

TERAPIJSKI UČINAK PAM-2-HLORIDA NA MIŠEVIMA OTROVANIM ARMINOM

Z. BINENFELD, V. VOJVODIĆ i V. BOŽIĆ

Institut za toksikologiju VMA, Beograd

(Priljeno 27. XII 1961)

PAM-2 Cl (piridin-2-aldoksim metilhlorid) dobiven je propuštanjem rastvora PAM-2 (piridin-2-aldoksim metiljodid) kroz anionski izmjenjivač Duolit A-30 ili kuhanjem zasićenog rastvora PAM-2 sa AgCl. Iskorištenje 35-50%, t. t. 218-20° C (nekor). Rastvorljivost u vodi 50%.

Koncentracija od 1.10^{-3} M PAM-2 Cl dovodi do 25% inhibicije ChE plazme i eritrocita zeca, a koncentracija od 1.10^{-4} M dovodi kroz 1h do 80% reaktivacije ChE plazme i eritrocita zeca (kunića) inhibiranih arminom. Iste vrednosti dobivene su i sa PAM-2. Zaštitno dejstvo PAM-2 Cl kod miševa otrovanih arminom jednako je dejstvu PAM-2 i u odnosu na dozu i u odnosu na vreme aplikacije.

PAM-2 (piridin-2-aldoksim metiljodid) je posljednjih godina iscrpno proučavan i našao je svoju primenu u zaštiti životinja od eksperimentalnih trovanja organofosforinim jedinjenjima (1), i u zaštiti ljudi koji su se namerno ili nenamerno trovali tim jedinjenjima (2). Među ostalim ispitan je i u jednom slučaju nenamernog trovanja arminom (etil-estaretil-p-nitrofenilfosforne kiseline) (3). Šira primena PAM-2 ograničena je zbog njegove slabe rastvorljivosti u vodi (do 4%), zbog čega se može primeniti samo u obliku spore intravenske infuzije. Praktički, to znači da je njegova primena mogućna samo u bolnicama i ustanovama njima sličnog ranga.

U potrazi za sličnim jedinjenjima koja ne bi zaostajala za PAM-2 u pogledu njegove zaštitne moći, a koja bi bila bolje rastvorljiva u vodi, prvo je sintetizovan P-2-S (piridin-2-aldoksim metilmetan sulfonat) (4) koji je dobro rastvorljiv u vodi, ali je relativno dosta toksičan, pa se mora paziti pri njegovom doziranju. P-2-S je sa uspehom primenjen u Francuskoj i Engleskoj, kod ljudi otrovanih organofosforinim insekticidima, a u pomenutim zemljama nalazi se već i u prodaji (5, 6).

U poslednje vreme sintetizovana su još dva analoga PAM-2, i to PAM-2 laktat (piridin-2-aldoksim metil laktat) i PAM-2 Cl (piridin-2-aldoksim metilhlorid) (7,8). PAM-2 laktat usled svoje nestabilnosti nije pogodan za primenu u humanoj medicini. PAM-2 Cl, koji se po svom dejstvu pokazao vrlo sličan PAM-2, a uz to je i odlično rastvorljiv u vodi, ispunjava sve uslove da u potpunosti zameni PAM-2.

Cilj naših ispitivanja bio je da se uporedno ispitaju toksikološke i biohemijske osobine PAM-2 i PAM-2 Cl kao i njihova zaštitna moć kod trovanja arminom koji je do sada našao primenu u neurologiji, akušerstvu i oftalmologiji (9, 10, 11).

MATERIJAL I METODE

Upotrebene supstancije

PAM-2 sintetizovan je po metodi *Wilsona* i *Ginsburgove* (12) sa ranije opisanim modifikacijama (13) t. t. 225-8° C, $\eta_{sp}/c = 48,1$ (teor. 48%). Na 330 m μ molekularni ekstinkcioni koeficijent u kiselom mediju iznosio je 12.570, pK = 8,05, neutralizacioni ekvivalent 264 (teor. 264). Rastvorljivost u vodi 2,5%.

PAM-2 Cl sintetizovan je na dva načina:

a) Po metodi *Lehmanna* i *Nichollsa* (8) uz neke manje izmene: 2,5 g zasićenog rastvora PAM-2 propusti se kroz 15 cm anionskog izmenjivača Duolit A-30 B. Vodeni rastvor otpari se na vakuumu do suva i ostatak prekrstališe iz smeše apsolutni etanol + metanol (4 : 1). Dobiveno je 0,7 g supstancije t. t. 218-20° (iskorištenje 50%). To je sivkasto beli prašak koji je sadržavao 20,62% Cl (teor. 20,53%). pK je iznosio 7,92, molekularni ekstinkcioni koeficijent 12.300 na 294 μ m. Reakcija na jodid sa PdCl₂ je negativna. Rastvorljivost u vodi 1:1.

b) U balon od 250 ccm stavi se 25 g PAM-2 rastvorenog u kipućoj vodi i 15 g sveže pripremljenog AgCl i kuha na 100° C 10 sati. Još vreli vodeni rastvor se odfiltruje i ostavi da ohladi. Nastali talog se odsiše, a preostala tečnost otpari do suha. Prekristalizacija kao pod a). Dobiveno je 6,15 g supstancije t. t. 218-220° C. Iskorištenje 36,6%.

Armin upotrebljen u našim eksperimentima imao je t. k. 144-5° C pri 0,15 mm Hg, a rastvorljivost u vodi iznosila je 1 : 300.

Pseudoholinesteraza. Kao izvor enzima upotrebljena je nativna plazma zeca (kunića). Čuvana je na + 4° C.

Acetilholinesteraza. Kao izvor enzima upotrebljeni su oprani (sa fiziološkim rastvorom) i hemolizirani eritrociti zeca nadopunjeni vodom na prvobitni volumen krvi. Čuvani su na + 4° C.

Akutna toksičnost (LD₅₀). Sva ispitivanja rađena su na belim miševima (mužjacima i ženjkama) težine 18–24 g. Sva ubrizgavanja vršena su tuberkulinskim brizgalicama, a rastvori su uvek sveže pripremani. Zapremina ubrizganih supstancija nije bila veća od 0,01 ml na 1 g težine životinje. Izračunavanje LD₅₀ rađeno je po Thompsonu (14), a preživele životinje su opservirane 24 sata. Odnos uzastopnih doza bio je 1,1 : 1.

Ispitivanje zaštitne moći PAM-2 i PAM-2 Cl

a) *Preventivna aplikacija oksima.* 0–60 min. pre supkutane aplikacije armina životinje su odjednom primile 25 mg/kg atropina + 12,5–50 mg/kg oksima intraperitonealno. Svi rastvori davani su tuberkulinskim brizgalicama, a ukupna zapremina svih ubrizganih supstancija nije prelazila 0,01 ml po 1 g. Rastvori su pravljeni uvek sveže, a preživele životinje su promatrane 24 sata.

b) *Kurativna aplikacija oksima.* Trideset sekundi posle davanja armina (s. c.) životinje su primile 25 mg/kg atropina + oksim (i. p.) u različitim dozama. Pripreme rastvora, volumen ubrizganih supstancija i opserviranje životinja kao pod a).

Određivanje aktivnosti holinesteraze (ChE) in vivo u celokupnoj krvi i mozgu. Rađeno je Michelovom elektrometrijskom metodom modifikovanom po Stevanoviću (15, 16). Svaka vrednost izračunata je na temelju 4 životinje.

Određivanje aktivnosti ChE plazme i eritrocita in vitro vršeno je Warburgovom manometrijskom metodom:

a) U sredinu Warburgove posudice stavljeno je 0,2 ml plazme ili eritrocita, rastvori PAM-2 ili PAM-2 Cl i pufer koji se sastojao od 0,164 M natrijumhlorida i 0,0357 M natrijumbikarbonata. U postrani nastavak stavljeno je 0,06 ml 2% acetilholin hlorida u puferu, kad se određivala aktivnost ChE, plazme a 0,08 ml istog rastvora kad se određivala aktivnost ChE eritrocita. Volumen celokupne smeše iznosio je 2 ml.

Rastvori su bili gasirani smešom 95% N₂ + 5% CO₂. Temperaturna ekvilibracija je trajala 30 min., a pH reakcione smeše posle mešanja enzima i supstrata iznosio je 7,4. Svi eksperimenti su vršeni na 37° C, a očitavanja su vršena svakih 5 min. u toku 35 minuta. Od razređivanja supstancija do mešanja protekao je obično 1 sat.

b) U sredinu Warburgove posudice stavlja se 0,2 ml plazme ili eritrocita i inkubira 30 min. sa 0,15 ccm 5·10⁻⁶M vodenog rastvora armina (za pokuse s plazmom) odnosno 0,035 ccm 5·10⁻⁷ (za pokuse s eritrocitima), tako da je završna molarna koncentracija izračunata na 2 ml smeše 3,8·10⁻⁷M kad se radi o plazmi, a 8,8·10⁻⁹M kad se radi o eritrocitima. Posle 30 min. dodaju se rastvori PAM-2 i PAM-2 Cl i radi dalje kao pod a).

Kao merilo aktivnosti ChE uzeti su mikrolitri. CO₂ koje razvija 0,2 ml plazme ili 0,2 eritrocita kroz 1 min.

Aktivnost ChE posle dodavanja oksima izražavana je u odnosu na normalnu aktivnost po formuli:

$$\% = \frac{a}{b} \cdot 100 \text{ gde je}$$

a = aktivnost ChE posle dodatka oksima

b = aktivnost ChE bez dodatka oksima

Stepen reaktivacije izračunavan je po formuli:

$$\% \text{ reaktivacije} = \frac{a - b}{c - b} \cdot 100 \text{ gde je}$$

a = aktivnost inhibirane ChE posle dodatka oksima

b = aktivnost inhibirane ChE bez dodatka oksima

c = aktivnost neinhibirane ChE

REZULTATI

Akutna toksičnost – srednja letalna doza (LD₅₀) za bele miševe ženke iznosila je kod intraperitonealne aplikacije za PAM-2 253 (244–262) mg/kg (9), odnosno za PAM-2 Cl 242 (229–256) mg/kg. Izraženo u milimolima/kg za PAM-2 LD₅₀ iznosi 0,96 (± 0,034), a za PAM-2 Cl 1,4 (± 0,08). LD₅₀ vrednosti izražene u odnosu na oksimski kation su sledeće: za PAM-2 131 (127–136) mg/kg, za PAM-2 Cl 192 (182–203) mg/kg.

Simptomi trovanja kod primene smrtnih doza PAM-2 Cl jednaki su onima koje smo opisali kod trovanja sa PAM-2 (13). Prosečno vreme ugibanja u dozi LD₅₀ iznosi 12 minuta.

Dejstvo PAM-2 Cl na ChE plazme i eritrocita

Tablica 1
Inhibicija ChE plazme i eritrocita zeca (kunića) sa PAM-2 i PAM-2 Cl

Inhibitor	Koncentracija (M)	% aktivnosti ChE	
		plazma	eritrociti
PAM-2	1.10 ⁻²	26	27
PAM-2 Cl	1.10 ⁻²	27	28
PAM-2	1.10 ⁻³	75	74
PAM-2 Cl	1.10 ⁻³	75	69

Inhibicija

Kao što se vidi iz tablice 1, PAM-2 Cl u koncentracijama 1.10^{-2} i 1.10^{-3} M dovodi do inhibicije aktivnosti ChE plazme i eritrocita. Upoređivanjem sa PAM-2 vidi se da su sa ovim dobivene praktički iste vrednosti.

Reaktivacija

Prethodnom inhibicijom arminom (tablica 2) aktivnosti ChE eritrocita i plazme smanjene su na oko 20%. Primenom PAM-2 Cl dolazi do reaktivacije inhibirane ChE i eritrocita i plazme ovisno o molarnoj koncentraciji PAM-2 Cl. Najjača reaktivacija postignuta je kod PAM-2 Cl primenjen u koncentraciji 1.10^{-4} M. Uporednim ispitivanjima sa PAM-2 dobili smo identične rezultate. Stepen reaktivacije je približno jednak kod obe holinesteraze (ChE plazme i ChE eritrocita).

Tablica 2

Reaktivacija ChE eritrocita i plazme zeca (kunića) inhibirane arminom sa PAM-2 i PAM-2 Cl

Izvor enzima	Armin (M)	PAM-2 (M)	PAM-2 Cl (M)	% aktivnosti ChE	Stepen reaktivacije %
eritrociti	$8,8.10^{-9}$	—	—	21	—
eritrociti	$8,8.10^{-9}$	1.10^{-4}	—	80	75
eritrociti	$8,8.10^{-9}$	—	1.10^{-4}	83	78
plazma	$3,3.10^{-7}$	—	—	19	—
plazma	$3,3.10^{-7}$	1.10^{-4}	—	85	82
plazma	$3,3.10^{-7}$	—	1.10^{-4}	87	83

Uticaj doze oksima na smrtnost otrovanih životinja

U našim prethodnim radovima (17) pokazali smo da doza oksima u kombinaciji sa atropinom ima veliki uticaj na broj životinja koje prežive trovanje arminom. U eksperimentu sa PAM-2 Cl aplicirali smo ga životinjama pre i posle davanja različitih doza armina (tablice 3 i 4).

Kod kurativne aplikacije PAM-2 Cl sa atropinom armin je primenjen u dozi od $5 LD_{50}$, a to je najveća doza armina gde kombinacija PAM-2 + atropin datih 30 sekunda posle trovanja pruža 100% zaštitu (17). U tim uslovima najmanja doza PAM-2 Cl koja još pruža 100% zaštitu iznosi $1/20 LD_{50}$. U paralelnim eksperimentima to smo isto našli i za PAM-2.

Tablica 3

Zaštitno dejstvo oksima i atropina apliciranih kurativno kod miševa
otrovanih arminom (2,5 mg/kg = 5 LD₅₀)

PAM-2*		PAM-2 Cl*		Broj uginulih životinja
mg/kg	Multipl LD ₅₀	mg/kg	Multipl LD ₅₀	broj otrovanih životinja
37,5	3/20	—	—	0/6
—	—	37,5	3/20	0/6
25	2/20	—	—	0/6
—	—	25	1/20	0/6
12,5	1/20	—	—	0/6
—	—	12,5	1/20	0/6

* PAM-2 i PAM-2 Cl ubrizgavani su zajedno sa 25 mg/kg atropina (i. p.) 30 sekundi posle davanja armina (s. c.)

Tablica 4

Zaštitno dejstvo oksima i atropina apliciranih preventivno kod miševa
(♀) otrovanih arminom (14 mg/kg = 28 LD₅₀)

PAM-2*		PAM-2 Cl*		Broj uginulih životinja
mg/kg	Multipl LD ₅₀	mg/kg	Multipl LD ₅₀	broj otrovanih životinja
12,5	1/20	—	—	3/6
—	—	12,5	1/20	3/6
25	2/20	—	—	1/6
—	—	25	2/20	2/6
37,5	3/20	—	—	0/6
—	—	37,5	3/20	0/6

* PAM-2 i PAM-2 Cl ubrizgavani su zajedno sa 25 mg/kg atropina (i. p.) 15 minuta pre davanja armina (s. c.)

Kod preventivne aplikacije PAM-2 Cl sa atropinom armin je dat u dozi od 28 LD₅₀, a to je približno najveća doza armina kod koje PAM-2 sa atropinom u istim uslovima pruža 100% zaštitu (17). Najmanja doza PAM-2 Cl koja proizvodi 100% zaštitu iznosi 3/20 LD₅₀. Paralelna

ispitivanja dala su isti rezultat i za PAM-2. Smanjenjem doze i kod PAM-2 Cl i kod PAM-2 dolazi do istovetnog smanjenja zaštitne moći.

Uticaj vremena aplikacije oksima na smrtnost otrovanih životinja

U eksperimentima upotrebljena je doza armina (28 LD₅₀) kod koje je sa 37,5 mg/kg PAM-2 Cl u prethodnom eksperimentu postignuta 100% zaštita (tablica 5).

Tablica 5

Zaštitna moć kombinacije PAM-2 + atropin i PAM-2 Cl + atropin, davanih u različitim vremenskim intervalima miševima (♀) otrovanim arminom (14 mg/kg = 28 LD₅₀)

Vreme davanja antidota pre davanja armina	Broj uginulih životinja	
	Broj otrovanih životinja	
	PAM-2 Cl + atropin*	PAM-2* atropin*
0	0/6	0/6
7,5	0/6	0/6
15	0/6	0/6
30	4/6	2/6
60	5/6	5/6

* PAM-2 Cl odnosno PAM-2 aplicirani su intraperitonealno (37,5 mg/kg) zajedno sa atropinom (25 mg/kg).

Nađeno je da PAM-2 Cl i PAM-2 pokazuju najbolju zaštitnu moć u vremenu kad se aplikuju od 15 min. pa do 0 min. pre davanja otrova. Ranije davanje kombinacije oksima i atropina ima slabije dejstvo.

Aktivnost ChE celokupne krvi i mozga posle aplikacije armina i primene PAM-2 Cl i atropina

Obzirom na uticaj koncentracije PAM-2 Cl in vitro na stepen reaktivacije inhibirane ChE hteli smo ispitati da li pri primeni mnogostrukih smrtnih doza armina količina primenjenog antidota utiče na stepen aktivnosti ChE u celokupnoj krvi i mozgu. Istovremeno hteli smo ispitati da li vreme davanja antidota ima ulogu na aktivnost ChE u raznim vremenskim periodima posle trovanja (tablica 6 i 7).

Tablica 6

Aktivnost ChE određena 30 min. nakon aplikacije armina (14 mg/kg) kod miševa (♂) tretiranih sa PAM-2 Cl i atropinom

PAM-2 Cl* (mg/kg)	Atropin* (mg/kg)	% aktivnosti holinesteraze	
		krv	mozak
12,5	25	10	20
25	25	9	23
37,5	25	6	18
50	25	10	18

* PAM-2 Cl i atropin aplicirani su zajedno (i. p.) 15 min. pre davanja armina (s. c.)

Tablica 7

Aktivnost ChE određena 24 sati nakon aplikacije armina (14 mg/kg) kod miševa (♀) tretiranih sa PAM-2 Cl i atropinom

Vreme davanja antidota pre davanja armina (min)	% aktivnosti holinesteraze	
	krv	mozak
0	49	41
7,5	52	35
15	60	36
30	63	34
60	40	29

PAM-2 Cl (37,5 mg/kg) i atropin (25 mg/kg) aplicirani su zajedno (i. p.) 15 min. pre davanja armina (s. c.)

Bez obzira na primenjenu dozu oksima (od 1/2 do 1/5 njihove LD₅₀) aktivnost ChE u celokupnoj krvi i mozgu otrovanih životinja bila je praktički ista. 30 minuta posle trovanja sa 28 LD₅₀ armina aktivnost ChE se smanjila na 6–10% u celokupnoj krvi, odnosno na 18–23% u mozgu.

U pokusima gdje smo aplicirali PAM-2 Cl sa atropinom 60 do 0 min. pre davanja 28 LD₅₀ armina našli smo 24 sata posle trovanja smanjenu aktivnost ChE i ona je iznosila u celokupnoj krvi 40–63%, a u mozgu 29–41% normalne aktivnosti.

DISKUSIJA

Tražanjem novih i delotvornijih vrsta oksima iz grupe mono i bis piridinijskog reda čiji su najpoznatiji predstavnici PAM-2 i TMB-4 došlo se među ostalim do zaključka da bis piridinijski oksimi (TMB-4 i njemu slični) imaju izvesna bolja svojstva i pružaju veći stepen zaštite od mono piridinijskih derivata (PAM-2 i njemu slični). Bis piridinijski oksimi su bolje rastvorljivi, ali su toksičniji i imaju neka neželjena dejstva. S druge strane, mono piridinijski oksimi pružaju manji stepen zaštite, slabije su rastvorljivi u vodi ali su manje toksični. Povećanje rastvorljivosti mono piridinijskih oksima u vodi dovelo je i do znatnog povećanja toksičnosti, kao što se to pokazalo u slučaju P-2-S. Tek uvođenjem PAM-2 Cl dobiven je derivat iz reda mono piridinijskih oksima koji zadovoljava svojom rastvorljivošću u vodi, a ujedno je i slabo toksičan, tako da mu je terapijski indeks povoljan (6).

I O'Leary sa saradnicima (6) i Lehmann i Nicholls (7) upoređivali su toksičnost PAM-2 Cl u odnosu na količinu oksimatnog iona i pokazali da hlorna so predstavlja manje toksičnu supstanciju u odnosu na jodnu so. Naša supstancija je manje toksična od one koju su oni upotrebljavali.

Upoređeni in vitro eksperimenti sa PAM-2 Cl i PAM-2 pokazali su da u ekvimolarnim koncentracijama anionska komponenta ne igra nikakvu ulogu. Dejstvo PAM-2 i PAM Cl kao inhibitora ChE eritrocita i plazme zeca i njihovo dejstvo kao reaktivatora ChE inhibirane arminom bilo je identično u svim primenjenim koncentracijama. S druge strane, pokazalo se da PAM-2 i PAM-2 Cl u koncentracijama koje još imaju inhibitorско dejstvo na ChE ($1.10^{-3}M$) ne daju optimalne rezultate u reaktivaciji in vitro inhibirane ChE. Bolja se reaktivacija postiže sa koncentracijama $1.10^{-4}M$ pri kojima PAM-2 Cl i PAM-2 ne inhibiraju ChE. Oba oksima pokazali su veoma snažno reaktivatorsko dejstvo na ChE plazme i eritrocita.

In vivo eksperimenti su pokazali da PAM-2 i PAM-2 Cl pružaju isti stepen zaštite kad se daju zajedno sa atropinom. Bez obzira na postotak oksimatnog iona cclokupne supstancije koje kod PAM-2 Cl iznose 79%, a kod PAM-2 52% zaštita je identična kod istih doza PAM-2 i PAM-2 Cl. U oba slučaja kod kurativne primene antidota pri trovanju sa $5 LD_{50}$ armina već se sa $1/20 LD_{50}$ oksima postiže 100% zaštita dok se kod preventivne primene antidota pri trovanju sa $28 LD_{50}$ armina 100% zaštita postiže tek sa $3/20 LD_{50}$ antidota. To je verovatno posledica masivne doze otrova.

U odnosu na vreme aplikacije oksima takođe su dobiveni slični rezultati i za PAM-2 i za PAM-2 Cl. Pretpostavljamo da je to posledica podjednake brzine njihove resorpcije. Optimalno vreme preventivne aplikacije oksima sa atropinom je od 0 do 15 min. pre davanja armina.

To smo za PAM-2 i TMB-4 ustanovili i u našim ranijim eksperimentima (13). U skladu sa dosada poznatim shvatanjima to se može pripisati relativno brzom razaranju oksima i njihovoj eliminaciji iz organizma. Kod miševa otrovanih mnogostrukim smrtnim dozama armina aktivnost ChE bilo u celokupnoj krvi ili u mozgu nije ovisna ni o dozi primenjenog oksima (od 12.5-50 mg/kg) ni o vremenu njihovc preventivne aplikacije (od 60 do 0 min. pre davanja armina). Dok smo za ChE mozga to i pretpostavljali zbog slabo izražene sposobnosti oksima da prodiru u mozak, za ChE u krvi se moglo očekivati da će količine oksima uticati na stepen reaktivacije. Slične rezultate smo dobili i u našim ranijim eksperimentima sa PAM-2 i TMB-4 (13) gde se pokazalo da nema razlike u aktivnosti ChE celokupne krvi i mozga kod uginulih i ubijenih životinja otrovanih vcoma visokim dozama armina. Prema tome i kod PAM-2 Cl se ne može njegova zaštitna moć isključivo vezati na reaktivaciju ChE, već i on kao i PAM-2 i TMB-4 dejstvuje i drugim mehanizmima.

Rastvorljivost PAM-2 Cl u vodi (1:1) čini ga vcoma podobnium za intravenske injekcije, a omogućuje i njegovu intramuskularnu primenu. Dalja ispitivanja, koja će se prvenstveno odnositi na proučavanje PAM-2 Cl kao farmaceutskog pripravka, dat će odgovor na pitanje hoće li PAM-2 Cl zameniti PAM-2 u upotrebi. Po svojim fizičko-hemijskim, biohemijskim i toksikološkim osobinama PAM-2 Cl poseduje potrebne kvalitete da se uvede u nomenklaturu sredstava za lečenje trovanja organofosfornim jedinjenjima.

ZAKLJUČAK

PAM-2 Cl pokazao je in vitro i in vivo identične rezultate sa PAM-2. Obzirom da je njegova rastvorljivost u vodi 1:1, a PAM-2 do 4%, to je on mnogo pogodniji za eksperimentisanje od PAM-2, naročito kad se žele primeniti visoke doze oksima.

Rad je izvršen uz saradnju sanitetskih tehničara: san. kapetana Zorice Burić, voj. sl. IX. kl. Mirka Sredojevića, Verice Kavaje, Mile Jovičević, Sunčice Milenković i Luke Kikanovića.

Literatura

1. Binenfeld Z., Vojno sanit. pregled 16, (1959) 915.
2. Vojvodić V., Vojno sanit. pregled, u štampi.
3. Vojvodić V., Grbeša B., Vojno sanit. pregled, u štampi.

4. *Creasy N. H., Green A. L.*, J. Pharm. Pharmacol. 11, (1959) 485-90.
5. *Anon*, Lancet 2, (1960) 201-2.
6. *Celice J., Fournel J., Hilion P., Barthelme P., Roger K.*, Arch. Mal. Prof. 22, (1961) 108-19.
7. *O Leary F. J., Kunkel A. M., Jones A. M.*, J. Pharmacol. Exp. Therap. 132, (1961) 50.
8. *Lehmann A. R., Nicholls M. E.*, Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 104, (1960) 550.
9. *Vojvodić V., Grbeša B., Stevanović M., Binenfeld Z., Gazivoda N., Baryla K., Božić V.*, Voj. sanit. pregled 17, (1960) 1167.
10. *Vedeneva V. I.*, Tr. Leningrad Sanitarnogig. Med. Inst. 57, (1961), 108-9.
11. *Chuganova L. V.*, Kagan Med. Zhur. (1959) 678-9.
12. *Wilson I. B., Ginsburg S.*, Arch. Biochem. Biophys. 54 (1955) 569.
13. *Baryla K., Binenfeld, Z., Božić V., Stevanović M., Vojvodić V.*, Vojno sanit. pregled 16, (1959) 594.
14. *Thompson W. R.*: Bact. Rev. 11, (1947) 115.
15. *Stevanović M., Jović R.*, Vojno sanit. pregled 16, (1959) 782.
16. *Stevanović M.*, Disertacija, Farmaceutski fakultet Beograd, 1959.
17. *Vojvodić V., Binenfeld Z.*, Vojno sanit. pregled, u štampi.

Summary

THERAPEUTIC EFFECT OF PAM-2 Cl ON ARMIN POISONED MICE

PAM-2 Cl (pyridine-2-aldoxime methyl chloride) was obtained by allowing the solution of PAM-2 (pyridine-2-aldoxime methyl iodide) to pass through the anion exchanger Duolit A-30 or by boiling a saturated PAM-2 solution with AgCl. The yield was 35-50%, m. p. 218-220° C (uncor.), solubility in water 1:1.

The concentration of 1.10^{-3} M PAM-2 Cl produces a 25% inhibition of the rabbit's plasma and erythrocyte ChE. The concentration of 1.10^{-4} PAM-2 Cl produces, in an hour, 80% reactivation of the same enzymes inhibited by armin (ethyl-p-nitrophenyl ethylphosphonate). The same results were obtained with PAM-2. The protective effect of PAM-2 Cl on the mice poisoned by armin is equal to that of PAM-2 regarding both the dose and the time of application.

*Institute of Toxicology of the Military Medicine
Academy, Belgrade*

*Received for publication
December 27, 1961.*