

TESTOVÁNÍ SCHOPNOSTI ZNÁMÝCH OXIMŮ (PRALIDOXIM, TRIMEDOXIM, HI-6, METHOXIM, OBIDOXIM) REAKTIVOVAT CHLORPYRIFOSEM INHIBOVANOU ACETYLCHOLINESTERÁZU *IN VITRO*

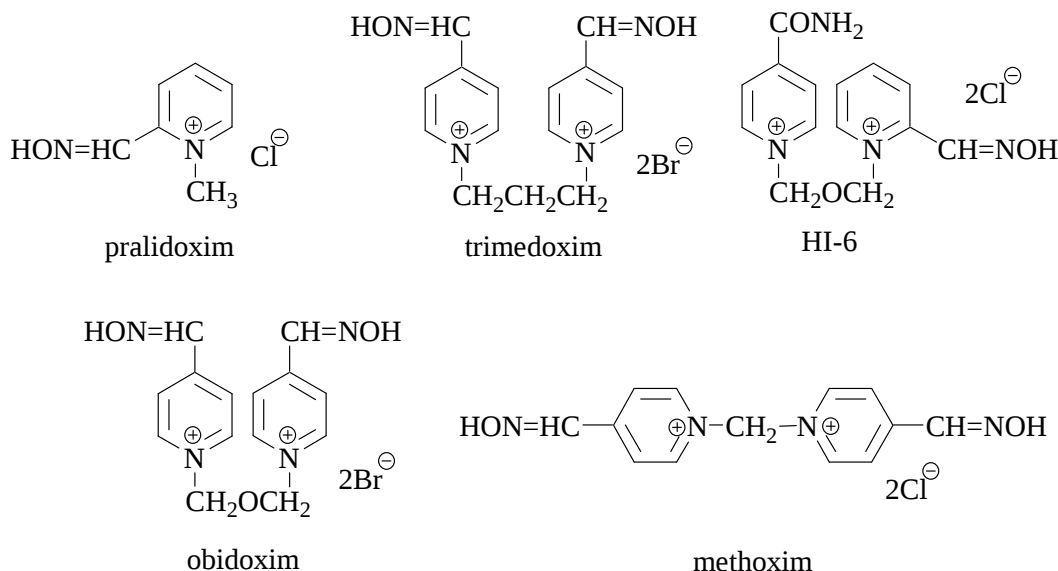
¹Mgr. Kamil MUSÍLEK, ²Ing. Kamil KUČA, ²Mgr. Daniel JUN, ¹doc. PharmDr. Martin DOLEŽAL, Ph.D., ²Martina HRABINOVÁ

¹Univerzita Karlova v Praze, katedra farmaceutické chemie a kontroly léčiv Farmaceutické fakulty v Hradci Králové

²Univerzity obrany, katedra toxikologie Fakulty vojenského zdravotnictví v Hradci Králové

Souhrn

Organofosforové sloučeniny (OF) se používají pro vojenské účely jako bojové chemické látky (nervově paralytické látky, např. tabun, sarin, soman, VX) (1) a jako insekticidy v zemědělství (2). Hrozba intoxikací těmito látkami neustále stoupá v souvislosti s rostoucí hrozbou teroristických útoků. Mezi nejrozšířenější látky používané pro zemědělské účely patří parathion (O,O-diethyl-O-(4-nitrofenyl)thiofosfát) a chlorpyrifos (O,O-diethyl-O-(3,5,6-trichlor-2-pyridyl)thiofosfát). Tyto látky stejně jako nervově paralytické látky (NPL) inhibují ireverzibilně enzym acetylcholinesterázu (AChE, EC 3.1.1.7) (3). Jejich toxický účinek je stejný jako u NPL založen na fosforylaci aktivního místa enzymu, kde se kovalentně váží na serinový hydroxyl (3, 4). Inhibicí AChE dochází k hyperstimulaci muskarinových a nikotinových receptorů nadbytkem acetylcholinu. Jako účinná antidota se při těchto intoxikacích užívají oximové reaktivátory ve spojení s atropinem (1). K nejčastěji používaným reaktivátorům AChE lze zařadit pralidoxim (2-PAM, 2-hydroxyiminomethyl-1-methylpyridinium chlorid), trimedoxim (TMB-4, 1,3-bis(4-hydroxyiminomethylpyridinium)propan dibromid), obidoxim (Toxogonin[®], 1,3-bis(4-hydroxyiminomethylpyridinium)-2-oxapropan dibromid), HI-6 (1-(2-hydroxyiminomethylpyridinium)-3-(4-karbamoylpyridinium)-2-oxapropan dichlorid) a methoxim (MMC, bis(4-hydroxyiminomethylpyridinium)methan dibromid) (schéma 1). Žádný z dosud známých reaktivátorů však není schopen uspokojivě reaktivovat AChE inhibovanou všemi typy OF (5).



Vzhledem k častému používání insekticid při ošetřování zemědělských plodin a možným intoxikacím osob, které s nimi pracují, je vývoj a výběr dostatečně účinných reaktivátorů AChE jako antidot OF velmi potřebný a důležitý. Cílem naší práce bylo testování reaktivační účinnosti pěti vybraných

reaktivátorů vůči chlorpyrifosem inhibované AChE *in vitro*. Vypočítané hodnoty (%) reaktivace chlorpyrifosem inhibované AChE pro dvě rozdílné koncentrace reaktivátoru (10^{-3} a 10^{-5} M) jsou uvedeny v tabulce 1. Vznikly aproximací dvou až tří nezávislých měření.

Tabulka 1

Reaktivální účinnost použitých reaktivátorů vůči chlorpyrifosem inhibované AChE

Reaktivátor	% (10^{-3} M)	% (10^{-5} M)
pralidoxim	38	4
methoxim	45	10
HI-6	20	11
obidoxim	63	35
trimedoxim	66	38

Z uvedených dat je zřejmé, že u obou testovaných koncentrací oximů (10^{-3} M, 10^{-5} M) byla dosažená reaktivální účinnost obidoximu a trimedoximu výrazně vyšší ve srovnání s oximy 2-PAM, MMC a HI-6. Reaktivální aktivita je při koncentraci 10^{-5} M u oximů 2-PAM, MMC a HI-6 téměř zanedbatelná. Pro další testování *in vivo* je vhodnější nižší koncentrace (10^{-5} M), vzhledem k menší pravděpodobnosti intoxikace pacienta vlastním reaktivátorem (1). Při této koncentraci se jeví jako nejvhodnější použití TMB-4 (35 % reaktivované AChE) a obidoximu (38 % reaktivované AChE).

Reaktivální aktivita zkoušených oximů vůči otrávám nervově paralytickými látkami se také značně liší. Jako nejvhodnější pro reaktivaci sarinem, somanem nebo VX inhibovanou AChE se jeví oxim HI-6, který však není vhodný při intoxikacích tabunem a pesticidy (1). Při testování byly použity sloučeniny různých struktur. Z výsledků jsou patrné některé shodné strukturální rysy reaktivátorů, které jsou vhodné pro reaktivaci chlorpyrifosem inhibované AChE. Sloučeniny biskvarterní (MMC, TMB-4, obidoxim) obvykle převyšují účinek sloučeniny monokvarterní (2-PAM). Látky nesoucí pouze jednu hydroxyiminomethylovou skupinu (2-PAM, HI-6) vykazují nižší aktivitu než látky obsahující dvě tyto skupiny. Hydroxyiminomethylová skupina umístěná v poloze 4 (TMB-4, obidoxim) na pyridiniovém jádru potencuje účinek reaktivátoru více než stejná skupina v poloze 2. Spojovací řetězec mezi pyridiniovými jádry obsahující 3 jednotky se jeví vhodnější než kratší spojovací řetězec (MMC).

Závěrem lze shrnout, že ne všechny známé reaktivátory AChE jsou schopny úspěšně *in vitro* reaktivovat chlorpyrifosem inhibovanou AChE při fyziologických koncentracích. Zatímco relativně vy-

soká reaktivální schopnost byla nalezena u trimedoximu a obidoximu, pralidoxim, methoxim a oxim HI-6 se jeví jako nevhodné reaktivátory chlorpyrifosem inhibované AChE. V budoucnosti by bylo vhodné potvrdit slibnou schopnost výše zmíněných oximů (obidoxim a trimedoxim) reaktivovat chlorpyrifosem inhibovanou AChE *in vivo*.

Poděkování

Autoři děkují Grantové agentuře Univerzity Karlovy za finanční pomoc formou grantu č. 302/2005/B-CH/FaF a MŠMT ČR za finanční pomoc formou grantu MSM 0021620822.

Literatura

- KASSA, J. Review of oximes in the antidotal treatment of poisoning by organophosphorus nerve agents. *J. Toxicol. Clin. Toxicol.*, 2002, vol. 40, no. 3, p. 803–816.
- KUČA, K. – CABAL, J. Nově vyvinuté oximy – K005, K033, K027, K048 a jejich schopnost reaktivovat látkou VX inhibovanou acetylcholinesterázu. *Zprav. voj. Farm.*, 2004, roč. 14, č. 1, s. 13–16.
- MARRS, TC. Organophosphate poisoning. *Pharmacol. Ther.*, 1993, vol. 58, no. 1, p. 51–66.
- KUČA, K. – PATOČKA, J. – CABAL, J. Reactivation of organophosphate inhibited acetylcholinesterase activity by α,ω -bis-(4-hydroxyiminomethylpyridinium)alkanes *in vitro*. *J. Appl. Biomed.*, 2003, vol. 1, no. 4, p. 207–211.
- KUČA, K. – BIELAVSKÝ, J. – CABAL, J. – BIELAVSKÁ, M. Synthesis of potential reactivator of acetylcholinesterase – 1-(4-hydroxyiminomethylpyridinium)-3-(carbamoylpyridinium)-propane dibromide. *Tetrahedron Lett.*, 2003, vol. 44, no. 15, p. 3123–3125.

Práce byla prezentována na 5. výroční konferenci odborné Společnosti vojenských lékařů, farmaceutů a veterinárních lékařů ČLS JEP pořádané ve dnech 21. až 22. září 2005 na Fakultě vojenského zdravotnictví v Hradci Králové.

Korespondence: Mgr. Kamil Musílek

Farmaceutická fakulta UK
Katedra farmaceutické chemie
a kontroly léčiv
Heyrovského 1203
500 05 Hradec Králové
e-mail: musilekk@faf.cuni.cz

Do redakce došlo 26. 9. 2005