liczbę zwierząt padłych.

10. Wpływ na ciśnienie i oddychanie u szczurów. Doświadczenia przeprowadzono na szczurach c. 280—320. Zwierzęta usypiano uretanem etylowym w dawce 1,4 g/kg i.p. Ciśnienie mierzono metodą krwawą w tętnicy szyjnej, którą łączono z manometrem rtęciowym Condona. Oddychanie rejestrowano przy pomocy bębena Marey'a, połączonego rurką tracheotomijną z tchawicą. Badane substancje podawano do żyły szyjnej w roztworach 0,9% soli fizjologicznej. Podawane dawki stanowiły określoną część LD₅₀.

WYNIKI

1. Toksyczność ostra. Jak wynika z tab. 1 najbardziej toksyczne okazały się substancje Olbrotol-18 i Rokanol-030, najmniej toksyczne

Tab. 1. Toksyczność ostra badanych detergentów
Acute toxicity of detergents

Substancja	Skład chemiczny	LD ₅₀ w mg/kg
Olbrotol 18 (Olbrotol)	produkt addycji eterowej 18 moli tlenu etylenu z jednym molem mieszaniny w stosunku 1:1 alkoholi oleinowego i cetylowego	235 (178—310)
Rokanol O-30 (Rokanol)	addukt tlenu etylenu i alkoholu oleinowego	515 (495—535)
Rokowin P-60 (Rokowin)	mieszanina mono- i dwustrów pentaerytrytu oraz kwasu stearynowego	powyżej 2500
Rokowinol P-80 (Rokowinol)	addukt tlenu etylenu do estru pentaerytrytu i nienasyconego kwasu tłuszczowego	powyżej 2500

Rokowin P-60 i Rokowinol P-80. Po zastosowaniu dawek zbliżonych do śmiertelnych obserwowano uspokojenie, zmniejszenie ruchliwości, zmniejszenie reaktywności na bodźce zewnętrzne oraz obniżenie temperatury ciała.

2. Ruchliwość spontaniczna. Wpływ badanych substancji na ruchliwość spontaniczną oznaczoną w % wartości uzyskanych dla grupy kontrolnej przedstawiono na ryc. 1. Przeprowadzone doświadczenia pozwalają stwierdzić, że Rokowin i Rokowinol zastosowane w dawkach odpowiadających $1/10$ LD_{50} powodowały zmniejszenie ruchliwości spontanicznej w sposób statystycznie istotny. Zastosowane w dawkach stanowiących $1/20$ i $1/40$ LD_{50} nie wywierały tego działania. Pozostałe detergenty Olbrotol i Rokanol zastosowane w dawkach stanowiących $1/5$ i $1/10$ LD_{50} także zmniejszały ruchliwość spontaniczną myszy, ale wyniki okazały się statystycznie nieistotne.

3. Wpływ na zachowanie się szczurów w teście „wolnego pola”. Jak wynika z tab. 2 Olbrotol, Rokanol i Rokowin zastosowany w dawkach stanowiących $1/10$ i $1/5$ LD_{50} zmniejszały liczbę defekacji odpowiednio o 75%, 87,5%, 67%, 75%, 75% i 87,5%. Ponadto Olbrotol w dawce $1/5$ LD_{50} zwiększał liczbę przekroczonych kwadratów o 87%. Rokanol zastosowany w dawce $1/10$ LD_{50} zmniejszał liczbę epizodów toalety o 50%, a w dawce $1/5$ LD_{50} liczbę wspięć o 60%. Rokowinol zastosowany w dawce stanowiącej $1/10$ LD_{50} zmniejszał w sposób statystycznie

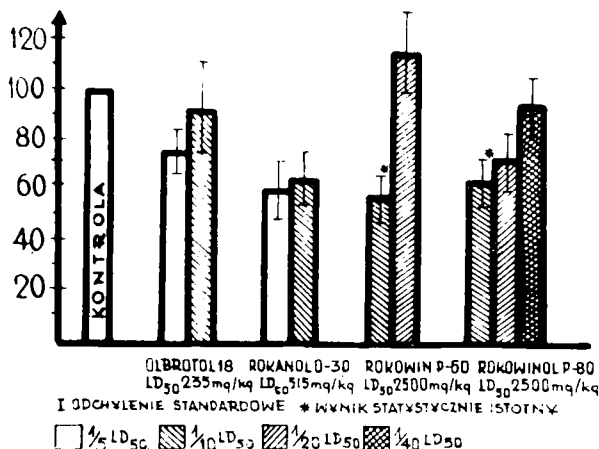
Tab. 2. Wpływ detergentów (1 godz. wcześniej) na zachowanie się myszy (gr. po 8 zwierząt) w teście „wolnego pola” w % w stosunku do kontroli

Influence of detergents on „open field” behaviour of mice in percent of control

Detergenty w mg/kg		Przekro- czone kwadraty	Wspięcia	Toaleta	Badanie przedmio- tów	Defekacja
Olbrotol	23,5	159 ±21,1	75 ±16,6	75 ±11,6	133 ±17,5	25 ±40,0**
	47,0	187 ±6,7*	180 ±20,0	160 ±26,2	150 ±25,0	12,5 ±40,0*
Rokanol	51,5	123 ±18,5	62 ±23,8	50 ±15,0*	67 ±40,0	33 ±48,0*
	103,0	80 ±41,6	40 ±43,0	60 ±53,3	50 ±40,0	25 ±50,0*
Rokowin	250,0	187 ±21,7	80 ±37,5	100 ±22,0	100 ±15,0	25 ±20,0*
	500,0	87 ±23,0	80 ±16,2	70 ±25,7	50 ±25,0	12,5 ±4,0*
Rokowinol	250,0	41 ±27,7*	37 ±33,3*	50 ±12,5*	25 ±48,0*	67 ±42,5
	125,0	160 ±19,5	160 ±16,1	160 ±10,1	100 ±38,0	125 ±24,0

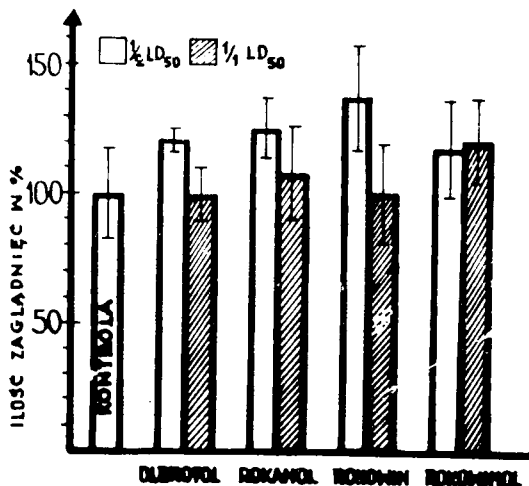
* — wynik statystycznie istotny ($p < 0,05$), ** — wynik statystycznie wysoce istotny ($p < 0,001$).

istotny wszystkie badane w tym teście parametry za wyjątkiem liczby odruchów defekacji.



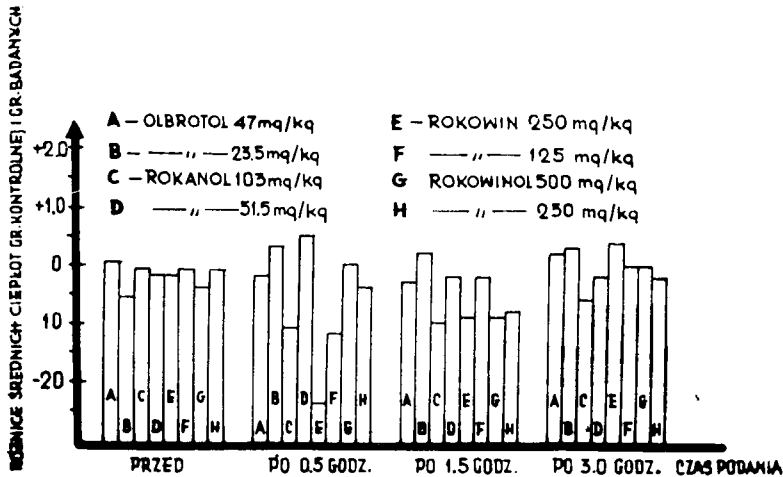
Ryc. 1. Wpływ detergentów (1 godz. wcześniej i.p.) na ruchliwość spontaniczną u myszy
Influence of detergents on spontaneous motility in mice

4. Wpływ na zachowanie się myszy w teście „płyty z otworami”. Jak wynika z ryc. 2, wszystkie badane substancje zastosowane w dawkach odpowiadających $1/10$ i $1/5$ LD_{50} nieznacznie zwiększały bądź nie wpływały na liczbę zbadanych otworów (ryc. 2).



Ryc. 2. Wpływ detergentów na zachowanie się myszy w teście „płyty z otworami”
Influence of detergents on behaviour of mice in „planché á trous” test

5. Wpływ na ciepłotę ciała zwierząt normotermicznych. Olbrotol, Rokanol oraz Rokowinol zastosowane w dawkach stanowiących 1/10 i 1/5 LD₅₀ nie wpływały na temperaturę ciała myszy w porównaniu do zwierząt grupy kontrolnej. Jedynie Rokowin P-60 zastosowany w dawce stanowiącej 1/10 LD₅₀ obniżał w sposób istotny temperaturę ciała zwierząt w 0,5 godz. od jego podania (ryc. 3).

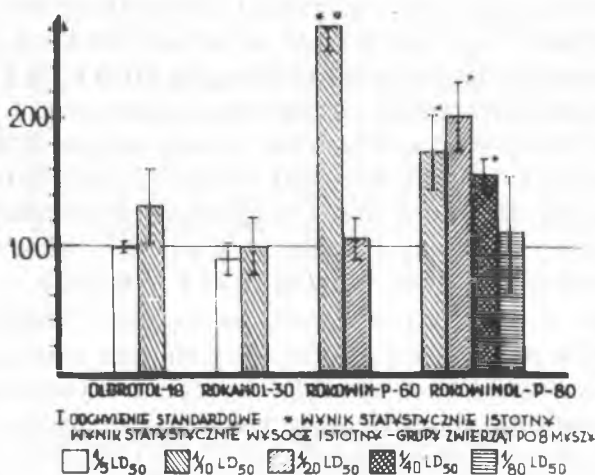


Ryc. 3. Wpływ detergentów na temperaturę ciała myszy
Influence of detergents on body temperature in mice

6. Badania własności przeciwbólowych. Wszystkie badane substancje zastosowane w dawkach stanowiących 1/10 oraz 1/5 LD₅₀ pozostały bez wpływu na czas reakcji na bodziec termiczny w teście „gorącej płytki”.

7. Wpływ na koordynację ruchową. Wszystkie badane substancje zastosowane w dawkach stanowiących 1/10 i 1/5 LD₅₀ praktycznie nie wpływały na zdolność utrzymywania się myszy na obracającym się przęciu.

8. Wpływ na czas trwania snu wywołanego heksobarbitaliem. Olbrotol i Rokanol w porównaniu z wynikami uzyskanymi w grupie kontrolnej nie wpływały na czas trwania snu narkotycznego wywołanego heksobarbitaliem. Natomiast Rokowin P-60 zastosowany w dawce odpowiadającej 1/10 LD₅₀ przedłużał sen o około 180% (wynik statystycznie wysoce istotny), zastosowany w dawce stanowiącej 1/20 LD₅₀ nie wywierał już tego działania. Także Rokowinol P-80 zastosowany w dawkach stanowiących 1/10, 1/20 oraz 1/40 LD₅₀ przedłużał sen heksobarbitalowy w sposób statystycznie istotny, a zastosowany w dawce jeszcze mniejszej (1/80 LD₅₀) nie wywierał już tego działania (ryc. 4).



Ryc. 4. Wpływ detergentów (1 godz. wcześniej i, p.) na sen hexobarbitalowy u myszy
 Influence of detergents on hexobarbital sleeping time in mice

9. Wpływ na drgawki kardiazolowe. Badane substancje zastosowane w dawkach 1/10 i 1/5 LD₅₀ nie wykazywały działania ochronnego w drgawkach kardiazolowych, jak też nie nasilały tego działania.

10. Wpływ na ciśnienie i oddychanie u szczurów. Badane detergenty stosowane dożylnie w dawkach stanowiących 1/160, 1/80, 1/20, 1/10 i 1/5 LD₅₀ i.p. u myszy praktycznie nie wpływały na ciśnienie i oddychanie szczurów.

OMÓWIENIE WYNIKÓW BADAŃ

Z badania toksyczności ostrej na myszach wynika, że najbardziej toksyczny okazał się Olbrotol (DL₅₀ — 235 mg/kg) i Rokanol (DL₅₀ — 515 mg), natomiast DL min. Rokowinu i Rokowinolu przewyższała 2500 mg/kg. Po zastosowaniu dawek zbliżonych do śmiertelnych obserwowano uspokojenie, zmniejszenie ruchliwości, zmniejszenie reaktywności na bodźce zewnętrzne oraz obniżenie ciepłoty ciała myszy. Olbrotol wykazał niewielkie działanie jedynie w teście „wolnego pola” zwiększając liczbę przekroczonych kwadratów (1/5 LD₅₀) i zmniejszając liczbę odruchów defekacji w obu zastosowanych dawkach (1/10 i 1/5 LD₅₀). Także Rokanol wykazał swoje działanie tylko w teście „wolnego pola”. W dawce odpowiadającej 1/10 LD₅₀ zmniejszył liczbę epizodów toalety, w dawce odpowiadającej 1/5 LD₅₀ zmniejszył liczbę wspięć i w obu tych dawkach zmniejszył liczbę odruchów defekacji.

Rokowin zastosowany w dawce 250 mg/kg (1/10 LD₅₀) zmniejszał ruchliwość spontaniczną myszy, przedłużał czas trwania snu narkotycznego

wywołanego heksobarbitem oraz obniżał temperaturę ciała myszy. W teście „wolnego pola” wpływał jedynie na odruch defekacji zmniejszając go w obu stosowanych dawkach 250 i 500 mg/kg (1/10 i 1/5 LD₅₀). Czwararty z przebadanych detergentów zastosowany w dawce 250 mg/kg (1/10 LD₅₀) zmniejszał ruchliwość spontaniczną myszy, wszystkie badane parametry za wyjątkiem odruchu defekacji w teście „wolnego pola” oraz przedłużał czas trwania snu heksobarbitalowego. Przedłużający wpływ na sen narkotyczny wywołany heksobarbitem miały także dwie mniejsze dawki Rokowinolu 125 i 62,5 mg/kg (1/20 i 1/40 LD₅₀).

Kośmider i wsp. (11) wykazali, że niektóre detergenty między innymi Olbrotol wywierają stale działanie hamujące ruchliwość spontaniczną szczurów. Wyniki te są zgodne z wynikami uzyskanymi w naszej pracy. Przeprowadzone doświadczenia wskazują, że badane detergenty zastosowane w dawkach stanowiących 1/5—1/10 LD₅₀ wywierają depremujący wpływ na ośrodkowy układ nerwowy myszy i szczurów. Mechanizm tego działania jest związany z fizyko-chemicznymi zmianami spowodowanymi obecnością detergentów w płynach tkankowych. Prowadzi to między innymi do zmiany aktywności niektórych enzymów, takich jak oksydaza cytochromowa (17), dehydrogenaza bursztynianowa (10), tryptyna (2), czy esteraza acetylocholinowa (1). Ponadto stwierdzono zwiększony poziom lipidów oraz histaminy we krwi zwierząt poddanych działaniu detergentów (8, 14).

Jakkolwiek stosowane w naszej pracy dawki detergentów są stosunkowo duże i trudno sobie wyobrazić, aby mogło dojść do nagromadzenia się ich w tak wysokich stężeniach w organizmie, to jednak fakt ich słabego wpływu na ośrodkowy układ nerwowy może mieć ewentualne znaczenie toksykologiczne. Z drugiej strony nieznaczny tylko wpływ na ośrodkowy układ nerwowy pozwala przypuszczać, że związki te mogą być stosowane w przemyśle bez ryzyka ich toksycznego działania na organizm żywy.

PIŚMIENNICTWO

1. Arnold W., Krefft S.: *Dtsch. Zeitschr gericht. Med.*: **41**, 297—310, 1952.
2. Astrup T., Alkjaersig N.: *Nature* **167**, 565, 1951.
3. Boissier I. R., Simon P.: *Physiology and Behaviour*, **2**, 447—448, 1967
4. Chruściel T., Kleinrok Z., Trzeciak H., Pojda S., Plech A. Brus R.: *Medycyna Pracy* **6**, 442, 1965.
5. Cole V., Hulpieu H.: *Proc. Soc. Exptl. Biol. Med.* **73**, 554—557, 1950.
6. Eddy N., Leimbach D.: *J. Pharmacol., Exp. Therap.*, **107**, 385—393, 1953.
7. Fontenay M., Le Cornec J., Zaczińska M., Debarte M. - Ch., Simon P., Boissier I. R.: *J. Pharmacol (Paris)*, **1**, 243—254, 1970.
8. Goth A., Allman R. M., Merritt B. C., Holman J.: *Proc. Soc. Exptl. Biol. Med.*: **78**, 848—852, 1951.
9. Gross F., Tripod J., Meier R.: *Schweiz. Med. Wschr.*, **85**, 305—309, 1955.

10. Hockenhul D.: *Nature* **162**, 850, 1948.
11. Kośmider S., Szymaniec J., Zieliński M.: *Medycyna Pracy* 1973 (w druku).
12. Lichtfield J. T., Wilcoxon F.: *J. Pharmacol.*, **96**, 99—113, 1949.
13. Mc Conell D., Tzagoloff A., Mc Lennan D., Green D.: *Biol. Chem.* **241**, 2375, 1966.
14. Payne T., Duff G.: *Arch. Path.*, **51**, 379—386, 1951.
15. Seeman P., Bidy H.: *Biochem. Pharmacol.*, **12**, 1181, 1963.
16. Venulet J.: *Współczesne problemy farmakoterapii*, PZWL, Warszawa 1959.
17. Wainio W. W., Aronoff M.: *Arch. Biochem. Biophys.* **57**, 115—123, 1955.

Otrzymano 13 VII 1973.

РЕЗЮМЕ

Исследовалось влияние олбротола-18, роканола О-30, роковина П-60 и роковинола П-80 на центральную нервную систему мышей и крыс. Острая токсичность после внутрибрюшечного применения, определяемая как LD_{50} , составила для олбротола-18 235 мг/кг, а для роканола О-30 515 мг/кг. Для остальных двух соединений LD_{min} оказалось большим 2500 мг/кг. Олбротол-18 и роканол О-30 не влияли на центральную нервную систему исследованных животных, а роковин П-60 и роковинол П-80, применяемые в таких же дозах, оказывают небольшое депрессивное влияние на центральную нервную систему мышей и крыс.

SUMMARY

The effect of Olbrotol-18, Rokanol O-30, Rokowin P-60 and Rokowinol -80 on the central nervous system of mice and rats has been studied. Acute toxicity (LD_{50}) determined in mice after i.e. administration was for Olbrotol-18 235 mg/kg and for Rokanol O-30 515 mg/kg LD_{min} for Rokowin P-60 and Rokowinol P-80 was above 2500 mg/kg. Olbrotol-18 and Rokanol O-30 administered in doses 1/10 and 1/5 of LD_{50} did not affect the central nervous system of experimental animals. However, Rokowin P-60 and Rokowinol P-80 injected in doses 1/10 and 1/5 of LD_{min} had a weak depressive action on the central nervous system.

