

ACȚIUNEA LARGACTILULUI ASUPRA RESPIRAȚIEI TISULARE ȘI ASUPRA CONSUMULUI DE OXIGEN AL ȘOBOLANILOR DE EXPERIENȚĂ

Eperjessy A., Hadnagy Cs., Kiss Á., Csegedi J., și Erdei P.

Se știe că atât hibernarea naturală cât și cea artificială (largactil) și răcirea corpului diminuează într-o măsură importantă intensitatea vitalității organismului. În schimb, o astfel de acțiune pe care ar exercita-o largactilul singur, este discutabilă. *Laborit* (4, 5) este de părere că largactilul nu scade metabolismul bazai, dar cocktailul litic diminuează metabolismul bolnavilor supuși acestui tratament (*Ducuing*, și *Rieunau-Serra*).

Rezultatele experiențelor executate pe șobolani arată că largactilul întrebuițat singur într-o doză de 10—20 mg/kg., scade consumul oxigenului cu 20% (6).

Courvoisier și colaboratorii au observat că largactilul, într-o concentrație de 175—350—700 mg/litru, diminuează consumul de oxigen al scoarței cerebrale de cobai. *Peruzzo* și *Forni*, efectuând experiențe după metoda lui Warburg, au constatat că 2—8—25 gamma de largactil diluat în soluție de tampon de fosfați scade consumul de oxigen al scoarței cerebrale, în același timp însă nu diminuează respirația țesutului renal. Este cert deci că țesutul nervos este foarte sensibil față de acțiunea largactilului. Aceasta s-a dovedit prin multiple experiențe. De ex., dacă injectăm cu anestezic local în ventriculii laterali din creierul unui câine de experiență, largactil într-o doză mică, de ex. 2 mg/kg. greutate corp, vom obține o narcoză profundă, reflexul cornean nu se observă timp de 1—2 ore (*Cathala* și *Pocidalò*).

Față de aceste date, *Decourt* (2) este de părere că largactilul are o acțiune narcotică generală, acționând asupra tuturor celulelor, dar țesutul nervos e mai sensibil decât celelalte celule și țesuturi din organism.

Pentru a contribui la clarificarea acestei probleme, care constituie obiectul unei dezbateri științifice, am efectuat mai multe serii de experiențe.

1. In prima serie a experiențelor noastre am cercetat cu aparatul lui Warburg consumul de oxigen al feliilor de cite 0,2—0,2 gr. țesut hepatic în 3 ml. soluție tampon fosfat (7,38 pH, m/15) CO₂ a fost absorbit în soluție Barcroft. Ne-am servit de ficatul șobolanilor ținuți în inaniție timp de 24 de ore. După sacrificarea animalelor am scos ficatul cât se poate de repede, punându-l pe gheață. Din țesutul hepatic sănătos am tăiat felii de 0,2—0,2 gr. punându-le în vase de respirație. In unele vase de respirație am adăugat largactil în diferite doze. Soluția injectabilă de largactil „Specia” a fost diluată în soluție tampon fosfat, iar în vasele care ne-au servit drept control am adăugat numai soluție de tampon. Consumul de oxigen a fost măsurat la fiecare 20 de minute timp de 100—120 minute.

Tabelul Nr. 1.

* Consumul oxigenului în mm³ în vase de respirație.

| Nr. crt. | Control | | | | | Experiență | | | | | Largactil mg | | |
|----------|---------|----|-----|-----|-----|------------|---|----|-----|-----|--------------|-----|------|
| | n | 20 | 40 | 60 | 80 | 100 | n | 20 | 40 | 60 | | 80 | 100 |
| 1. | 6 | 51 | 101 | 124 | 152 | 174 | 6 | 51 | 105 | 125 | 150 | 170 | 0,15 |
| 2. | 5 | 41 | 87 | 116 | 158 | 172 | 6 | 38 | 73 | 100 | 138 | 165 | 0,30 |
| 3. | 6 | 48 | 63 | 97 | 121 | 141 | 6 | 43 | 57 | 83 | 99 | 119 | 0,30 |
| 4. | 4 | 42 | 88 | 125 | 166 | 184 | 4 | 36 | 69 | 89 | 118 | 133 | 0,70 |
| 5. | 4 | 44 | 79 | 103 | 174 | 260 | 4 | 39 | 84 | 113 | 138 | 155 | 0,70 |
| 6. | 6 | 39 | 88 | 125 | 142 | 169 | 6 | 28 | 61 | 83 | 93 | 112 | 0,70 |
| 7. | 6 | 41 | 82 | 118 | 136 | 161 | 6 | 39 | 72 | 101 | 120 | 141 | 1,0 |
| 8. | 6 | 60 | 88 | 130 | 166 | 188 | 6 | 49 | 75 | 103 | 123 | 141 | 1,0 |
| 9. | 6 | 59 | 108 | 126 | 175 | 213 | 6 | 42 | 71 | 78 | 113 | 151 | 1,5 |

n= numărul experiențelor pe baza cărora s-a calculat valoarea medie.

Din tabelul Nr. 1 putem vedea că 0,15 mg/vas de respirație nu influențează consumul de oxigen al țesutului hepatic. In schimb, 0,3 mg. largactil/vas de respirație diminuează consumul oxigenului precum se poate vedea din fig Nr. 1.

Mărind doza aceasta, inhibarea va fi din ce în ce mai pronunțată, așa

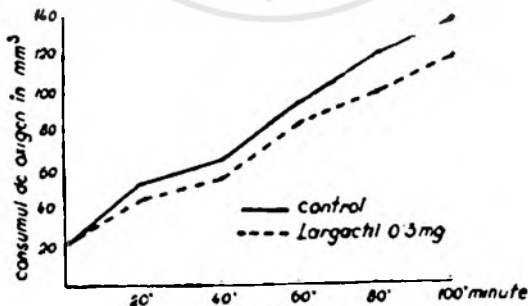


fig 1.

incit 1,5 mg vas de respirație va avea o acțiune netă ceea ce se poate vedea din figura Nr. 2.

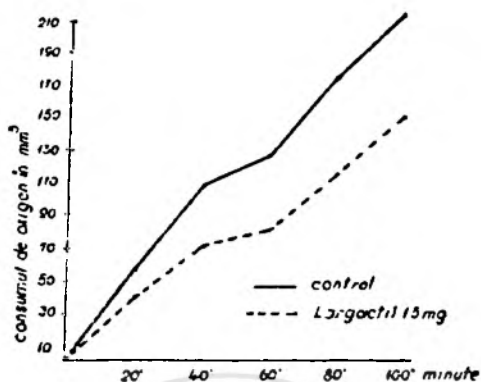


fig. II

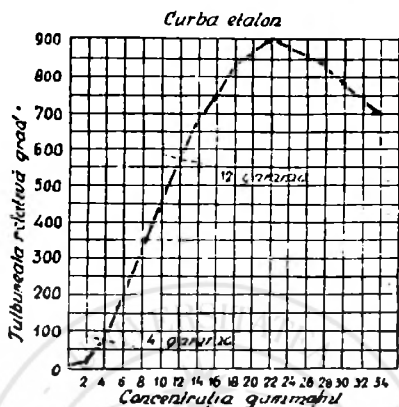
Aceste experiențe pledează pentru faptul că largactilul are în realitate o acțiune narcotică, scade metabolismul și al altor țesuturi nu numai al celui nervos. Pentru a diminua consumul de oxigen al celulelor hepatice este însă nevoie de o cantitate de 300 gama/vas de respirație.

Experiențele în curs de efectuare ale lui Costăchel și Fircă confirmă rezultatele noastre.

2. În seria următoare a experiențelor noastre am examinat in vivo acțiunea largactilului asupra consumului de oxigen al șobolanilor. Am lucrat după metoda lui Bellák-Illyéni. Cu aparatura noastră nu am putut măsura producția de CO₂, deci nu am putut stabili coeficientul respirator ci numai consumul de oxigen. Am efectuat cercetările noastre pe 40 de șobolani, măsurând acțiunea diferitelor doze de largactil. (1—2—3—5—10—20—30—50—75 mg/kg. greutate corp) asupra consumului de oxigen. Am putut stabili că 1—2—3—5—mg/kg. greutate corp nu au nici o acțiune: nu adorm animalul, deci nu-i modifică metabolismul. 8 mg/kg. greutate corp are o slabă acțiune de micșorare a consumului de oxigen, iar dozele de 10—20—30—50 și 75 mg/kg. greutate corp scad cu 10—25% respirația. Lucrând cu doze de 50—75 mg/kg., greutate corp, am putut observa unele diferențe individuale. Unele animale au adormit, metabolismul acestora a scăzut, iar altele au devenit agitate, iar acestea din urmă, consumul de oxigen n-a scăzut ci chiar a crescut. Lucrând însă cu doze terapeutice la șobolani între 10—30 mg/kg. greutate corp, obținem o dominare a consumului de oxigen. Am putut observa deci o concordanță între experiențele executate in vitro și in vivo.

3. Am continuat experiențele noastre cu determinarea producției de CO₂, pentru a putea calcula coeficientul de respirație. Am executat aceste experiențe in vitro cu aparatul Warburg. Am folosit vase speciale de respirație, descrise mai amănunțit în alte lucrări ale noastre (1, 3) determinând consumul de oxigen și producția de CO₂ într-un timp de 45 de minute; am calculat coeficientul de respirație așa cum reiese din tabelul Nr. II.

Din curba etalon reiese că în intervalul 4—12 gamma la ml concentrația este proporțională cu turbureala relativă. În cazul acestor valori unei turbureli de 500° îi corespunde 8,3 gamma/ml morfină anhidră și în consecință fiecare grad de turbureală corespunde cu 0,0166 gamma/ml morfină anhidră.



Formula pentru calcularea concentrației (C) :
 $C = 4,5 + (R - 100) \cdot 0,0166$, unde R = turbureală relativă.

Tehnica analizei

1. Se determină *conținutul aproximativ* de morfină în proba de analizat în felul următor : 1,0000 g pulbere de capsulă de mac într-un strat mai gros se introduce într-un balon cotat de 100 ml, se adaugă 95 ml apă distilată și 0,2 ml acid azotic 10%. Se agită de câteva ori în decurs de 1—2 ore, se adaugă 3 ml acetat bazic de plumb se completează la semn și se filtrează prin hîrtie. Se adaugă filtratului 2 ml soluție de sulfat de sodiu 10%, pînă la precipitarea completă a plumbului. Se filtrează prin hîrtie (filtrat A). Restul filtratului A se păstrează.

5 ml ai filtratului se amestecă într-o eprubetă cu 0,5 ml acid azotic 10%, 0,2 ml soluție de molibdat de amoniu (Reactiv Mo). După un repaus de 30 minute se filtrează precipitatul alb (alcaloizii secundari) filtrarea se repetă cît e necesar. Filtratului i se adaugă 0,8 ml soluție saturată la rece de vanadat de amoniu (Reactiv V), se lasă în repaus timp de 1 oră la temperatura de 18—22°C și se determină conținutul de morfină nefelometric prin comparație cu o serie de preparate, în felul următor :

Se dizolvă 0,0500 g clorhidrat de morfină în 1000 ml apă, cu un conținut de 1 ml acid azotic 10%. Soluția filtrată conține 50 gamma clorhidrat de morfină în fiecare ml. Din această soluție de bază care se poate păstra în sticle de culoare brună la loc răcoros timp de 4—6 săptămîni, se pipetează în eprubete de calitate identică cîte 1, 2, 3, 4, 5 ml și se completează la 5 ml cu apă. Se adaugă la fiecare eprubetă 0,5 ml acid azotic 10% și 0,2 ml reactiv Mo. După agitare se lasă în repaus timp de 30 minute. Se adaugă 0,8 ml reactiv V și se agită. Eprubetele conțin 10, 20, 30, 40, 50

gamma clorhidrat de morfină la ml. După un repaus de 1 oră cu aceste soluții se compară turbureala probei de analizat și se calculează conținutul în morfină cu ajutorul tabelului Nr. 2.

Tabelul Nr. 2.

| | înainte de l | Numărul eprubetelor | | | | | | | | |
|--|----------------------|---------------------|------|------|------|------|------|------|------|------|
| | | 1 | 1-2 | 2 | 2-3 | 3 | 3-4 | 4 | 4-5 | 5 |
| Conținutul de morfină al capsulei de mac în% | Mai puțin decît 10. | 10 | 15 | 20 | 25 | 30 | 35 | 40 | 45 | 50 |
| Conținutul morfinei de analizat în gamma/ml. | Mai puțin decît 0,1. | 0,10 | 0,15 | 0,20 | 0,25 | 0,30 | 0,35 | 0,40 | 0,45 | 0,50 |

În cazul ca turbureala probei de analizat este mai mare în comparație cu eprubeta Nr. 5, proba este diluată cu un volum egal de apă și se determină din nou turbureala. Valoarea obținută se înmulțește cu 2, apoi se calculează conținutul în morfină anhidră prin multiplicare cu indicele 0,758.

2. *Determinarea definitivă* se face cu restul filtratului A din care se lucrează cu o cantitate care să conțină aproximativ 1000 gamma morfină anhidră. Cunoscînd, datorită constatărilor anterioare conținutul aproximativ de morfină al probei, cantitatea cu care se va lucra poate fi stabilită din tabelul Nr. 3. În cazul în care concentrația morfinei a fost sub 0,05% se vor lua pentru determinare 2 g capsule, iar dacă a fost între 0,051 și 0,100% cantitatea inițială va fi de 1,3 g pulbere de capsule.

Tabelul Nr. 3.

| Cantitatea aproximată a morfinei % | Se va lua soluția făcută din 1 g capsule la 100 ml. | Cantitatea coresp. pt. cantitatea pulberii de mac g | Cantitatea aproximată a morfinei % | Se va lua soluția făcută din 1 g capsule la 100 ml. | Cantitatea coresp. pt. cantitatea pulberii de mac g |
|------------------------------------|---|---|------------------------------------|---|---|
| 0,000—0,050 | — | 2,00 | 0,61—0,80 | 14 | 0,14 |
| 0,051—0,100 | — | 1,30 | 0,81—1,00 | 11 | 0,11 |
| 0,101—0,150 | 80 | 0,80 | 1,01—1,20 | 9 | 0,09 |
| 0,151—0,200 | 57 | 0,57 | 1,21—1,40 | 8 | 0,08 |
| 0,210—0,300 | 40 | 0,40 | 1,41—1,60 | 7 | 0,07 |
| 0,310—0,400 | 28 | 0,28 | 1,61—1,80 | 6 | 0,06 |
| 0,410—0,500 | 22 | 0,22 | 1,81—2,00 | 5 | 0,05 |
| 0,510—0,600 | 18 | 0,18 | 2,01—2,20 | 5 | 0,05 |

Volumul respectiv de filtrat A se completează la 100 ml din care se scot 35 ml, se adaugă 5 ml acid nitric 10% și 2 ml reactiv Mo. După un repaus de 30 de minute se filtrează (filtrarea se repetă dacă este nece-

sar). După ce s-au adăugat 8 ml reactiv V, se determină turbureala relativă după un repaus de 1 oră.

Calcularea rezultatelor după curba etalon

Conținutul în morfină al capsulei de mac cîntărit se calculează astfel:

$$X = \frac{c \times 50 \times 100}{35 \times 1.003.000} = \frac{c}{7.00} \text{ g unde } C = \text{concentrația citită pe curba etalon (gamma) ml.}$$

Conținutul de morfină al capsulei de mac în % se poate obține din următoarea relație a: $X=100 : Y$

$$Y = \frac{100 \times X}{a} = \frac{100 \times c}{7000 \times a} = \frac{c}{70 \times a} \%$$

unde a este egal cu cantitatea capsulei cîntărită după tabel.

Calcularea rezultatelor după turbureala relativă

$$X = \frac{4.5 + (R-100) \times 0,0166}{7000} \text{ g, } Y = \frac{4.5 + (R-100) \times 0,0166}{70 \times a} \%$$

unde R =turbureala relativă.

a cu cantitatea capsulei cîntărită după tabel în g

Aparatură și reactivi

1. Fotometru Zeiss-Pulfrich cu accesorii pentru nefelometrie, discul Nr. 4 și filtrul L 2.
2. Două serii de eprubete de aceeași calitate cu un diametru de 16 mm.
3. Acid azotic 10%.
4. Acetat bazic de plumb (F. R. VII).
5. Soluție de sulfat de sodiu 10%.
6. Soluție de molibdat de amoniu (reactiv V).

7. Soluție saturată la rece de vanadat de amoniu (reactiv V).

Exprimăm recunoștința și mulțumirile noastre directorului fabricii de hirtie fotosensibilă din Tg Mureș, ing. Dr. Horváth Attila, pentru aparatura pe care ne-a pus-o la dispoziție.

Rezumat

Metoda elaborată de autori este adecvată în primul rînd pentru determinări în serii. Metoda este simplă, ea poate fi efectuată și de către neșpecialiști. Necesită substanță și reactivi puțini; într-o zi de muncă (8 ore) pot fi efectuate cu ușurință 6—12 determinări. Determinările făcute pentru ameliorarea macului au dat rezultate excelente.

Metoda fotometrică necesită de asemenea puțin material dar cu ceva mai mulți reactivi. Ea prezintă dezavantajul că reclamă un dispozitiv costisitor, în schimb are avantajul că rezultatele obținute sînt mai precise. *Sosită la redacție: la 15 iunie 1957.*

Bibliografie :

W. Deckert: Naunyn—Schmiedebergs Arch. exp. Path. Pharmacol. 180. 656 (1936); W. Deckert: Ztschr. Analyt. Chem. 112, 241, (1938); M. Schirm: Deutsch. Apoth. Ztg. 55, 106 (1940); E. Kopp: Magyar Gyógyszerésztudományi Értesítő, 20, 365, (1944); Kopp—Csedő: Micrometodă pentru determinarea morfinei în opiu. (Conf. ținută la S. Șt. M. din Tg.-Mureș la 29. III. 1956)

НЕФЕЛОМЕТРИЧЕСКОЕ ОПРЕДЕЛЕНИЕ СОДЕРЖАНИЯ МОРФИЯ В МАКОВЫХ ГОЛОВКАХ

Е. Копп, К. Чедё, Е. Котилла-Рац

Один из авторов настоящей статьи опубликовал в 1944 г. нефелометрический метод, усовершенствованный благодаря его приспособлению к фотометру Пульфриха. Описание нового метода является предметом настоящего сообщения. Метод основан на следующих принципах:

Из 1 г порошка маковой головки готовится водный экстракт. Из экстракта удаляются балластные вещества, затем экстракт подкисляется и обрабатывается раствором молибдата аммония, осаждающим вторичные алкалоиды. К фильтрату добавляется раствор ванадата аммония осаждающего морфин в комплексной форме. Образующаяся муть определяется фотометром Пульфриха или окулонепелометрией.

Реакция является весьма чувствительной и специфичной для морфия. При необходимости в более точных результатах применяется фотометр Пульфриха. Точность достигает 0,05% в первом и 0,01% во втором случае.

LA DÉTERMINATION NÉPHELOMETRIQUE DU CONTENU EN MORPHINE DES CAPSULES DE PAVOT

E. Kopp, K. Csedő, E. Rácz Kotilla

Un des auteurs a publié en 1944 une microméthode néphélométrique, perfectionnée ultérieurement par l'adaptation au photomètre Pulfrich. La description de la nouvelle méthode constitue l'objet de cette communication. Le principe de la méthode est le suivant:

On prépare un extrait aqueux d'un gramme de capsule de pavot. On le débarrasse des substances de ballast, on acidule et on traite par une solution de molybdate d'ammonium, qui précipite les alcaloïdes secondaires. On ajoute au filtrat une solution de vanadate d'ammonium qui précipite la morphine sous forme de complexe. Le trouble qui en résulte est déterminé à l'aide du photomètre de Pulfrich ou par oculo-néphélométrie.

La réaction est très sensible et spécifique à la morphine. Si l'on désire des résultats plus précis, on utilisera le photomètre de Pulfrich. La précision atteint 0,05% dans le premier cas et 0,01% dans le second.