

Zakład Chemii Toksykologicznej. Instytut Analizy i Technologii Farmaceutycznej.
Wydział Farmaceutyczny. Akademia Medyczna w Lublinie
Kierownik: doc. dr hab. Stanisław Szczepaniak

Henryk ROMANOWSKI

**Wpływ 2,2-dwumetylohydrazidu kwasu bursztynowego (Alaru)
na resorpcję i wydalanie chlorku chlorocholiny (CCC) u szczurów**

Влияние 2,2-диметилгидразида янтарной кислоты (Алара) на впитывание
и удаление хлорида хлорхолина (CCC) у крыс

The Influence of 2,2-dimethylhydrazide Succinic Acid (Alar) on the Resorption and
Excretion of Chlorocholine Chloride (CCC) in Rats

Chlorek chlorocholiny (CCC, Chlormekwat) — chlorek 2-chloroetylotrójmetyloamoniowy jest nadal szeroko stosowany, głównie jako regulator wzrostu roślin i antywylegacz zbóż (1—5, 8—11). W celu zwiększeniu efektywności jego działania stosuje się go łącznie m. in. z herbicydami, jak kwas 2,4-dwuchlorofenoksyoctowy (2,4-D) czy 2,2-dwumetylohydrazid kwasu bursztynowego (Alar) (6, 7, 12, 13, 18—21). W związku z tym celowe wydaje się prowadzenie badań ich wpływu na szybkość resorpcji i wydalania chlorku chlorocholiny i co się z tym wiąże na jego toksyczne oddziaływanie. W poprzednich pracach przeprowadzono właśnie takie sprawdziany w odniesieniu do DDT (16) i wzmiankowanego kwasu 2,4-dwuchlorofenoksyoctowego (2,4-D) (17).

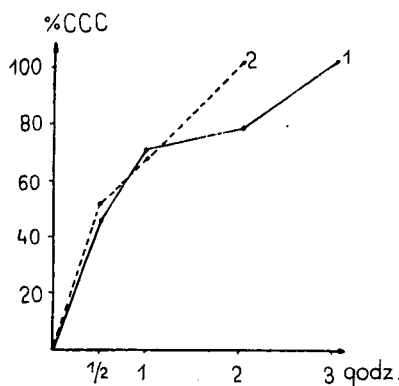
W trakcie kontynuowania tego rodzaju badań w naszej pracy przeprowadzono kolejny, podobny sprawdzian w odniesieniu do wpływu łącznie (1:1) z CCC stosowanego wyżej wymienionego herbicydu 2,2-dwumetylohydrazidu kwasu bursztynowego (Alaru) na resorpcję i wydalanie chlorku chlorocholiny u szczurów. Uzyskane wyniki mogą być przydatne, jak w przypadku DDT (16) i 2,4-D (17), do oceny wpływu także Alaru na toksyczne oddziaływanie chlorku chlorocholiny na organizmy stałocieplne. W pracy zastosowano uprzednio opracowaną dla chlorku chlorocholiny metodę chromatografii bibułowej, kolorymetrii (14, 15), jego ekstrakcji z mocz u szczurów wraz z określeniem wartości odzysku CCC (16).

RESORPCJA CHLORKU CHLOROCHOLINY Z PRZEWODU POKARMOWEGO SZCZURÓW

Badania resorpcji przeprowadzono na 84 białych szczurach rasy „Wistar” o c.c. 180—240 g, żywionych znormalizowaną karmą (LSM) w oświetlonym pomieszczeniu o temp. 20°C. Roztwory wodne CCC i Alaru podawano sondą metalową do żołądków szczurów. Badania przeprowadzono w 4 grupach szczurów, z których 1 i 2 zawierały po 24 szczury, a 3 i 4 — po 18 szczurów. Dwu pierwszym grupom podano jednocześnie wodne roztwory CCC, z tym że pierwszej — w dawce po 0,05 g/kg, a drugiej — po 0,1 g/kg, trzeciej zaś po 0,05 g/kg CCC i Alaru, a czwartej — po 0,1 g/kg CCC i Alaru. Poszczególne grupy podzielono na 4 podgrupy: a), b), c) i d) — po 4 szczury w każdej. Szczury poszczególnych grup zabijano po upływie: a) 1/2, b) 1, c) 2 i d) 3 godz. od chwili podania CCC. Wyizolowane żołądki wraz z treścią, dwunastnice, jelita cienkie, jelita grube ekstrahowano uprzednio opracowanym sposobem (16).

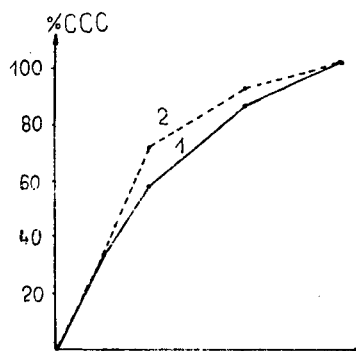
Oznaczenia ilościowe CCC przeprowadzono w acetonowych eluatach czerwonych plam, charakterystycznych dla CCC, o wartości $R_f=0,48$, uzyskanych w trakcie badań ekstraktów z żołądków wraz z treścią. Nie stwierdzono obecności CCC w ekstraktach poszczególnych części przewodu pokarmowego poza żołądkiem.

Oceny ilościowej chromatogramów dokonano kolorymetrycznie, posłu-



Ryc. 1. Resorpcja CCC z żołądków szczurów — po zatruciu dawką 0,05 g/kg; 1 — bez podania Alaru, 2 — po podaniu Alaru

Resorption of CCC from the stomach of rats intoxicated with a dose of 0.05 g/kg; 1 without the application of Alar, 2 — after the application of Alar

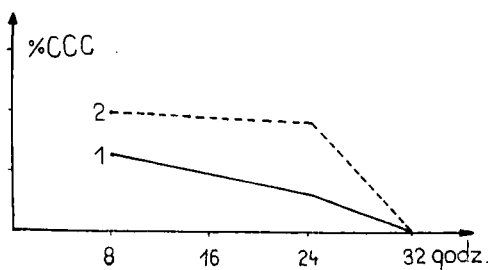


Ryc. 2. Resorpcja CCC z żołądków szczurów — po zatruciu dawką 0,1 g/kg; 1 — bez podania Alaru, 2 — po podaniu Alaru

Resorption of CCC from the stomach of rats intoxicated with a dose of 0.1 g/kg; 1 — without the application of Alar, 2 — after the application of Alar

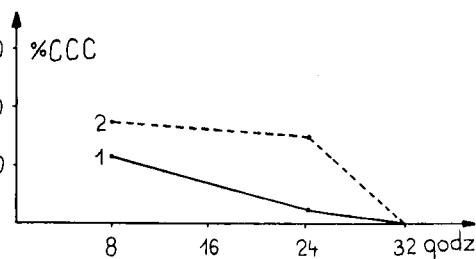
Ryc. 3. Wydalanie CCC z moczem szczurów — po zatruciu dawką 0,05 g/kg; 1 — bez podania Alaru, 2 — po podaniu Alaru

Excretion of CCC in the urine of rats intoxicated with a dose of 0.05 g/kg; 1 — without the application of Alar, 2 — after the application of Alar



Ryc. 4. Wydalanie CCC z moczem szczurów — po zatruciu dawką 0,1 g/kg; 1 — bez podania Alaru, 2 — po podaniu Alaru

Excretion of CCC in the urine of rats intoxicated with a dose of 0.1 g/kg; 1 — without the application of Alar, 2 — after the application of Alar



gując się uprzednio skalibrowaną krzywą wzorcową dla CCC w zakresie 0,01—0,15 mg. Wykrywalność — 0,001 mg, dokładność metody — 1,92% (14, 15). Oznaczenia ilościowe CCC pozostałego w żołądku i treści pokarmowej szczurów pozwoliły wyliczyć (w %) resorpcję tego związku. Otrzymane wyniki co do wpływu Alaru na intensywność i czas resorpcji CCC u szczurów w zależności od jego dawek zilustrowano w przypadku mniejszej dawki na ryc. 1, a większej — na ryc. 2:

Wyniki te ujęte statystycznie podano w tab. 1. W obliczeniach statystycznych uwzględniono:

\bar{x}_1 — średnią arytmetyczną oznaczeń CCC bez podania Alaru;

\bar{x}_2 — średnią arytmetyczną oznaczeń CCC po podaniu Alaru;

$\bar{x}_1 - \bar{x}_2$ — różnicę wyżej wymienionych średnich arytmetycznych;

\bar{S}_1 — odchylenie standardowe średnich arytmetycznych oznaczeń CCC bez podania Alaru;

\bar{S}_2 — odchylenie standardowe średnich arytmetycznych oznaczeń CCC po podaniu Alaru;

S_d — $\sqrt{\bar{S}_1^2 + \bar{S}_2^2}$ standardowy błąd różnicy średnich;

t — $\frac{\bar{x}_1 - \bar{x}_2}{S_d}$ — jeśli $n_1 = n_2$ — wartość funkcji Studenta, uzyskaną w trakcie badań;

t_0 — wartość graniczną funkcji Studenta, zawartą w tablicy dla 95% prawdopodobieństwa i odpowiedniej liczby (6) swobody $N_1 + N_2 - 2$ (N_1 — liczba szczurów badanych przed podaniem Alaru, N_2 — liczba szczurów badanych po podaniu Alaru).

Tab. 1. Statystyczna ocena istotności różnic w wielkości resorpcji CCC bez podania i po podaniu Alaru ($N=4$)
 Statistical significance of the values resorption of CCC in the rats urine without implication and after intoxication of Alar

Dawka CCC g/kg	Badane grupy	Czas po zatruciu w godz.	% resorpcji		S_x	t	$t_{0,0,05}$	Wniosek
			\bar{x}_1	\bar{x}_2				
0,05	bez podania Alaru	1/2	44	54	3,96	2,52	2,44	istotność
	po podaniu Alaru							
	bez podania Alaru	1	70	67	4,25	0,71	2,44	—
	po podaniu Alaru							
	bez podania Alaru	2	78	100	—	—	—	—
	po podaniu Alaru							
0,10	bez podania Alaru	1/2	32	45	4,95	2,63	2,44	istotność
	po podaniu Alaru							
	bez podania Alaru	1	57	71	4,48	3,13	2,44	istotność
	po podaniu Alaru							
	bez podania Alaru	2	85	91	2,39	2,51	2,44	istotność
	po podaniu Alaru							
	bez podania Alaru	3	130	100	—	—	—	—
	po podaniu Alaru							

Tab. 2. Statystyczna ocena istotności różnic w wielkości wydalania CCC bez podania i po podaniu Alaru ($N=4$)
 Statistical significance of the values excretion of CCC in the rats urine without application and after intoxication of Alar

Dawka CCC g/kg	Badane grupy	Czas po zatruciu w godz.	% wydalania \bar{x}_1 — \bar{x}_2	$\bar{x}_1 - \bar{x}_2$	S_x	t	$t_{0,05}$	Wniosek
0,05	bez podania Alaru	8	25	39	2,34	5,98	2,44	wysoka istotność
	po podaniu Alaru							
	bez podania Alaru	24	37	74	5,71	6,47	2,44	bardzo wysoka istotność
0,10	bez podania Alaru	8	23	34	2,65	3,92	2,44	istotność
	po podaniu Alaru							
	bez podania Alaru	24	28	63	3,65	9,58	2,44	bardzo wysoka istotność
0,10	bez podania Alaru	32	—	—	—	—	—	—
	po podaniu Alaru							
	bez podania Alaru	32	—	—	—	—	—	—

WYDALANIE CHLORKU CHLOROCHOLINY (CCC) U SZCZURÓW

W 4 kolejnych seriach 16 szczurom (po 4 szczury), znajdującym się w klatkach metabolicznych (w 20°) podawano do żołądków wodne roztwory tych samych związków (CCC i Alar) i w tych samych dawkach jak w trakcie badania procesu wchłaniania. Po upływie 8, 24 i 32 godz. zbierano kał i mocz, które ekstrahowano opracowanym sposobem (16), oczyszczone ekstrakty badano chromatograficznie i kolorymetrycznie (14, 15). W moczu zebranych po 32 godz., a kale — po 8, 24 i 32 godz. nie stwierdzano chlorku chlorocholiny.

Wyniki ilościowych (w %) oznaczeń CCC wydalonego z moczem szczurów w zależności od czasu ekspozycji (po 8 i 24 godz.) w seriach bez podania Alaru i po podaniu Alaru w zależności od wielkości dawek podano na ryc. 3 i 4. Statystyczną ocenę podanych na tych rycinach wyników przedstawiono w tab. 2.

OMÓWIENIE WYNIKÓW

Z przedstawionych badań (ryc. 1 i 2) wynika, że pod wpływem Alaru (0,05 g/kg) czas resorpcji CCC (podanego w dawce 0,05 g/kg) uległ znacznemu skróceniu — z 3 do 2 godz., a jej intensywność — przyspieszeniu charakteryzującemu się statystyczną znamiennością ($p < 0,05$) — po upływie 1/2 godz. (tab. 1). Natomiast w przypadku większej ze stosowanych dawek (0,1 g/kg) nie wykazano wpływu Alaru na czas resorpcji, ale charakteryzujące się statystyczną znamiennością ($p < 0,05$) zwiększenie jej intensywności zarówno po upływie 1/2 godz., jak i po 1 i 2 godz. od momentu zatrucia (tab. 1).

W trakcie dalszych badań wykazano, że wielkość stosowanej dawki CCC (0,05 g/kg, 0,1 g/kg) i podawanie w tych samych dawkach Alaru nie wpływa na czas (wynoszący ok. 32 godz.) wydalania CCC z moczem szczurów, tylko na intensywność tego procesu. Wykazano statystycznie istotny ($p < 0,05$) wpływ Alaru, zwiększający intensywność tego procesu w przypadku obu dawek, szczególnie po upływie 24 godz. (tab. 2).

Na podstawie przytoczonych wyników badań można przewidywać, że łączne stosowanie CCC z Alarem nie powoduje, co jest istotne, zwiększenia toksycznego oddziaływania CCC, a może je zmniejszać, ponieważ następuje przyspieszenie procesów resorpcji, a szczególnie i wyraźnie — wydalania.

ПИСЬМЕННИЦТВО

1. Agafonow N. W., Iwanuszkin A. J.: *Chim. w sielsk. choz.*, **12**, 615—618, 1974.
 2. Bauer B. N.: *Chim. w sielsk. choz.* **14**, 13—14, 1976.
 3. Chromiński A., Belt H., Michniewicz M.: *Zesz. Nauk. UMK w Toruniu, Nauki Mat.-Przyr.* **29**, 14, 143—151, 1971.
 4. Dańko W. I., Jarkowoj A. S.: *Chim. w sielsk. choz.* **12**, 66—68, 1974.
 5. Dekhuijzen H. M., Vonk C. R.: *Pest. Biochem. Physiol.* **4**, 346—355, 1974.
 6. Gorszkow A. I.: *Gigijena i Sanitarija* **12**, **11**, 33—36, 1971.
 7. Gruzdiev Ł. G., Posmitnaja Ł. W., Nienajdienko G. N., Onochin B. N., Nienajdienko G. I.: *Chim. w sielsk. choz.* **14**, 35—39, 1976.
 8. Korotkowa O. A.: *Chim. w sielsk. choz.* **14**, **12**, 34—39, 1976.
 9. Kuhbauch W., Auberger A.: *Z. Pflanzenernähr. Bodenk.* **131**, 297—302, 1972.
 10. Lichaczow B. S., Burchatowa Ł. J.: *Chim. w sielsk. choz.* **11**, 780—781, 1973.
 11. Małyszew N. E.: *Chim. w sielsk. choz.* **14**, 23—25, 1976.
 12. Nienajdienko G. N., Biełujew W. K., Blinow A. M., Onochin B. N.: *Chim. w sielsk. choz.* **11**, 377—379, 1973.
 13. Nienajdienko G. N., Gruzdiev Ł. G., Onochin B. N.: *Chim. w sielsk. choz.* **13**, 53—57, 1975.
 14. Romanowski H.: *Bromat. Chem. Toksykol.* **5**, 203—209, 1972.
 15. Romanowski H.: *Bromat. Chem. Toksykol.* **5**, 83—88, 1972.
 16. Romanowski H.: *Ann. Univ. M. Curie-Skłodowska, Lublin, sectio D*, **31**, 299—305, 1976.
 17. Romanowski H.: *Ann. Univ. M. Curie-Skłodowska, Lublin, sectio D*, **31**, 333—338, 1976.
 18. Strzelczyk E., Rożej A.: *Roczniki Nauk Roln.* **100**, 7—15, 1974.
 19. Suchariewa I. Ch., Szewcow W. I.: *Chim. w sielsk. choz.* **12**, 606—608, 1974.
 20. Udatschin R. A.: *Pflanzenzüchtg.* **65**, 95—99, 1971.
 21. Zalewski W.: *Postępy Nauk Roln.* **15**, 13—20, 1968.
- Otrzymano 16 XII 1977.

РЕЗЮМЕ

Используя бумажную хроматографию (растворитель: ацетон+вода (8:2), реагент Драгендорффа) и колориметрические обмеры красных ацетоновых растворов полученных пятен ССС с $R_f=0,48$ установлено, что Алар в дозе 0,05 г/кг ускоряет (с 3 до 2 часов) впитывание ССС в дозе 0,05 г/кг у крыс. Статистически ($p<0,05$) установлено усиливающие влияния Алара (в дозах 0,05 г/кг и 0,1 г/кг) на интенсивность впитывания ССС в дозах 0,05 г/кг — после 1/2 часа и 0,1 г/кг — после 1/2, 1 и 2 часа от времени его подачи.

Время (32 часа) удаления ССС с мочой крыс не изменилось под влиянием Алара, только динамика этого процесса, как статистически ($p<0,05$) указано, значительно ускорилась.

SUMMARY

Using the paper chromatography technique (with acetone and water (8:2) as a solvent and Dragendorff's reagent) and the colorimetry of the red acetone eluates of spots CCC ($R_f=0.48$) it was indicated that Alar in a dose of 0.05 g/kg decreases the period of CCC (after intoxication of 0.05 g/kg) resorption from 3 to 2 hours in the stomach of rats. Statistically ($p<0.05$) revealed an increasing influence of Alar on the CCC resorption after intoxication (1/2 hour) with a dose of 0.05 g/kg and with a dose of 0.1 g/kg — after 1/2, 1 and 2 hours.

Alar shows no influence on the period (32 hours) of CCC excretion in the urine of the rats but the intensity of this process was increased ($p<0.05$).