

## MOŽNOSTI PŘÍPRAVY 1-(4-HYDROXYIMINOMETHYLPYRIDINIUM)-3-(4-KARBAMOYLPYRIDINIUM)-PROPAN DIBROMIDU

Jiří BIELAVSKÝ, Kamil KUČA, Jiří CABAL, Marcela BIELAVSKÁ  
Katedra toxikologie Vojenské lékařské akademie J. E. Purkyně, Hradec Králové

### Souhrn

Byla provedena syntéza a in vitro testování nového potenciálního reaktivátoru acetylcholinesterázy (AChE) – 1-(4-hydroxyiminomethylpyridinium)-3-(4-karbamoylpyridinium)-propan dibromidu. Reaktivace u AChE inhibované sarinem a VX je srovnatelná se standardním reaktivátorem HI-6, u tabunu je reaktivace účinnost lepší a u cyklosarinu je nedostatečná.

**Klíčová slova:** Acetylcholinesteráza; In vitro; Organofosfát; Oxim; Reaktivace; HI-6.

## Possibilities of 1-(4-Hydroxyiminomethylpyridinium)-3(4-Carbamoylpyridinium)-Propane Dibromide

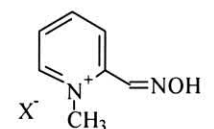
### Summary

Synthesis and in vitro testing of a new potential acetylcholinesterase (AChE) reactivator – 1-(4-hydroxyiminomethylpyridinium)-3-(4-carbamoylpyridinium)-propane dibromide have been carried out. Its reactivation efficacy to sarin-inhibited AChE and VX is comparable to that of the standard reactivator HI-6. Its reactivation efficacy to sarin is better than its efficacy to oxime HI-6 and its reactivation efficacy to cyclosarin is insufficient.

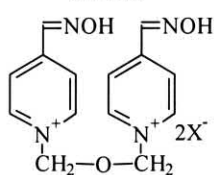
**Key words:** Acetylcholinesterase; In vitro; Organophosphate; Oxime; Reactivation; HI-6.

### Úvod

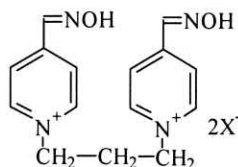
Organofosforové bojové chemické látky (sarin, soman, tabun, VX) inaktivují enzym acetylcholinesterázu (AChE) fosforylací či fosfonylací aktivní části tohoto enzymu (1, 2). Proces inhibice AChE je většinou závislý na chemické struktuře inhibitoru, zatímco reaktivace proces závisí jak na použitém inhibitoru, tak na struktuře reaktivátoru AChE. Do současnosti nejužívanějšími reaktivátory AChE byly – 2-PAM (pralidoxim) (3, 4, 5, 6), TMB-4 (trimedoxim) (7) toxogonin (obidoxim) (8) a látka HI-6 (9, 10, 11, 12).



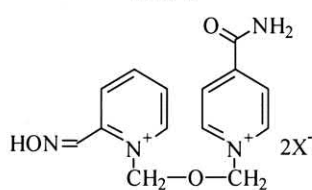
2-PAM



Toxogonin



TMB-4

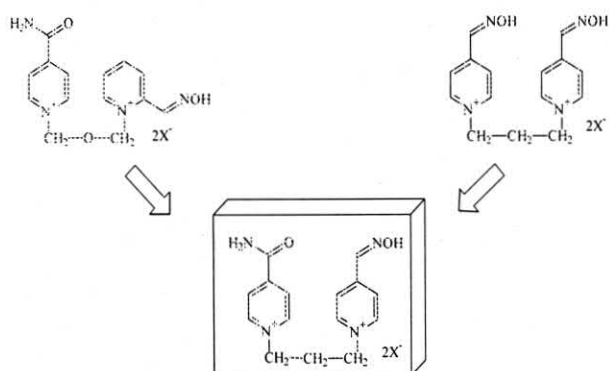


HI-6

Díky širokému spektru užívaných inhibitorů AChE žádný z dosud studovaných reaktivátorů AChE nereaktivoval enzym inhibovaný všemi organofosfáty optimálně. Proto se na všech pracovištích ve světě, která se zabývají touto problematikou, syntetizují stále nové a nové reaktivátory, které by mohly reaktivovat širší spektrum organofosforových inhibitorů.

### Cíl práce

Při terapii otrav bojovými organofosfáty se v poslední době nejvíce uplatňuje reaktivátor acetylcholinesterázy HI-6 [1-(2-hydroxyiminomethylpyridinium)-3-(4-karbamoylpyridinium)-2-oxapropan dichlorid] (9, 10, 11, 12). Jeho nevýhodou je nižší stabilita přičítaná oxapropanovému můstku. Starší reaktivátor TMB-4 [1,3-bis(4-hydroxyiminomethylpyridinium) propan dibromid] (7) tímto neduhem netrpí. Proto jsme se rozhodli syntetizovat dosud nepopsanou sloučeninu slučující aktivní 4-pyridinaldoximovou část reaktivátoru, která je součástí molekuly TMB-4, s kvarternizovaným isonikotinamidem, jenž je obsažen v látce HI-6, a ověřit její reaktivace účinnost.



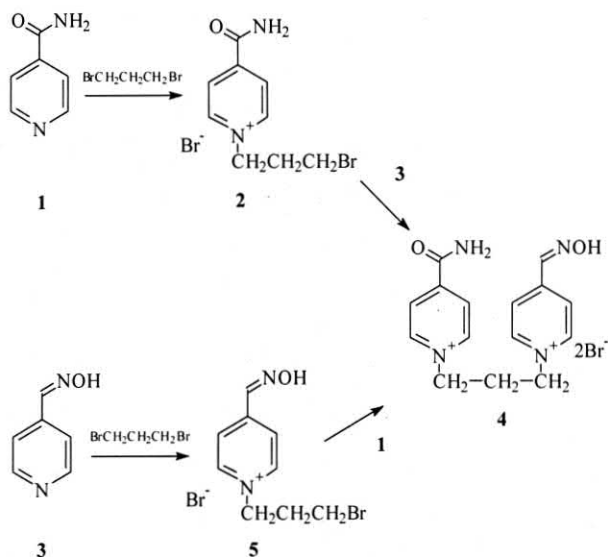
Tabulka I

| Reakce | Podmínky                             | Výtěžek % | Bod tání °C |
|--------|--------------------------------------|-----------|-------------|
| 1      | CH <sub>3</sub> CN,<br>70 °C, 40 h   | 73        | 179–182     |
| 2      | EtOH,<br>reflux, 36 h                | 72        | 214–217     |
| 3      | CHCl <sub>3</sub> ,<br>reflux, 144 h | 55        | 178–181,5   |
| 4      | DMFA<br>80 °C, 72 h                  | 34        | 205–210     |

## Experimentální část

### Syntetická část

Jak plyne ze struktury látky, existují dvě základní cesty její syntézy. První vychází z isonikotinamidu [1], který reakcí s pětinasobným nadbytkem 1,3-dibromopropanu poskytuje 1-(3-bromopropyl)-4-karbamoyl-pyridinium bromid [2] (reakce 1), jehož reakcí s 4-pyridinaldoximem [3] (reakce 2) vzniká konečný produkt [4]. Druhá reakční cesta zahrnuje reakci 1,3-dibromopropanu s 4-pyridinaldoximem [3] (reakce 3) a následně je vzniklým produktem [5] kvarternizován isonikotinamid [1] (reakce 4).



Srovnání obou cest je uvedeno v tabulce 1.

### Biochemická část

Reaktivní schopnost nově syntetizované látky 4 byla ověřena standardním testem s elektrometrickou instrumentací (13, 14). Jako zdroje AChE bylo

ve všech experimentech užito 10% homogenátu z krysích mozků.

Aktivita AChE byla měřena potenciostatikou titrací kyseliny octové uvolněné při reakci acetylcholinjodidu. Měření byla prováděna při pH 8, teplotě 25 °C a koncentraci reaktivátoru 10<sup>-3</sup> M. Jako inhibitorů bylo užito nervově paralytických látek – sarin (O-isopropylmethylfluorofosfonát), tabun (O-ethyl-dimethylamidokyanofosfát), cyklosarin (cyklohexylmethylfluorofosfonát) a látky VX (O-ethyl-S-/2-diisopropylaminoethyl-/methylthiofosfonát).

Schopnost studovaného oximu *in vitro* reaktivovat sarinem, tabunem, cyklosarinem a VX inhibovanou AChE je vyjádřena v procentech – sarin 33 %, tabun 10 %, cyklosarin 0 % a látka VX 70 %.

## Závěr

Při porovnání obou reakčních cest se jeví jako ideálnější postup vycházející z isonikotinamidu, jehož celkový výtěžek činí 52 %, zatímco výtěžek druhé reakční cesty vycházející z 4-pyridinaldoximu je pouhých 19 %. Ačkoli body tání finálního produktu 4 vzniklého odlišným syntetickým postupem nejsou totožné, identita produktu byla ověřena pomocí UV-VIS spektroskopie, IČ spektroskopie a HPLC.

Syntetizovanou látku je možno hodnotit díky biochemickým výsledkům jako středně účinný reaktivátor.

### Poděkování

Autoři děkují paní Martině Hrabínové a Ivaně Ježkové za odbornou spolupráci.

## Literatura

- ELLIN, RI. – WILLS, JH. *J. Pharm. Sci.*, 1964, vol. 53, 995.
- KRUPKA, RM. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 1965, vol. 19, 531.
- WILSON, IB. – GINSBURG, S. *Biochim. Biophys. Acta.*, 1955, vol. 18, 168.
- WILSON, IB. – GINSBURG, S. – MEILISCH, EK.

- J. Am. Chem. Soc.*, 1955, vol. 77, 4286.
5. GINSBURG, S. — WILSON, IB. *J. Am. Chem. Soc.*, 1957, vol. 79, 481.
  6. CHILDS, AF. — DAVIES, DR. — GREEN, AL. — RUTLAND, JP. *Brit. J. Pharmacol.*, 1955, vol. 10, 462.
  7. POZIOMEK, EJ. — HACKLEY, BE. — STEINBERG, GM. *J. Org. Chem.*, 1958, vol. 23, 714.
  8. LÜTTRINGHAUS, A. — HAGENDORN, I. *Arzneimittl. Forsch.*, 1964, vol. 14, 1.
  9. LÜTTRINGHAUS, A. — HAGENDORN, I. *Patent BRD 1190941*, 1960.
  10. HAGEDORN, I. *Patent 3852294*, 1974.
  11. HAGEDORN, I. *Patent 3773775*, 1973.
  12. CHRISTOVA, N., et al. *Patent Bul. 74036*, 1985.
  13. PATOČKA, J. — BIELAVSKÝ, J. *Collect. Czech. Chem. Commun.*, 1975, vol. 40, 1794.
  14. KASSA, J. — CABAL, J. *Hum. Exp. Tox.*, 1999, vol. 18, 560.
- Korespondence: Ing. Jiří Bielavský  
Katedra toxikologie  
Vojenská lékařská akademie J. E. Purkyně  
Třebešská 1575  
500 01 Hradec Králové  
e-mail: bielavsky@pmfhk.cz
- Do redakce došlo 18. 10. 2002
-