

ИНГЕБОРГ ВЕЛДРЕ, ХИЛЬЯ НОРМАН, ВАДИМ САЛИЕВ,  
КЕРСТИ СИММ, ГЕННАДИЙ УНИГОВСКИЙ

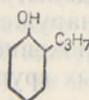
### СРАВНИТЕЛЬНАЯ ОЦЕНКА ТОКСИЧНОСТИ ИЗОМЕРОВ ПРОПИЛФЕНОЛА ПО ДАННЫМ ОСТРЫХ И ПОДОСТРЫХ ОПЫТОВ

Известно, что биологическое действие вещества зависит от физико-химических свойств, которые определяются его химической структурой (Лазарев, 1956). Существенное значение имеет пространственное расположение замещающихся радикалов в молекуле — изомерия положения. Заметно отличаются друг от друга *орто*-, *мета*- и *пара*-изомеры. Т. Кристи (Christie, 1965) отметил, что соединения с ОН-группой в *пара*-положении более активны по сравнению с теми же соединениями в *орто*-положении. Изучена сравнительная биологическая активность изомеров некоторых фенольных веществ:  $\alpha$ - и  $\beta$ -нафтолов (Рахманин, 1965), *пара*- и *мета*-крезолов (Павленко, Кузнецова, 1965), изомеров нитрофенола (Махиня, 1969), аминифенола (Трофимович, 1968) и изомеров диоксибензола. При этом получена довольно разноречивая картина. В одних случаях *пара*-изомер для теплокровных животных оказался более токсичным, чем *мета*- и *орто*-изомеры. В других случаях наиболее токсичным был *орто*-изомер, за ним следовал *мета*-изомер и, наконец, *пара*-изомер.

Проведенные нами исследования изомеров диметилфенола (ДМФ) показали, что биологическая активность указанных изомеров зависит не только от расположения СН<sub>3</sub>-групп в бензольном кольце, но и от симметричности их расположения. Таким образом, до настоящего времени нет ясности в вопросе о биологической активности изомеров фенольных соединений, в частности, о токсическом воздействии их на теплокровный организм.

Целью настоящей работы являлось изучение сравнительной токсичности двух изомеров одноатомного фенола — *орто*- и *пара*-пропилфенола, которые представлены в небольших количествах в смеси высших одноатомных фенолов сланцевой смолы.

*Пара*-пропилфенол (ППФ)



*Орто*-пропилфенол (ОПФ)



Таблица 1

## Среднесмертельные дозы изомеров пропилфенола при однократном пероральном введении

| Животные       | ОПФ              |                             |                  | ППФ              |                             |                  |
|----------------|------------------|-----------------------------|------------------|------------------|-----------------------------|------------------|
|                | LD <sub>16</sub> | LD <sub>50</sub> ± <i>m</i> | LD <sub>84</sub> | LD <sub>16</sub> | LD <sub>50</sub> ± <i>m</i> | LD <sub>84</sub> |
| Белые мыши     | 178              | 356±36,7                    | 538              | 274              | 348±15,7                    | 428              |
| Белые крысы    | 336              | 514±51,5                    | 693              | 160              | 540±85,1                    | 940              |
| Морские свинки |                  | 450                         |                  |                  | 675                         |                  |

При однократном пероральном введении мелким лабораторным животным ППФ и ОПФ (табл. 1) выявилось, что токсичность обоих изученных изомеров почти одинакова. Однако необходимо отметить, что белые мыши оказались несколько чувствительнее к воздействию изученных веществ, чем белые крысы и морские свинки. Клиническая картина отравления изомерами пропилфенола характеризовалась следующими симптомами: животные становились малоактивными, мало-подвижными, вялыми, у них наблюдались неравномерное дыхание, одышка (частота дыхания от 56 до 102 в минуту) и редкие клонические судороги.

При проведении подострого токсикологического эксперимента нами ставилась задача, во-первых, изучить способность изомеров пропилфенола к кумуляции в организме и, во-вторых, выяснить особенности влияния этих веществ на организм при систематическом введении.

На основе полученных данных мы предполагаем выбрать тесты для оценки токсического действия изомеров пропилфенола в условиях хронического санитарно-токсикологического эксперимента.

Опыты проводились на 30 белых крысах-самцах. Затравка производилась из расчета  $\frac{1}{5}$  LD<sub>50</sub> изомеров пропилфенола ежедневно в течение 60 дней. 10 крысам вводился ППФ в дозе 100 мг/кг веса, 10 крысам — ОПФ в дозе 100 мг/кг, 10 крыс служили контролем.

Возможное отрицательное воздействие изомеров пропилфенола на организм животных оценивалось по следующим показателям и тестам: общее поведение и вес животных, картина красной и белой крови, нервно-мышечная возбудимость, исследуемая методом суммации подпороговых импульсов на импульсном стимуляторе ИСЭ-01 в модификации С. Сперанского (1965), функциональное состояние щитовидной железы по поглощению радиоактивного изотопа иода ( $J^{131}$ ), а также экскреторно-поглощительная функция и трансаминазная активность печени. Посмертно проводился патоморфологический анализ внутренних органов как подопытных, так и контрольных животных.

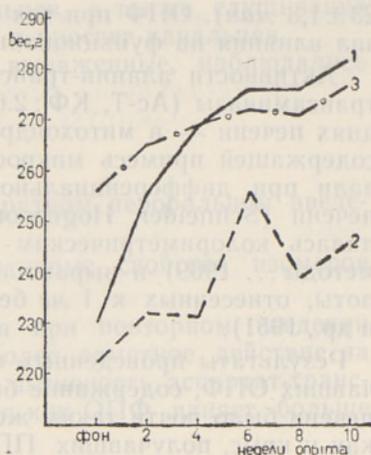
Результаты подострого опыта показали, что изомеры пропилфенола не обладают выраженными кумулятивными свойствами — при двухмесячной затравке не погибло ни одного животного. Подопытные животные, получавшие как ППФ, так и ОПФ, отставали в привесе (рис. 1). В конце эксперимента (на 10-й неделе) эта разница в группе крыс, получавших ППФ, оказалась достоверной.

На суммационно-пороговый показатель ППФ и ОПФ в течение всего опыта не оказывали существенного влияния. В содержании лейкоцитов, а также в лейкоцитарной формуле в показателях подопытных и контрольных животных существенной разницы не обнаружено. У крыс, получавших ППФ, установлено достоверное снижение гемоглобина крови. Содержание эритроцитов в обеих подопытных группах оказалось ниже, чем в контрольной ( $P < 0,05$ ).

Исследование накопления  $J^{131}$  в щитовидной железе через 2 и 24 ч показало отчетливое угнетение ( $P < 0,05$ ) функционального состояния последней при затравке животных ОПФ: у контрольных животных накопление  $J^{131}$  составило через 2 ч  $2,1 \pm 0,38\%$  и через 24 ч  $5,1 \pm 0,72\%$ , а у животных, затравленных ОПФ, эти показатели равнялись соответственно  $1,1 \pm 0,27$  и  $2,5 \pm 0,46\%$ .

Динамика веса белых крыс в подостром опыте при введении им изомеров пропилфенола.

1 — контроль, 2 — ППФ, 3 — ОПФ.



Введение в организм таких же количеств ППФ показало менее заметное влияние на функцию щитовидной железы. При этом статистически достоверное угнетение, хотя и более слабое, чем при затравке ОПФ, было обнаружено лишь через 24 ч после введения изотопа, а через 2 ч разница была несущественной (накопление  $J^{131}$  через 2 ч составляло  $1,5 \pm 0,63\%$ , а через 24 ч —  $2,8 \pm 0,82\%$ ).

Для исследования экскреторной способности печени была проведена бромсульфалеиновая проба по модифицированной методике В. Тугариновой и В. Миклашевского (1964), результаты которой представлены в табл. 2. Выясняется, что под воздействием ППФ экскреторная функция печени понизилась ( $P = 0,003$ ).

Таблица 2

Коэффициент ретенции бромсульфалеина в конце подострого опыта с ППФ и ОПФ

| Группа животных | Количество животных | $K_p^*$<br>$M \pm m$ | $t$   | $P$     |
|-----------------|---------------------|----------------------|-------|---------|
| Контроль        | 6                   | $43,5 \pm 3,8$       |       |         |
| ППФ             | 6                   | $26,7 \pm 1,55$      | 4,15  | 0,003   |
| ОПФ             | 6                   | $42,2 \pm 3,6$       | 0,248 | $> 0,5$ |

\* Коэффициент ретенции  $K_p = \frac{\Theta_7 \cdot 100}{\Theta_1}$ ,  $\Theta_1$  — интенсивность окраски бромсульфалеина в крови крыс через 1 и  $\Theta_7$  — через 7 мин.

Для определения поглотительно-экскреторной функции полигональных клеток печени была использована проба с бенгал-роз, которая проводилась на одноканальном электронном анализаторе путем регистрации динамики радиоактивности печени после внутривенного введения меченой  $J^{131}$  бенгал-розы. Результаты этих исследований показали, что ППФ оказывает в примененных концентрациях достоверное угнетающее воздействие на функцию полигональных клеток печени. При этом обнаружено не только замедление темпа поглощения печенью бенгал-роз из крови ( $P < 0,05$ ) (максимальное накопление радиоиндикатора в печени отмечено на  $25,5 \pm 1,5$  мин; тот же показатель в контроле составил  $18 \pm 2$  мин), но также и запоздалое начало экскреции препарата ( $P < 0,05$ ) из печени (начало экскреции в опыте было зафиксировано на  $29,1 \pm 1,4$  мин, тот же показатель в контроле оказался равным

23±1,3 мин). ОПФ при тех же условиях затравки практически не оказал влияния на функциональное состояние печеночной паренхимы.

Активности аланин-трансаминазы (Ал-Т, КФ:2.6.1.2) и аспартат-трансаминазы (Ас-Т, КФ:2.6.1.1) были изучены в двух клеточных фракциях печени — в митохондриях и гиалоплазме (растворимой фракции, содержащей примесь микросом). Указанные клеточные фракции получали при дифференциальном центрифугировании гомогената ткани печени (Schneider, Hogeboom, 1950). Активность трансаминаз определялась колориметрическим методом по Т. Пасхиной (Биохимические методы... 1969) и выражалась в микрограммах пировиноградной кислоты, отнесенных к 1 мг белка. Белок определяли по Лоури (Lowry и др., 1951).

Результаты проведенных исследований показали, что у крыс, получавших ОПФ, содержание белка в гиалоплазме и митохондриях клеток печени было почти таким же, как у контрольных животных, в то время как у крыс, получавших ППФ, в митохондриях оно снизилось почти на 18%.

Средние показатели активности трансаминаз у крыс, получавших изомеры пропилфенола, представленные в табл. 3, показывают, что

Таблица 3

Активность аланин- и аспартат-трансаминаз (мкг пировиноградной кислоты / мг белка × 100) в клеточных фракциях печени крыс после введения разных изомеров пропилфенола

| Группа   | Количество животных | Ал-Т        |             | Ас-Т        |             |
|----------|---------------------|-------------|-------------|-------------|-------------|
|          |                     | Гиалоплазма | Митохондрии | Гиалоплазма | Митохондрии |
| Контроль | 8                   | 4,09±0,337  | 2,58±0,275  | 47,26±4,18  | 44,80±0,85  |
| ОПФ      | 9                   | 3,34±0,477  | 2,72±0,142  | 48,46±5,49  | 49,66±2,44  |
| ППФ      | 9                   | 3,32±0,332  | 2,55±0,237  | 48,21±3,00  | 54,12±2,59  |
|          |                     | P>0,05      | P>0,05      | P>0,05      | P<0,01      |

после введения ОПФ и ППФ активность аланин- и аспартат-трансаминаз в гиалоплазме клеток печени существенно не изменялась. В митохондриях же произошел заметный сдвиг лишь после введения ППФ, где активность Ас-Т повысилась примерно на 20% (P<0,01).

В литературе встречаются указания (Hrúzik и др., 1962), что у морских свинок после введения четыреххлористого углерода активность Ал-Т и Ас-Т в период, предшествующий появлению некротических изменений в печени, повышалась, а при появлении некрозов понижалась. Нами было отмечено повышение активности Ас-Т в митохондриях клеток печени у крыс под воздействием ППФ, когда некротические изменения клеток печени были еще сравнительно небольшими.

При гистологическом исследовании органов подопытных и контрольных крыс обнаружено, что у животных, подвергавшихся затравке ППФ, изменения в ткани печени проявлялись в набухании стенок сосудов, порой достигающем значительной степени. Наряду с повышением проницаемости сосудов отмечалось расширение и полнокровие междольковых сосудов и центральных вен, а также внутريدольковых капилляров. Были выявлены также различной величины участки некроза паренхимы печени.

В почках указанной подопытной группы животных наряду со сходными сосудистыми изменениями и полнокровием были обнаружены

цилиндры в просвете многих извитых канальцев, а также слушивание апикальных частей клеточек и целых клеток в просвет канальцев.

Подобные же изменения, хотя и менее выраженные, наблюдались у животных, подвергнутых затравке ОПФ.

### Выводы

1. Токсичность ППФ и ОПФ при однократном пероральном введении их животным почти одинакова.

2. Подострый опыт показал, что кумулятивные свойства изомеров пропилфенола выражены слабо.

3. *Пара*- и *орто*-изомеры пропилфенола при повторном введении различным образом влияют на организм: более заметное действие на поглотительно-эксcretорную функцию и на активность аспартат-трансаминазы печени оказывает ППФ, в то время как ОПФ влияет больше на функцию щитовидной железы.

4. Более выраженные гистологические изменения возникают в печени и почках при введении ППФ, чем при ОПФ.

5. Для окончательного решения вопроса сравнительной токсичности изомеров пропилфенола необходимо провести хронический эксперимент с использованием, в первую очередь, широкого набора тестов для оценки различных функций печени.

### ЛИТЕРАТУРА

- Биохимические методы исследования в клинике, 1969. (Ред. Покровский А. А.) М.: 112—115.
- Лазарев Н. В., 1956. Физико-химические свойства и фармацевтическое действие, Л. Махиня А. П., 1969. Сравнительные гигиенические и санитарно-токсические исследования изомеров нитрофенола в связи с их нормированием в воде водоемов. В сб.: Промышленные загрязнения водоемов, вып. 9, М.: 84—95.
- Павленко М. Н., Кузнецова В. А., 1965. Охрана водоемов от загрязнения пара- и мета-крезолами. В сб.: Вопросы гигиены, Новосибирск: 71—74.
- Рахманин Ю. А., 1965. Экспериментальные материалы к гигиеническому нормированию  $\alpha$ - и  $\beta$ -нафтолов в воде. Гигиена и санитария (9): 22—28.
- Сперанский С. В., 1965. О преимуществах использования нарастающего тока при исследовании способности белых мышей к суммации подпороговых импульсов. Фармакология и токсикология (1): 123—124.
- Трофимович Е. М., 1968. Влияние орто- и парааминофенола на органолептические свойства воды, санитарный режим водоемов и организм теплокровных животных. В сб.: Гигиена, Новосибирск: 78—82.
- Тугаринова В. Н., Миклашевский В. Е., 1964. Современные методы функционального исследования печени в санитарно-токсикологическом эксперименте. В сб.: Санитарная охрана водоемов от загрязнения промышленными сточными водами, вып. 6, М.: 301—312.
- Christie T., 1965. The effects of some phenolic compounds upon the growth of two species of phytophthora. New Zeal. Journ. Agric. Rec. 8 (3): 630—635.
- Hrúzik J., Javorský A., Langer J., 1962. K dynamike zmien aktivity transamináz pri toxickom poškodení pečene. Bratisl. lekár. listy, 1(8): 465—475. Реф. РЖ. Химия. Биол. химия, 1962, 24 С 2253.
- Lowry O. H., Rosebrough N. J., Farr A. L., Randall R. J., 1951. Protein measurement with the Folin phenol reagent. J. Biol. Chem. 193 (1): 265—275.
- Schneider W. C., Hogeboom G. H., 1950. Intracellular distribution of enzymes. V. Further studies on the distribution of cytochrome c in rat liver homogenates. J. Biol. Chem. 183 (1): 123—125.

INGEBORG VELDRE, HILJA NORMAN, VADIM SALIJEV, KERSTI SIMM,  
GENNADI UNIGOVSKI

**PROPÜÜLFENOOLI ISOMEERIDE TOKSILISUSE VÖRDLEV HINNANG  
AKUUTSE JA SUBAKUUTSE KATSE ANDMETEL**

*Resümee*

Sedastati, et akuutses katses on orto- ja parapropüülfenool püsisoojastele loomadele peaaegu võrdset toksilised.

Subakuutses katses on parapropüülfenool mõnevõrra toimivam. Paraisomeeri igapäevane peroraalne manustamine põhjustas valgetel rottidel kahe kuu pärast muutusi maksa funktsionaalses seisundis ning hemoglobiini ja erütrotsüütide hulga vähenemise. Ka olid patohistoloogilised muutused tugevamini väljendunud nende katseloomade siseelundites, kellele manustati paraisomeeri. Ortopropüülfenool pärssis peamiselt kilpnäärme tegevust,

*Eesti NSV Tervishoiuministeeriumi  
Eksperimentaalse ja Kliinilise Meditsiini Instituut*

Toimetusse saanud  
3. V 1972

INGEBORG VELDRE, HILJA NORMAN, VADIM SALIYEV, KERSTI SIMM,  
GENNADI UNIGOVSKI

**COMPARATIVE TOXICOLOGICAL CHARACTERISTICS OF THE ISOMERIC  
PROPYLPHENOLS IN ACUTE AND SUBACUTE EXPERIMENT**

*Summary*

The results of an acute intoxication-test proved that the toxicity of ortho- and para-propylphenol to warm-blooded animals was on the same level.

By comparing the results of the subacute experiment carried out with ortho- and para-propylphenol on white rats it turned out that the isomers act in different ways, para-propylphenol being more toxic. Para-isomer caused certain changes in the functional condition of the liver, induced a decrease in the number of erythrocytes and haemoglobin. The pathohistological changes of the internal organs were more expressed in animals, to whom para-propylphenol was introduced. Ortho-propylphenol caused only some single changes in the functional state of the thyroid gland.

*Ministry of Health of the Estonian SSR,  
Institute of Experimental and Clinical Medicine*

Received  
May 3, 1972