

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

Henryk ROMANOWSKI

**Wpływ kwasu 2,4-dwuchlorofenoksyoctowego (2,4-D)  
na resorpcję i wydalanie chlorku chlorocholiny (CCC) u szczurów**

Влияние 2,4-дихлоруксусной кислоты (2,4-Д) на впитывание и удаление хлорида хлорхолина (CCC) у крыс

The Influence of 2,4-dichlorophenoxyacetic Acid (2,4-D) on the Resorption  
and Excretion of Chlorocholine Chloride (CCC) in Rats

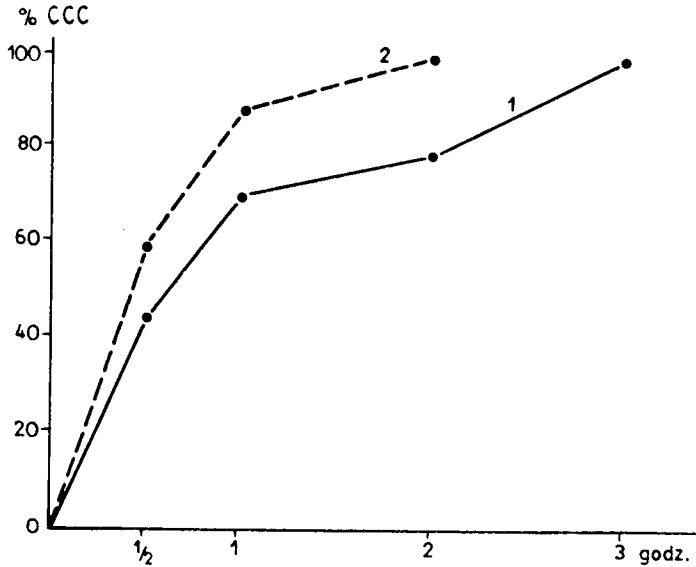
Znany regulator wzrostu roślin oraz „antywylegacz” zbóż chlorek chlorocholiny (CCC, Chlormekwat, Cykocel) — chlorek 2-etylotrój-metyloamoniowy jest nadal szeroko stosowany (1—3, 9, 10, 12—14) także z innymi chemicznymi środkami ochrony roślin, głównie herbicydami (4, 5). Efektywność działania CCC jest szczególnie duża gdy stosuje się go łącznie z kwasem 2,4-dwuchlorofenoksyoctowym (2,4-D) (4, 5), składnikiem preparatów chwastobójczych, takich jak Pielik, Amino — pielik (9). Dlatego też celowe wydawało się zbadać wpływ tego kwasu (2,4-D) na szybkość resorpcji i wydalania CCC u szczurów. Wyniki tych badań mogą być przydatne w ocenie wpływu 2,4-D na toksyczne oddziaływanie chlorku chlorocholiny na organizmy stało — cieplne.

BADANIA WŁASNE

**Badania wpływu 2,4-D na resorpcję chlorku chlorocholiny  
z przewodu pokarmowego szczurów**

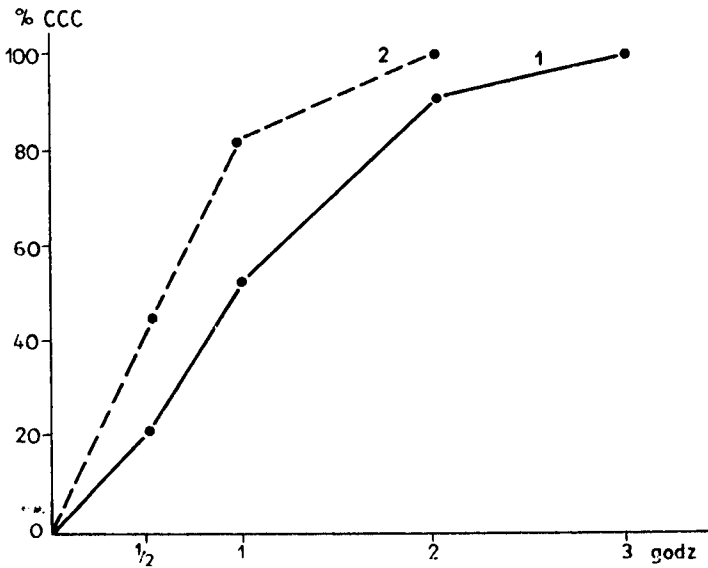
Badania resorpcji przeprowadzono na 84 białych szczurach rasy „Wistar” o c. 180—240 g, żywionych znormalizowaną karmą (LSM) w oświetlonym pomieszczeniu o temp. 20°C. Roztwory wodne CCC oraz wodną zawiesinę 2,4-D (11) podawano sondą metalową do żołądków szczurów. Badania przeprowadzono w 4 grupach szczurów, z których 1 i 2 zawierały po 24 szczury, a 3 i 4 po 18 szczurów. Zwierzętom dwóch pierwszych (1, 2) grup podano jednorazowo roztwór 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) (10,14). Trzeciej grupie jednocześnie z CCC (w dawce po 0,05 g/kg) podano także 2,4-D, również w dawce po 1/10 DL<sub>50</sub> (po 0,06 g/kg), a czwartej — odpowiednio CCC po 0,1 g/kg i 2,4-D po 1/5 DL<sub>50</sub> (po 0,12 g/kg) (4,9).

Poszczególne grupy szczurów podzielono na podgrupy (po 6 szczurów w każdej) —



Ryc. 1. Resorpcja CCC z żołądków szczurów po zatruciu dawką 0,05 g/kg; 1 — bez podania 2,4-D, 2 — po podaniu 2,4-D

Resorption of CCC from the stomach of rats intoxicated with dose 0,05 g/kg; 1 — without the application of 2,4-D, 2 — after the application 2,4-D



Ryc. 2. Resorpcja CCC z żołądków szczurów — po zatruciu dawką 0,1 g/kg; 1 — bez podania 2,4-D, 2 — po podaniu 2,4-D

Resorption of CCC from the stomach of rats intoxicated with dose 0,1 g/kg; 1 — without the application of 2,4-D, 2 — after the application 2,4-D

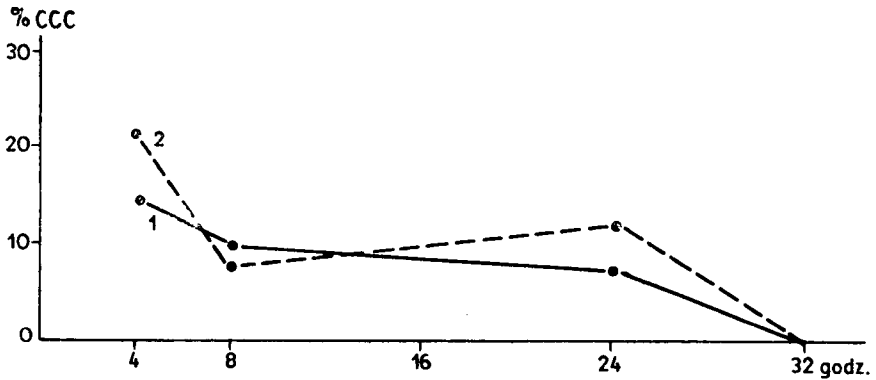
Tab. 1. Statystyczna ocena istotności różnic w wielkości resorpcji CCC bez podania i po podaniu 2,4-D  
Statistical significance of the resorption values of CCC in rats without the application and after intoxication with 2,4-D

Dawka CCC g/kg	Badane grupy		Okres zatrucia w godz.	% resorpcji		$\bar{x}_2 - \bar{x}_1$	$S_d$	t	$t_{0(0,05)}$	Wniosek
	bez podania 2,4-D	po podaniu 2,4-D		$\bar{x}_1$	$\bar{x}_2$					
0,05	bez podania 2,4-D	po podaniu 2,4-D	0,5	44,85	57,50	12,65	1,95	6,51	2,23	b. wysoka istotność
	bez podania 2,4-D	po podaniu 2,4-D	1	70,00	88,70	18,70	2,35	8,00	2,23	b. wysoka istotność
0,10	bez podania 2,4-D	po podaniu 2,4-D	0,5	21,50	44,75	23,25	2,75	8,42	2,23	b. wysoka istotność
	bez podania 2,4-D	po podaniu 2,4-D	1	52,50	82,20	29,70	3,25	8,87	2,23	b. wysoka istotność

Tab. 2. Statystyczna ocena istotności różnic w wielkości wydalania CCC bez podania i po podaniu 2,4-D  
Statistical significance of the excretion values of CCC in the rats urine without the application and after intoxication with 2,4-D

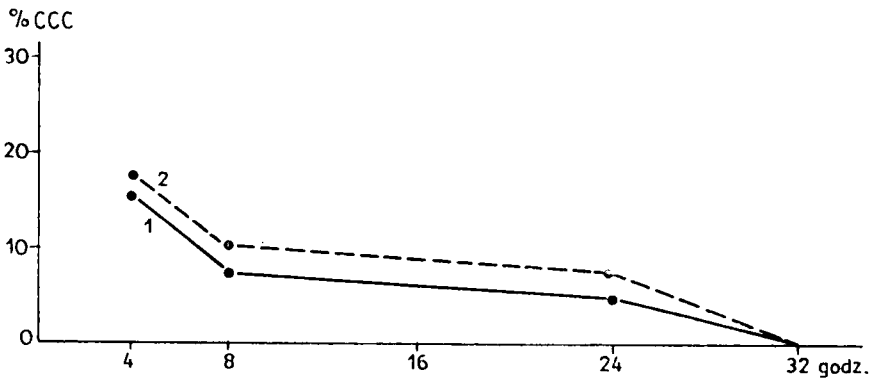
Dawka CCC g/kg	Badane grupy		Okres zatrucia w godz.	% wydalania		$\bar{x}_2 - \bar{x}_1$	$S_d$	t	$t_{0(0,05)}$	Wniosek
	bez podania 2,4-D	po podaniu 2,4-D		$\bar{x}_1$	$\bar{x}_2$					
0,05	bez podania 2,4-D	po podaniu 2,4-D	4	14,50	21,80	7,30	1,28	5,70	2,23	b. wysoka istotność
	bez podania 2,4-D	po podaniu 2,4-D	8	24,35	29,70	5,35	1,21	4,42	2,23	wysoka istotność
	bez podania 2,4-D	po podaniu 2,4-D	24	31,80	42,30	10,50	1,45	7,24	2,23	b. wysoka istotność
0,10	bez podania 2,4-D	po podaniu 2,4-D	4	15,55	17,80	2,25	0,92	2,41	2,23	istotność
	bez podania 2,4-D	po podaniu 2,4-D	8	22,95	28,65	5,70	1,12	5,08	2,23	b. wysoka istotność
	bez podania 2,4-D	po podaniu 2,4-D	24	27,50	36,25	8,75	1,43	6,18	2,23	b. wysoka istotność

pierwszą i drugą na 4 (a, b, c, d), a trzecią i czwartą na 3 podgrupy (e, f, g). Szczu-ry poszczególnych podgrup w pierwszej i drugiej grupie zabijano po upływie godzin: a) 1/2, b) 1, c) 2 i d) 3, a w grupach trzeciej i czwartej po upływie godzin: c) 1/2, f) 1 i g) 2 od chwili podania CCC. Wyizolowane wraz z treścią żołądki, dwunastnicy, jelita cienkie, jelita grube ekstrahowano opracowanym uprzednio sposobem (6). Oczyszczone ekstrakty badano metodą chromatografii bibułowej używając bibuły Whatman 1, układu rozpuszczalników aceton+woda (8:2), odczynnika Dragendorffa (6). Do oznaczeń użyto acetonowych eluatów czerwonych plam o cha-



Ryc. 3. Wydalanie CCC z moczem szczurów po zatruciu dawką 0,05 g/kg; 1 — bez podania 2,4-D, 2 — po podaniu 2,4-D

Excretion of CCC in the urine of rats intoxicated with dose 0,05 g/kg; 1 — without the application of 2,4-D, 2 — after the application 2,4-D



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

Excretion of CCC in the urine of rats intoxicated with dose 0,1 g/kg; 1 — without the application of 2,4-D, 2 — after the application 2,4-D

rakterystycznej dla CCC wartości  $R_f$  (0,48) (7), uzyskanych w trakcie badania ekstraktów z żołądków (wraz z treścią) szczurów. Nie stwierdzono obecności CCC w ekstraktach z dwunastnic, jelit cienkich i jelit grubych badanych szczurów. Oznaczenia ilościowe przeprowadzono metodą kolorymetryczną, posługując się uprzednio skalibrowaną krzywą wzorcową dla CCC w zakresie od 0,01 mg do 0,15 mg. Wykrywalność — 0,001 mg, dokładność metody — 1,9% (7). Na podstawie oznaczeń ilości CCC pozostałego w żołądkach (wraz z treścią) szczurów wyliczono % resorpcji tego związku. Uzyskane wyniki dotyczące wpływu 2,4-D na czasokres i stopień resorpcji CCC u szczurów zilustrowano na ryc. 1 i ryc. 2. Wyniki te statystycznie ujęte podano w tab. 1. W tab. 1 i 2 uwzględniono:

$\bar{x}_1$  — średnią arytmetyczną oznaczeń CCC bez podania 2,4-D,

$\bar{x}_2$  — średnią arytmetyczną oznaczeń CCC po podaniu 2,4-D,

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

$\bar{S}_1$  — odchylenie standardowe średniej arytmetycznej oznaczeń CCC bez podania 2,4-D,

$\bar{S}_2$  — odchylenie standardowe średniej arytmetycznej oznaczeń CCC po podaniu 2,4-D,

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

$t = \frac{\bar{x}_1 - \bar{x}_2}{S_d}$  — wartość funkcji Studenta uzyskana 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 bez podania 2,4-D,  $N_2$  — liczba szczurów badanych po podaniu 2,4-D).

### Badanie wpływu 2,4-D na wydalanie chlorku chlorocholiny z moczem szczurów

24 szczurom (podzielonym na 4 grupy po 6 sztuk), znajdującym się w klatkach metabolicznych (w 20°C), podawano te same związki (CCC i 2,4-D) i w tych samych ilościach jak w trakcie badania procesu wchłaniania. Po upływie 4, 8, 24 i 32 godzin zbierano mocz i kał, które ekstrahowano opracowanymi uprzednio sposobami (6, 8), oczyszczone ekstrakty badano chromatograficznie i kolorymetrycznie (7). W moczu zebranym po 32 godzinach, a w kale — po 4, 8, 24 i 32 godzinach od zatrucia nie stwierdzono chlorku chlorocholiny. Wyniki ilościowych oznaczeń CCC (w %) wydalonego z moczem szczurów w zależności od czasu ekspozycji bez podania i po podaniu 2,4-D przedstawiono na ryc. 3 i 4. Statystyczną ocenę podanych na tych wykresach wyników przedstawiono w tab. 2.

#### OMÓWIENIE WYNIKÓW

Z uzyskanych w trakcie badań rezultatów wynika, że pod wpływem 2,4-D 0,06 g/kg i 0,12 g/kg czasokres resorpcji CCC (podanego w dawkach 0,05 g/kg i 0,1 g/kg) uległ zmniejszeniu z 3 do 2 godzin (ryc. 1 i 2). Nastąpiło także zwiększenie intensywności tego procesu, charakteryzujące się wysoką znamiennością statystyczną ( $p < 0,001$ ) w przypadku obu dawek CCC (tab. 1).

W trakcie dalszych badań stwierdzono, że wielkość dawki CCC oraz podawanie 2,4-D nie wpływa na czasokres (wynoszący ok. 24 godzin), lecz na intensywność wydalania chlorku chlorocholiny z moczem szczurów (ryc. 3 i 4). Wykazano statystycznie istotny ( $p < 0,001$ ) zwiększający wpływ 2,4-D na intensywność tego procesu w przypadku mniejszej dawki CCC (0,05 g/kg) po upływie 4, 8 i 24 godzin, a większej (0,1 g/kg) po upływie 8 i 24 godzin. Po 4 godzinach wykazano wpływ ten charakteryzujący się nieznaczną tylko statystyczną znamiennością —  $p < 0,05$  (tab. 2).

Z przedstawionych rezultatów badań wynika, że 2,4-D łącznie stosowany z chlorkiem chlorocholiny nie wpływa na zwiększenie toksyczności

tego związku. Z uwagi na wykazaną w pracy nieznacznie zwiększoną intensywność wydalania CCC można raczej sądzić o zmniejszaniu się jego oddziaływania toksycznego pod wpływem 2,4-D.

#### PIŚMIENNICTWO

1. Agafonow N. W., Iwanuszkin A. I.: *Chim. w sielsk. choz.* **12**, 615—618, 1974.
  2. Dańko W. I., Jarkowoj A. S.: *Chim. w sielsk. choz.* **12**, 66—68, 1974.
  3. Chromiński A., Belt H., Michniewicz M.: *Zesz. Nauk. UMK w Toruniu. Nauki mat. Przyr.*, s. 29, *Biol.*, **14**, 143—141, 1971.
  4. Gorszkow A. J.: *Higiena i Sanitaria* **36**, 33—36, 1971. ,
  5. Nienajdenko G. N., Biełujew W. K., Blinow A. M., Onochin B. N.: *Chim. w sielsk. choz.* **11**, 377—379, 1973.
  6. Romanowski H.: *Bromat. Chem. Toksykol.* **5**, 203—209, 1972.
  7. Romanowski H.: *Bromat. Chem. Toksykol.* **5**, 83—88, 1972.
  8. Romanowski H.: *Ann. Univ. Mariae Curie-Skłodowska, Sec. D* **31**, 299—305, 1976.
  9. Rusiecki W., Kubikowski P.: *Toksykologia współczesna. PZWL, Warszawa 1969*, 559—560.
  10. Rusiecki W.: *Toksykologia chemicznych środków ochrony roślin. PZWL, Warszawa 1973*, 125—126, 185.
  11. Seńczuk W., Pogorzelska H.: *Roczniki PZH* **26**, 217—222, 1975.
  12. Sucharewa I. Ch., Szewcow W. I.: *Chim. w selsk. choz.* **12**, 606—608, 1974.
  13. Udatschin R. A.: *Pflanzenzüchtg.* **65**, 95—99, 1971.
  14. 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 ацетоновых растворов пятен CCC с  $R_f=0,48$ , установлено, что 2,4-Д в дозах 0,06 г/кг и 0,12 г/кг ускоряет (с 3 до 2 часов) впитывание CCC у крыс и вызывает усиление его динамики, характеризующееся высокой статистической значительностью ( $p<0,001$ ). Время (24 часа) удаления CCC с мочой крыс не изменилось под влиянием 2,4-Д, только интенсивность этого процесса, как статистически ( $p<0,001$ ), значительно ускорилась.

#### SUMMARY

By applying paper chromatography (mobile phase: actone+water (8:2) and Dragendorff's reagent) and colorimetry of red actone eluates of spots ( $R_f=0,48$ ) it was indicated that, 2,4-D (in doses of 0,06 g/kg, 0,12 g/kg) decreases the period of CCC resorption from 3 to 2 hours (after intoxication with doses of 0,05 g/kg and 0,1 g/kg) in the stomach of rats and causes an increase in the ( $p<0,001$ ) of this process.

2,4-D shows no influence on the period (24 hours) of CCC excretion in urine of rats but the intensity of this process was increased ( $p<0,001$ ).