

*Izvorni znanstveni rad*  
UDK 615.279

OKSIMI HI—6 I PAM—Cl: UPOREDNA  
FARMAKOKINETIČKA ISPITIVANJA POSLE  
INTRAMUSKULARNOG I ORALNOG  
APLICIRANJA PACOVIMA

M. MAKSIMOVIĆ

*Vojnotehnički institut, Beograd*

*(Primitljeno 2. IV 1979)*

Nivoi HI-6 u plazmi, posle intramuskularnog davanja, bili su gotovo dva puta veći od odgovarajućih nivoa PAM-Cl. Sa povećanjem doze HI-6 produžava se i vreme potrebno za postizanje maksimalne koncentracije oksima u plazmi pacova, dok kod PAM-Cl ova pojava nije zapažena. Obim distribucije PAM-Cl, posle i. m. davanja, jeste 4 do 5 puta veći od obima distribucije HI-6, što sugeriše da PAM-Cl mnogo brže difunduje kroz membrane i tkiva od HI-6. Primenom HI-6 10 mg/kg, i. m., svakih 60 minuta, moguće je duže vreme održavati terapijsku koncentraciju oksima u krvi pacova. Pri oralnom davanju HI-6 i PAM-Cl biološka poluvremena su produžena, ali su maksimalne koncentracije u krvi vrlo niske. Oralno primenjen HI-6 se brže eliminiše iz krvi pacova od PAM-Cl.

Nedavno je objavljeno da se biskvaternerni piridinijski monoksim HI-6 ([2-hidroksiiminometilpiridinij)-1-metil](4-karbamoilpiridinij)-1-metil]-etar dihlorid) pokazao kao veoma efikasan antidot pri eksperimentalnom trovanju pacova somanom (1, 2, 3). Nađeno je da HI-6 efikasno štiti prečišćenu serumsku holinesterazu od inhibicije somanom (4). Prema nalazima *Erdmanna* (5) i *Schoeneu* (6) karboksamidska grupa u molekuli oksima, koju ima i HI-6, odgovorna je za brzu degradaciju antiholinesteraza sa pinakoliloksi-grupom, što može biti od praktičnog značaja za antidotsku terapiju trovanja somanom.

Do danas je samo mali broj oksima (PAM-Cl, P<sub>2</sub>S, LüH6 i delimično TMB-4) proučavan radi definisanja kinetičkih parametara resorpcije, distribucije i eliminacije, sa tačnošću neophodnom za farmakokinetički model (7—11). Sa nekim oksimima (na primer, LüH6) posle intramuskularnog davanja, postignuta je u krvi visoka koncentracija, dok su kod peroralnog davanja rezultati bili znatno slabiji (10, 12). Verovatno LüH6 sporo prolazi kroz membrane (ili u tkivo), dok PAM-Cl i P<sub>2</sub>S idu brže. Razlozi nisu sasvim jasni.

S obzirom na okolnost da je nivo oksima u krvi važan faktor u terapiji trovanja organofosornim jedinjenjima, smatrali smo da bi bilo interesantno detaljnije ispitati farmakokinetiku HI-6 u pacova, jer su o tome do sada objavljeni podaci dosta šturi (1). Upoređivanjem HI-6 i PAM-Cl u odnosu na brzinu resorpcije, nivo oksima u krvi i njihovo izlučivanje mokraćom u funkciji doze i vremena, obim distribucije, vreme minimalne terapijske i maksimalne koncentracije oksima u krvi, dozni interval i biološko poluvreme pri intramuskularnoj i peroralnoj aplikaciji, mogao bi se dobiti bolji uvid u farmakokinetiku HI-6 i primenom farmakokinetičkih principa optimizirati terapija.

#### MATERIJAL I METODE

*Životinje.* Upotrebljeni su neanestetisani beli pacovi ženskog pola, težine 190 do 210 grama.

*Oksimi.* HI-6 · 1H<sub>2</sub>O, t. t. 141—143° C i čistoće preko 99,8%, sintetisan je u Zavodu za organsku kemiju i biokemiju Prirodoslovno-matematičkog fakulteta u Zagrebu (4).

PAM-Cl je sintetisan u Vojnotehničkom institutu u Beogradu.

*Doze oksima i načini primene.* Oksimi su životinjama davani intramuskularno i oralno. Pri intramuskularnom davanju doze HI-6 bile su 10, 20, 30 i 50 mg/kg, a PAM-Cl 20 i 50 mg/kg u 0,9-postotnom NaCl. Pri oralnom davanju, životinjama koje su gladovale 24 časa, davano je želudačnom sondom po 200 mg/kg vodenog rastvora jednog ili drugog oksima u volumenu 1 ml/kg.

Kod višekratne i. m. primene oksima upotrebljene su doze 10 mg/kg HI-6 i 50 mg/kg PAM-Cl. HI-6 je davan svakih 60, a PAM-Cl svakih 70 minuta.

*Određivanje koncentracije oksima u plazmi i mokraći.* U određenim vremenskim intervalima, posle davanja oksima (vidi slike), životinje su žrtvovane i u hepariniziranu epruvetu uzeta krv za analizu oksima. Posle odvajanja eritrocita centrifugiranjem, jedan mililitar plazme razblažen je sa 3,8 ml destilisane vode i obrađen ranije opisanim postupkom

(13). Apsorbancije oksima u baznom rastvoru merene su u UV delu spektra, za PAM-Cl na 335, a za HI-6 na 355 nanometara. Sva merenja urađena su na spektrofotometru Beckman DK—2A, sa vodonikovom lampom kao izvorom svetlosti.

Pri određivanju oksima u mokraći, mokraća je razblažena 10 puta i 0,1 ml uzet za analizu.

Sve tačke u dijagramima i vrednosti u tabelama predstavljaju srednje vrednosti od 4 do 10 životinja.

*Kinetički parametri.* Na osnovu dijagrama koncentracije oksima u plazmi u funkciji vremena izračunavana je konstanta brzine eliminacije po jednačini prvog reda (14):

$$C_t = C_0 e^{-kt}$$

u kojoj je  $C_t$  koncentracija oksima u plazmi u vremenu  $t$ ,  $C_0$  koncentracija u nultom vremenu, a  $k$  je konstanta brzine eliminacije oksima iz krvi. Iz konstante  $k$  je izračunavano biološko poluvreme po jednačini:

$$t/2 = 0,693/k.$$

Matematičko konstruisanje krive pri višekratnoj primeni oksima vrši se prema jednačini (15):

$$\log r = -kT/2,303$$

u kojoj je  $r = C_t/C_0$ , što znači da je  $r$  onaj deo koncentracije oksima u nultom vremenu koji nestaje iz krvi pre nego što se da naredna doza u vremenu  $T$ , kada u krvi postoji još terapijska koncentracija oksima od 4 mikrograma/ml. Za HI—6 ovi su parametri bili:  $T = 60$ ,  $r = 0,215$ ; a za PAM-Cl:  $T = 70$ ,  $r = 0,1108$ . Nove minimalne i maksimalne koncentracije, neposredno pre i 5 minuta posle davanja ponovljenih doza oksima izračunate su iz jednačina:

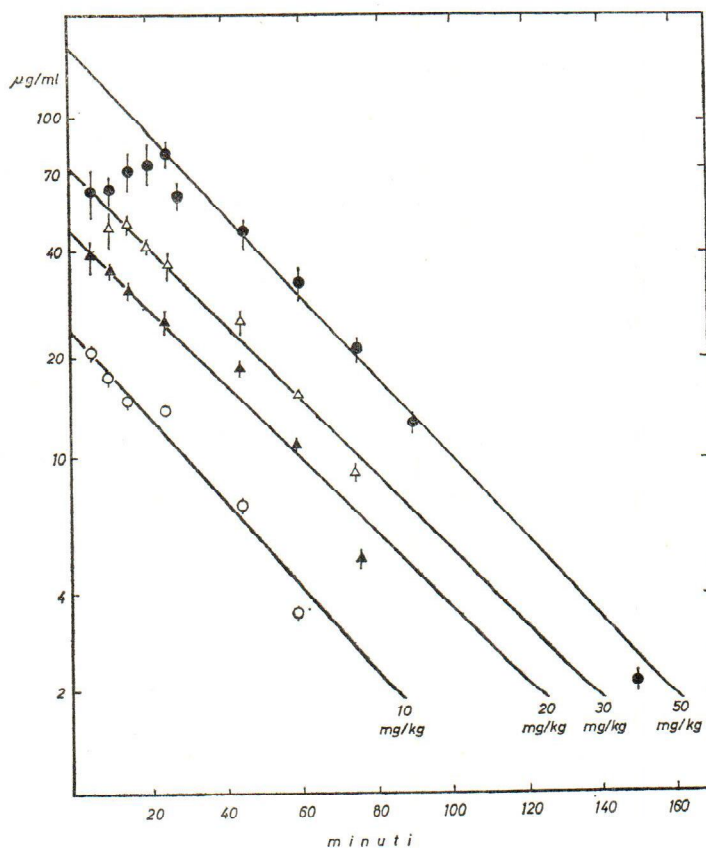
$$C_{\min} = C_0 r \quad \text{i} \quad C_{\max} = C_0 + C_{\min}$$

## REZULTATI

*Nivo oksima u krvi pacova posle intramuskularne primene.* Promene u koncentraciji oksima u plazmi, u funkciji vremena, za oba oksima, prikazane su na sl. 1. i 2.

Pri primeni obeju doza PAM-Cl (20 i 50 mg/kg) i pri primeni manjih doza HI-6 (10 i 20 mg/kg) brže se postiže maksimalan nivo oksima u





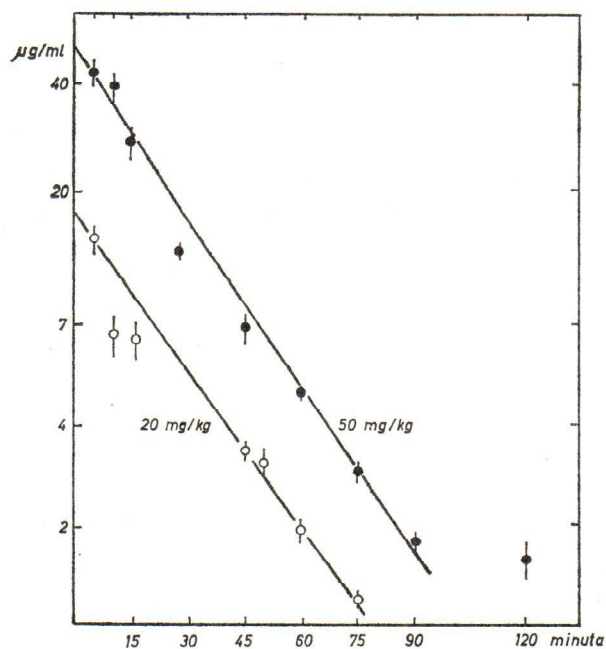
Sl. 1. Eksperimentalne koncentracije HI-6 u plazmi pacova posle i. m. primene i izračunate krive eliminacije

plazmi. Međutim, primenom većih doza HI-6 (30 i 50 mg/kg) to ide sporije. U tablici 1. prikazane su maksimalne koncentracije HI-6 i vreme kada se one postižu posle različitih doza oksima.

Iz ovih podataka na računaru je dobijena jednačina pravca (sl. 3) sa veoma dobrom korelacijom (0,942). Na osnovu nje može se predvideti nivo oksima u krvi pacova posle svake poznate doze oksima.

Svakako da se posle brze resorpcije i postizanja visokih koncentracija oksima u krvi može očekivati i njegova brza eliminacija mokraćom. Na primeru doze od 20 mg/kg HI-6 pokazan je stepen eliminacije ovog antidota mokraćom (sl. 4).



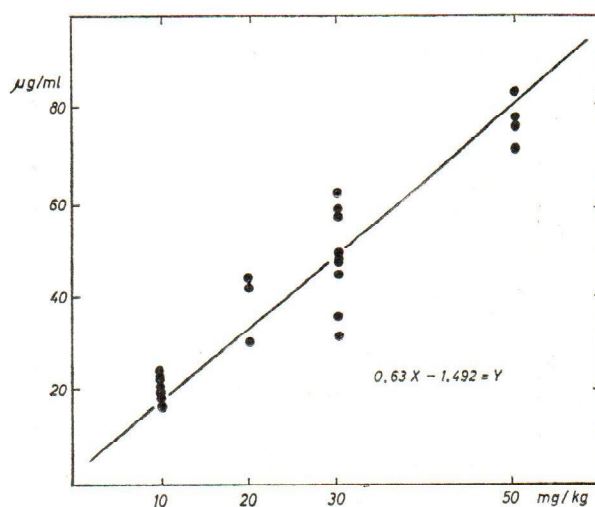


Sl. 2. Koncentracije PAM—Cl u plazmi pacova posle i. m. primene i izračunate krive eliminacije

Tablica 1.

Uticaj doze HI—6 na maksimalnu koncentraciju oksima u plazmi pacova

Doza HI—6 (mg/kg)	Maksimalna koncentracija u plazmi ( $\mu\text{g/ml} \pm \text{S. E.}$ )	Vreme postizanja maksimalne koncentracije (minuti)
10	$20,22 \pm 0,9$	5
20	$39,10 \pm 4,3$	5
30	$48,50 \pm 3,4$	15
50	$78,60 \pm 3,3$	25



Sl. 3. Odnos doza i maksimalnih koncentracija HI-6 u plazmi pacova (N = 23)

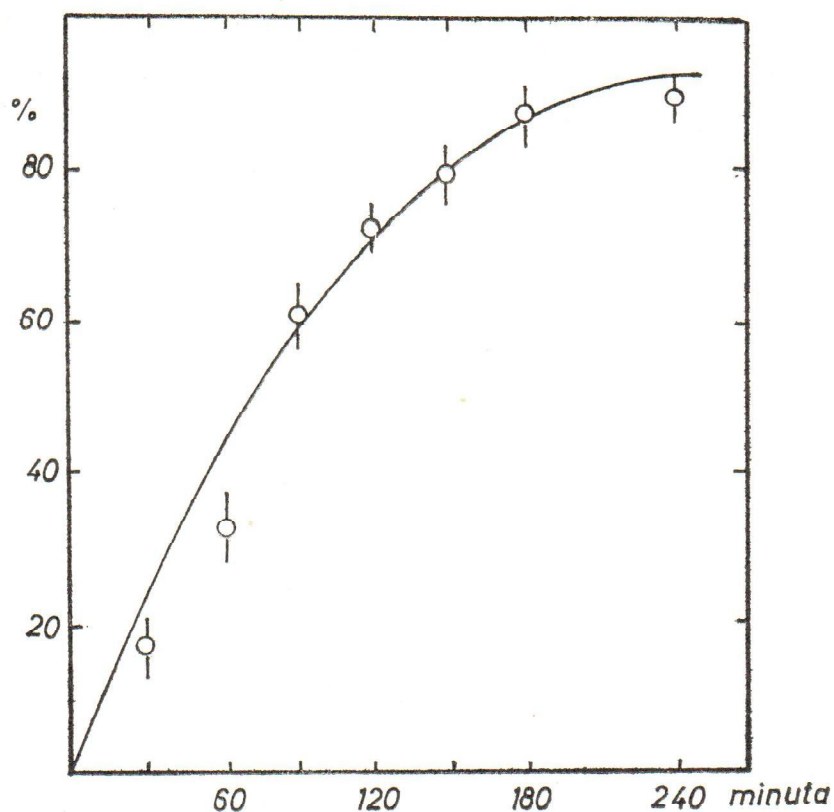
Najveća koncentracija u mokraći (4,8 mg/ml) nalazi se jedan čas posle davanja oksima, a zatim dolazi do pada, da bi posle 4 časa oksima u mokraći bilo svega oko 0,5 mg/ml.

U tablici 2. dati su farmakokinetički parametri obaju primenjenih oksima i njihova ekskrecija mokraćom.

Tablica 2.

Farmakokinetičke konstante i ekskrecija mokraćom oksima posle intramuskularne aplikacije HI-6 i PAM-Cl pacovima

Oksim	Doza mg/kg	Konst. brzine eliminacije $k \cdot 10^{-2} \text{ min}^{-1}$	Biološko poluvreme ( $t/2$ min)	Procenat izlučenog oksima		
				za 1 h	za 2 h	za 3 h
HI-6	10	2,8	24,75			
	20	2,24	30,94	32,1	73,1	93,0
	30	2,63	26,35			
	50	2,76	25,11	29,2	66,5	84,7
PAM-Cl	20	3,715	18,65	47,1	77,2	94,9
	50	3,84	18,05	46,5	78,9	89,9

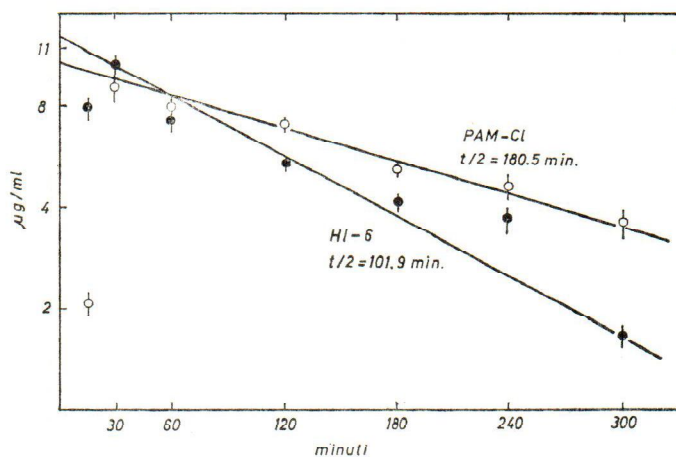


Sl. 4. Kriva ekskrecije HI-6 urinom u pacova posle doze od 20 mg/kg, i. m.

Iz tablice se vidi da konstanta brzine eliminacije, a time i biološko poluvreme, ne zavise od primenjene doze oksima. Srednje poluvreme eliminacije za HI-6 je 26,8 minuta, a za PAM-Cl iznosi 18,35 minuta, što znači da PAM-Cl brže prelazi iz krvi pacova u mokraću. Posle jednog časa se gotovo 50 procenata PAM-Cl nalazi van organizma životinje, prema 30 procenata HI-6, a posle 2 ili 3 časa količine izlučenih oksima se gotovo izjednačuju. Znatno sporije izlučivanje HI-6 posle injiciranja najveće doze može biti i posledica njegove sporije resorpcije, pošto se maksimalan nivo oksima u plazmi pacova postiže tek 25 minuta od ubrizgavanja. Po svoj prilici, na mestu apliciranja, zbog visoke koncentracije oksima u injekcionom rastvoru, dolazi do sporije resorpcije HI-6.



*Nivoi HI-6 i PAM-Cl u krvi pacova posle oralnog davanja.* Očigledna prednost HI-6 pred PAM-Cl, zabeležena pri i. m. primeni, nije zapažena i pri njihovoj peroralnoj aplikaciji. Kod ovog načina davanja tek doze od 200 mg/kg oba oksima daju terapijske koncentracije antidota u plazmi pacova (sl. 5).



Sl. 5. Koncentracije HI-6 i PAM-Cl u plazmi pacova i izračunate krive eliminacije oksima posle oralnog davanja 200 mg/kg

Pri tom, PAM-Cl nešto sporije prelazi u krv, pa se 15 minuta posle davanja u plazmi, nalazi ovog oksima svega oko 2 mikrograma/ml. HI-6 se brže resorbuje od PAM-Cl, tako da se u plazmi, 15 minuta posle davanja, nalazi oko 8 mikrograma oksima/ml. Maksimalne koncentracije oksima u plazmi su slične: za PAM-Cl oko 9, a za HI-6 11 mikrograma/ml i postignute su kod oba antidota 30 minuta posle aplikacije. Međutim, biološko poluvreme je u PAM-Cl znatno produženo i iznosi oko 180 minuta, dok je u HI-6 nešto više od 100 minuta.

*Ponovljene doze HI-6 i PAM-Cl.* Iz dijagrama nivoa oksima u plazmi pacova u funkciji vremena (sl. 1. i 2) može se izračunati koliko se najduže u plazmi zadržava terapijska koncentracija oksima od 4 mikrograma/ml (16). U tablici 3. dati su ovi podaci za oba primenjena oksima.

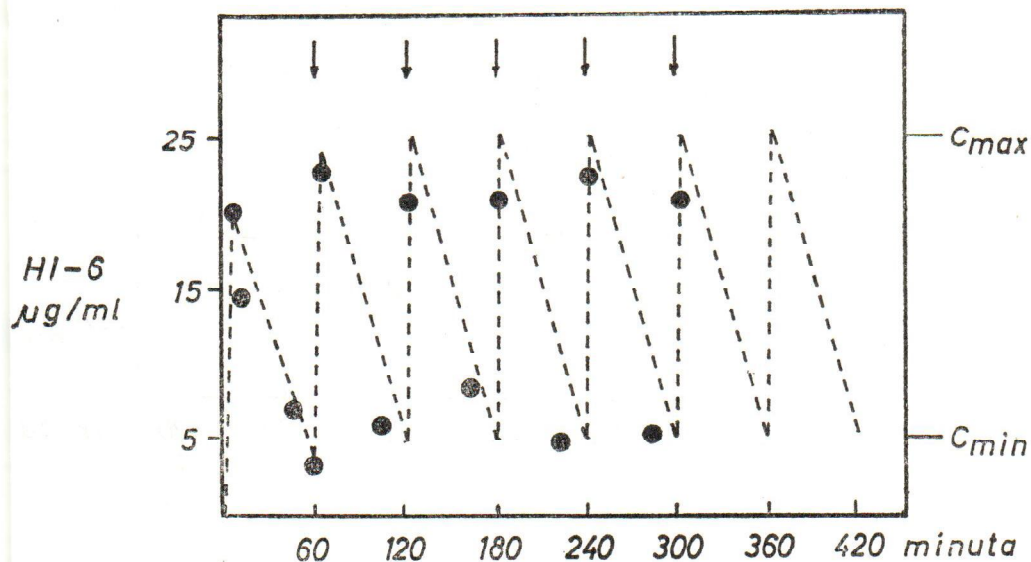
Iz tablice se vidi da bi za održavanje terapijske koncentracije oksima u plazmi pacova trebalo, na primer, svakih 60 minuta ponavljati dozu HI-6 od 10 mg/kg, ili svakih 70 minuta dozu PAM-Cl od 50 mg/kg. Na osnovu ovih podataka izračunati su matematički modeli kinetike ponovljenih doza obaju oksima (sl. 6).

Tablica 3.

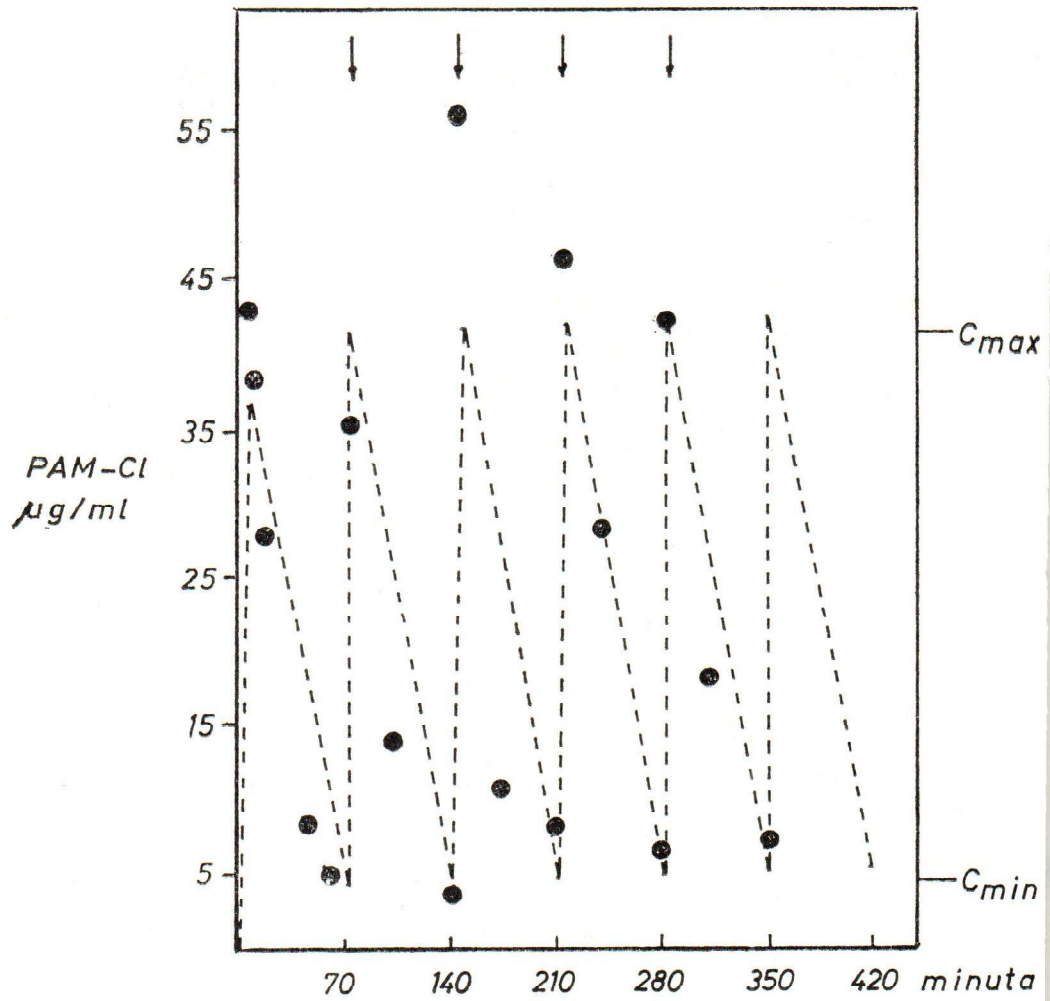
Maksimalno trajanje koncentracije oksima od 4  $\mu\text{g/ml}$  plazme (predviđene kao terapijski nivo) posle i. m. davanja HI-6 i PAM-Cl

Doza oksima mg/kg	HI-6 (minuta)	PAM-Cl (minuta)
10	63,5	
20	103	39,5
30	119	
50	133,5	69

Iz modela se vidi da bi se petostrukim ponavljanjem doze HI-6 od 10 mg/kg mogla održavati terapijska koncentracija oksima u krvi pacova duže od 5 časova. Model je proveren u eksperimentu na životinjama i dobijeni rezultati veoma malo odstupaju od izračunatih vrednosti. Sličan model, koji je izračunat i proveren za PAM-Cl, pokazuje da je potrebno dati znatno veću količinu ovog oksima (5 puta po 50 mg/kg) da bi se više od pet časova održala bar terapijska koncentracija PAM-Cl u plazmi pacova.



Sl. 6. Krive koje odgovaraju nivou oksima u plazmi pacova posle ponovljenog i. m. davanja 10 mg/kg HI-6 svakih 60, ili 50 mg/kg PAM-Cl svakih 70 minuta



Sl. 7. Sličan model kao na sl. 6, izračunat i proveren za PAM-Cl



#### DISKUSIJA

Pri intramuskularnom davanju istih doza obaju oksima, maksimalna koncentracija HI-6 u krvi pacova veća je za oko 50 procenata nego koncentracija PAM-Cl, što ukazuje na znatno manji obim distribucije HI-6. Ako obim distribucije, najjednostavnije, predstavimo odnosom date doze ( $X_0$ ) i koncentracije oksima u plazmi u nultom vremenu ( $C_0$ ), onda dobijamo (14):

$$Vd = X_0/C_0.$$

Prema ovoj jednačini, za istu dozu od, na primer, 50 mg/kg dobijamo da je obim distribucije HI-6 65,4 a PAM-Cl 232,6, odnosno obim distribucije HI-6 (pri i. m. primeni) je gotovo četiri puta manji od obima distribucije PAM-Cl. Ovi nalazi sugeriraju da je difuzija HI-6 u tkiva i ćelije mnogo sporija, što je već, u odnosu na PAM-Cl, zapaženo i kod LüH6 (10). Razlozi za ovu sporiju difuziju mogu se, među ostalim, potražiti i u različitoj veličini molekule i drugačijem naboju kod ova dva oksima.

Eksperimenti iste vrste na pacovima sa TMB-4 i LüH6 (17) i HS-6 (18) pokazuju da farmakokinetika bispiridinijskih monoksima i dioksima u pacova nije uvek ista i da zaključci koji važe za jedan oksim ne moraju važiti i za druge. Dok je biološko poluvreme ( $t/2$ ) HI-6 posle intramuskularnog davanja pacovu (26,8 minuta) gotovo identično biološkom poluvremenu LüH6 (28,36 minuta) i nešto malo kraće od  $t/2$  TMB-4 (33,7 minuta), ono je znatno duže od  $t/2$  svog izomera HS-6 (11 minuta). U eksperimentima sa LüH6 i TMB-4 (17) nađeno je da je maksimalna koncentracija ovih oksima u celokupnoj krvi (30 i 32 mikrograma/ml) postignuta 10 minuta posle davanja doze od 25 mg/kg, i. m. Vreme i koncentracija (preračunata samo na plazmu) u saglasnosti su sa rezultatima dobijenim sa HI-6, pa se može zaključiti da HI-6, TMB-4 i LüH6 imaju približno isti obim distribucije. Gotovo identična biološka poluvremena kod sve četiri doze HI-6 sugerišu kinetiku eliminacije ovog oksima po jednačini prvog reda. Znatno kraće biološko poluvreme PAM-Cl potvrđuje opravdanost ponavljanja doza ovog oksima svaki sat (10). Naši rezultati o izlučivanju PAM-Cl mračom u saglasnosti su sa rezultatima Jagera i sar. (19) i Calesnicka i sar. (20). Dok je kod PAM-Cl vjerovatno reč o aktivnoj sekreciji preko bubrega, moguće je da se HI-6, slično LüH6 (21), reapsorbuje pasivnim ili aktivnim mehanizmom.

Zbog brže eliminacije peroralni put se manje preporučuje za davanje HI-6. Moguće je da se zbog malog obima distribucije i slabe difuzije u tkivu i ćelije najveći deo peroralno unetog HI-6 eliminiše nepromenjen iz organizma preko fecesa.

## ZAKLJUČAK

Pri intramuskularnom davanju pacovima istih doza HI-6 i PAM-Cl, bispiridinijski monoksim HI-6 ima znatno manji obim distribucije, duže biološko poluvreme i daje više koncentracije oksima u krvi od PAM-Cl. S obzirom na njegovu mnogo veću efikasnost u terapiji trovanja organskofosfornim jedinjenjima i na manju toksičnost, HI-6 primenjen i. m., poseduje svojstva koja ga svrstavaju u potencijalne antidote kod trovanja visokotoksičnim organskofosfornim otrovima.

Zbog slabije resorpcije iz gastrointestinalnog trakta oralno davanje HI-6 se manje preporučuje od parenteralnog davanja.

## ZAHVALA

Zahvaljujem se farmaceutskom tehničaru Smilji Jordović na uspešnoj tehničkoj saradnji.

## Literatura

1. Kepner, L. A., Wolthuis, O. L.: Eur. J. Pharmacol., 48 (1978) 377.
2. Wolthuis, O. L., Kepner, L. A.: Eur. J. Pharmacol., 49 (1978) 415.
3. Wilhelm, K., Fajdetić, A., Deljac, V., Binenfeld, Z.: Arh. hig. rada toksikol. 30 (1979) 147.
4. Binenfeld, Z., Deljac, V., Maksimović, M., Markov, V., Rakin, D.: Zbornik Vojnomedicinske akademije, 2 (1978) 15.
5. Erdmann, V. D.: Naunyn-Schmiedebergs Arch. Pharmakol. Exp. Pathol., 263 (1969) 61.
6. Schoene, K.: Biochem. Pharmacol., 22 (1973) 2997.
7. Vojvodić, V. B., Maksimović, M.: Europ. J. clin. Pharmacol., 5 (1972) 58.
8. Sidell, F. R., Groff, W. A., Ellin, R. I.: J. Pharm. Sci., 58 (1969) 1093.
9. Vojvodić, V.: Pharmacol. Clin., 2 (1970) 216.
10. Sidell, F. R., Groff, W. A.: J. Pharm. Sci., 60 (1971) 1224.
11. Sidell, F. R., Groff, W. A., Kaminskis, A.: J. Pharm. Sci., 61 (1972) 1136.
12. Simon, G. A., Tirosh, M. S., Edery, H.: Arch. Toxicol., 36 (1976) 83.
13. Maksimović, M., Vojvodić, V.: Arh. hig. rada toksikol., 20 (1969) 173.
14. Gibaldi, M., Perrier, D.: Pharmacokinetics, Marcel Dekker, Inc., New York, 1975.
15. Martin, A. N.: Physical Pharmacy, Lea and Febiger, Philadelphia, 1962.
16. Sundwall, A.: Biochem. Pharmacol., 5 (1960) 225.
17. Vojvodić, V., Bošković, B.: Medical Protection against Chemical Warfare Agents, SIPRI, Stockholm, 1976.
18. Wolthuis, O. L., Clason-Van der Wiel, H. J., Visser, R. P. L. S.: Eur. J. Pharmacol., 39 (1976) 417.
19. Jager, B. V., Stagg, G. N., Green, N., Jager, L.: Bull. Johns Hopkins Hosp., 102 (1958) 225.
20. Catesnick, B., Christensen, J. A., Richter, M.: Arch. Environ. Health, 15 (1967) 599.
21. Sidell, F. R., Groff, W. A., Kaminskis, A.: J. Pharm. Sci., 61 (1972) 1765.



*Summary*

OXIMES HI-6 AND PAM-Cl: COMPARATIVE PHARMACOKINETIC STUDIES AFTER INTRAMUSCULAR AND ORAL ADMINISTRATION TO THE RAT

The blood levels of HI-6 after intramuscular administration were found to be dose related. Doses of 10, 20, 30 and 50 mg per kg of HI-6 produced plasma concentrations of 20.2, 39.1, 48.5 and 78.6  $\mu\text{g}$  per ml, respectively. PAM-Cl in doses of 20 and 50 mg per kg produced respective plasma concentrations of 17.1 and 42.7  $\mu\text{g}$  per ml. With HI-6 the time necessary to reach peak concentrations varied from 5 min. for a 10 mg dose to 25 min. for a 50 mg dose. The half-times of oxime elimination from blood were 26.8 min. for HI-6 and 18.4 for PAM-Cl. As an increase in the dose did not increase the half-time, it is assumed that the first-order kinetics of elimination was involved. The volume of distribution for PAM-Cl was 4—5 times larger than for HI-6, indicating that HI-6 diffuses through membranes or into tissues more slowly than PAM-Cl. When HI-6 was given in doses of 10 mg per kg intramuscularly at one-hour intervals, it was possible to maintain blood levels of more than 4  $\mu\text{g}$  per ml for several hours.

The biological half-life, calculated from blood plasma values after oral administration of 200 mg per kg was 101.9 min. for HI-6, and 180.5 min. for PAM-Cl. The maximum concentration of HI-6 in plasma after oral administration was about 11  $\mu\text{g}$  per ml. Oral administration of the oxime may produce smaller therapeutic effect due to lower absorption of HI-6.

*Army Technical Institute,  
Beograd*

*Received for publication  
April 2, 1979.*