

Katedra i Zakład Farmakologii, Wydział Lekarski, Akademia Medyczna w Lublinie
Kierownik: doc. dr hab. Zdzisław Kleinrok

Zdzisław KLEINROK, Krzysztof PRZESMYCKI,
Zdzisław BORZĘCKI

**Wstępna farmakologiczna ocena ośrodkowego działania
nowych pochodnych imidu kwasu tetrahydroftalowego***

Предварительная фармакологическая оценка центрального действия
новосинтезированных производных имида тетрагидрофталево́й кислоты

The Preliminary Pharmacological Investigations of the Central Action of New
Derivatives of Tetrahydroptalimides

Dynamiczny rozwój przemysłu farmaceutycznego i wzrost liczby stosowanych leków jest wynikiem bardzo intensywnych i szeroko prowadzonych badań w dziedzinie syntezy i określania własności biologicznych nowych związków. Między innymi w Zakładzie Chemii Organicznej Uniwersytetu Łódzkiego Hahn i wsp. zsyntetyzowali wiele nowych pochodnych kw. ftalowego, spośród których — jak wykazały poprzednie badania — kilka odznacza się wyraźnym wpływem na ośrodkowy układ nerwowy oraz działaniem hipotensyjnym u zwierząt doświadczalnych (3, 4, 5, 6).

Celem naszej pracy była wstępna ocena farmakologiczna ośrodkowego działania 9 nowosyntetyzowanych związków tej grupy. Budowę chemiczną badanych związków przedstawiono w tab. 1.

METODY

Doświadczenia przeprowadzono na białych myszach, obu płci o ciężarze ciała 18—25 g. Badane związki stosowano w postaci zawiesin w 0,5% wodnym roztworze tylozy. Związki te wstrzykiwano dootrzewnowo na 1 godz. przed testem. Zwierzęta grupy kontrolnej otrzymywały sam rozpuszczalnik.

LD₅₀ obliczono wg Litchfielda i Wilcoxa (7). W pozostałych testach badane związki stosowano w dawkach stanowiących 1/5, 1/10 lub 1/20 LD₅₀.

* Panu Prof. Dr Witoldowi Hahnowi, Kierownikowi Zakładu Chemii Organicznej Uniwersytetu Łódzkiego serdecznie dziękujemy za bezinteresowne dostarczenie badanych związków.

Toksyczność ostra. Toksyczność ostrą oceniano jako LD_{50} po podaniu kilku dawek każdego z badanych związków grupom myszy po 5 zwierząt. Obserwację prowadzono przez 48 godzin.

Wpływ na ruchliwość spontaniczną. W teście tym posługiwano się metodą fotokomórkową. Myszy umieszczano pojedynczo w okrągłych klatkach o średnicy 32 cm na okres 30 min. Każda grupa liczyła 8 zwierząt.

Wpływ na działanie narkotycznej dawki heksobarbitalu. Heksobarbital (sól sodowa, roztwór wodny) podawano dootrzewnowo w dawce 70 mg/kg. Za kryterium działania przyjmowano czas narkozy, tj. czas upływający od zaniku do powrotu odruchu postawy. Każda grupa liczyła 10 zwierząt.

Wpływ na temperaturę ciała. Temperaturę ciała mierzono termometrem termistorowym w odbytnicy, przyjmując jako temperaturę wyjściową, średnią z trzech pomiarów wykonanych w odstępach półgodzinnych, przed podaniem badanych związków. Badania przeprowadzono w 1, 2, 3, 4, 6 i 24 godz. po podaniu związków w grupach liczących po 8 zwierząt.

Działanie przeciwbólowe. Doświadczenie przeprowadzono posługując się metodą „gorącej płytki” wg Eddy’ego i Leimbacha (1). Notowano czas wystąpienia reakcji obronnych (lizanie łap, podskok) u zwierząt umieszczonych na płytce o temp. $56^{\circ}C$ przed podaniem każdego związku oraz w 0,5; 1; 2 i 4 godz. po jego podaniu. Każda grupa liczyła 8 zwierząt.

Wpływ na działanie kardiazolu. Kardiazol (110 mg/kg, roztwór wodny) podawano podskórnie. Zwierzęta obserwowano przez 1 godzinę notując w tym czasie liczbę zwierząt reagujących drgawkami klonicznymi, tonicznymi oraz liczbą zwierząt padłych. Każda grupa liczyła 8—10 zwierząt.

Badania koordynacji ruchowej. Test ten wykonano posługując się met. Grossa i wsp. (2). Szybkość obrotów pręta wynosiła 3/min. Doświadczenie przeprowadzono co 30 min. przez 3,5 godz. od podania badanych związków. Czas pojedynczej obserwacji wynosił 2 min. Każda grupa liczyła po 10 zwierząt.

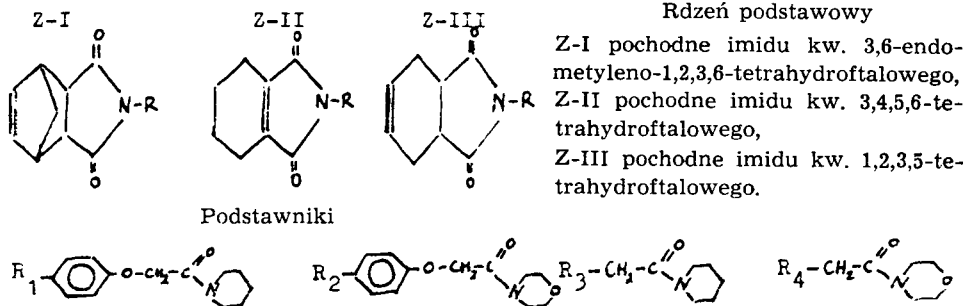
Wyniki opracowano statystycznie posługując się t-testem Studenta, w modyfikacji Rydygiera (8).

WYNIKI

Toksyczność ostra. Spośród badanych związków najbardziej toksycznym okazał się związek ZA-6 ($LD_{50} = 500$ mg/kg). Większość badanych związków (ZA-1, ZA-2, ZA-3, ZA-4, ZA-7 i ZA-8) odznaczała się małą toksycznością (LD_{min} powyżej 2000 mg/kg). Toksyczność pozostałych związków wynosiła dla ZA-5 680 mg/kg i ZA-9 820 mg/kg (tab. 1).

Wpływ na ruchliwość spontaniczną. Związki ZA-2, ZA-4, ZA-7, ZA-8 i ZA-9 stosowane w dawkach $1/10$ i $1/5$ LD_{50} pozostają bez istotnego wpływu na ruchliwość spontaniczną. Silniejszym działaniem charakteryzowały się związki ZA-3 zwiększając i ZA-5, zmniejszając statystycznie istotnie ruchliwość po zastosowaniu ich w dawce odpowiadającej $1/5$ LD_{50} . Natomiast związki te zastosowane w dawce wynoszącej $1/10$ LD_{50} pozostawały bez wpływu na ruchliwość. Związek ZA-1 stosowany w dawce $1/5$ LD_{50} zmniejszał ruchliwość o ok. 60% a w dawce $1/10$ LD_{50} zwiększał ją również istotnie statystycznie. W dawce $1/20$ LD_{50}

Tab. 1. Budowa chemiczna i ostra toksyczność badanych związków
 Chemical structure and acute toxicity of the investigated compounds



Związek nr	Rdzeń podstawowy	Podstawniki	LD ₅₀ (mg·kg i.p.) myszy	Objawy po zastosowaniu dawek zbliżonych do LD ₅₀
ZA-1	Z-I	R ₁	> 2000	Pobudzenie ze wzmożoną ruchliwością, przechodzące potem w uspokojenie, osłabiona reakcja na bodźce, odruch postawy zachowany
ZA-2	Z-I	R ₂	> 2000	Pobudzenie ze wzmożoną ruchliwością, przechodzące potem w uspokojenie, osłabiona reakcja na bodźce, odruch postawy zachowany
ZA-3	Z-II	R ₁	> 2000	Uspokojenie, ptoza, osłabiona reakcja na bodźce, odruch postawy zachowany
ZA-4	Z-II	R ₂	> 2000	Pobudzenie przechodzące, potem w uspokojenie, ptoza, osłabiona reakcja na bodźce, odruch postawy zachowany
ZA-5	Z-II	R ₃	680 (636,3-748,8)	Uspokojenie, bradykardia, osłabiona reakcja na bodźce, odruch postawy zniesiony
ZA-6	Z-II	R ₄	500 (467,5-642,8)	Uspokojenie, ptoza, osłabiona reakcja na bodźce, odruch postawy zniesiony
ZA-7	Z-III	R ₁	> 2000	Pobudzenie przechodzące potem w uspokojenie, ptoza, osłabiona reakcja na bodźce, odruch postawy zachowany
ZA-8	Z-III	R ₂	> 2000	Pobudzenie przechodzące potem w uspokojenie, ptoza, osłabiona reakcja na bodźce, odruch postawy zachowany
ZA-9	Z-I	R ₃	820 (621,2-1082,4)	Uspokojenie, bradykardia, sen, odruch postawy zniesiony

zwiększał ją również istotnie statystycznie. W dawce $1/20 LD_{50}$ nie miał już istotnego wpływu na ruchliwość spontaniczną. Jedyne w przypadku związku ZA-6 stwierdzono zależność jego wpływu hamującego od stosowanej dawki, a mianowicie w dawce odpowiadającej $1/20 LD_{50}$ pozostawał bez wpływu, w dawce $1/10 LD_{50}$ zmniejszał ruchliwość o ok. 50% zaś w dawce $1/5 LD_{50}$ zmniejszał ruchliwość o ok. 68% (tab. 2).

Tab. 2. Wpływ badanych związków na ruchliwość spontaniczną oraz na czas trwania narkozy heksobarbitalowej

The influence of the investigated compounds on the spontaneous locomotor activity and on the effect of narcotic dose of hexobarbital

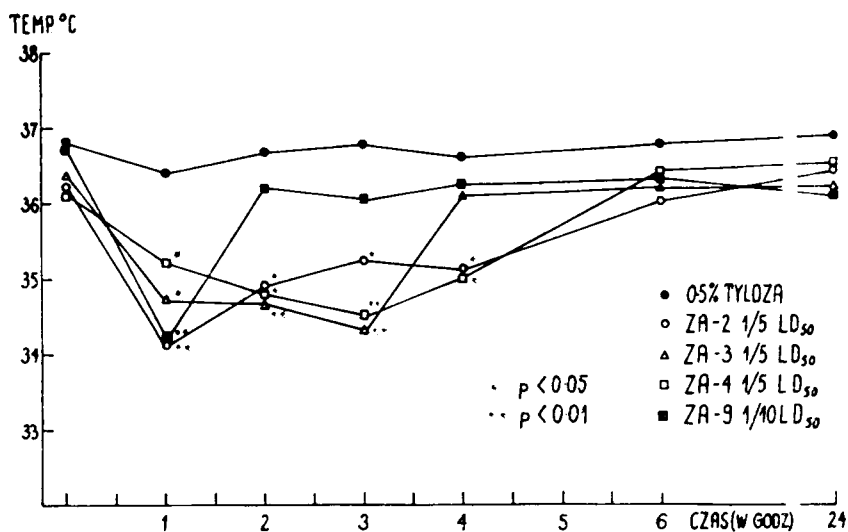
Związek nr	Ruchliwość spontaniczna (% kontroli \pm SEM)		Czas trwania narkozy heksobarbitalowej (% kontroli \pm SEM)	
	$1/5 LD_{50}$	$1/10 LD_{50}$	$1/5 LD_{50}$	$1/10 LD_{50}$
0,5% tyloza	100,0 \pm 15,0	100,0 \pm 15,0	100,0 \pm 7,5	100,0 \pm 7,5
ZA-1	39,5 \pm 6,8**	163,1 \pm 14,0*	122,7 \pm 9,2	154,1 \pm 12,5
ZA-2	98,1 \pm 13,7	94,5 \pm 22,0	136,1 \pm 7,9	65,4 \pm 3,1** 87,9 \pm 7,9***
ZA-3	160,0 \pm 13,8*	128,0 \pm 19,1	119,1 \pm 14,0	156,0 \pm 10,6
ZA-4	150,7 \pm 17,1	96,3 \pm 9,9	52,9 \pm 8,9**	124,3 \pm 13,9
ZA-5	24,4 \pm 4,4**	101,3 \pm 16,8	111,5 \pm 16,5	104,1 \pm 14,5
ZA-6	32,5 \pm 10,0**	50,0 \pm 12,9* 94,6 \pm 7,1***	178,3 \pm 8,7**	184,3 \pm 12,0** 115,2 \pm 7,3***
ZA-7	96,4 \pm 13,3	59,0 \pm 6,0	179,4 \pm 8,5**	164,2 \pm 11,5* 98,7 \pm 8,5***
ZA-8	72,7 \pm 17,6	80,3 \pm 13,5	186,4 \pm 13,7**	167,2 \pm 8,9* 104,0 \pm 7,2***
ZA-9	100,0 \pm 10,4	138,0 \pm 23,9	217,7 \pm 2,0**	105,0 \pm 17,2

* $p < 0,05$, ** $p < 0,01$, *** $1/20 LD_{50}$.

Wpływ na działanie narkotycznej dawki heksobarbitalu. Większość badanych związków (w dawkach odpowiadających $1/5$ i $1/10 LD_{50}$) zmniejszała czas trwania tej narkozy. Najsilniejszym działaniem odznaczają się związki ZA-9, ZA-8, ZA-7, ZA-6, przedłużając narkozę, oraz związki ZA-2 i ZA-4, skracając ją w sposób statystycznie istotny. Pozostałe związki (ZA-1, ZA-3, ZA-5), stosowane w dawkach odpowiadających $1/5$ i $1/10 LD_{50}$, a także wyżej wymienione

związki w dawkach $1/20 LD_{50}$ nie miały istotnego wpływu na czas trwania narkozy heksobarbitalowej (tab. 2).

Wpływ na temperaturę ciała. Większość badanych związków (ZA-1, ZA-5, ZA-6, ZA-7, ZA-8) stosowanych w dawkach $1/10$ i $1/5 LD_{50}$ nie posiadała istotnego wpływu na temperaturę ciała u myszy normotermicznych. Jedynie związki ZA-2, ZA-3, ZA-4 (w dawce $1/5 LD_{50}$ i związek ZA-9 w dawce $1/10 LD_{50}$) powodują nieznaczne (o ok. $1,5-2,0^{\circ}C$), choć statystycznie istotne, obniżenie temperatury ciała przez okres do 4 godzin (ryc. 1). Natomiast stosowane w dawce mniejszej (ZA-2, ZA-3 w dawce $1/10 LD_{50}$ oraz ZA-9 w dawce $1/20 LD_{50}$) pozostają bez istotnego wpływu na temperaturę ciała.



Ryc. 1. Wpływ związków ZA-2, ZA-3, ZA-4, ZA-9 na temperaturę ciała u myszy
The effect of ZA-2, ZA-3, ZA-4, ZA-9 on body temperature of mice

Działanie przeciwbólowe. Związki ZA-1, ZA-2, ZA-3, ZA-6, ZA-7 i ZA-8 stosowane w dawkach odpowiadających $1/5 LD_{50}$ nie zmieniały statystycznie istotnie czasu występowania reakcji obronnych na zastosowany bodziec bólowy. Z pozostałych związków: ZA-5 i ZA-9 powodowały krótkotrwale nieznaczne, lecz statystycznie istotne, przedłużenie tego czasu w dawce stanowiącej $1/5 LD_{50}$. Natomiast związek ZA-4 podany w dawce $1/5 LD_{50}$ skracał (również istotnie statystycznie) czas występowania reakcji obronnej. Wszystkie badane związki stosowane w dawce odpowiadającej $1/10 LD_{50}$ pozostawały bez wpływu na czas wystąpienia reakcji obronnej.

Wpływ na działanie kardiazolu. Badane związki stosowane w dawkach odpowiadających 1/10 i 1/5 LD₅₀ nie wpływały na drgawkorodne działanie kardiazolu, nie zmieniając ani liczby zwierząt reagujących drgawkami klonicznymi i tonicznymi, ani też liczby zwierząt padłych.

Wpływ na koordynację ruchową. Większość badanych związków (ZA-4, ZA-6, ZA-7, ZA-8, ZA-9) podawanych w dawkach stanowiących 1/10 i 1/5 LD₅₀ nie wpływała na zdolność utrzymywania się zwierząt na obracającym się przęcie. Związki ZA-1 i ZA-2 podawane w dawce 1/5 LD₅₀ zaburzały koordynację ruchową, powodując u ok. 75% zwierząt nie utrzymywanie się na obracającym się przęcie przez ponad 2,5 godz. (tab. 3). Te same związki zastosowane w dawce odpowiadającej 1/10 LD₅₀ nie miały wpływu na koordynację ruchową. Związek ZA-3 zastosowany w dawce stanowiącej 1/5 LD₅₀ zaburzał koordynację ruchową u ok. 37% zwierząt. Natomiast związek ZA-5 powodował zaburzenia koordynacji w dawce 1/5 LD₅₀ u ok. 100% zwierząt, a w dawce 1/10 LD₅₀ u ok. 87% zwierząt. Oba związki (ZA-2 w dawce 1/10 LD₅₀ oraz ZA-5 w dawce 1/20 LD₅₀) nie wpływały na zdolność utrzymywania się zwierząt na przęcie obrotowym.

Tab. 3. Wpływ badanych związków na koordynację ruchową u myszy
The influence of the investigated compounds on the motor coordination in mice

Stosowano	Dawka	Ilość zwierząt w grupie	Liczba zwierząt nie utrzymujących się na przęcie obrotowym w czasie (godz.) od podania						
			0,5	1,0	1,5	2,0	2,5	3,0	3,5
0,5% tyloza		8	0	0	0	0	0	0	0
ZA-1	1/5 LD ₅₀	8	6	6	5	5	5	5	5
	1/10 LD ₅₀	8	0	0	0	0	0	0	0
ZA-2	1/5 LD ₅₀	8	6	6	5	6	5	5	5
	1/10 LD ₅₀	8	0	0	0	0	0	0	0
ZA-3	1/5 LD ₅₀	8	3	3	3	3	3	3	3
	1/10 LD ₅₀	8	0	0	0	0	0	0	0
ZA-5	1/5 LD ₅₀	8	8	8	8	8	7	4	4
	1/10 LD ₅₀	8	7	7	5	4	3	3	2

OMÓWIENIE WYNIKÓW

Toksyczność badanych związków jest niewielka, bowiem dla 6 z nich LD_{min} wynosi powyżej 2000 mg/kg. Jedynie związki ZA-5, ZA-6 i ZA-9 odznaczają się nieco większą toksycznością, a ich LD_{50} waha się w granicach od 500 do 820 mg/kg. Analizując zależność toksyczności od budowy chemicznej zwraca uwagę fakt, że związki bardziej toksyczne zawierają podstawniki oznaczone symbolami R_3 i R_4 . Wynika z tego, że długość łańcucha bocznego, względnie obecność w nim mostka tlenowego powoduje wyraźne zmniejszenie toksyczności. Zależność ta potwierdza się również w przypadku innych pochodnych imidów kw. tetrahydroftalowego (3).

Wszystkie badane związki wywierają słabe działanie na ośrodkowy układ nerwowy, przy czym działanie to w zależności od testu jest często dla poszczególnych związków różne. Jedynie związek ZA-2 i ZA-4 wywierają zdecydowane choć słabe działanie depresyjne, a związki ZA-7 i ZA-8 słabe działanie pobudzające. Natomiast pozostałe związki w jednych testach działają słabo depresyjnie, a w innych słabo pobudzająco. Związki o działaniu depresyjnym zawierają podstawniki R_2 przy rdzeniu podstawowym Z-I lub Z-II, a związki o słabym działaniu pobudzającym mają rdzeń podstawowy Z-III.

Jakkolwiek trudno wykazać wyraźną zależność między budową chemiczną a farmakologicznym działaniem badanych związków, to jednak uzyskane w naszej pracy dane mogą być wskazówką przy planowaniu dalszych syntez.

PIŚMIENNICTWO

1. Eddy N., Leimbach D.: *J. Pharmacol. Exp. Therap.* **107**, 385—393, 1953.
2. Gross F., Tripod J., Meier R.: *Schweiz. Med. Wschr.* **85**, 305—309, 1955.
3. Kleinrok Z., Malec D., Langwiński R., Łastowski Z., Jagiełło E.: *Acta Polon. Pharm.* **29**, 84—91, 1972.
4. Kleinrok Z., Malec D., Langwiński R., Łastowski Z., Jagiełło E.: *Acta Polon. Pharm.* **29**, 84—91, 1972.
5. Kleinrok Z., Przegaliński E., Żebrowska-Łupina J., Borzęcki Z., Wielosz M., Góral W.: *Pol. J. Pharm. Pharmacol.* 1973 — w druku.
6. Kleinrok Z., Przegaliński E., Żebrowska-Łupina J., Borzęcki Z., Szurska H., Wielosz M., Szurska G.: *Dissert. Pharm. Pharmacol.* **23**, 113—119, 1971.
7. Litchfield J. T., Wilcoxon F.: *Pharmacol. Exp. Therap.* **96**, 99—113, 1949.
8. Rydygier J.: *Pol. Tyg. Lek.* **25**, 739—747, 1947.

Otrzymano 11 IV 1973.

РЕЗЮМЕ

Проведены предварительные фармакологические исследования 9 новосинтетизированных производных имида тетрагидрофталевой кислоты. Острая токсичность исследованных соединений небольшая, а их DL_{min} больше 200 мг/кг. Только три соединения оказались более токсичными и их DL_{50} колеблется в границах 500—820 мг/кг. Соединения ZA-2 и ZA-4 оказывают слабое депрессивное, а соединения ZA-7 и ZA-8 — слабое возбуждающее действие на центральную нервную систему. Остальные соединения оказывают нехарактерное влияние, т. е. в одних тестах действуют слабо депрессивно, а в других — слабо возбуждающие или являются вообще недействующими.

SUMMARY

Pharmacological investigations of the nine newsynthesized derivatives of tetrahydrophthalimides were performed in order to show their influence on the central nervous system. Their acute toxicity was small and was evaluated as LD_{min} more than 2000 mg/kg. Only three of them have LD_{50} ranged from 500 mg/kg to 820 mg/kg.

Substances ZA-2 and ZA-4 had a weak depressive effect and compounds ZA-7 and ZA-8 a weak stimulant effect on the central nervous system.

On the other hand the effect of other substances was unspecific i.e. in some tests they act as weak stimulants and in other ones as weak depressants or some of them had no influence on the central nervous system.