

PRILOG TOKSIKOLOGIJI I FARMAKOLOGIJI
FOSFAMIDONA
(2- HLOR-2-DIETILKARBAMOIL-
1-METILVINIL DIMETILFOSFATA)*

M. P. MILOŠEVIĆ, M. TERZIĆ i V. VOJNOVIĆ

Farmakološki institut Medicinskog fakulteta, Beograd

(Primitljeno 10. III. 1961.)

Fosfamidon izaziva tipične simptome otrovanja antiholinesterazama. Subletalne doze fosfamidona proizvode kod miševa i štakora značajnu ali relativno kratkotrajnu inhibiciju kolinesteraze u krvi i mozgu. Antiholinesteraznom dejstvu fosfamidona može se pripisati i najveći broj njegovih farmakoloških efekata na anestetisanim životinjama i izolovanim organima. Istraženo je terapeutsko dejstvo atropina i TMB-4, danih odvojeno ili zajedno, na životinjama otrovanim fosfamidonom. Utvrđeno je da je njihovo terapeutsko dejstvo mnogo jače kada se apliciraju simultano nego kad se daju odvojeno.

Zbog svojih specifičnih osobina organofosforni insekticidi (paration i drugi) zauzimaju u poslednje vreme sve značajnije mesto među sredstvima za zaštitu bilja (*Stanković i sarad.*, 1961.). Nažalost, najveći broj ovih jedinjenja je otrovan ne samo za biljne štetočine nego i za čoveka, pa je razumljivo da se uporedo s povećanjem njihove potrošnje povećava i broj smrtonosnih trovanja kod ljudi koji rade sa ovim supstancijama (*Milošević*, 1961). U novije vreme sintetizovan je stoga niz novih organofosfornih insekticida za koje se često tvrdi da su u toksikološkom pogledu povoljniji od parationa. Jedan od takvih je i fosfamidon (2-klor-2-dietilkarbamoil-1-metilvinil dimetilfosfat) koji se u posljednje vreme široko koristi i u našoj zemlji kao tzv. »sistemni« insekticid.

Prema prvim (nepreciznim) podacima koje navodi *Bachmann* (1960), toksičnost fosfamidona je kod raznih životinjskih vrsta pri intravenskoj aplikaciji 5 do 8 puta manja u poređenju s parationom, dok

* Rezultati ovog rada saopšteni su na II kongresnom sastanku Jugoslovenskog društva za fiziologiju, Beograd, juni 1961.

MATERIJAL I METODE

U svim ogleđima upotrebljen je čisti (100%) fosfamidon pripravljen u istraživačkim laboratorijima firme CIBA u Bazelu. U čistom obliku fosfamidon je slabo žućkasto ulje, bez naročitođ mirisa. Odlikuje se neznatnom isparljivošću, a praktički se neogranično meša sa vodom, alkoholom, eterom, esterima, ketonima i aromatičkim ugljikovodonicima. Vodeni rastvori fosfamidona su relativno postojani u neutralnoj i slabo kiselođ sredini, dok se u alkalnoj sredini brzo razlađu.

Akutna toksičnost fosfamidona ispitivana je na belim miševima oba pola (18–24 g), pacovima (150–220 g), na zamorčadi (200–350 g) i zečevima (2,5–3,0 kg). Sveže pripravljene vodeni rastvori fosfamidona aplikovani su oralno (pomoću gumene sonde) ili su ubrizgavani intravenski (u repnu venu), odnosno intraperitonealno. U svim slučajevima količina rastvora iznosila je 0,01 ml/g za miša, 0,005 ml/g za pacova i 1 ml/kg za zamorče i zeca. Procent uginulih životinja određivan je 24 sata posle aplikacije fosfamidona. Vrednosti za LD₅₀ i njihove standardne greške određivane su grafički metodom koju su opisali *Miller i Tainter* (1944).

U eksperimentima u kojima je ispitivano antidotno dejstvo atropina i oksima, ove supstancije su ubrizgavane intraperitonealno 10 minuta, odnosno neposredno pre intravenske injekcije fosfamidona. Atropin sulfat i N, N¹-trimetilen-bis-(4-formilpiridin bromid) dioksim (TMB-4) rastvoreni su u destilovanođ vodi neposredno pre početka ogleđa.

Farmakološki efekti ispitivani su na odraslim mačkama (2,5–3,2 kg) anestetisanim eterom i hloralozom (80 mg/kg), kao i na pacovima u uretanskođ narkozi (0,7 ml 25% rastvora na 100 g telesne težine, supkutano). U oba slučaja arterijski pritisak je registrovan kimografski preko kanile stavljene u karotidnu arteriju. Kao antikoagulantno sredstvo upotrebljen je heparin. Disanje (kod mačke) je registrovano pomoću Marreyevog doboša povezanog sa trahealnom kanilom. Rastvori fosfamidona ubrizgavani su u femoralnu venu konstantnom brzinom (2 mg/kg/min) pomoću aparata za infuziju. Izolovano srce i duodenum zeca, kao i izolovani m. rectus abdominis žabe, spremljeni su prema standardnim farmakološkim metodama. Kontraksije m. massetera kod anestetisanog pacova izazivane su kvadratnim impulsima preko elektrođa zabodenih u mišić. Pokreti donje vilice registrovani su kimografski.

Aktivnost holinesteraze u krvi i mozgu miša određivana je elektrometrijski prema Michelovoj metodi, koju su modifikovali *Stevanović i Jović* (1959). Rezultati su izraženi kao procent normalnih vrednosti dobijenih na više od 100 miševa.

REZULTATI

Akutna toksičnost

U tablici I iznete su vrednosti za LD₅₀ i njihove standardne greške dobijene pri raznim putevima aplikacije fosfamidona kod miša, pacova, zamorčeta i zeca.

Tabl. I

Akutna toksičnost fosfamidona kod raznih životinjskih vrsta

Vrsta	Način aplikacije	LD ₅₀ mg/kg	S. E. mg/kg	Broj životinja
Miš	Oral.	9,9	1,2	34
Miš	I. P.	4,8	0,3	35
Miš	I. V.	4,5	0,2	42
Pacov	Oral.	15,9	1,5	20
Pacov	I. V.	4,3	0,3	28
Zamorče	I. P.	28,0	5,9	16
Zec	Oral.	20,0	(minim. LD)	10

Kao što se iz ove tablice vidi, fosfamidon spada u grupu organofosfor-nih insekticida koji su toksični za sisare, mada osetljivost pojedinih vrsta prema toksičnom dejstvu fosfamidona znatno varira. Miš pokazuje veću osetljivost od pacova, dok su zamorče i zec znatno otporniji i podnose veće toksične doze od miša.

Pored razlika koje postoje u pogledu osetljivosti pojedinih vrsta, čini se, bar kod miša, da postoje i znatne razlike u osetljivosti s obzirom na pol. Vrednosti za LD₅₀ fosfamidona kod miševa, mužjaka i ženki, pri potkožnoj i intraperitonealnoj aplikaciji, navedene u tablici II, pokazuju da je fosfamidon nešto toksičniji za mužjake nego za ženke. Slične razlike zapažene su i kod drugih organofosfor-nih jedinjenja.

Tabl. II

Toksičnost fosfamidona kod miševa, mužjaka i ženki. (Za svaku LD₅₀ upotrebljeno je 30 životinja.)

Način aplikacije	LD ₅₀ (mg/kg)		P
	mužjaci	ženke	
Supkutano	4.3 ± 0.2	5.0 ± 0.2	< 0.05
Intraperitonealno	3.2 ± 0.1	4.5 ± 0.1	< 0.05

Simptomatologija

Znaci trovanja kod miša, pacova, zamorčeta i zeca su slični, nezavisno od načina aplikacije, i čine tipičnu sliku trovanja organofosfornim supstancijama. Oni se ispoljavaju u vidu fascikulacija koje se prvo pojavljuju na ušima i mišićima glave, a zatim postepeno zahvataju celokupnu muskulaturu, prouzrokujući tremor celog tela i inkoordinaciju mišića. Ovim, toliko karakterističnim znacima pridružuje se i obilna salivacija i suzenje, a kod pacova i naročito upadljiva pojava »krvavih« suza.

Najizrazitiji znak, koji dominira u kliničkoj slici trovanja, je teška dispneja. U stadijumu asfiksije nastupaju violentni, pretežno tonični grčevi, posle čega brzo dolazi do smrti, kao rezultata prestanka disanja. Posle doza koje odgovaraju 50%-letalnoj dozi, smrt nastupa u toku desetaka do 30 minuta. Kod izvesnog broja životinja, međutim, do smrti dolazi tek posle nekoliko časova. Za to vreme postoji izrazita prostracija i atonija mišića, pri čemu životinje tromo reaguju na spoljne nadražaje (štipanje repa, na primer, ne prouzrokuje uobičajene odbrambene reakcije).

Inhibicija holinesteraze

Značajna inhibicija enzimske aktivnosti u krvi i mozgu miša zapaža se već kratko vreme posle jednokratnog ubrizgavanja srazmerno malih doza fosfamidona ($1/5-1/2 LD_{50}$). Aktivnost holinesteraze u mozgu je jače deprimirana nego u krvi. Posle doza koje odgovaraju $1/2 LD_{50}$, aktivnost holinesteraze vraća se približno na početni nivo već posle 12 časova (Tabl. III). Međutim, uprkos značajnom smanjenju aktivnosti holinesteraze, kod tretiranih životinja nije zapažena pojava tipičnih simptoma trovanja.

Tabl. III

Aktivnost holinesteraze u krvi i mozgu miša posle jednokratnog ubrizgavanja fosfamidona ($1/2 LD_{50}$). (srednje vrednosti od 2 miša)

Vreme posle injekcije	% normalne aktivnosti		Simptomi
	krv	mozak	
15 min.	44	40	—
30 min.	38	45	—
1 sat	49	42	—
2 sat	71	48	—
4 sat	76	52	—
8 sat	95	85	—
12 sat	96	89	—
24 sat	100	95	—

Farmakološki efekti

A. Eksperimenti in vivo

Kod anestezirane mačke intravenska infuzija fosfamidona (2 mg/kg/min) prouzrokuje postepeno sniženje krvnog pritiska, kome katkad pretihodi neznatna kratkotrajna hipertenzija. Pad krvnog pritiska praćen je značajnim usporjenjem srčanog rada. Disanje je takođe deprimirano, što se ispoljava usporjenjem ritma i površnim respiracijama, sa povremenim snažnim ekspiratornim pokretima grudnog koša. Tipičan kimoografski trase koji pokazuje ove promene prikazan je na sl. 1.

Kod pacova, intravenska injekcija subletalnih doza fosfamidona prouzrokuje postepeno, ali dugotrajno podizanje krvnog pritiska. Sličan efekt kod pacova zapažen je i posle injekcije drugih alkilfosfata koji prodiru u mozak (*Dirnhuber i Cullumbine, 1955*). Hipertenzivni efekt fosfamidona kod pacova može se suzbiti srazmerno malim dozama atropina, bilo da se ovaj ubrizga pre injekcije fosfamidona, bilo da se aplikuje u trenutku kad se krvni pritisak stabilizuje na višem nivou (Sl. 2).

Zanimljivo je, međutim, da ni u dozama koje odgovaraju LD₅₀, fosfamidon kod pacova nema uticaja na visinu kontrakcija m. massetera izazvanih električnim draženjem.

Ukapan u oko zeca u koncentraciji 1 : 1000, fosfamidon ne prouzrokuje suženje zenice, niti izaziva lokalne nadražajne efekte. Mioza se, međutim, redovno zapaža posle oralne aplikacije efikasnih doza fosfamidona.

B. Eksperimenti in vitro

Na izolovanom srcu zeca fosfamidon smanjuje amplitude kontrakcija i prouzrokuje značajno usporjenje frekvencije srčanog rada. Ovaj efekt zapaža se tek posle doza većih od 0,2 do 0,5 mg (ubrizganih direktno u gumenno crevo kojim perfuziona tečnost dotiče u srce). Depresivno dejstvo fosfamidona na srcu može se samo delimično blokirati atropinom, što ukazuje da je ovaj efekt verovatno nespecifičnog karaktera (Sl. 3).

Na izolovanom duodenumu zeca, fosfamidon, u koncentraciji od 5–10 µg/ml, prouzrokuje snažno povišenje tonusa i povećanje amplituda ritmičkih pokreta creva. Ovi efekti su reverzibilni i mogu se sprečiti malim dozama atropina (Sl. 4). Velike doze fosfamidona deprimiraju tonus i ritmičku aktivnost izolovanog creva zeca.

Čak i u velikim koncentracijama (1 mg/ml) fosfamidon ne prouzrokuje kontrakciju izolovanog m. rectus abdominis žabe i nije u stanju da potencira kontrakcije mišića izazvane acetilholinom.

Antidotno dejstvo atropina i TMB-4

Naša ranija istraživanja su pokazala da oksimi, PAM-2 i TMB-4, efikasno štite miša protiv višestruke letalne doze fosfamidona (*Milošević, Terzić i Uojvodić, 1961*). Pošto se TMB-4 pokazao efikasniji od

PAM-2, naročito u kombinaciji sa atropinom, u ovom radu ispitivali smo samo zaštitno dejstvo TMB-4 kod pacova. Rezultati ovih oglada prikazani su delimično u tabl. IV.

Tabl. IV

Zaštitno dejstvo atropina i TMB-4 kod pacova otrovanih letalnim dozama fosfamidona

Atropin mg/kg	TMB-4 mg/kg	Fosfamidon (multipl LD ₅₀)	Procent preživelih*
5	0	8	0
10	0	8	0
0	15	8	56
10	15	8	100
10	15	12	100
10	15	24	100
10	15	36	50

* 6 do 10 životinja u grupi.

Atropin u dozi od 10 mg/kg uspešno štiti sve životinje otrovane dozom 6 puta većom od LD₅₀ fosfamidona. (U našim ogledima ova doza fosfamidona iznosila je 5 mg/kg). Ako se LD₅₀ fosfamidona poveća osam puta, ista doza atropina nema protektivnog dejstva, dok 15 mg/kg TMB-4 još uvek štiti 56% otrovanih životinja. Kombinacija TMB-4 i atropina pruža, međutim, daleko bolju zaštitu nego što se postiže ako se bilo koji od ova dva antidota primeni pojedinačno. Ovakvom kombinacijom potpuna (100%) zaštita postiže se protiv 24-struke LD₅₀ fosfamidona.

Zanimljivo je napomenuti da TMB-4 nema značajnijeg dejstva na jačinu simptoma trovanja, iako uspešno štiti otrovane životinje od letalnog dejstva fosfamidona. To se naročito odnosi na muskularne fascikulacije koje se vide kod netretiranih (uginulih) životinja, kao i kod životinja tretiranih TMB-om, koje su preživele. Vredno je pomenuti da kod tretiranih životinja nisu zapažene konvulzije. Međutim, teško je zaključiti da li se to može pripisati dejstvu TMB-4, jer se konvulzije ne javljaju ni kod netretiranih životinja, koje ne podlegnu trovanju.

Reaktivacija holinesteraze in vivo

Da bismo videli da li TMB-4 in vivo reaktivira holinesterazu inhibiranu fosfamidonom izveli smo sledeći ogled: pacovima je ubrizgano u repnu venu 2 mg/kg fosfamidona i, istovremeno, 25 mg/kg TMB-4 intraperitonealno. Petnaest i 60 minuta posle injekcije životinje su ubijene, a odmah zatim merena je aktivnost holinesteraze u mozgu i celokupnoj krvi. Dobijene vrednosti su upoređivane sa vrednostima dobi-

jenim kod kontrolnih životinja (tretiranih samo fosfamidonom), koje su ubijane u istim vremenskim razmacima kao i tretirane životinje. Rezultati ovog oglada izneti su u Tabl. V. Kao što se vidi, aktivnost kolinersteraze u krvi i mozgu tretiranih životinja bila je približno ista kao i kod kontrolnih životinja. To nesumnjivo pokazuje da TMB-4 nema značajnijeg dejstva na stepen inhibicije holinesteraze kod životinja otrovanih fosfamidonom.

Tabl. V

Aktivnost holinesteraze u krvi i u mozgu pacova otrovanih fosfamidonom (2 mg/kg i. v.) i tretiranih TMB-4 (25 mg/kg i. p.). Brojevi označuju srednje vrednosti (\pm S. E.) za 4-6 životinja.

Tretman	Min. posle injekcije	Procent normalne aktivnosti holinesteraze	
		krv	mozak
Fosfamidon	15	29.9 + 5.1	41.2 + 4.8
Fosfamidon+TMB-4	15	29.3 + 6.8	45.2 + 3.3
Fosfamidon	60	23.6 + 4.7	44.0 + 4.7
Fosfamidon+TMB-4		23.0 + 5.1	42.3 + 6.2

DISKUSIJA

Upoređivanje LD₅₀ fosfamidona koje smo našli kod miša i pacova sa vrednostima koje se u literaturi pominju za druge organofosforne insekticide, pokazuje da ovo jedinjenje dolazi u grupu relativno toksičnih insekticida, kao što su paration, šradan, sistoks i dr. U tom pogledu, rezultati naših ispitivanja slažu se uglavnom sa podacima koje navode *Jaques i Bein* (1961).

Značajno je napomenuti da kod miša i pacova ne postoje znatnije razlike između oralne LD₅₀ i vrednosti dobijenih pri parenteralnoj aplikaciji, što nesumnjivo ukazuje da se fosfamidon kod ovih vrsta dobro resorbuje iz digestivnog trakta. Štaviše, može se reći da ne postoje ni znatnije razlike u toksičnosti fosfamidona posle potkožne, intraperitonealne i intravenske injekcije. *Holtz i Westermann* (1959) su, međutim, pokazali da se pri različitim putevima aplikacije mogu očekivati značajne razlike u pogledu toksičnosti, zavisno od promena koje pojedini alkilfosfati pretrpe u jetri. Ovo se u prvom redu odnosi na tzv. »indirektne« inhibitore koji in vitro imaju vrlo slabo antiholinesterazno dejstvo i tek se u organizmu pretvaraju u aktivne inhibitore holinesteraze (*O'Brien*, 1961).

Fosfamidon in vitro inhibira kako pravu, specifičnu holinesterazu (mozga pacova), tako i nespecifičnu holinesterazu krvnog seruma konja (*Jaques i Bein*, 1961). Vrednosti koje ovi autori navode za I₅₀ fosfami-

dona, upoređene sa analognim vrednostima koje su nađene za druge organofosfate (v. Tabl. VI), pokazuju da je fosfamidon relativno slab inhibitor holinesteraze in vitro. Međutim, direktno merenje aktivnosti holinesteraze u krvi i mozgu miša i pacova pokazuje da ovaj insekticid ima jako i srazmerno brzo antiholinesterazno dejstvo in vivo (v. Tabl. III i V). Ova nejednakost između antiholinesteraznog dejstva in vitro i in vivo zapažena je i kod drugih organofosfata i objašnjava se delovanjem različitih faktora (*Holmstedt*, 1959).

Tabl. VI

Molarne koncentracije (I_{50}) nekih alkilfosfata, koje in vitro inhibiraju aktivnost kolinesteraze mozga pacova za 50%.

Alkilfosfat	I_{50} (Mol. konc.)	Autor
TEPP	$4,0 \cdot 10^{-6}$	Mangun i Du Bois (1947)
Paraoksan	$0,8 \cdot 10^{-6}$	Wirth, 1949
Sistoks	$1,5 \cdot 10^{-7}$	Wirth, 1953
Paration	$1,2 \cdot 10^{-6}$	Wirth, 1949
Fosfamidon	$2,3 \cdot 10^{-4}$	Jaques i Bein (1961)
Malation	$1,0 \cdot 10^{-3}$	Du Bois i sarad. (1953)

Značajno je, međutim, da inhibicija holinesteraze u mozgu i krvi miša posle jednokratne injekcije srazmerno velike doze fosfamidona ($1/2 LD_{50}$) ne traje dugo, kao što je to slučaj sa nekim drugim dimetilfosfatnim inhibitorima (*Vandekar i Heath*, 1957). Relativno kratkotrajna inhibicija holinesteraze je nesumnjivo posledica brzog razlaganja fosfamidona u organizmu, ali je verovatno da i spontana reaktivacija inhibirane holinesteraze ima izvesnog značaja u tome (*Aldridge*, 1953; *Burgen i Hobbiger*, 1951). Brzim razlaganjem fosfamidona u organizmu može se objasniti i činjenica da hronična administracija fosfamidona ne prouzrokuje kod pacova nikakvih kumulativnih efekata ukoliko dnevna doza nije veća od $1/10 LD_{90-100}$ (*Jaques i Bein*, 1961). Sa praktičkog gledišta ovo je od nesumnjivog značaja za procenjivanje opasnosti po zdravlje koje mogu proizići kod osoba koje svakodnevno rade sa fosfamidonom.

Antiholinesteraznim dejstvom fosfamidona može se objasniti i najveći broj njegovih farmakoloških efekata na anesteziranim životinjama i izolovanim organima. To potvrđuje i činjenica da se neki od ovih efekata (tzv. »muskarinska« dejstva) mogu blokirati atropinom. Sa praktičkog gledišta važno je da ovaj alkaloid štiti znatan procent životinja otrovanih letalnim dozama fosfamidona, mada je stepen zaštite srazmerno mali, što je razumljivo kad se ima u vidu da atropin ne deluje na neuro-muskularni blok koji prouzrokuje organofosforne anti-

holinesteraze. Čini se, međutim, da je neuro-muskularni blok (paraliza dijafragme!) najvažniji neposredni uzrok smrti kod pacova i miša (*Lands i sarad.*, 1955; *Schaumann*, 1960).

Značajnu dopunu atropinu predstavljaju oksimi, PAM-2 i TMB-4, koji, u kombinaciji sa ovim alkaloidom, pokazuju visok stepen protektivnog dejstva kod životinja otrovanih fosfamidonom (*Jaques i Bein*, 1961; *Milošević, Terzić i Ujvodić*, 1961). Uprkos tome, TMB-4 nije u stanju da reaktivira fosfamidonom inhibiranu holinesterazu u mozgu pacova, jer, verovatno, kao dikvaternarno jedinjenje, ne prodire u dovoljnoj koncentraciji kroz hemato-encefaličnu barijeru u mozak (*Hobbiger i Sadler*, 1959). Međutim, reaktivacija inhibirane holinesteraze ne postoji ni u krvi otrovanih životinja, zaštićenih TMB-om. Nivo enzimske aktivnosti u krvi ne mora, razume se, da odražava stvarni stepen aktivnosti holinesteraze na čvornim tačkama u organizmu, i stoga nepostojanje reaktivacije u krvi ne mora da znači da se ona ne odigrava i u dijafragmi i drugim respiratornim mišićima. To se, međutim, ne čini verovatno, jer TMB-4 ne sprečava fascikulacije skeletnih mišića koje su karakteristične za perifernu inhibiciju holinesteraze.

Sanderson i Edson (1959) su, takođe, zapazili da TMB-4 smanjuje smrtnost pacova otrovanih jednim drugim dimetilfosfatnim inhibitorom (metilparationom), ne delujući na pojavu simptoma trovanja i stepen inhibicije holinesteraze u krvi i mozgu. To jasno pokazuje da ne postoji korelacija između protektivnog dejstva TMB-4 i njegove reaktivatorske aktivnosti. Do istog zaključka došao je i *Fournel* (1957) ispitujući dejstvo PAM-2 kod životinja otrovanih metasisstoksom i endotionom. Zanimljivo je da sva ova jedinjenja, kao i fosfamidon, dolaze u grupu dimetil-fosfatnih estera za koje je karakteristično da stvaraju enzimski kompleks koji srazmerno brzo prelazi u stadijum ireverzibilne inhibicije (*Hobbiger*, 1956; *Vandekar i Heath*, 1957), u kome je reaktivatorsko dejstvo oksima praktički svedeno na nulu (*Davies i Green*, 1956; *Hobbiger*, 1957). U ogleđima sa tiolskim izomerima metasisstoksa i njegovim derivatima, *Vandekar i Heath* (1957) su, štaviše, našli da trajni ireverzibilni stadijum inhibicije nastaje već posle jedne jedine intravenske injekcije tih inhibitora, kao posledica dugotrajnog perzistiranja inhibitora u organizmu.

Očigledno je, dakle, da TMB-4 nema značajnijeg delovanja na reaktivaciju dimetilfosforilirane holinesteraze i stoga se za objašnjenje njegovog protektivnog dejstva kod životinja otrovanih fosfamidonom moraju uzeti u obzir druge mogućnosti koje, teorijski, dolaze u obzir (*Holmstedt*, 1959). No, bez obzira koji je mehanizam protektivnog dejstva u pitanju, činjenica da ovaj oksim pruža efikasnu zaštitu kod otrovanih životinja, daje nadu da se njegovo spasonosno dejstvo može očekivati i kod ljudi otrovanih fosfamidonom.

Zahvaljujemo Komisiji za medicinsko-naučna istraživanja, Beograd, koja je omogućila ovaj rad, Dr Mg. ph. Z. Binenfeldu, iz Instituta za toksikologiju VMA, za sintezu TMB-4, kao i firmi CIBA A. G., Basel, koja nam je stavila na raspolaganje čisti fosfamidon.

ZAKLJUČAK

Fosfamidon (2-klor-2-dietilkarbamoil-1-metilvinil dimetil-fosfat) spada u grupu organofosfornih insekticida koji su toksični za sisare. Akutno trovanje fosfamidonom kod životinja manifestuje se nizom »muskarinskih i »nikotinskih« efekata, tipičnih za dejstvo antiholinesteraznih supstancija. Smrt kod otrovanih životinja nastaje srazmerno brzo usled paralize disanja. Subletalne doze fosfamidona prouzrokuju kod miša i pacova značajnu, ali relativno kratkotrajnu inhibiciju holinesteraze u krvi i mozgu. Antiholinesteraznom dejstvu fosfamidona može se pripisati i najveći broj njegovih farmakoloških efekata na anestetisanim životinjama i izolovanim organima.

Atropin poništava »muskarinske« efekte fosfamidona i štiti znatan procent životinja otrovanih smrtnim dozama ovog insekticida. Trimetilen-bis-(4-formilpiridin bromid) dioksim (TMB-4) ima, također, značajno protektivno dejstvo, iako ne deluje na intenzitet i trajanje simptoma, i nema uticaja na stepen inhibicije holinesteraze u krvi i mozgu otrovanih životinja. Kombinacija atropina i TMB-4 pruža daleko veći stepen protektivnog dejstva nego bilo koji od ovih antidota, dat pojedinačno.

Literatura

- Aldridge, W. N. (1953): *Biochem. J.*, 54, 442.
 Bachmann, W. (1960): *Verhandl. d. IV int. Pflanzenschutz-Kongr., Hamburg 1957*, Bd. 2, 1153.
 Burgen, A. S. V. i Hobbiger, F. (1951): *Brit. J. Pharmacol.*, 6, 593.
 Davies, D. R. i Green, A. L. (1956): *Biochem. J.*, 63, 529.
 Dirnhuber, P. i Cullumbine, H. (1955): *Brit. J. Pharmacol.*, 10, 12.
 Dubois, K. P., Doull, J., Deroin, J. i Cummings, O. K. (1953): *A. M. A. Arch. indust. Hyg.*, 8, 350.
 Erdmann, W. D., Sakai, F. i Scheler, F. (1958): *Dtsch. med. Wschr.*, 83, 1359.
 Fournel, J. (1957): *C. R. Soc. Biol. (Paris)*, 151, 1373.
 Hobbiger, F. (1956): *Brit. J. Pharmacol.*, 11, 295.
 Hobbiger, F. (1957): *Brit. J. Pharmacol.*, 12, 438.
 Hobbiger, F. i Sadler, P. W. (1959): *Brit. J. Pharmacol.*, 14, 192.
 Holmstedt, B. (1959): *Pharmacol. Rev.*, 11, 567.
 Holtz, P. i Westermann, E. (1959): *Arch. exp. Path. Pharmacol.*, 237, 211.
 Jaques, R. i Bein, A. J. (1961): *Arch. Toxikologie*, 18, 316.
 Lands, A. M., Karczmar, A. G., Howard, J. W. i Arnold, A. (1955): *Pharmacol.*, 115, 185.
 Mangun, G. H. i Du Bois, K. P. (1947): cit. Salerno, P. R. i J. M. Coon, *J. Pharmacol.*, 95, 240, 1949.
 Miller, L. C. i Tainter, M. L. (1944): *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, 57, 261.

- Milošević, M. P., Terzić, M. i V. Vojvodić (1961): Arch. int. Pharmacodyn. 132, 180.
- Milošević, M. P. (1961): Med. Glasnik, 15, 177.
- Namba, T. i Hiraki, K. (1958): J. Am. Med. Ass., 166, 1834.
- O'Brien, R. D. (1960): Toxic Phosphorus Esters. New York.
- Sanderson, D. M. i Edson, E. F. (1959): J. Pharm. Pharmacol., 11, 721.
- Schaumann, W. (1960): Arch. exp. Path. Pharmacol., 239, 96.
- Stanković, A., Ostojić, N., Čutura, S., Lipovac, J. i S. Todorović (1961): Ref. na savetovanju o pesticidima, Opatija, januar, 1961.
- Stevanović, M. i R. Jović (1959): Voj. San. Pregled, 16, 782.
- Vandekar, M. i Heath, D. F. (1957): Biochem. J., 67, 202.
- Wirth, W. (1949): Arch. exp. Path. Pharmacol., 207, 547.
- Wirth, W. (1953): Arch. exp. Path. Pharmacol., 217, 144.

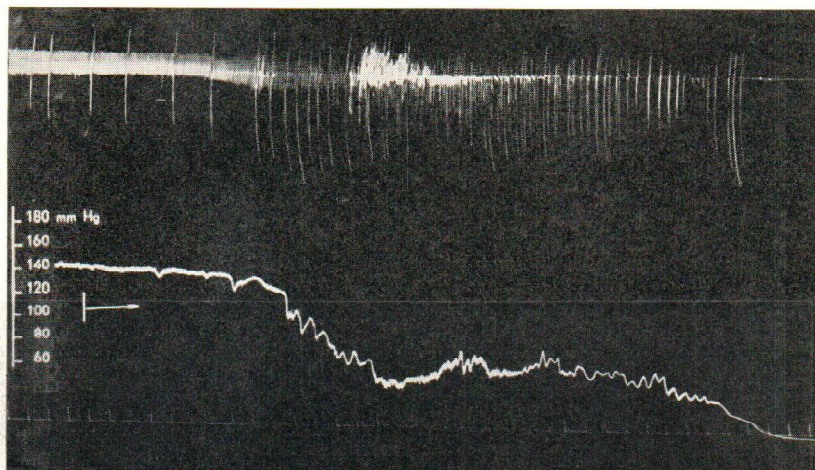
S u m m a r y

TOXICOLOGY AND PHARMACOLOGY OF
PHOSPHAMIDON

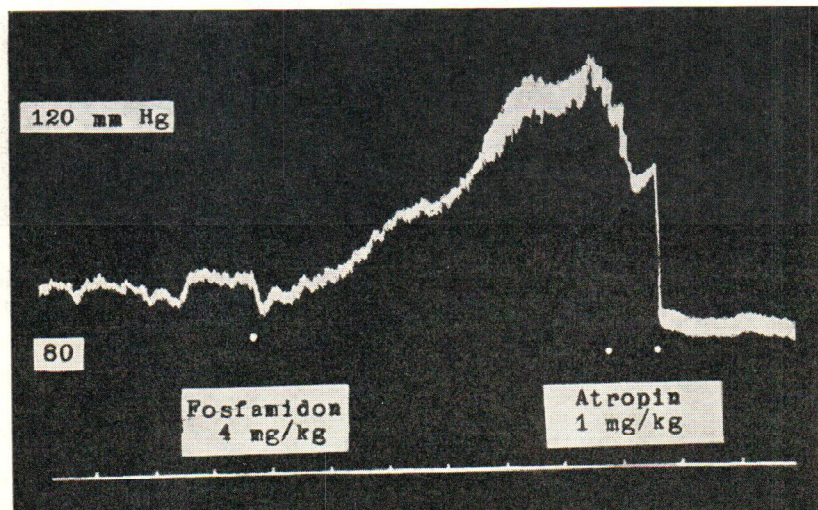
Phosphamidon produces typical symptoms of anticholinesterase poisoning. Sublethal doses of phosphamidon given to mice and rats produce a pronounced but comparatively short cholinesterase inhibition in the blood and brain. The highest number of the therapeutical and pharmacological effects of phosphamidon observed both on anaesthetized animals and isolated organs can be attributed to the anticholinesterase activity of phosphamidon. The therapeutic effect of atropine and TMB-4 is studied. When given simultaneously, their therapeutic effect is much higher than when given separately.

*Institute of Pharmacology,
Medical Faculty,
University of Belgrade,
Belgrade,*

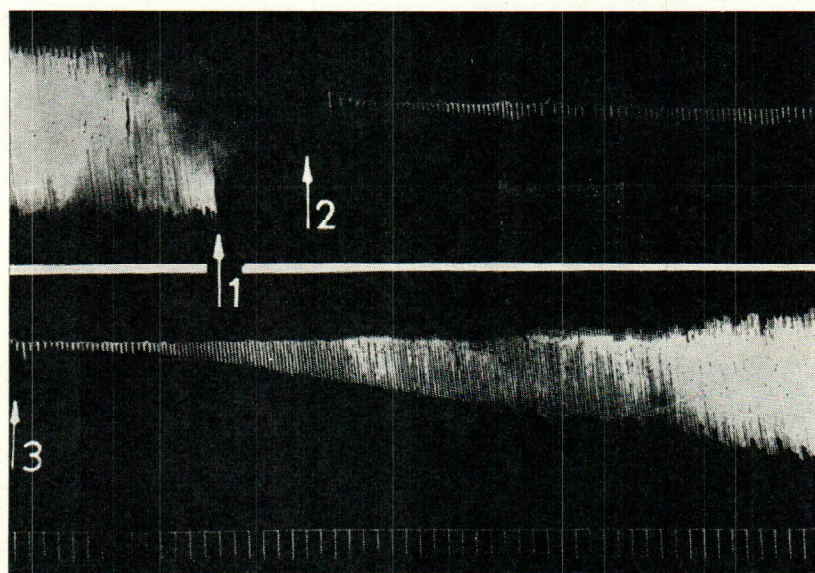
*Received for publication
March 10, 1961*



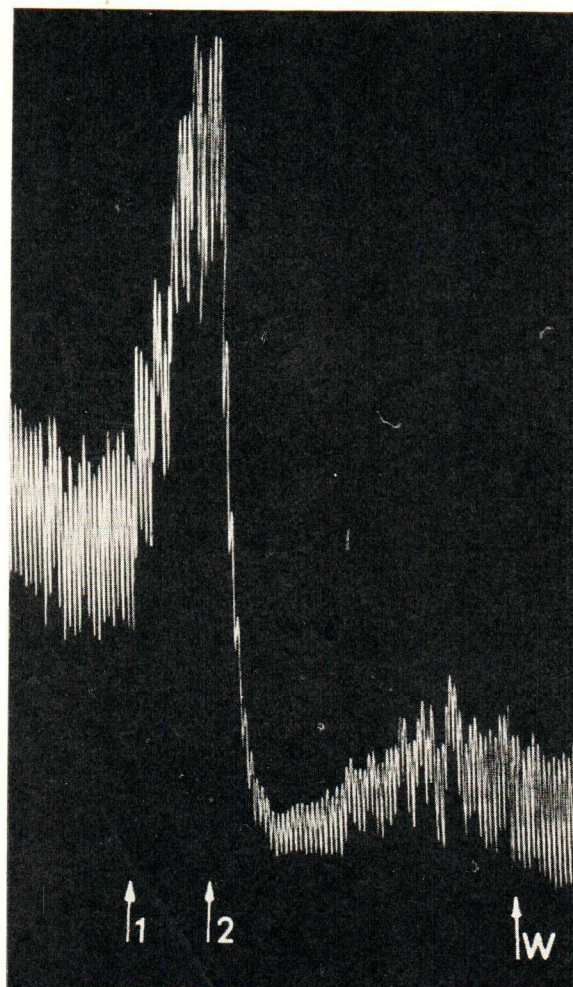
Sl. 1 Efekt fosfamidona na disanje i arterijski pritisak mačke anestetisane hloralozom. Strelica označuje početak infuzije fosfamidona (2mg/kg/min.). Vreme = 1 min.



Sl. 2 Pacov (182 g) u uretanskoj anesteziji. Dejstvo atropin sulfata (2×1 mg/kg) na povišenje arterijskog pritiska izazvanog fosfamidonom. Rastvori atropina i fosfamidona ubrizgani su u jugularnu venu. Vreme = 2.5 min.



Sl. 3 Izolovano srce zeca (preparat po Langendorfu). Kod 1 ubrizgano je u perfuzionu tečnost koja dotiče u srce 0,5 mg fosfamidona; kod 2 ubrizgan je atropin sulfat ($2 \times 0,1$ mg), a kod 3 TMB-4 (0.1 mg). Vreme = 15 sek.



Sl. 4 Izolovani duodenum zeca suspendovan u 20 ml oksigenovanog Krebsovog rastvora. Kod 1 dodano je 0,2 mg fosfamidona, a kod 2 atropin sulfat (0,1 mg). Kod W ispiranje kupatila.