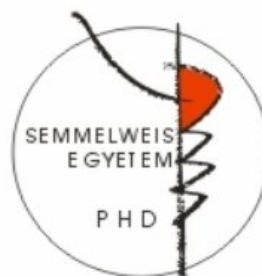


NYOLC ÚJ BISZKVATERNER K-OXIM IN VIVO HATÉKONYSÁGÁNAK ELEMZÉSE, ÖSSZEVETÉSBEN A 2-PAM-MAL ÉS AZ OBIDOXIMMAL PATKÁNYON KIVÁLTOTT PARAOXON ÉS DFP MÉRGEZÉS ESETÉN.

Doktori értekezés

SYED MUHAMMAD NURULAIN

Semmelweis Egyetem
Gyógyszertudományok Doktori Iskola



Témavezető: dr.Kalász Huba, Ph.D, D.Sci
Semmelweis Egyetem Farmakológiai és Farmakoterápiás Intézet

Hivatalos bírálók : dr. Keglevits György, egyetemi tanár, Ph.D, D.Sci
dr. Karvaly Gellért, Pharm.D, Ph.D

Szigorlati bizottság elnöke: dr.Szőke Éva, Ph.D, D.Sci
Szigorlati bizottság tagjai: dr.Pál Tibor, M.D,Ph.D. D.Sci
dr.Ernest Adeghate, M.D,Ph.D

Budapest 2010

Bevezetés

Az organofoszfátok okozta mérgezés az acetilkolin neurotranszmitter inaktiválását végző acetilkolin-eszteráz (AChE) enzimek gátlásából adódik. Az oxim szerkezetű enzim-reaktívátorok erősen nukleofil vegyületek és képesek a gátolt AChE enzimet reaktiválni. Az ismert oximokra általánosan jellemző, hogy az egyes organofoszfátokkal szemben nem egyforma hatékonyságúak.

Az organofoszfátok igen széleskörűen alkalmazott vegyületek, így jelentős a foglalkozási ártalomként, öngyilkossági mérgezésként, véletlenül vagy gondatlanságból bekövetkező mérgezés veszélye, de a terroristák által alkalmazott vegyületeket is találni közöttük valamint a hadseregek által bevethető ideg-gázok is ebbe a csoportba tartoznak. A statisztikai elemzések szerint az AChE-gátló organofoszfátok okozta mérgezés a leggyakoribb az öngyilkossági és a gondatlanságból bekövetkezett mérgezések között (Buckley et al. 2005a; Eddleston et al. 2008) és az ételmérgezések között is (Kavalci et al. 2009). A terroristák 1994-ben Motosomoto-ban (Japan) és a tokyoi metro-támadás során 1995-ben szintén az organofoszfátok közé sorolható sarin-t alkalmazták, többszáz halálos és több ezer orvosi ellátást igénylő mérgezést okozva (Okudera et al. 1997; Nagao et al. 1997; Weiner and Hoffman 2004).

Munkánk célja az volt, hogy az ismert antidotumoknál hatékonyabb és az organofoszfátok okozta mérgezések minél szélesebb körében alkalmazható oximokat kutassunk, elsősorban a permetszerként alkalmazott AChE-gátlók kiváltotta mérgezések kezelésére. Vizsgálatainkban a K. Kuca és K. Musilek (Department of Toxicology, Faculty of Military Health Sciences, Czech Republic) által szintetizált és fejlesztett oxim szerkezetű vegyületek (K-oximok) hatását elemeztük. A munkacsoport több mint 200 új K-oximot szintetizált 2003 óta (Kassa et al. 2008a), melyek közül az egyik legígéretesebb a K027, mely igen hatékonynak mutatkozott mind az ideg-gázok (Kassa et al. 2006; Calic et al. 2006; Musilek et al. 2006a és b) mind a permetszerként (Petroianu et al. 2006a és b, 2007a és b; Lorke et al. 2008a és b) alkalmazott organofoszfátok okozta mérgezés kivédésére. A további igen hatásos molekulák közé a K048, K054 és a K074 tartozik.

Kémiai szerkezetüket illetően minden K-oxim vagy aszimmetrikus vagy szimmetrikus biszpiridinium aldoxim, melyek a funkcionális aldoxim csoport(ok) helyzetében vagy a gyűrűket összekötő szénláncok hosszában, ill. telítettségében különböznek. Munkánkban azokat a vizsgálatainkat foglalom össze, melyeket a K-oximok hatékonyságának elemzésére végeztünk, hogy a jelenleg rendelkezésre álló, a klinikai gyakorlatban csekély értékű oximoknál hatékonyabb vegyületeket találjunk.

Célkitűzés

Munkánk célja az volt, hogy

- 1 In vivo vizsgálatokban értékeljük nyolc újonnan szintetizált K-oxim, (K027, K048, K053, K074, K075, K107, K108 és a K113) hatékonyságát patkány-modellen a két eltérő szerkezetű AChE-gátló organofoszfáttal, a paraoxon-nal és a diisopropylfluorophosphate-tal(DFP) kiváltott mérgezés esetén.
- 2 Megállapítsuk a K-oximok saját intrinsic toxicitását a vegyületek LD₅₀ értékének kimérésével és összefüggést keressünk a kísérleti vegyületeink intrinsic toxicitása valamint antidotum-potenciálja között a paraoxon-nal és a DFP-vel kiváltott mérgezésekben.
- 3 Vizsgáljuk a vegyületek *in vivo* hatékonysága és a human vörövérttest AChE-enzimen kapott *in vitro* értékek közötti összefüggést (Petroianu and Lorke 2008).
- 4 Miután etikai okok miatt az újonnan szintetizált K-oximok hatékonyságának elemzése emberen nem kivitelezhető, vizsgáljuk, hogy az *in vitro* nyert adatok mennyiben vihetők át a humán terápiába, ill. okvetlenül szükségesek-e human vizsgálatok.
- 5 *In silico* vizsgálatokkal mennyiben lehetséges a K-oximok esetében a vér-agy gáton történő átjutás predikciója.
- 6 Vizsgáljuk a feltételezett összefüggést a kísérleti vegyületeinknek a paraoxon-nal és a DFP-vel szembeni hatékonysága vonatkozásában.

- 7 Kiszámolva a K-oximok logP értékeit, értékelve a hatékonyságukat jellemző kísérletes adatainkat és az irodalomban fellelhető értékeket megadjuk a K-oximok feltételezhető hatásmechanizmusát.
- 8 Vizsgálatainkban a paraoxont azért választottuk: mert egyrészt ismert, hogy a paraoxonnal okozott akut mérgezés igen hasonló tüneteket okoz az ideg-gázok kiváltotta mérgezéshez, másrészt világszerte széles körben alkalmazott permetszerként. A paraoxon-mérgezés mind a mezőgazdaságban dolgozók körében (foglalkozási-mérgezés) mind az öngyilkossági céllal bevett vegyületek, mind a terroristák által alkalmazott organofoszfátok csoportjában igen gyakori. A DFP mellett azért döntöttünk, mert azon túlmenően, hogy a sarin szerkezeti analógja, mint inszekticid/pesticid anyag szintén széleskörű felhasználást nyer.

Módszerek

A K-oximok *in vivo* toxicitásának meghatározását és a paraoxon, ill. a DFP-mérgezés utáni túlélési időt hím Wistar patkányokon (átlagsúly \pm SD: 248 g \pm 21.) végeztük. A K-oximok LD₅₀ és az LD₀₁ értékeiket grafikusán ábrázolva nyertük úgy, hogy az y-tengelyen a mortalitást, az x-tengelyen a vizsgált oximok dózisait ábrázoltuk. Az akut toxicitást fokozatos dózis-emelési módszerrel határoztuk meg az “Acute Toxic Class Method” szabályai szerint (Diener and Schleder 1999) követve az OECD guideline-t (2001, no. 423). Az *in vivo* túlélési vizsgálatokban a K-oximok LD₀₁ dózisának felével kezeltük az állatokat, melyeket az organofoszfátok három letális dóziséval, paraoxon esetén 1 μ mol, 3 μ mol és 5 μ mol/állat, a DFP esetén 6 μ mol, 10 μ mol és 14 μ mol/állat dóziséval kezeltünk. Minden kísérletet négy alkalommal végeztünk el és minden csoportban 6-6 állat volt. Az anyagokat minden esetben intraperitoniálisan (i.p.) injektáltuk két különböző anatómiai területre.. A mortalitást 30 perc 1, 2, 3, 4, 24 és 48 óra elteltével állapítottuk meg. A statisztikai elemzést a négy kísérlet-sorozat egyesített adataiból végeztük. Mind a hét időpont esetében meghatároztuk a relatív halál-kockázati hányadost (relative risks of death) a Cox proportional hazards model (Cox 1972) szerint. Meghatározásra került az RR-idő görbe alatti területe és a párosított összehasonlítást Mann-Whitney U-Test-et használva végeztük.

A vizsgált oximok fiziko-kémiai jellemzésére a logP értékeket a Pallas 3413 szoftver PrologP programjával számoltuk (Molnar et al. (2004). A program az adott vegyület minden lipofil és hidrofil tulajdonságú molekula-rész értékét figyelembe veszi és az oktanol-víz megoszlási hányados értékével korrigálva számol.

Annak meghatározására, hogy a vizsgált K-oximok a klinikai gyakorlatban milyen hatékonyságúaknak várhatók (predictive value) a human vér AChE-reaktíváló hatásra kapott *in vitro* értékeket és a patkányon nyert *in vivo* értékeket párosítással korreláltatva számoltuk. Az *in vitro* adatokat Petroianu és Kalász 2007; Petroianu és Lorke 2008, valamint Lorke et al. 2008b publikációiból gyűjtöttük egybe. Az adatok értékeléséhez a nem-parametrikus "Spearman rank correlation coefficient" került meghatározásra. Azokat a korrelációs értékeket vettük figyelembe, melyek értéke legalább $R \geq 0.60$ volt.

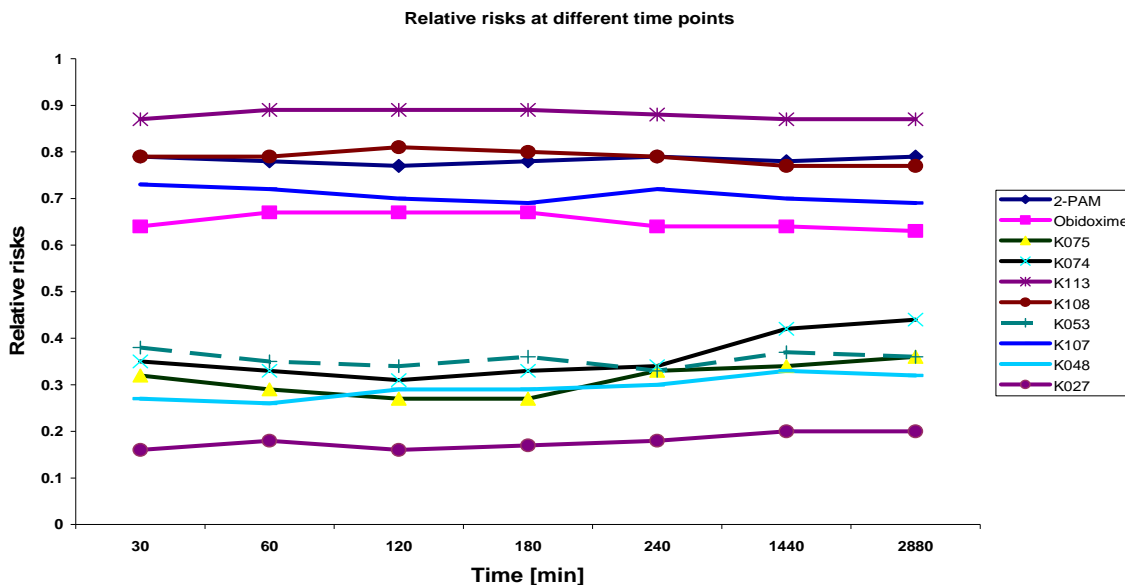
Eredmények

(a) A relatív halál-kockázati hányados (RR) paraoxon kezelést követően

A Cox-analízissel nyert relatív halál-kockázati hányadosokat (RR) hét különböző időpontban (30 perc, 1, 2, 3, 4, 24 és 48 óra) az 1. ábrán tüntettük fel a kezeletlen állatok $RR = 1$ értékéhez hasonlítva. Adataink jól mutatják, hogy mindegyik K-oxim szignifikánsan ($p \leq 0.01$) csökkentette a mortalitást. (G_1 ; csak paraoxon -kezelés). Kiemelkedően a leghatásosabbnak a K-027 ($RR = 0.20$) mutatkozott, melynek hatásossága a többi K-oximhoz hasonlítva is szignifikánsan ($p \leq 0.05$) magasabb volt. Igen jelentős mortalitás-csökkenés volt tapasztalható a K-048 és három további biszpiridinium oxim estében is (K-048:RR = 0.32, K-053:RR = 0.36, K-074: RR = 0.42, K-075:RR = 0.35). Ez a négy oxim szignifikánsan ($p \leq 0.05$) hatékonyabb volt, mint a 2-PAM, az obidoxim, a K-107, a K-108 és a K-113, de szignifikánsan ($p \leq 0.05$) kevésbé hatékony, mint a K-027. Az obidoxim hatékonysága ($RR = 0.64$) csak a K-113 hatását múlta felül ($p \leq 0.05$), de a K-027, a K-048, a K-053, a K-074, és a K-075 azonban egyaránt hatásosabb ($p \leq 0.05$) volt. Igen gyenge protektív hatást tapasztaltunk a 2-PAM ($RR = 0.78$), a K-107 ($RR = 0.70$), a K-108 ($RR = 0.77$) és a K-113 ($RR = 0.87$)

esetében, melyek hatékonysága szignifikánsan ($p \leq 0.05$) gyengébb volt, mint a többi K-oximé, kivéve az obidoximot.

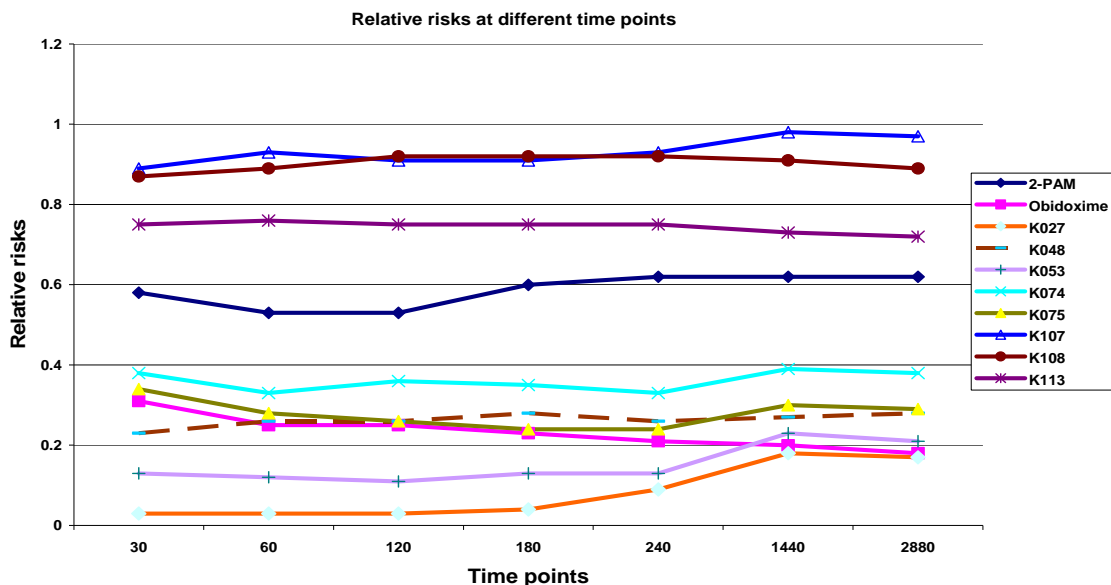
1. ábra



(b) A relatív halál-kockázati hányados (RR) DFP kezelést követően

A kapott értékeket a 2. ábrán foglaltuk össze. A legerősebb védőhatást a K-027 ($RR=0.16$) esetében tapasztaltunk, mely szignifikánsan hatékonyabbnak adódott a többi K-oximál összevetésben, kivéve az obidoximot, a K-053, és a K-075 jelű vegyületeket. Jó hatékonyságot tapasztaltunk az obidoxim ($RR=0.19$), a K-053 ($RR=0.22$) és a K-075 ($RR=0.29$) esetén. Közepesen erős hatásúnak mutatkozott a K-074 ($RR=0.38$), melynek hatása felülmúlta a 2-PAM, a K-107, a K-108 és a K-113 hatását, de szignifikánsan gyengébb hatású volt, mint az obidoxim, a K-053 és a K-027. A K-048 ($RR=0.28$) szintén szignifikánsan erősebb hatásúnak bizonyult, mint a 2-PAM, a K-107, a K-108 és a K-113. A K-107 és a K-108 hatástalan volt a DFP-kiváltotta mortalitás csökkentésében.

2. ábra



A $\log P$ értékek meghatározása

Az összes vizsgált vegyület igen hidrofíl karakterűnek mutatkozott, melyet a negatív $\log P$ értékek jól mutatnak. A legerősebb hidrofilitású az obidoxim ($\log P$ -3.12) és a további vegyületek az alábbi értékeket adták: K-027 ($\log P$ -2.66), K-048 ($\log P$ -2.61), 2-PAM ($\log P$ -2.31), K-053 ($\log P$ -2.05), K-075 ($\log P$ -2.02), K-074 ($\log P$ -1.96). A legkevésbé hidrofíl karakterűnek a K-107, a K-108 és a K-113 adódott ($\log P > -1$).

Az *in vivo* és az *in vitro* paraméterek közti összefüggés vizsgálata

Az *in vivo* és az *in vitro* toxicitási adatok közti összefüggések értékeit az 1a, 1b és 1c táblázatok tartalmazzák. A paraoxon-kiváltotta *in vivo* nyert toxicitási értékek nem mutattak összefüggést az *in vitro* mért értékekkel. Kivételt képez a $\tan \alpha$ és az RR, ahol minden párosított érték (Spearman rho) közepes, ill. erős, szignifikáns összefüggést mutatott a DFP-vel kiváltott toxicitással.

1a táblázat

A változók	Spearman korreláció (σ)	Szignifikancia (two tailed, p)
IC50 értéke az oximoknak (in vitro) versus LD50 értéke az oximoknak (in vivo)	0.83	0.001
Tan α (in vitro) versus LD50 értéke az oximoknak (in vivo)	-0.95	0.000
Tan α (in vitro) versus IC50 értéke az oximoknak (in vitro)	-0.81	0.005
LogP (in vitro) versus LD50 értéke az oximoknak (in vivo)	-0.88	0.001
LogP (in vitro) versus IC50 értéke az oximoknak (in vitro)	-0.94	0.000
LogP (in vitro) versus Tan α (in vitro)	0.77	0.010

1b táblázat (Paraoxon)

IC50 értéke az oximoknak (in vitro) versus cumulative relative risk of death (in vivo)	-0.30	0.405
Tan α (in vitro) versus cumulative relative risk of death (in vivo)	0.37	0.293
LogP (in vitro) versus cumulative relative risk of death (in vivo)	0.52	0.121

1c táblázat (DFP)

IC50 értéke az oximoknak (in vitro) versus cumulative relative risk of death (in vivo)	-0.73	0.017
Tan α (in vitro) versus cumulative relative risk of death (in vivo)	0.58	0.077
LogP (in vitro) versus cumulative relative risk of death (in vivo)	0.89	0.001

Következtetések

Kísérletes adatainkból az alábbi következtetések vonhatók le:

- A klinikai gyakorlatban jelenleg alkalmazható oxim, a 2-PAM, a vizsgált vegyületek között a legkisebb hatékonyságú.
- A másik terápiás célra hozzáférhető oxim, az obidoxim, melyet a permetszer-mérgezések kezelésében tartanak ígéretes vegyületnek, nem egyformán hatásos a különböző organofoszfátokkal szemben. Kísérleteinkben közepesen hatékonynak találtuk a DFP-mérgezés esetén, míg a paraoxon-kiváltotta mérgezésben csekély hatékonyságot mutatott.
- A vizsgált K-oximok közül a K-027 kiváló hatékonyságúnak mutatkozott mind a paraoxon-, mind a DFP –mérgezés kivédésében. Ez a vegyület alkalmasnak mutatkozik mindkét jelenleg alkalmazható oxim kiváltására.
- A többi vizsgált vegyület közül a K-048, a K-053, a K-075 és a K-074 szintén hatékonyabbak, mind a két referencia-vegyületnél, bár hatékonyságuk a K-027-hez viszonyítva kisebb..
- Általánosságban igaznak bizonyult, hogy az *in vitro* értékek jól korrelálnak az *in vivo* adatokkal, de a korreláció nem olyan erős, hogy az *in vivo* méréseket helyettesíthetőnek ítélhessük.
- A human vörösvértest acetilkolin-eszteráz enzim-preparátumon (RBC-AChE) nyert *in vitro* reaktivációs hatékonyság és a patkányon kapott *in vivo* hatékonyság közötti korreláció mértéke kicsiny, így a különböző állatfajokon végzett *in vivo* vizsgálatok elengedhetetlenek a vegyületek hatékonyságának értékelésében.
- Mindegyik vizsgált oxim hidrofil karakterűnek mutatkozott, így hatásmódjukban a központi idegrendszeri hatáson túl egyéb mechanizmusok is feltételezhetőek..
- Adataink arra engednek következtetni, hogy az oximok védőhatásáért nem kizárólag az AChE reaktiváció a felelős.
- A klinikai gyakorlatba való bevezetést megelőzően fontosnak tartjuk további állatfajokon is az *in vivo* hatékonysági vizsgálatok elvégzését.

A disszertációhoz közvetlenül kapcsolódó közlemények.

1. **Nurulain SM**, Lorke DE, Hasan MY, Shafiullah M, Kuca K , Musilek K.(2009): Efficacy of eight experimental bispyridinium oximes against paraoxon induced mortality: Comparison with the conventional oximes pralidoxime and obidoxime. *Neurotox Res*, **16(1)**: 60-67.
2. Lorke DE, Hasan MY, **Nurulain SM**, Kuca K, Schmitt A, Petroianu G.(2009): Efficacy of two new assymetrical bispyridinium oximes(K-27 and K-48) in rats exposed to diisopropylphosphate comparison with pralidoxime, obidoxime, trimedoxime, methoxime, and HI-6. *Toxicol Mech Methods*, **19(4)**: 327-333.
3. Lorke DE, **Nurulain SM**, Hasan MY, Kuča K, Musilek K, Petroianu GA (2008): Eight new bispyridinium oximes in comparison with the conventional oximes pralidoxime and obidoxime: in vivo efficacy to protect from diisopropylfluorophosphate toxicity. *J Appl Toxicol*, **28(7)**: 920-928.
4. Lorke DE, Hasan MY, Nurulain SM, Shafiullah M, Nagelkerke N, Petroianu GA. (2008): Effect of intrathecal pralidoxime administration upon survival of rats exposed to the organophosphate paraoxon. *Neurotoxicology*, 29(4): 663-70.
5. Lorke DE, Hasan MY, **Nurulain SM**, Sheen R, Kuca K, Petroianu GA. (2007): Entry of two new asymmetric bispyridinium oximes (K-27 and K-48) into the rat brain: comparison with obidoxime. *J Appl Toxicol*, **27(5)**: 482-90.
6. Petroianu GA, **Nurulain SM**, Nagelkerke N, Shafiullah M, Kassa J, Kuca K. (2007): Five oximes (K-27, K-48, obidoxime, HI-6 and trimedoxime) in comparison with pralidoxime: survival in rats exposed to methyl-paraoxon. *J Appl Toxicol*, **27(5)**: 453-7.

7. Petroianu GA, Arafat K, **Nurulain SM**, Kuca K, Kassa J. (2007): In vitro oxime reactivation of red blood cell acetylcholinesterase inhibited by methyl-paraoxon. *J Appl Toxicol*, **27(2)**: 168-75.
8. Petroianu GA, Lorke DE, Hasan MY, Adem A, Sheen R, **Nurulain SM**, Kalasz H. (2007): Paraoxon has only a minimal effect on pralidoxime brain concentration in rats. *J Appl Toxicol*, **27(4)**: 350-7.
9. Petroianu GA, **Nurulain SM**, Arafat K, Rajan S, Hasan MY. (2006): Effect of pyridostigmine, pralidoxime and their combination on survival and cholinesterase activity in rats exposed to the organophosphate paraoxon. *Arch Toxicol*, **80(11)**: 777-84.
10. Petroianu GA, **Nurulain SM**, Nagelkerke N, Al-Sultan MA, Kuca K, Kassa J. (2006): Five oximes (K-27, K-33, K-48, BI-6 and methoxime) in comparison with pralidoxime: survival in rats exposed to the organophosphate paraoxon. *J Appl Toxicol*, **26(3)**: 262-8.

A disszertációhoz közvetlenül nem kapcsolódó közlemények.

1. Padmanabhan R, Abdulrazzaq YM Bastaki SMA, **Nurulain SM**, Shafiullah M. (2010): Vigabatrin (VGB) administered during late gestation lowers maternal folate concentration and causes pregnancy loss, fetal growth restriction and skeletal hypoplasia in the mouse. *Reproductive Toxicol*. [Epub ahead of print]
2. Langer R, Usmanii A, van Gorkom KN, Petroianu GA, Lorke DE, Azimullah S, **Nurulain SM**. (2009): In vitro assessment of antibiotic efficacy of contrast media and antibiotic and their combinations at various dilutions. *Br J Radiol* [Epub ahead of print].
3. Lorke DE, **Nurulain SM**, Shafiullah M, Hasan MY, Kuca K, Petroianu G. (2010): Prophylactic administration of cholinesterase inhibitors in acute exposure to paraoxon. (submitted).

4. Lorke DE, **Nurulain SM**, Shafiullah M, Hasan MY, Kuca K, Petroianu G. (2010): Pretreatment for acute exposure to diisopropylfluorophosphate (DFP): In vivo efficacy of various acetylcholinesterase inhibitors (Submitted).
5. Fernandez-Cabezudo MJ, Azimullah S, **Nurulain SM**, Mechkarska M , Lorke DE, Hasan MY, Petroianu GA and al-Ramadi BK. (2008): The organophosphate paraoxon has no demonstrable effect on the murine Immune system following subchronic low dose exposure. *Int J Immunopathol Pharmacol*, **21(4)**: 891-901.
6. Naqvi,SNH., Tabassum,R, Ferhanullah MK, Yasmin N, **Nurulain SM**, Burney AA. (2007): Toxic, Residual, and Teratomorphic effect of a Neem Extract (N-9) in comparison to Coopex 25 WP(Permethrin+Bioallethrin) against *Musca domestica* L.(Holland strain).*Turk J Zool*, **31**: 127-130
7. Adeghate E, Hasan MY, Ponery AS, **Nurulain SM**, Petroianu GA (2005): Subchronic exposure to high-dose ACE-inhibitor moexipril induces catalase activity in rat liver. *Mol Cell Biochem*, **280(1-2)**: 159-63.
8. Abdulrazzaq YM, Padmanabhan R, Bastaki SMA, Ibrahim A, **Nurulain M**, Shafiullah M (2005): Effect of maternal administration of vigabatrin during late gestation on fetoplacental amino acid profile in the mouse. *Reprod Toxicol*, **20(4)**: 549-60.
9. Petroianu GA, Hasan MY, **Nurulain SM**, Arafat K, Sheen R, Nagelkerke N (2007): Comparison of two pre-exposure treatment regimens in acute organophosphate (paraoxon) poisoning in rats: tiapride vs. pyridostigmine. *Toxicol Appl Pharmacol*, **219(2-3)**: 235-40.
10. Petroianu GA, Hasan MY, **Nurulain SM**, Shafiullah M, Sheen R, Nagelkerke N. (2006): Ranitidine in acute high-dose organophosphate exposure in rats: effect of the time-point of administration and comparison with pyridostigmine. *Basic Clin Pharmacol Toxicol*, **99(4)**:312-6.

11. Petroianu GA, Hasan MY, **Nurulain SM**, Arafat K, Shafiullah M, Sheen R. (2006): Tiapride pre-treatment in acute exposure to paraoxon: comparison of effects of administration at different points-in-time in rats. *Mol Cell Biochem*, **285(1-2): 79-86**.
12. Petroianu GA, Hasan MY, Arafat K, **Nurulain SM**, Schmitt A. (2005): Weak inhibitors protect cholinesterases from strong inhibitors (paraoxon): in vitro effect of tiapride. *J Appl Toxicol*, **25(6): 562-7**.
13. Petroianu GA, Hasan MY, **Nurulain SM**, Arafat K, Sheen R, Saleh A, Schmitt A. (2005): Protective drugs in acute large-dose exposure to organophosphates: a comparison of metoclopramide and tiapride with pralidoxime in rats. *Anesth Analg*, **100(2): 382-6**.
14. Petroianu GA, Hasan MY, **Nurulain SM**, Arafat K, Shafi Ullah M, Naseer O. (2005): Protective agents in acute high-dose organophosphate exposure: comparison of ranitidine with pralidoxime in rats. *J Appl Toxicol*, **25(1): 68-73**.
15. Hasan MY, **Nurulain SM**, Arafat K, Naseer OP, Petroianu GA (2004). In vivo metoclopramide protection of cholinesterase from paraoxon inhibition: direct comparison with pralidoxime in subchronic low-dose exposure. *J Appl Toxicol*. **24(4):257-60**.
16. **Nurulain SM**, Tabassum R, Naqvi SNH, Khan MZ, Khan MF. (1999): Change in nucleic acids (RNA and DNA) contents of *Musca domestica* under the effect of Neem compounds and DDVP. *Pakistan J Pharmacol* , **14(1): 57-62**.
17. **Nurulain SM**, Naqvi SNH, Tabassum R, Ahmed I. (1998): Comparative effect of neem fractions and malathion on enzymes and protein pattern of *Oxycarenus lugubris* (Motsch) .*J Exp Zool India*, **3(2): 161-168**.
18. Tabassum R, Naqvi SNH, Azmi MA, **Nurulain SM**, Khan MF.(1997): Residual effect of NC and Dimilin against stored grain pest *Callosobruchus analis* by

filter paper impregnation and glass film methods. *Proc. 17th Cong. Zool.(Karachi)*, **17**: 165-170.

19. Tabassum R, Naqvi SNH, Jahan M, **Nurulain SM**, Khan MF, Azmi MA.(1998): Determination of toxicity of fenpropathrin and neem formulation (RB-a+PBO+Tx-100) and its effect on transaminases (GOT, GPT) against *Alphitobius diaperinus* adults. *Turk J Zool*, **22(4)**: 319-322.
20. Tabassum R, **Nurulain SM**, Naqvi SNH, Azmi MA. (1995): Toxicity and IGR effect of two neem extracts on *Musca domestica* L. (PCSIR strain). *Phillipine J Sci*, **125(2)**: 119 – 128.
21. Naqvi SNH, Tabassum R, **Nurulain SM**, Azmi MA, Ahmed I, Usmani KA.(1994): Toxicity and effect of of a neem product(RB-a) and Mesurol on total esterase of a fresh water snail, *Radix* sp. *Vingnanam J Sci*, **9(1-2)**: 13-20.
22. Naqvi SNH, **Nurulain SM**, Tabassum R. (1994): Effect of neem compound (NC) and a pyrethroid on the nucleic acids of *Musca domestica* L. (PCSIR strain). *Pak J Pharmacol*, **11(2)**: 41-44.
23. Naqvi SNH, Temuri KH, **Nurulain SM**, Tabassum R, Ahmed I. (1994): Toxicity and IGR effect of neem fractions in *Aedes aegypti* (PCSIR strain). *Pakistan j. entomol Karachi*, **9(2)**: 83 – 90.
24. **Nurulain SM**, Naqvi SNH, Tabassum R. (1994): Synergistic formulation fo a neem product and its IGR effect on *Musca domestica* L. (PCSIR strain). *Pakistan j entomol Kar*, **9(1)**: 43-50.
25. Naqvi SNH, Tabassum R, **Nurulain SM**, Khan MF. (1993): Comparative toxicity of RB-a(Neem formulation) and malathion against bed ugs, *Cimex lectularis* in laboratory and field trials. *Proc. 13th Cong. Zool.* **pp.369 – 377**.
26. Naqvi SNH, Najmi S, **Nurulain SM**, Sultan B.(1992): Toxicity of dichlorvos(DDVP) and a formulation A of Wellcome Pakistan Ltd. Against *Musca domestica* L. *Kar Univ J Sci*, **20 (1 &2)**: 167-172.

27. Yasmin N, Asdaque ST, **Nurulain SM**, Jafri SMH, Jahan M, Khan MF, Naqvi SNH.(1991): Determination of toxicity of methoprene(ZR 515) against *Halys dentatus* Fabr. And *Halys qadrii* Abbasi and Ahmed and its effect on protein pattern. *Pakistan j entomol Karachi*, **6(1-2)**: 63-71.
28. Yasmin N, Jafri SMH, **Nurulain SM**, Asdaque ST, Naqvi SNH. (1990): Toxicity and effects of solfac (cyfluthrin) on protein pattern of *Periplaneta americana* . *Pakistan j entomol Karachi*, **5 (1-2)**:21-29.
29. Naqvi SNH, Tabassum R, Zia N, **Nurulain SM**. (1990):Toxicity and residual effect of neem extract (factor C) against stored grain pest *Callosobruchus analis*. *Pakistan J Zool*, **22(3)**: 271-277.
30. Naqvi SNH, **Nurulain SM**, Tabassum R. (1990): Comparative toxicity of Margosan-O, neem compounds, Solfac and OP (DDVP and Perfection) against *Musca domestica* L.(PCSIR STRAIN). *Proc 10th Pak Zool Cong* **10**: 225-229.
31. **Nurulain SM**, Tabassum R, Naqvi SNH. (1989): Toxicity of neem fractions and malathion against *Oxycarenus lugubris* Motsch. *Pakistan j entomol Karachi*, **(1-2)**: 13-24.
32. Naqvi SNH, **Nurulain SM**, Asdaque ST, Azmi MA. (1989): Effect of neem fractions and malathion against white flies on brinjal crop. *Surhad j Agric*, **5(1)**: 5-2.

Idézhető előadások

1. Hasan MY, Petroianu GA, Sheen R **Nurulain SM** ,Lorke DE, Kalasz HJ. (2007): Paraoxon and atropine do not increase Pralidoxime(PRX) passage through the blood brain barrier(BBB).*36th Annual ACCP meeting abstracts. J Clin Pharmacol*, **47**:1206.
2. Petroianu GA, Nurulain SM, Arafat K, Hasan MY, Kuca K. (2006): K-Oximes (K-27, K48) compared with Obidoxime, HI-6 and TMB-4: In vitro and In Vivo

- effects (Rats). *American Society of Anesthesiologists, 2006 Annual meeting*, **A-1256**.
3. Hasan MY, Petroianu GA, Adem A, Sheen R **Nurulain SM** ,Lorke D, Kalasz H. (2006): Paraoxon does not increase pralidoxime passage through the blood brain barrier(BBB). 35th Annual ACCP meeting abstracts. *J Clin Pharmacol*, **46:1066**
 4. Petroianu GA, Hasan MY, **Nurulain SM** Sheen R, Lorke D. (2006): Site of action of oxime cholinesterase reactivators. *Critical Care Medicine* 337, **34 (12): Suppl p A149**.
 5. Petroianu GA, **Nurulain SM**, Nagelkerke N, Al Sultan MA, Kuca K, Kassa J. (2005): Five new oximes vs Pralidoxime: Survival data from rats exposed to Paraoxon. *Crit. Care Medicine* 195-S, **33 (12) Suppl p A52**.
 6. Petroianu GA, Hasan MY, **Nurulain SM**, Al Sultan MA (2005): Pyridostigmine Pre-treatment in acute high dose organophosphate exposure in rats. 9th Congress of the World Federation of Societies of Intensive and Critical Care Societies. World federation *J Crit Care Vol.22, Suppl 1: 0013*
 7. Petroianu GA, Hasan MY, **Nurulain SM**, Arafat K, Shafiullah M (2005): Tiapride Pre-treatment in acute high dose organophosphate exposure in rats.9th Congress of the World Federation of Societies of Intensive and Critical Care Societies. August 2005. World federation *J Crit Care Vol.22 Suppl 1: 0011*.
 8. Petroianu GA, Newsson Smith M, Hasan MY, Arafat K, Kosanovic M, **Nurulain SM**, Shafiullah M, Naseer O. (2004): RBC-cholinesterase (RBC-AChE) is not a reliable marker for low dose long term organophosphate exposure (OPE) in rats. American Society for Clinical Pharmacology and Therapeutics Annual Meeting, March 2004. *Clin Pharmacol and Therap*, **75(2):p1-152**.
 9. Bastaki SMA, Padmanabhan R, Abdulrazzaq YM, Ibrahim A, **Nurulain SM**. (2003): Changes in maternal and fetal Vitamins B12, Folic acid and amino acid

profiles and intrauterine growth retardation induced by Vigabatrin administered during late gestation in mice. Abstracts/ Reprod Toxicol, **17: 486.**

10. Fernandez-Cabezudo MJ, A.Ullah, **Nurulain SM**, BK al-Ramadi, Petroianu GA. (2008): Assessment of immunological parameters following exposure to organophosphate containing pesticide. Presented in 3rd immunological conference. Al-Ain, 17-20 March 20.