

ZASTITNI EFEKAT NEKIH HOLINOLITIKA KOD TROVANJA ARMINOM

B. BOŠKOVIĆ, D. POTKONJAK, i P. STERN

Farmakološki institut Medicinskog fakulteta, Sarajevo

(Primljeno 26. V 1964)

Ispitan je zaštitni efekat 9 holinolitika i jednog inhibitora holinacetylaze na miševima trovanim arminom. Zaštitni efekat kod 1 LD₅₀ armina dobiven je s hidroksizinom, disipalom i ponalidom. Antrenil i atropin metilnitrat u kombinaciji sa piridin aldoksim methloridom (PAM-2 Cl) spasili su 50% tretiranih životinja od 4 LD₅₀ armina, aturban i PAM-2 Cl od 8 LD₅₀ otrova.

Veliki je napredak u terapiji trovanja organofosforim jedinjenjima (OFJ) postignut uvođenjem reaktivatora inhibirane kolinesteraze u humanu terapiju. Danas već postoje zadovoljavajuća iskustva u primeni piridin-2-aldoksim methlorida (PAM-2 Cl) u humanoj praksi (13). Premda PAM-2 Cl ne štiti podjednako dobro kod svih OFJ (npr., bez efekta je kod trovanja dimetilamido-etoksifosforil cijanidom – tabun (27, 22, 23) i oktametil-pirofosforamidom – OMPA (18)), smatra se da ovaj reaktivator predstavlja zadovoljavajuće rješenje kauzalne terapije trovanja organofosfatima. *Dimkovičeva* i *Binenfeld* (9) su predložili PAM-2 Cl za novo izdanje jugoslovenske farmakopeje.

Od niza ispitanih holinolitika u simptomatskoj terapiji trovanja sa OFJ najbolje rezultate pokazuje atropin (12), koji se i danas najviše upotrebljava. Međutim, atropin blokira samo muskarinske efekte acetylholina (ACh) ali ne i nikotinske, a ima i još neke druge nedostatke. Zato se u poslednje vreme sve veća pažnja posvećuje ispitivanju spojeva koji mogu ili da dopune delovanje atropina nikotinskim efektima ili da posluže kao zamena za atropin (10, 5, 8, 4, 16, 17). Budući da se danas uvodi sve veći broj holinolitika i spazmolitika u humanu praksu, to smo želeli da ispitamo zaštitni efekat tih holinolitika kod tro-

* Komisiji za medicinska i naučna istraživanja Državnog sekretarijata za poslove narodne odbrane zahvaljujemo se na materijalnoj pomoći za izvođenje ovoga rada.

vanja arminom (etil-etoksi-fosforil p-nitro fenolat). Svi odabrani preparati, osim jednog (morin), su u humanoj upotrebi kod drugih indikacija pa je naš cilj bio da ispitamo da li koji od tih preparata štiti kod trovanja arminom, što bi bilo od interesa za terapiju trovanja organofosfatima. Ispitali smo sledeće holinotike:

1. Antrenil = dietil (2-hidroksietil) metilamonium- α -fenilcikloheksanglikolat bromid
2. Atarax = hidrosizim = 1-(p-hlorbenzhidril)-4-[2-(2-hidroksietoksil)-etil] piperazin
3. Aturban = 2(2-dietil aminoetil)-2-fenil glutarimid
4. Avacan = izoamilni ester n-dietil-amindetilamino fenil sirćetne kiseline
5. Disipal = orfenadrin hidrohlorid
6. Epidozin = β -dietilaminoetil brometilni ester-fenil metilvalerijanske kiseline
7. Eumidrin = atropin metil nitrat
8. Tropenzilium = brometilni ester 6-metoksitropin benzilne kiseline
9. Ponalid = VK 738 = N-etil-nortropin-benzidrileter
10. Morin = 2', 3, 4', 5, 7 - pentahidroksiflavon.

METODA

U eksperimentima su upotrebljeni beli miševi oba spola; težine 15-25 g. Holinolitici i PAM-2 Cl otapani su u 0,9% NaCl i davani i. p. u volumenu od 10 ml/kg težine, osim morina koji je otapan u propilen glikolu i davan i. p. u volumenu od 5 ml/kg težine. Armin je otapan u 0,9% NaCl-u i davan s. c. po 10 ml/kg težine. Sveži rastvori svih ispitivanih supstancija su priređivani pre svakog eksperimenta, rastvori odgovarajućih razblaženja armina, su duže vremena čuvani u frižideru. Rezultati u tabelama se odnose na letalni ishod unutar 24 sata posle trovanja arminom.

R E Z U L T A T I

Zaštitni efekat holinolitika kod sc trovanja miša sa 0,5 mg/kg armina ($1 \times LD_{50}$) prikazani su na tabeli 1.

Tabela 1

Redni broj	Supstancija	mg/kg	Armin- $1 \times LD_{50}$ preživelo / tretirano
	Kontrola	—	4/6
1.	Antrenil	2	5/12
2.	Hidroksizin	50	6/6
3.	Aturban	20	5/6
4.	Avakan	25	5/6
5.	Disipal	10	6/6
6.	Epidozin	2	3/6
7.	Eumidrin	10	4/6
8.	Tropenzilium	10	5/6
9.	Ponalid	3	6/6
10.	Morin	50	4/6

Supstancije su davane i. p. 10–20 minuta pre armina.

Kako se vidi iz rezultata tabele 1, najbolji zaštitni efekat kod trovanja sa $1 \times LD_{50}$ armina dobijen je hidroksizinom, disipalom i ponalidom, dok ostali spojevi pokazuju slabiji zaštitni efekat.

Zaštitni efekat holinolitika i PAM-2 Cl kod sc trovanja miša arminom prikazan je na tabeli 2.

Tabela 2

Redni broj	Supstancija	mg/kg	Preživelo / tretirano		
			Armin \times umnožak LD_{50}		
			2	4	8
	PAM-2 Cl	50	2/6	0/6	—
1.	Antrenil	2	6/6	3/6	0/6
2.	Hidroksizin	50	5/6	2/6	—
3.	Aturban	20	6/6	4/6	3/6
4.	Avakan	25	3/6	0/6	—
5.	Disipal	10	6/6	2/6	—
6.	Epidozin	2	2/6	0/6	—
7.	Eumidrin	10	6/6	3/6	0/6
8.	Tropenzilium	10	6/6	3/6	0/6
9.	Ponalid	3	6/6	0/6	—
10.	Morin	50	6/6	4/6	0/6

Holinolitici su davani i. p. 20 minuta pre armina a PAM-2 Cl i. p. 10 minuta pre armina.

Kako sledi iz tabele 2, osim avakana i epidozina svi spojevi u kombinaciji sa PAM-2 Cl štite sve ili skoro sve životinje zatrovane sa $2 \times LD_{50}$ armina. Kod trovanja sa $4 \times LD_{50}$ armina neki spojevi štite delimično, kao npr. aturban, morin i drugi, dok ostali ne pokazuju nikakav zaštitni efekat, kao npr. avakan, epidozin i ponalid. Jedino aturban u kombinaciji sa PAM-2 Cl pokazuje izvestan zaštitni efekat kod trovanja sa $8 \times LD_{50}$ armina, dok su ostali spojevi bez efekta. Interesantno je da eumidrin i antrenil kao periferni holinolitici štite jače od ponalida (11, 20) koji je izraziti centralni holinolitik.

DISKUSIJA I ZAKLJUČAK

U prvom redu treba istaknuti da su svi ispitani preparati, osim morina, već u humanoj upotrebi kod drugih indikacija, pa su naši rezultati od posve praktičnog značaja. Potpuni zaštitni efekat kod trovanja miševa sa $1 \times LD_{50}$ armina dobijen je sa hidroksizinom, disipalom i ponalidom. Za hidroksizin je poznato da deluje spazmolitički i antinikotinski, a u većim dozama kurariformno (19). Disipal je poznato antiparkinsonsko sredstvo, a ponalid (11,20) je jak holinolitik sa izrazitim centralnim efektima, dok su njegovi periferni holinolički efekti mnogo slabije izraženi (21, 14, 26). Ostali spojevi, među koje spadaju i kvarterni holinolitici antrenil i eumidrin, slabije štite kod trovanja sa $1 \times LD_{50}$ armina. Interesantno je da jedino aturban pokazuje izvestan zaštitni efekat u kombinaciji sa PAM-2 Cl kod trovanja sa $8 \times LD_{50}$ armina, dok su ostali holinotici bez efekta. Kod trovanja sa $1 \times LD_{50}$ armina aturban je štitio skoro sve zatrovane životinje, ali kako vidimo, njegov zaštitni efekat je naročito ispoljen u kombinaciji sa PAM-2 Cl. Aturban deluje holinolički i centralno i periferno (2). Vrlo jako blokira efekte acetilholina na glatku muskulaturu, srce, krvne sudove i egzokrine žlezde. Premda je njegovo centralno holinoličko delovanje slično atropinu, ipak se jasno razlikuje od atropinskog. Danas već postoje dovoljna iskustva sa primenom aturbana u humanoj terapiji kod drugih indikacija. Prema našim rezultatima, aturban pokazuje zadovoljavajuću zaštitu u kombinaciji sa PAM-2 Cl kod trovanja miša arminom, pa bi u slučaju da sličan zaštitni efekat pokaže i na drugim životinjskim vrstama i kod drugih organofosfata mogao da bude korisno primenjen u terapiji trovanja OFJ.

Avakan (6,3) i epidozin (15) su poznati spazmolitici. Međutim, u kombinaciji sa PAM-2 Cl ne pokazuju nikakav zaštitni efekat kod trovanja miša sa $4 \times LD_{50}$ armina, kao ni ponalid; to iznenađuje, i to naročito u slučaju ponalida koji ima izrazita centralna holinolička delovanja (21, 14, 26). Tropolonium (25), eumidrin i antrenil po zaštitnom efektu u kombinaciji sa PAM-2 Cl zauzimaju srednji položaj. Ovi spojevi ne

štite tako slabo kao ponalid, epizin i avakan, ali štite slabije od aturbanu. S obzirom da tropenzilium deluje i na muskarinske i na nikotinske efekte AcH (25), moglo se očekivati da će u kombinaciji sa PAM-2 Cl ispoljiti jači zaštitni efekat kod trovanja arminom. Teoretski je za nas najinteresantniji bio morin, koji je poznati inhibitor holinacetilaze pa, prema tome, i inhibitor sinteze AcH. *Balotin* i *Coon* (1) su našli da morin pokazuje izvestan zaštitni efekat kod trovanja miša tetraetilpirofosfatom.

Kako naši rezultati pokazuju, morin u kombinaciji sa PAM-2 Cl štiti oko 50% životinja zatrovanih sa $4 \times LD_{50}$ armina i po zaštitnom efektu deluje slično aturbanu. Budući da je glavni uzrok letalnog delovanja organofosfata povećana količina endogenog AcH, to morin, verovatno, putem inhibicije holinacetilaze smanjuje sintezu AcH i na taj način spasava kod trovanja organofosfatima.

U jednom ranijem radu smo pokazali da neki centralni holinolitici u kombinaciji sa PAM-2 Cl jače štite kod trovanja miša arminom nego odgovarajuća kombinacija PAM-2 Cl sa perifernim holinolicima (24). Međutim, iz rezultata tabele 2 vidimo da antrenil i eumidrin kao periferni kolinolitici u kombinaciji sa PAM-2 Cl, mada štite relativno slabo, pokazuju bolji zaštitni efekat nego npr. ponalid koji je poznati centralni holinolitik. Ovo ukazuje na to da ponalid ne bi mogao da bude od značajnijeg interesa za terapiju trovanja organofosfatima.

Od 9 ispitanih holinolitika i jednog inhibitora holiacetilaze morina, potpuni zaštitni efekat kod trovanja miša sa $1 \times LD_{50}$ armina pružaju samo hidroksizin, disipal i ponalid. U kombinaciji sa piridin-2-aldoksim methloridom (PAM-2 Cl) najbolji zaštitni efekat kod trovanja miša arminom pruža aturban koji štiti 50% životinja zatrovanih sa 4 mg/kg armina ($8 \times LD_{50}$). Kvarterni holinolitici antrenil i atropin metil nitrat štite u kombinacijama sa PAM-2 Cl kod trovanja sa $4 \times LD_{50}$ armina oko 50% životinja slično odgovarajućoj kombinaciji centralnih holinolitika tropenziliuma i hidroksizina, dok ostali holinolitici pokazuju slabiji zaštitni efekat.

Literatura

1. *Balotin, N. M. i Coon, J. M.*: Arch. int. Pharmacodyn 123 (1960), 395.
2. *Bein, J. H. i Tripod, J.*: Schweiz. Med. Wschr. 88, (1958), 1.
3. *Beyer, H.*: Münch. med. Wschr. 94, (1952), 1119.
4. *Bošković, B.*: Zaštitni efekat muskarino- i nikotino-holinolitika u eksperimentalnom trovanju arminom i tabunom. U štampi.
5. *Bošković, B., Potkonjak, D. i Stern, P.*: Zaštitni efekat nekih centralnih i perifernih holinolitika kod trovanja arminom. U štampi.
6. *Brock, N.*: Dtsch. med. Wschr. 76, (1951), 474.
7. *Clark, B. C.*: Pharmacology in Medicine, II izdanje, Drill, McGraw-Hill, New York 1958, str. 635.
8. *Čičin, H. G.*: »Himija i primenjenije FOS«, trudi vtoroj konferenciji. Akademija Nauk SSSR, Moskva, 1962, str. 490.
9. *Dimković, R. i Binenfeld, Z.*: Vojno Sanit. Pregled 12, (1963), 758.
10. *Erdmann, W. D. i Teutloff, K.*: Arzn. Forsch. 13 (1963), 381.

11. *Frigussy, T.*: Neurology, Minneapolis, 11 (1961), 1050.
12. *Gordon, A. S. i Frye, C. W.*: I. A. M. A. 159, (1955), 1184.
13. *Grob, D.*: cit. Koelle, C. B.: Cholinesterase and Anticholinesterase Agents. Springer - Verlag, Berlin Göttingen-Heidelberg, 1963, str. 989.
14. *Gross, H. i Langner, E.*: Zur Behandlung des medikamentesbedingten Parkinsonsyndroms mit Ponalid (UK-738).
15. *Hausschild, F.*: Pharmakologie und Grundlagen der Toxikologie, III. izdanje - Georg Thieme, Leipzig, 1961, str. 565.
16. *Heymans, C.*: Arch. int. Pharmacodyn. 81, (1950) 230.
17. *Kagan, J. S.*: Fiziol. Žurn. AN USSR 1, (1959), 110.
18. *Kewitz, H., Wilson, I. B. i Nachmansohn, D.*: Arch. Biochem. Biophys. 64 (1956), 456.
19. *Levis, S., Preat, S., Beersaerts, J., Dauby, J., Beelen, L. i Baugniet, V.*: Arch. int. Pharmacodyn. 119, (1957), 127.
20. *Mandel, W., Claffey, B. i Margolis, L. H.*: Dis. Nerv. System. 10 (1961), 571.
21. *May, H. R., Ruland, B. M. i Bylenga, N. D.*: Schweiz. Arch. Neurol. Psych. 88 (1961), 61.
22. *Milošević, M. i Terzić, M.*: Vojno Sanit. Pregled 19 (1962), 259.
23. *Stern, P. i Bošković, B.*: Vojno Sanit. Pregled 17 (1960), 1008.
24. *Bošković, B., Potkonjak D. i Stern, P.*: Vojno Sanitetski Pregled. U štampi.
25. *Taeschler, M., Konzett, H. i Cerletti, A.*: Schweiz. med. Wschr. 90 (1960) 136.
26. *Taeschler M., Weidmann H. i Cerletti A.*: Schweiz. Med. Wschr. 92 (1962), 1.
27. *Wilson, I. B. i Sondheimer, F.*: Arch. Biochem. Biophys. 69 (1957), 468.

Summary

PROTECTIVE EFFECTS OF SOME CHOLINOLYTICS IN ARMINE POISONING

Nine cholinolytics and one choline acetylase inhibitor (Morin) have been examined as potential protecting agents against armine poisoning. Only Hydroxyzine, Disipal and Ponalid were found to protect mice against one LD₅₀ of armine. In combination with pyridine 2-aldoxime methchloride (PAM-2-Cl) the best effect was found with Aturban, which protected 50 per cent of mice against 4 mg/kg of armine (\times LD₅₀). The quaternary cholinolytics Antrenyl and atropine, combined with PAM-2-Cl, protected about 50 per cent of animals against $4 \times$ LD₅₀ of armine, similarly to a combination of central cholinolytics, Tropenzylium and Hydroxyzine. Other cholinolytics showed weaker protective properties.

*Institute of Pharmacology
Medical Faculty
Sarajevo*

*Received for publication
May 26, 1964*