

PROTEKTIVNO DELOVANJE OKSIMA I ATROPINA PRI TROVANJU ARMINOM*

V. B. VOJVODIĆ i M. B. VOJVODIĆ

Institut za toksikologiju UMA, Beograd

(Primljeno 9. III 1967)

Imajući u vidu sve veću primenu oksima u humanoj medicini za lečenje ljudi otrovanih organofosforim jedinjenjima, bilo je interesantno da ispitamo i uporedimo različite oksime domaće i strane proizvodnje u pogledu toksičnosti i terapijske moći na miševima otrovanim arminom.

Znaci trovanja posle ubrizgavanja toksičnih doza različitih oksima bili su, u celini, veoma slični, a vrednosti LD-50 kretale su se u okvirima podataka iz literature (tablica 1 i 2).

Zaštitno dejstvo oksima bispiridinskog tipa (TMB-4 i LüH6) nadmašuje oksime piridinskog tipa (PAM-a), a neuporedivo je efikasnije u odnosu na monoksime (MINA, DAM) kod miševa otrovanih arminom (tablica 3).

U uslovima upotrebljenim u našim eksperimentima zaštitno dejstvo TMB-4 bilo je isto ili nešto bolje nego LüH6 (tablica 3).

Iznenaduje slaba zaštitna moć P2S u odnosu na oksime iz iste grupe.

Organofosforna jedinjenja su našla danas ekstenzivnu primenu u poljoprivredi kao insekticidi, a neka od njih se primenjuju u humanoj medicini za terapiju mijastenije gravis i glaukoma (1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8). Treba imati u vidu da su organofosforna jedinjenja u principu visoko toksične supstancije, pa je to jedan od glavnih razloga što broj zadesnih trovanja raste poslednjih godina u svetu, pa i kod nas.

Mi smo upotrebili jedno organofosforno jedinjenje (armin) u lečenju mijastenije gravis (5), a i dalje ga koristimo u terapiji ovog oboljenja. Bilo je normalno da se posvetimo u eksperimentalnim uslovima problemu terapije, to više, što smo imali jedan slučaj medikamentoznog otrovanja tim jedinjenjem (8).

I pored intenzivnih istraživanja na području zaštite pri trovanju organofosforim jedinjenjima (OFJ), do danas nisu pronađena idealna zaštitna sredstva »antidoti«, koja bi pružala sigurnu zaštitu. Otkriće i

* Deo rada referisan na II simpozijumu o holinesteraznim otrovima, Sarajevo, februara 1963. godine.

ispitivanja oksima, naročito PAM-a i TMB-a (9, 10, 11, 12), dala su više nade za kauzalnu terapiju otrovanja OFJ, ali ni danas ne postoji oksim koji bi, aplikovan sam, pružao efikasnu zaštitu u svim slučajevima otrovanja. Istraživanja zaštitnih efekata atropina, koja su prethodila upotrebi oksima, dala su slične rezultate (13, 14, 15, 16, 17, 18). Antidotni efekt atropina i pojedinog oksima umnogome zavisi od prirode upotrebljenog OFJ i upotrebljene vrste životinja (19, 20, 21, 22, 23).

Navedeni razlozi su uticali da pristupimo istraživanjima u cilju iznalaženja efikasnijih »antidota« pri eksperimentalnom trovanju arminom. Naša istraživanja usmerili smo na ispitivanje zaštitnog efekta različitih oksima na jednom životinjskom specijesu, i pri trovanju jednim OFJ. Želeli smo s jedne strane da ispitamo koji od oksima daje najbolji zaštitni efekt ako se upotrebi sam ili u kombinaciji sa atropinom, a s druge strane koja kombinacija garantuje najbolju zaštitu pri eksperimentalnom trovanju arminom i eventualno otrovanja u toku sadašnje i buduće primene ovog leka u humanoj medicini.

MATERIJAL I METODA

Materijal

a) OFJ:

Armin (Etoksi-4-nitrofeniloksi-etilfosfin oksid) 92% čistoće.

b) Oksimi:

1. Piridin-2-aldoksim metjodid (PAM-2)
2. Piridin-3-aldoksim metjodid (PAM-3)
3. Piridin-4-aldoksim metjodid (PAM-4)
4. Piridin-2-aldoksim methlorid (PAM-2 Cl)
5. Piridin-2-aldoksim metansulfonat (P₂S)
6. Monoizonitrozoacetone (MINA)
7. Diacetylmonoksim (DAM)
8. N,N'-trimetilen bis (piridin-4-aldoksim) dibromid (TMB-4 Br₂)
9. N,N'-trimetilen bis (piridin-4-aldoksim) dihlorid (TMB-4 Cl₂)
10. Bis (4-hidroksiiminometil-piridin-1-metil eter dibromid) (LüH6 Br₂)
11. Bis (4-hidroksiiminometil-piridin-1-metil eter dihlorid) (LüH6 Cl₂, Toksogonin)

c) Atropin sulfat, prašak.

d) Beli miševi oba pola (tel. težina 18-24 grama).

Metoda

Pri ispitivanju navedenih supstancija pol životinja bio je definisan. Za svaku dozu ispitivanih supstancija upotrebljena je grupa od 6 životinja. Svaka životinja je dobijala supstancije prema težini.

Radni rastvori armina u destilovanoj vodi pravljeni su iz osnovnog rastvora (1% rastvor armina u propilen glikolu). Procenat koncentracije armina (radnih rastvora) kontrolisan je pre svakog eksperimenta spektrofotometrijski i biološki na LD-50.

Svi ostali rastvori pravljeni su »ex tempore« u destilovanoj vodi.

Oksimi i atropin (zajedno ili pojedinačno) ubrizgavani su intraperitonealno miševima 15 minuta pre armina. Armin je ubrizgavan subkutano. Supstancije su ubrizgavane u standardnom volumenu za ovaj specijes (0.01 ml/gr) pomoću tuberkulinske brizgalice.

Rezultati se zasnivaju na podacima dobijenim posle 24 časa.

Akutnu toksičnost oksima pri intraperitonealnom ubrizgavanju obračunavali smo po metodi *Thompsona* (24).

REZULTATI

A) Akutna toksičnost oksima (LD-50)

U toksičnim dozama zajednička slika trovanja kod miševa izgleda ovako: nemir, fascikulacije leđne muskulature, ataksija, tahipneja u početku, opšta slabost mišića, prostracija, povremena pojava tonično-kloničnih grčeva i, na kraju, cijanoza sa prestankom respiracija i nastajanje smrti. Stiče se utisak da poremećaj neuromuskularne funkcije igra važnu ulogu u toksičnosti oksima.

Ovim eksperimentima pristupili smo radi istraživanja akutne toksičnosti oksima domaće proizvodnje, kako bismo lakše odabrali terapijske doze oksima i ujedno uporedili naše oksime sa stranim podacima o toksičnosti.

Radi preglednosti, rezultate toksičnosti dobijene intraperitonealnim ubrizgavanjem oksima prikazujemo u tablici 1.

Rezultati prikazani u tablici 1 pokazuju da oksimi naše proizvodnje imaju praktično iste vrednosti LD-50 kao i oksimi strane proizvodnje (25, 26).

Tablica 1.

Hemijska struktura i akutna toksičnost upotrebljenih oksima (LD-50) kod belih miševa

Formula (struktura)	Skraćeno ime	LD-50 i. p. (mg/kg)
$\left[\begin{array}{c} \text{C}_6\text{H}_5 \\ \\ \text{N}^+ \\ \\ \text{CH}_3 \end{array} \right] + \begin{array}{c} \text{H} \\ \\ \text{C} - \text{NOH} \end{array}$	J^- Cl^- HSO_3^- J^- $\times \text{J}^-$	PAM-2 253 PAM-2Cl 242 P2S 178 PAM-3 — PAM-4 —
$\left[\begin{array}{cc} \text{H} - \text{C} = \text{N}^+ \text{H} & \text{H} - \text{C} = \text{NOH} \\ & \\ \text{C}_6\text{H}_5 & \text{C}_6\text{H}_5 \\ & \\ \text{N} & \text{N}^+ \\ & \\ \text{CH}_2 - \text{CH}_2 - \text{CH}_2 & \end{array} \right] \times^-$	2Br^- 2Cl^-	TMB-4 82 TMB-4Cl 88
$\left[\begin{array}{cc} \text{H} - \text{C} = \text{NOH} & \text{H} - \text{C} = \text{NOH} \\ & \\ \text{C}_6\text{H}_5 & \text{C}_6\text{H}_5 \\ & \\ \text{N} & \text{N}^+ \\ & \\ \text{CH}_2 - \text{O} - \text{CH}_2 & \end{array} \right] \times^-$	2Br^- 2Cl^-	LüH6 150 LüH6 (Toxogonin) 160
$\text{CH}_3 - \underset{\text{O}}{\underset{ }{\text{C}}} - \text{CH} = \text{NOH}$	MINA**	150
$\text{CH}_3 - \underset{\text{O}}{\underset{ }{\text{C}}} - \text{C} - \text{CH}_2 - \text{NOH}$	DAM**	900

** Strane proizvodnje

B) Zaštitno dejstvo oksima i atropina pri trovanju arminom

Ispitali smo zaštitno dejstvo sledećih oksima: PAM-2, PAM-3, PAM-4, PAM-2 Cl, P2S, DAM, MINA, TMB-4 Br₂, TMB-4 Cl₂, LüH6 Br₂ i LüH6 Cl₂. Oksimi su ubrizgavani sami ili u kombinaciji sa atropinom 15 minuta pre davanja otrova. Svaki oksim je bio upotrebljen u dozama koje ubrizgane ne izazivaju vidljive poremećaje kod životinja.

U tablici 2 prikazujemo upotreblijene i ujedno maksimalno dozvoljene doze oksima, koje se mogu ubrizgati miševima bez pojave znakova otrovanja.

Tablica 2

Upotreblijena i maksimalno dozvoljena (terapijska) doza oksima za miša pri intraperitonealnom ubrizgavanju

Oksim	Upotreblijena doza (mg/kg)	Maksimalno dozvoljena terapijska doza (mg/kg)
PAM-2	50	100
PAM-3	50	oko 100
PAM-4	50	oko 100
PAM-2Cl	50	100
P2S	25	75
TMB-4Br ₂	25	50
TMB-4Cl ₂	25	50
LüH6 Br ₂	25	75
LüH6 Cl ₂	25	75
MINA	35	35
DAM	150	oko 650***

*** Prema podacima iz literature.

Eksperimentalni podaci zaštitnog efekta oksima i kombinacije oksima i atropina prikazani su u tablici 3.

Tablica 3.

Zaštitni efekt oksima i kombinacije oksima i atropina na miševima pri trovanju arminom

Oksim	Sam oksim (LD-50 armina)	oksim + atropin (LD-50 armina)
1. PAM-2	1	30
2. PAM-3	< 1	2
3. PAM-4	1	8
4. PAM-2Cl	1	32
5. P2S	1	4
6. TMB-4 Br ₂	2	50
7. TMB-4 Cl ₂	2	50
8. LüH6 Br ₂	2	45
9. LüH6 Cl ₂	2	45
10. MINA	1	3
11. DAM	< 1	2

Oksimi navedeni u tablici 3 pod brojevima 1, 3, 4, 5 i 10 ubrizgani bez atropina pružaju apsolutnu zaštitu samo za vrednost 1 LD-50 armina; međutim, oksimi navedeni pod brojevima 2 i 11 nisu u stanju da zaštite životinje ni pri 1 LD-50 armina.

Oksimi pod brojevima 6, 7, 8 i 9 ubrizgani bez atropina pružaju apsolutnu zaštitu za vrednost 2 LD-50 armina.

Ranija istraživanja kod nas (27, 28, 29), potvrđena i u ovim eksperimentima, pokazuju da atropin sulfat ubrizgan sam u dozi 25 mg/kg intraperitonealno, štiti sve otrovane životinje samo od 1 LD-50 armina.

Kombinacija atropina i oksima, kao što se može zapaziti u tablici 3, pokazala je potencirajući efekt za pojedine oksime nejednako izražen.

DISKUSIJA I ZAKLJUČCI

Vrednost LD-50 naših oksima ukazuje da smo radili sa supstancijama koje su po kvalitetima veoma slične oksimima strane proizvodnje. Izvesna neslaganja su najverovatnije posledica fizičko-hemijskih svojstava oksima, tj. čistoće same supstancije.

Oksimi tipa TMB-4 i LüH6 su nešto toksičniji nego slični strani proizvodi, što bi naročito moglo da ima značaja prilikom proučavanja farmakodinamskih efekata tih supstancija.

Iz grupe pralidoksima (zajednički naziv za oksime tipa PAM-a) ističu se snagom zaštitne moći PAM-2 i PAM-2 Cl. Iznenađuje slaba zaštitna moć P2S, to više što se u literaturi taj oksim prikazuje apsolutno ravnopravan PAM-2 i PAM-2 Cl. U vezi sa ovim mi smo uradili i dopunske eksperimente sa P2S francuske proizvodnje («Contrathion»), koji je spremljen za humanu upotrebu, i dobili istovetne rezultate. Možda za neočekivano slabu zaštitu P2S postoji opravdanje u prirodi upotrebljenog otrova u našim eksperimentima, kod kojeg, koliko nam je poznato, nije ispitivana zaštita sa P2S. I ovaj podatak ukazuje na ranije iznetu činjenicu da antidotni efekt pojedinog oksima može zavisiti od prirode upotrebljenog otrova.

Oksimi bispiridinskog tipa (TMB-4 i LüH6) očigledno nadmašuju zaštitnom moći ostale ispitivane oksime, bilo da se upotrebe sami ili u kombinaciji sa atropinom. Raniji naši radovi iz ove oblasti su u saglasnosti sa navedenim rezultatima (34, 35).

Iz literature je poznato da praktično ne postoji razlika u terapijskoj moći između TMB-4 i LüH6 (30, 31, 32), iako naši rezultati dozvoljavaju malu prednost TMB-4. Ta razlika se može jednim delom objasniti vrstom upotrebljenog otrova, a naročito rezultatima perzistencije u krvi ova dva oksima (33).

Literatura

1. Grob, D., Harvey, A. M.: Bull. Johns Hopkins Hosp., 84 (1949) 543.
2. Schulman, S., Rider, J. A., Richter, R. B.: JAMA, 152 (1953) 1707.
3. Grob, D., Harvey, A. M.: J. Clin. Invest., 37 (1958) 350.
4. Ustimenko, L. L.: Vest. Oft., 71 (1958) 24.
5. Vojvodić, V. i sar.: Voj. Sanit. Pregl. 16 (1959) 594.

6. Grob, D. i sar.: Bull. Johns Hopkins Hosp., 81 (1947) 217.
7. Grob, D. i sar.: Bull. Johns Hopkins Hosp., 81 (1947) 257.
8. Uojvodić, U., Grbeša, B.: Voj. Sanit. Pregl. 12 (1961) 1138.
9. Wilson, I. B., Ginsburg, S.: Arch. Biochem. Biophys. 54 (1955) 569.
10. Poziomek, E. J., Hackley, B. E., Steinberg, M.: J. Org. Chem., 23 (1958) 714.
11. Hobbiger, F., O'Sullivan, D. C., Sadler, P. W.: Nature, 182 (1958) 1498.
12. Hobbiger, F., Sadler, P. W.: Brit. J. Pharmacol., 14 (1959) 192.
13. Abrams, H. K., Hamblin, D. C., Marchand, J. F.: JAMA, 144 (1950) 107.
14. Kränzle, H. J.: Dtsch. med. Wschr., 79 (1954) 1756.
15. de Candole, C. A. i sar.: Brit. J. Pharmacol., 8 (1953) 466.
16. Duensing, F., Erdmann, W. D.: Arch. Exp. Path. Pharmacol., 223 (1954) 506.
17. Grob, D. i sar.: Ann. Int. Med. 31 (1949) 899.
18. Lewis, J. R., Mc Keon, W. B.: Arch. Int. Pharmacodyn., 102 (1955) 371.
19. Diltz, L. i sar.: J. Pharmacol. Exp. Ther., 119/4 (1957) 522.
20. Wilson, I. B., Sondheimer, F.: Arch. Biochem., 69 (1957) 469.
21. Askew, B. M.: Brit. J. Pharmacol., 4 (1956) 417.
22. Loomis, T. A.: J. Pharmacol. Exp. Ther., 118/1 (1956) 123.
23. Kewitz, H., Wilson, I. B.: Arch. Biochem. Biophys., 60/1 (1956) 261.
24. Thompson, W. R.: Bact. Rev., 11 (1947) 115.
25. Sundwall, A.: Tidskr. Militär. Halsoward, 87 (1962) 33.
26. Koelle, G.: Handbuch der experimentellen Pharmacologie (Cholinesterase and Anticholinesterase Agents), Springer, Stuttgart, 1963.
27. Milošević, M., Uojvodić, U.: Voj. Sanit. Pregl., 2 (1960) 164.
28. Uojvodić, U.: Disertacija, Beograd, 1964.
29. Bošković, B.: Disertacija, Sarajevo, 1963.
30. Kitz, R. J., Ginsburg, S., Wilson, I. B.: Biochem. Pharmacol., 14 (1965) 1471.
31. Heilbronn, E., Tolagen, B.: Biochem. Pharmacol., 14 (1965) 73.
32. Hobbiger, F., Uojvodić, U.: Biochem. Pharmacol., 15 (1966) 1677.
33. Milošević, M., Uojvodić, U., Terzić, M.: Neobjavljeni podaci.
34. Uojvodić, U., Binenfeld, Z.: Voj. Sanit. Pregl., 1 (1962) 7.
35. Binenfeld, Z., Uojvodić, U.: Arh. hig. rada, 12 (1961) 219.

Summary

PROTECTIVE ACTION OF OXIME AND ATROPINE IN ARMININE POISONING

With regard to the increasing application of oximes in the treatment of human organophosphate poisoning experiments were performed on mice in order to assess the toxicity of oximes of own production. Signs of poisoning caused by different oximes were on the whole very similar and obtained LD₅₀ values were in good agreement with results of other authors.

The therapeutic effect of PAM-2, PAM-3, PAM-4, PAM-2 Cl, P.S, TMB-4 Cl₂, TMB-4 Br₂, LüH6 Br₂, MINA and DAM alone or applied together with atropine was determined in mice poisoned by armine.

Under our experimental conditions the protective effect of TMB-4 was equal or slightly better than the effects of LüH6 Cl₂ and LüH6 Br₂. In comparison with other oximes, however, TMB-4 proved far better.

The protective effect of P.S was weaker than expected since when applied with atropine it offered protection only against 4 LD₅₀ of armine, while PAM-2 and PAM-2 Cl protected animals against 30 LD₅₀ of armine.

*Institute of Toxicology,
Military Medical Academy,
Beograd*

*Received for publication
March 9, 1967*



OROSLAVSKA TEKSTILNA INDUSTRIJA

OROSLAVJE KOD ZAGREBA

TELEFON: BROJ 1 i 10 – TELEGRAM: OROTEKS OROSLAVJE

●

PROIZVODI SVE VRSTE KVALITETNIH VUNENIH, PAMUČNIH
I CEL TKANINA KAO I TKANINA IZ SINTETIKE.

●

NOVI PROIZVODI U KOMBINACIJI VUNA – DRALON ZA
OGRTAČE, TREVIRA ZA HALJINE KAO I KAMGARN ZA ODIJELA,
NAMIJENJENI NASTUPAJUĆOJ SEZONI, U ŠIROKOM ASORTI-
MANU BOJA I DESENA ZADOVOLJIT ĆE UKUS KUPACA DILJEM
NAŠE ZEMLJE.

●

TRAŽITE ZATO TKANINE S OZNAKOM »OROTEKS« OROSLAVJE.