

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

Henryk ROMANOWSKI

**Wpływ DDT na resorpcję i wydalanie chlorku chlorocholiny (CCC)  
u szczurów**

Влияние ДДТ на впитывание и удаление хлорида хлорхолина (CCC) у крыс

The Influence of DDT on the Resorption and Excretion of Chloro-Choline Chloride (CCC) in Rats

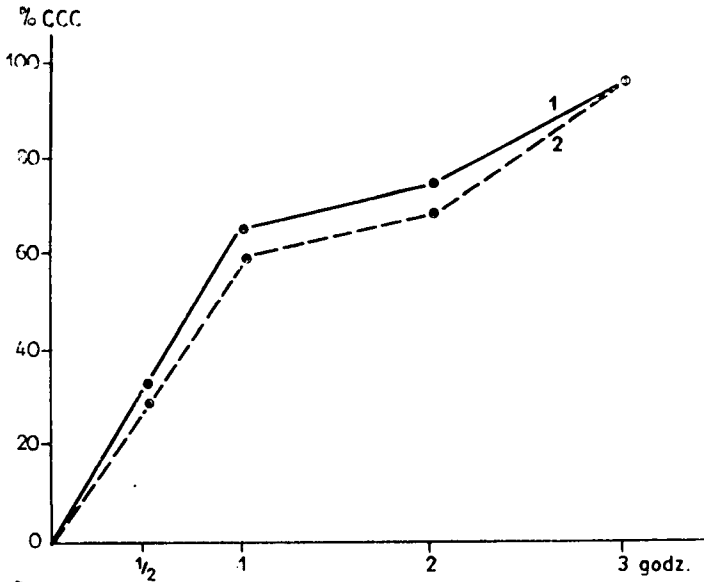
Chlorek chlorocholiny (CCC) — chlorek 2-chloroetylo-trójmetylo-amoniowy jest nadal szeroko stosowany w ogrodnictwie i warzywnictwie jako regulator wzrostu roślin oraz w rolnictwie jako „antywylegacz” zbóż, głównie pszenicy (1—6). DDT — 2,2-bis (p-chlorofenylo) 1,1,1-trójchloroetan, aczkolwiek stosowany jest obecnie w coraz mniejszym stopniu, może jednak nadal wywierać wpływ na procesy biochemiczne innych substancji znajdujących się w środowisku człowieka (1, 7, 8). Dlatego też wydawało się celowe zbadanie wpływu DDT na procesy wchłaniania i wydalania CCC u szczurów. W badaniach tych zastosowano uprzednio opracowaną dla chlorku chlorocholiny metodę chromatografii bibułowej i kolorymetrii (9, 10) oraz opracowano sposób ekstrakcji tego związku z moczu szczura i określono odzysk CCC.

BADANIA WŁASNE

**Badanie wpływu DDT na resorpcję chlorku chlorocholiny z przewodu pokarmowego szczurów**

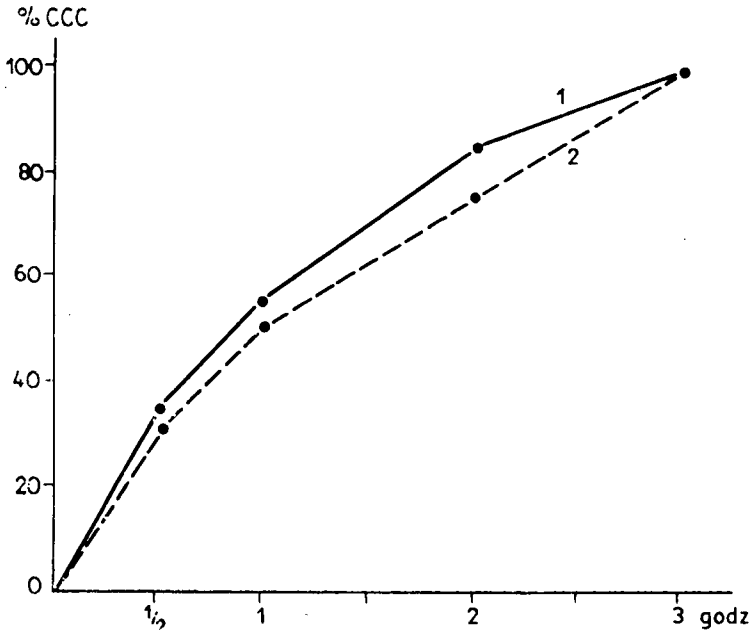
Badania przeprowadzono na białych szczurach rasy „Wistar” o c. 190—240 g, żywionych znormalizowaną karmą (LSM) w oświetlonym pomieszczeniu o temp. 20°C. Roztwory DDT i CCC podawano do żołądka metalową sondą. Badania resorpcji przeprowadzono na 96 szczurach podzielonych na 4 grupy (po 24 szczury w każdej grupie). Dwu pierwszym grupom podano jednorazowo roztwór wodny CCC, z tym że pierwszej — w dawce po 1/10 DL<sub>50</sub> — 0,05 g/kg, a drugiej — po 1/5 DL<sub>50</sub> — 0,1 g/kg (11). Trzeciej i czwartej grupie najpierw podawano codziennie przez 7 dni

\* Do 31 I 1974 r. doc. dr hab. Halina Bronisz



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

Resorption of CCC from the stomach of rats intoxicated with dose 0,05 g/kg; 1 — without the application of DDT, 2 — after the application of DDT



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

Resorption of CCC from the stomach of rats intoxicated with dose 0,1 g/kg; 1 — without the application of DDT, 2 — after the application of DDT

olejowy (w uprzednio przeprowadzonych badaniach nie stwierdzono wpływu oleju na czasokres i dynamikę resorpcji oraz wydalania CCC u szczurów) roztwór DDT w dawce  $1/5 DL_{50}$  po 0,04 g/kg (1), a 8 dnia szczerom grupy trzeciej podano wodny roztwór CCC w dawce po 0,05 g/kg, a szczerom grupy czwartej — po 0,1 g/kg.

Poszczególne grupy zwierząt podzielono na 4 podgrupy: a, b, c i d — po 6 szczurów w każdej. Szczury poszczególnych podgrup zabijano po upływie godzin: a — 1/2, b — 1, c — 2 i d — po upływie 3 godzin od chwili podania CCC. Wyizolowane żołądki wraz z treścią, dwunastnice, jelita cienkie, jelita grube ekstrahowano, a oczyszczone ekstrakty badano opracowanym uprzednio sposobem (9). Do oznaczeń użyto acetonowych eluatów czerwonych plam o charakterystycznej dla CCC wartości  $R_f=0,48$ , uzyskanych w trakcie badania ekstraktów z żołądków wraz z treścią szczurów (9). Nie stwierdzono obecności CCC w ekstraktach pozostałych części przelodu pokarmowego.

Tab. 1. Statystyczna ocena istotności różnic w wielkości resorpcji CCC bez podawania i po podaniu DDT (N=6)

Statistical significance of the values resorption of CCC without application and after intoxication of DDT

Dawka CCC g/kg	Badane grupy		Okres zatrucia w godz.	% resorpcji			$S_d$	t	$t_0 (r_{0.05})$	Wniosek
				$\bar{x}_1$	$\bar{x}_2$	$\bar{x}_1 - \bar{x}_2$				
0,05	bez podania DDT	po podaniu DDT	0,5	35,5	30,5	5,0	1,31	3,84	2,23	wysoka istotność
	bez podania DDT	po podaniu DDT	1	66,4	64,1	2,3	1,25	1,84	2,23	—
	bez podania DDT	po podaniu DDT	2	76,7	73,1	3,6	1,42	2,57	2,23	istotność
0,10	bez podania DDT	po podaniu DDT	0,5	35,0	31,0	4,0	1,20	3,33	2,23	wysoka istotność
	bez podania DDT	po podaniu DDT	1	56,0	53,4	2,6	1,51	1,73	2,23	—
	bez podania DDT	po podaniu DDT	2	84,9	82,0	2,9	0,85	3,41	2,23	wysoka istotność

Oceny ilościowej chromatogramów dokonano kolorymetrycznie posługując się uprzednio skalibrowaną krzywą wzorcową dla CCC w zakresie od 0,01 mg do 0,15 mg. Wykrywalność — 0,001 mg CCC, dokładność metody — 1,92% (10). Oznaczone ilości pozostałego w żołądku i jego treści pokarmowej szczurów CCC pozwoliły wyliczyć (w%) resorpcję tego związku. Otrzymane wyniki odnośnie do wpływu DDT na stopień i czasokres resorpcji CCC u szczurów w zależności od jego dawek zilustrowano w przypadku mniejszej na ryc. 1, a większej — na ryc. 2. Wyniki te ujęte statystycznie podano w tab. 1. W tab. 1 i 3 uwzględniono:

$\bar{x}_1$  — średnią arytmetyczną oznaczeń CCC bez podania DDT,

$\bar{x}_2$  — średnią arytmetyczną oznaczeń CCC po podaniu DDT,

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

$S_1$  — odchylenie standardowe średniej arytmetycznej oznaczeń CCC bez podania DDT,

$S_2$  — odchylenie standardowe średniej arytmetycznej oznaczeń CCC po podaniu DDT,

$S_d = \sqrt{\frac{(S_1)^2 + (S_2)^2}{2}}$  — standardowy błąd różnicy wymienionych średnich,

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

$t_0$  = wartość graniczną funkcji Studenta, zawartą w tablicy dla 95% prawdopodobieństwa i odpowiedniej liczby (10) swobody  $N_1 + N_2 - 2$  ( $N_1$  — liczba szczurów badanych przed podaniem DDT,  $N_2$  — liczba szczurów badanych po podaniu DDT).

### Opracowanie metody ekstrakcji chlorku chlorocholiny z moczu szczura

Ze względu na brak odpowiedniej do tego celu metody wyodrębniania CCC z moczu szczura przebadano szereg rozpuszczalników (n-pentanol, n-butanol, metanol) oraz ich mieszaniny z etanolem i acetonem w stosunku obj. (9:1, 8:2, 7:3). Najlepsze wyniki uzyskano stosując metanol. Sposób postępowania był następujący. Próbkę moczu o obj. 10 ml odparowywano na łaźni wodnej o temp. ok. 70°C. Suchą pozostałość dokładnie mieszano z bezwodnym siarczanem sodu (1:2,5) i tę mieszaninę 3-krotnie ekstrahowano 10 ml metanolu po 20 min. Połączone ekstrakty przesączano, odparowywano na łaźni wodnej (ok. 40°C) do objętości 10 ml i uzyskane roztwory nanoszono na bibułę Whatman 1 (dług. 30 cm, szer. 4,5 cm). Stosowano układ rozpuszczalnika aceton+woda (8:2), chromatogramy wywoływano odczynnikami Dragendorffa (9). W celu określenia stopnia odzysku do moczu szczura zdrowego dodawano różne ilości CCC (p. tab. 2) i po odparowaniu ekstrahowano i badano chromatograficznie opisanym wyżej sposobem. Absorbancję acetonowych eluatów plam (o  $R_f=0,48$ ) określano kolorymetrycznie (10). Otrzymane dane posłużyły do obliczeń wartości odzysku CCC, które zebrano w tab. 2.

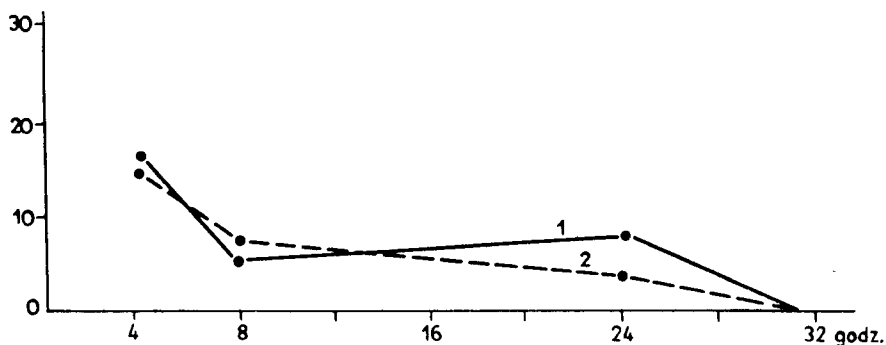
Tab. 2. Wartości odzysku CCC z moczu szczura  
The values of CCC recovery from the rats urine

Ilość (w mg) dodanego CCC		Odzysk CCC (w mg)		Średni odzysk CCC (w mg)	Średni odzysk CCC (w %)
0,03	0,016	0,018	0,015	0,0163	54,3
0,04	0,025	0,028	0,027	0,0266	66,0
0,06	0,042	0,046	0,040	0,0426	70,8
0,09	0,058	0,050	0,060	0,0560	62,2
0,130	0,090	0,085	0,078	0,0850	65,4
0,150	0,105	0,094	0,110	0,103	68,6

Średnia wartość odzysku CCC — 64,55% (Mean values of CCC recovery — 64,55%).

### Badania wpływu DDT na wydalanie chlorku chlorocholiny z moczem szczurów

Do badań wpływu DDT na proces wydalania CCC użyto 24 szczurów, które również podzielono na 4 równe liczbowo grupy (po 6). Zwierzętom poszczególnych grup, znajdującym się w kłatkach metabolicznych (w 20°C), podawano te same substancje i w tych samych dawkach jak w trakcie badania procesu wchłaniania CCC. Mocz i kał zbierano po upływie 4, 8, 24 i 32 godzin. W moczu zebrany po upływie 32 godzin i w kale, badanym opracowanym uprzednio sposobem — (10), zebrany po 4, 8, 24 i 32 godzinach od zatrucia, nie stwierdzono CCC. Wyniki ilości-



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

Excretion of CCC in the urine of rats intoxicated with dose 0,05 g/kg; 1 — without the application of DDT, 2 — after the application of DDT

ciowych oznaczeń (w%) CCC wydalonego z moczem szczurów bez podania i po podaniu DDT po 4, 8 i 24 godzinach w zależności od dawek CCC podano w przypadku mniejszej (0,05 g/kg) — na ryc. 3, a większej (0,1 g/kg) — na ryc. 4. Statystyczną ocenę tych wyników przedstawiono w tab. 3.

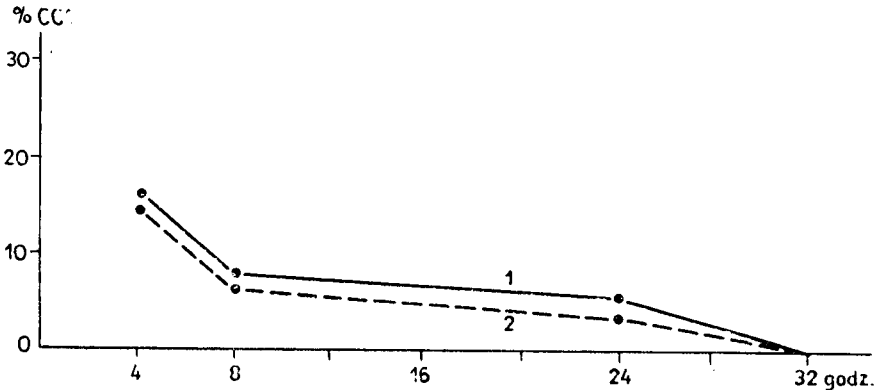
#### OMÓWIENIE WYNIKÓW

Z uzyskanych rezultatów badań wynika, że wielkość dawki chlorku chlorocholiny (0,05 g/kg i 0,1 g/kg) oraz uprzednie 7-dniowe codzienne podawanie DDT (po 0,04 g/kg) nie miało istotnego wpływu na czasokres

Tab. 3. Statystyczna ocena istotności różnic w wielkości wydalania bez podania i po podaniu DDT (N=6)

Statistical significance of the excretion values of CCC in urine of rats without the application and after intoxication with DDT

Dawka CCC g/kg	Badane grupy		Okres zatrucia w godz.	% wydalania		$\bar{x}_1 - \bar{x}_2$	$S_d$	t	$t_{0(0.05)}$	Wniosek
				$\bar{x}_1$	$\bar{x}_2$					
0,05	bez podania DDT	po podaniu DDT	4	16,7	15,7	1,0	0,23	4,34	2,23	wysoka istotność
	bez podania DDT	po podaniu DDT	8	23,4	23,4	—	—	—	—	—
	bez podania DDT	po podaniu DDT	24	32,1	28,5	3,6	1,10	3,27	2,23	istotność wysoka
0,10	bez podania DDT	po podaniu DDT	4	16,0	15,1	0,9	0,97	0,92	2,23	—
	bez podania DDT	po podaniu DDT	8	23,4	21,5	1,9	0,88	2,16	2,23	—
	bez podania DDT	po podaniu DDT	24	28,8	25,2	3,6	1,02	3,55	2,23	wysoka istotność



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

Excretion of CCC in the urine of rats intoxicated with dose 0,1 g/kg; 1 — without the application of DDT, 2 after the application of DDT

resorpcji (wynoszący ok. 2 godzin) i wydalania (wynoszący ok. 24 godzin), lecz na intensywność tych procesów. Stwierdzono hamujący wpływ DDT na intensywność resorpcji CCC, charakteryzujący się znamiennością statystyczną ( $P < 0,01$ ) po upływie 1/2 godziny w przypadku obu jego dawek oraz po 2 godzinach po dawce 0,1 g/kg. Wpływ ten, charakteryzujący się nieznacznie tylko znamiennością statystyczną ( $p < 0,05$ ), stwierdzono po upływie 2 godzin w przypadku dawki 0,05 g/kg (tab. 1).

W trakcie dalszych badań wykazano statystycznie istotny ( $p < 0,01$ ) hamujący wpływ DDT na intensywność wydalania CCC z moczem szczurów, w przypadku mniejszej dawki (0,05 g/kg) po upływie 4 i 24 godzin, a większej (0,1 g/kg) — tylko po upływie 24 godzin (tab. 3). Na podstawie przytoczonych danych, można przewidywać po uprzednim stosowaniu DDT większe toksyczne oddziaływanie CCC ze względu na opóźniony proces jego wydalania z organizmu.

#### PIŚMIENNICTWO

1. Chromiński A., Stankiewicz S.: Zesz. Nauk. UMK w Toruniu, Nauki mat. przyr. s. 29 Biol., 155—165, 1971.
2. Chromiński A., Belt H., Michniewicz M.: Zesz. Nauk. UMK w Toruniu, Nauki mat. przyr., s. 29 Biol., 14, 143—151, 1971.
3. Lichaczew B. S., Burchatowa Ł. J.: Chim. w sielsk. choz., 11, 780—781, 1973.
4. Romanowski H.: Bromat. Chem. Toksykol., 5, 203—209, 1972.
5. Romanowski H.: Bromat. Chem. Toksykol., 5, 83—88, 1972.
6. Rusiecki W.: Farm. Pol., 23, 24—31, 1967.
7. Rusiecki W., Kubikowski P.: Toksykologia współczesna. PZWL, Warszawa 1969, 511—513.

8. Rusiecki W.: Toksykologia chemicznych środków ochrony roślin. PZWL, Warszawa 1973, 58—64, 125—126, 185.
  9. Rutorina Ł. K.: Chim. w selsk. choz., 12, 64—66, 1974.
  10. Udatschin R. A.: Pflanzenzuchtg., 65, 95—99, 1971.
  11. Zalewski W.: Post. Nauk. Roln., 15, 13—20, 1968.
- Otrzymano 20 XI 1975.

### РЕЗЮМЕ

Используя бумажную хроматографию (растворитель: ацетон + вода (8:2), реагент Драгендорффа) и колориметрические обмеры красных элюатов пятен с  $R_f=0,48$  установлено, что величины дозы ССС (0,05 г/кг и 0,1 г/кг) и предварительная ежедневная в течение 7 дней подача ДДТ (по 0,04 г/кг) не влияет на время (2 часа) впитывания ССС у крыс и удаления (24 часа) ССС с мочой крыс, но влияет на интенсивность этих процессов.

Статистически ( $p<0,01$ ) установлено тормозящее влияние ДДТ на впитывание ССС из желудков крыс после истечения 1/2 и 2 часов от подачи этих довок. Удаление ССС с мочой крыс под влиянием ДДТ задержалось ( $p<0,01$ ) после истечения 4 и 24 часов от времени подачи меньшей и 24 часов от подачи большой дозы ССС.

### SUMMARY

Using the paper chromatography technique (with acetone and water (8:2) as a solvent and Deagendorff's reagent) and the colorimetry of the red acetone eluates of spots ( $R_f=0,48$ ) it was shown, that doses of CCC (0,05 g/kg, 0,1 g/kg) and 7 — daily prior administrations of DDT (in a dose of 0,04 g/kg) have no influence on the period (2 hours) of the CCC resorption from the stomach and the excretion (24 hours) in the urine of rats, but on the intensity of this process. Statistically ( $p<0,01$ ) revealed an inhibiting influence on the DDT of the CCC resorption after the intoxication (1/2 and 2 hours) with doses of 0,05 g/kg and 0,1 g/kg.

The process of the CCC excretion was inhibited under the influence of DDT ( $p<0,01$ ) after the intoxication (4 and 24 hours) with a dose of 0,05 g/kg and with a larger dose after 24 hours.

