

Hordenina zawarta w karmie jako środek dopingujący dla koni

BOGDAN FELIKS KANIA, ANDRZEJ MAJCHER*, MONIKA KOWALSKA

Katedra Farmakologii i Toksykologii oraz *Katedra Biochemii Wydziału Weterynaryjnego SGGW, ul. Nowoursynowska 166, 02-787 Warszawa

Kania B. F., Majcher A., Kowalska M.
Hordenine as a stimulating drug in horses

Summary

This paper reviews the sources, identification and pharmacokinetics of hordenine. This biogenic amine is generated during the breakdown of tyramine beginning on the first day of barley germination. It is contained in Cacti as well as in different kinds of reeds (arundinacea, canaris, and aquatica) including a variety of species cultivated in Poland (such as Motycka, Nakielska, and Pulawska) which contain substantial quantities of hordenine.

Horse Racing Organisations in some countries consider this chemical compound to be a stimulant, yet in fact, hordenine from natural food stuffs contained in feed can reach a concentration of up to 18-90 µg/ml in urea and up to 1 µg/ml in serum.

The pharmacological profile of hordenine shows that its stimulatory action on the respiratory and cardiovascular systems is short-lived and appears only when a high dose of the compound is used.

Because the effects are limited in time, the compound does not alter psychomotor activity in horses. It seems that hordenine is not a stimulant in the strict sense of the word. No data is available showing its stimulatory effect on isolated limbs or on muscle activity.

Horses which were given 1 kg barley per day (hordenine content ≈ 0,05% d.m.) could receive approximately 500 mg hordenine (≈ 1 mg/kg B.W.).

Keywords: hordenine, structure, pharmacological profile, stimulant, horse.

Hordenina (anhalina, eremursyna, peyokaktyna) jest związkiem chemicznym o budowie: 4-[(2-dimetylamino)etyl] fenolu zwanym N,N-dimetyltyraminą lub p-hydroxy-N,N-dimetylamina o wzorze sumarycznym $C_{10}H_{15}NO$ i masie cząsteczkowej równej 165,23 (Merck Index).

Leger w 1906 r. jako pierwszy wyizolował hordeninę z kielków jęczmienia, a w rok potem podał jej budowę strukturalną (ryc. 1). Syntezę związku z alkoholu fenetylowego przeprowadził Barger w 1909 r.; z tyrozyny otrzymał ją Raoul (1937) a z p-(Beta-hydroxyetyl)anizolu Cheng ze wsp. w 1951 r.

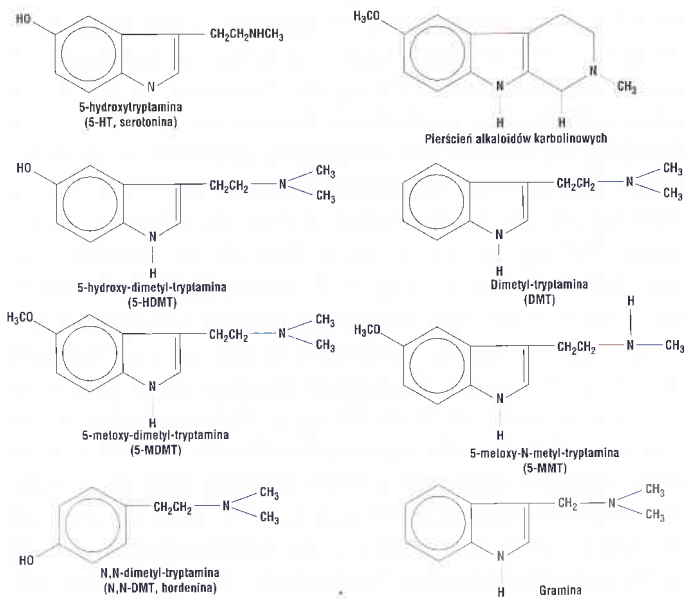
Hordenina, zarówno pochodzenia naturalnego jak i syntetycznego, jest dobrze rozpuszczalna w alkoholu i chloroformie, a 7 g substancji można rozpuścić w 1000 ml wody. Słabo rozpuszcza się w benzenie, toluenie czy ksylenie. Praktycznie nie rozpuszcza się w eterze. Hordeniny chlorowodorek z kolei ($C_{10}H_{15}NO.HCl$) bardzo dobrze rozpuszcza się w wodzie.

Biochemiczno-biologiczna klasyfikacja związku dowiodła, że hordenina jest aminą biogenną, a nie alkaloidem zawierającym atom azotu w pierścieniu indolowym (5, 13, 17).

Obecność hordeniny stwierdzono w korzeniach i kielkach jęczmienia (*Hordeum vulgare*), jęczmieniu płonym (*Hordeum murium*), w prosie (*Panicum miliaecium*), sorgu (*Sorghum vulgare*), mozdze trzcinowatej (*Phalaris arundinacea*) (4, 21), mozdze kanaryjskiej (15, 16) i wodnej (*P. aquatica*) (1-3), akacji (*Acacia berlandieri*) (19), kaktusach, w tym również meksykańskich (*Mexican cactus Doliothoche uberiformis* (20), *Coryphantha vivipara* var. *arizonica* (11), *Ariocarpus kotschoubeyanus* (18), *Lophophora williamsii* (21), miłorzębie dwuklapowym (*Ginkgo biloba*) (14), widłakach (*Selaginella doederleinii*) (14) oraz grzybach takich jak huby drzewne pasożytujące na bukach i dębach (*Polyporus berkeleyi*, *P. fomentarius* Fries.) (26).

Białka nasion jęczmienia to głównie albuminy i białka zapasowe w postaci prolamin. W jęczmieniu znane są one jako hordeiny. Niektórzy autorzy (19) uważają, że hordeina jest synonimem hordeniny. Tymczasem prolamin pod postacią hordein mają zgoła odmienną budowę od hordeniny i nie wykazują działania biologicznego przypisywanego tej ostatniej.

Z farmakologicznego punktu widzenia hordenina jako trzeciorzędowa amina biogenna (13) budową swą



Ryc. 1. Alkaloidy potencjalnie toksyczne oraz hordenina (amina biogenna) zawarte w *Phalaris spp.* wykazujące podobieństwo budowy strukturalnej do neuroprzekaźnika jakim jest serotonina

przypomina strukturę 5 alkaloidów tryptaminowych (ryc. 1), a więc serotoniny, norepinefryny, efedryny czy amfetaminy (psychedryny), a więc amin (z wyjątkiem 5-HT) będących agonistami postsynaptycznych receptorów adrenergicznych, lub dopaminergicznych w układzie współczulnym, a nie będących aminami sympatykotonicznymi.

Obecność hordeniny w peyotlu (meskal) obok antybiotyku peyokaktyny świadczy o tym, że amina ta może wykazywać działania podobne do meskaliny, a więc środka o działaniu psychozotwórczym u ludzi (21).

Po skarmieniu paszy zawierającej hordeninę można ją stwierdzić we krwi lub moczu koni wyścigowych i to zdaniem niektórych może być faktem wskazującym na stosowanie tak zwanych niedozwolonych środków (12, 22). Wyniki wielu doświadczeń wykonanych na różnych modelach farmakologicznych wskazują, że hordenina nie jest pośrednio działającym związkiem adrenergicznym jak piszą Hapke i Stratham (10) lecz sympatykomimetykiem. Hordenina uwalnia norepinefrynę (NE) z jej ziarnistości zmagazynowanych w magazynach płytkich i głębokich presynaptycznych czyli zakończeń nerwów współczulnych. W narządach izolowanych oraz w strukturach z obniżonym stężeniem NE działanie hordeniny jest nieznaczne. W eksperymentach na zdrowych klinicznie myszach, szczurach i psach wykazano, że hordenina działa dodatnio inotropowo, tj. zwiększa siłę skurczu mięśnia sercowego, jego ciśnienie skurczowe i rozkurczowe, zwiększa objętość krwi przepływającej w naczyniach obwodowych oraz hamuje motorykę przewodu pokarmowego. Hordenina nie wpływa na aktywność psychomotoryczną myszy. Wszystkie wymienione działania, będące następstwem sympatykotonii pohordeninowej trwają krótko i są jedynie możliwe do wyzwolenia po

stosowaniu jej dużych dawek, takich, które nie mogą być uzyskane po spożyciu hordeniny zawartej w paszy dla koni, nawet wówczas, gdy w racji dziennej koń otrzymuje 1,5 kg ziarna jęczmienia. Według Hapke i Strathmanna (10) wymierne zwiększenie wydolności koni wyścigowych nie jest prawdopodobne i możliwe po zjedzeniu jęczmienia. W tym miejscu rodzi się pytanie, dlaczego na gruncie polskim hordenina skarmiana normalnie w pełnoporcjowej paszy dla koni miała być traktowana bardziej cenzuralnie niż np. w Niemczech. Co najwyżej, przy braku zaufania do hodowcy, należałoby określić stężenie aminy w moczu konia na kilka dni przed i tuż po wyścigu czy wysiłku, by dowieść nieuczciwego postępowania sportowego, jeśli stwierdzone stężenie hordeniny przekracza poziom uznany za graniczny.

Zawartość hordeniny i/lub innych beta-fenetylamin takich jak N-metylo-beta-fenetylaminu czy tyramina w surowcach pochodzenia roślinnego, próbkach krwi i moczu oznacza się przy użyciu nowoczesnej metody wysokociśnieniowej chromatografii cieczowej (HPLC) (19). Hordenina wchodzi w reakcje krzyżowe z różnymi enzymami wiążącymi immunosorbent kitu w metodzie ELISA lub z kitem stosowanym w metodzie radioimmunologicznej (RIA), w skринingowym badaniu próbek moczu na zawartość hordeniny (22). Najsilniejszą reakcją krzyżową hordeniny wykazano z kitem dla morfiny, mniejszą czułością cechowały się w tej interakcji kity dla etorfiny i buprenorfiny. Hordenina interferuje również z hydromorfonem (dihydromorfinon), oksymorfonem (dihydroksymorfinon) i apomorfina w metodzie chromatografii cienkowarstwowej. W próbkach moczu pochodzących od koni skarmianych mózgiem trzcinowatą można stwierdzić dodatnie wartości hordeniny metodą immunologiczną oraz chromatografią cienkowarstwową; skринingowo używanymi do badań próbek moczu. W celu odróżnienia hordeniny zawartej w próbce od opioidów, prostą i czułą metodą stanowi chromatografia gazowa/spektrometria masowa (GC/MS) i wymieniona wyżej HPLC (22).

Farmakokinetykę hordeniny u koni opisał Frank i wsp. (9). Najpierw wstrzykiwano koniom szybko i dożylnie (i.v.) hordeninę w dawce 2 mg/kg m.c. Typową reakcją koni była reakcja Flehmena i oddawanie kału w ciągu 1 min. po iniekcji. U wszystkich testowanych zwierząt stwierdzono istotne zaburzenia w oddychaniu. Częstość oddechów zwiększała się o 250%, a częstość skurczów serca prawie dwukrotnie w porównaniu do kontroli. Tuż po iniekcji rozpoczynało się pocenie od szyi w kierunku tułowia, ale podstawowa temperatura ciała nie ulegała zmianie. Działania te miały charakter przejściowy i zwierzęta powracały do stanu fizjologicznego w 30 min. po iniekcji hordeniny. Konie testowane w odpowiednim aparacie, w różnych odstępach czasu, w ciągu 30 min. od iniekcji środka nie wykazywały jakiegokolwiek widocznego pobudzenia ani depresyjnego działania hordeniny. Hordenina podawana doustnie w tej samej

dawce nie powodowała zmian częstości skurczów serca, częstości oddechów, wewnętrznej temperatury ciała ani zachowania ogólnego zwierząt.

Maksymalne stężenie hordeniny w osoczu po iv. iniekcji w dawce 2 mg/kg m.c. stwierdzone po 5 min., wynosiło 1 µg/ml, po czym zmniejszało się ono w sposób dwuwykładniczy. Kinetyka osoczowego stężenia hordeniny potwierdza jej rozprzestrzenianie się według dwukompartimentowego układu otwartego, z fazą eliminacji alfa, której okres biologicznego półtrwania wynosi około 35 min. W 120 min. po iniekcji i.v. stężenie osoczowe hordeniny wynosiło 0,25 µg/ml (9).

Hordenina podawana *per os* w dawce 2 mg/kg m.c. wykazywała powolne narastanie stężenia w osoczu, które określono na 0,17 µg/ml jako maksymalne po upływie 60 min. od podania środka. Okres biologicznego półtrwania przy tej drodze podania wyniósł około 150 min., a biodostępność hordeniny sięgała 100% (9).

Całkowite, maksymalne stężenie hordeniny (wolnej i związanej) w moczu koni wynosiło 400 µg/ml, po czym się zmniejszało w sposób jednowykładniczy do stężenia stanowiącego tło (0,5 µg/ml) przez 24 godz. po i.v. iniekcji. Okres biologicznego półtrwania w fazie eliminacji przy tej drodze stosowania hordeniny wyniósł około 150 min. Dowodzi to, że stężenia hordeniny w moczu koni uważane za tło mogą występować zarówno w moczu koni wyścigowych po ukończonych gonitwach, jak i w moczu zwierząt kontrolnych (9).

Po doustnym podaniu hordeniny w dawce 2 mg/kg m.c. maksymalne stężenie w moczu stwierdzono po upływie 60 min. Wynosiło ono 200 µg/ml i przez kolejnych 8 godz. niewiele się zmieniało. Następnie stężenie to silnie się zmniejszało, by po 24 godz. osiągnąć wartość 1,5 µg/ml. Stężenie hordeniny uważane za tło tj. 0,5 µg/ml stwierdzano w 72 godz. od podania doustnego związku. Czyli utrzymywało się dłużej niż po iniekcji dożylniej hordeniny w wyżej wymienionej dawce.

Z porównania wyników prac nad stosowaniem hordeniny u koni wynika, że po iniekcji i.v. 200 mg występowało nieznaczne nasilenie czynności serca (12), a po dawce 0,77 mg/kg m.c. nie stwierdzano wpływu hordeniny na zachowanie się koni (9). Dopiero dawka 2 mg/kg m.c., zastosowana i.v., powodowała istotne zmiany w czynności układu krążenia i oddychaniu oraz zachowaniu się zwierząt (9). Zarysowujące się w 2 min. po iniekcji przyspieszone skurcze serca utrzymywały się przez 15 min., a zwiększona wentylacja przez 20 min. od iniekcji. Obserwowano też nieistotne zwiększenie aktywności lokomotorycznej (9). Po podaniu doustnym hordeniny w dawce 2 mg/kg m.c. nie notowano żadnych odchyłeń od norm fizjologicznych. Koń zjadający dziennie 1 kg ziarna jęczmienia, w którym hordenina stanowi 0,05% suchej masy, przyjmuje 0,5 g czystej substancji. Ocenia się, że ziarno jęczmienia podawane koniom sportowym nie zawiera więcej jak 0,5 g hordeniny w 1 kg. Jeśli koń ważyłby 500 kg, to

na 1 kg m.c. zwierzęcia przypadałoby 1 mg hordeniny dziennie. Jest to ilość, której stężenie w moczu po 48 godz. nie przekracza 10 µg/ml. Stężenie to nie może więc wpływać na wydolność koni wyścigowych. Tym bardziej, że stosowano hordeninę doustnie. Schubert i wsp. (22) stosując hordeninę doustnie u koni w dawce 500 mg/zwierzę, stwierdzili w moczu stężenia wynoszące 105 µg/ml, które nie wpływały na układ krążenia. Ten sam autor i wsp. (23) stwierdzili, że karmienie koni sianem zawierającym mózg kanaryjską powodowało obecność hordeniny w moczu w stężeniach od 18 do 90 µg/ml. Zawartość hordeniny w sianie tej trawy wynosiła od 30 do 92 µg/g. Potwierdziło się, że u koni wyścigowych stężenia hordeniny w moczu były tego samego rzędu co u koni eksperymentalnie karmionych mózgiem trzcinowatą (22, 23). Jeśli przyjąć, że mózg w czystym siewie i w mieszankach uprawia się w Polsce jako odmiany hodowlane: Motycka, Nakielska, Puławska, to oczywiście jest, że po spożyciu przez konie tych traw pod postacią siana lub zielonki hordenina może być obecna w moczu i we krwi w stężeniach podobnych do stwierdzanych po spożyciu ziarna jęczmienia. W tej sytuacji nienormalne by było karamienie hodowcy lub spieszanie jeźdźca wygrywającego wyścig za niedozwolone stosowanie środków granicznych, to jest takich, które nie są dopingującymi, a mogą być niedozwolonymi.

Jednym z motywów do napisania niniejszego opracowania był artykuł w Gazecie Wyborczej (z 23.04.1999 r.) pt.: „Hocki klocki z hordeniną”, redaktora Lubicza, udowadniający istnienie pomieszania pojęć, dotyczących obecności i stężeń hordeniny paszowej w próbkach moczu pochodzących od koni wyścigowych lub będących w treningu. Za wartość progową, zdaniem autora artykułu, w Polsce uważa się 80 µg hordeniny w 11 ml moczu czyli 7,27 µg/ml, a więc niższą od tak zwanego stężenia fizjologicznego (10), co nie jest zgodne z faktycznie dopuszczalnym stężeniem tego związku, wynoszącym 80 µg/ml moczu i 1 µg/ml surowicy. Czy te wartości są zasadne i czy hordenina jest środkiem dopingującym, jeśli jest składnikiem naturalnym, zawartym w dziennej racji pokarmowej mieszanki jęczmienia z owsem, a nie jest do niej dodawana jako substancja, np. syntetyczna? Wydaje się, że celowe skarmianie skiełkowanego jęczmienia, w ilościach przekraczających zapotrzebowanie pokarmowe zwierzęcia, wskazuje w sposób budzący podejrzenie na nieetyczne postępowanie hodowców. O substancji tej mało się pisze w ogóle, a w Polsce jeszcze mniej, zaś obiegowe opinie, w tym specjalistów, są enigmatyczne albo mylne. Stąd celem tego opracowania było przybliżenie szerokiemu ogółowi czytelników źródeł pochodzenia, właściwości chemicznych, biologicznych, toksycznych i klinicznych hordeniny.

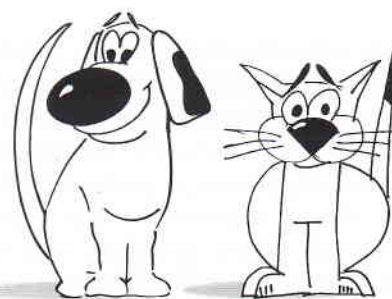
Piśmiennictwo

1. Bourek C. A., Carrigan M. J., Seaman J. T., Evers J. V.: Delayed development of clinical signs in sheep affected by *Phalaris aquatica* staggers. Aust. Vet. J. 1987, 64, 31.

2. Bourke C. A., Carrigan M. J., Dixon R. J.: The pathogenesis of the nervous syndrome of *Phalaris aquatica* toxicity in sheep. *Aust. Vet. J.* 1990, 67, 356.
3. Bourke C. A., Carrigan M. J.: Mechanisms underlying *Phalaris aquatica* „sudden death” syndrome in sheep. *Aust. Vet. J.* 1992, 69, 165.
4. Cheeke P. R.: Endogenous toxins and mycotoxins in forage grasses and their effects on livestock. *J. Anim. Sci.* 1995, 73, 909.
5. Cheeke P. R.: Natural Toxicants in Feeds. Forages and Poisonous Plants. Interstate Publishers, Inc., Danville, Illinois, U.S.A., 1998, s. 275-278, 310-311, 389-390.
6. Duynisweld G. W., Wittenberg K. M.: Evaluation of Rival, Venture and Frontier reed canarygrass as pasture forage. *Can. J. Anim. Sci.* 1993, 73, 89.
7. Forbes T. D. A., Carpenter B. B., Randel R. D., Tolleson D. R.: Effects of phenolic monoamines on release of luteinizing hormone and on plasma adrenotropic hormone, norepinephrine, and cortisol concentrations in wethers. *J. Anim. Sci.* 1994, 72, 464.
8. Forbes T. D. A., Pemberton I. J., Smith G. R., Hensarling C. M.: Seasonal variation of two phenolic amines in *Acacia berlandieri*. *J. Arid. Environ.* 1995, 30, 403.
9. Frank M., Weckman T. J., Woods W. E., Tai C. L., Chang S. L., Ewing A., Blake J. W., Tobin T.: Hordenine: pharmacology, pharmacokinetics and behavioural effects in the horse. *Equine Vet. J.* 1990, 22, 437.
10. Hapke H. J., Strathmann W.: Pharmacological effects of hordenine. *Dt. tierärztl. Wschr.* 1995, 102, 228.
11. Howe R. C., Ranieri R. L., Statz D., Mc Laughlin J. L.: Cactus alkaloids. XXXIV. Hordenine HCl from *Coryphantha vivipara* var. *arizonica*. *Planta Medica* 1977, 31, 294.
12. Irvine C. H. G.: Responses of horses to hordenine and related substances. *Proc. 7th Int. Conf. Racing Anal. Vet.* Louisville, KY, 1988, s. 47-50.
13. Kirshna R. B., Dancis J., Levitz M.: Influence of organic cations on basic amino-acid uptake by human placental villi. *Reprod. Fertility*, 1995, 7, 149.
14. Markham K. R., Geiger H., Jaggy H.: Kaempferol – 3-o-glucosyl (1-2) rhamnoside from *Ginkgo biloba* and a reappraisal of other gluco (1-2, 1-3 and 1-4) rhamnoside structures. *Phytochemistry* 1992, 31, 1009.
15. Marten G. C., Jordan R. M., Howin A. W.: Biological significance of reed canarygrass alkaloids and associated palatability variation to grazing sheep and cattle. *Agron. J.* 1976, 68, 909.
16. Marten G. C., Jordan R. M., Howin A. W.: Improved lamb performance associated with breeding form alkaloid reduction in reed canarygrass. *Crop. Sci.* 1981, 21, 295.
17. McKenna D. J., Towers G. H. N.: Biochemistry and pharmacology of tryptamines and beta-carbolines. A mini review. *Psychoact. Drugs* 1984, 16, 347.
18. Neal J. M., Sato P. T., Johnson C. L., McLaughlin J. L.: Cactus alkaloids. X. Isolation of hordenine and N-methyltyramine from *Ariocarpus katschoubeyanus*. *J. Pharmac. Sci.* 1971, 60, 477.
19. Pemberton I. J., Smith G. R., Forbes T. D. A., Hensarling C. M.: Technical note: an improved method for extraction and quantification of toxic phenethylamines from *Acacia berlandieri*. *J. Anim. Sci.* 1993, 71, 467.
20. Ranieri R. L., McLaughlin J. L.: Cactus alkaloids. XXXI. beta-Phenylethylamines and tetrahydroisoquinolines from the Mexican cactus *dolichothele uberiformis*. *Lloydia* 1977, 40, 173.
21. Rao G. S.: Identity of peyoactin, an antibiotic from peyote (*Lophophora williamsii*), and hordenine. *Pharmacology* 1970, 22, 544.
22. Schubert B., Kallings P. L., Jørgansson M., Rytman A., Bondensson U.: Hordenine -N, N-dimethyltyramine – studies of occurrence in animal feeds, disposition and responses to exercise in the horse. *Proc. 7th Int. Conf. Racing Anal. Vet.*, Louisville, KY, U.S.A., 1988, s. 51-64.
23. Schubert B., Kallings P. L., Bondensson U.: Bordeline substances. *Proc. 8th Int. Conf. Racing Anal. Vet.*, Harare, 1990, s. 197-200.
24. Ungemach F. R.: Dopingkontrolle bei Rennpferden. *Tierärztl. Prax.* 1985, 13, 35.
25. Vera-Avila H. R., Forbes T. D. A., Randel R. D.: Plant phenolic amines: Potential effects on sympathoadrenal medullary, hypothalamic pituitary-adrenal, and hypothalamic-pituitary gonadal function in ruminants. *Dom. Anim. Endocrinol.* 1996, 13, 285.
26. West L. G., Johnson I. T., McLaughlin J. L.: Hordenine for Polyporous berkeleyi. *Lloydia* 1974, 37, 633.
27. Wittenberg K. M., Duynisweld G. W., Tosi H. R.: Comparison of alkaloid content and nutritive value for tryptamine – and β -carboline-free cultivars of reed canary-grass (*Phalaris arundinacea*). *Can. J. Anim. Sci.* 1992, 72, 903.

Adres autora: prof. dr hab. Bogdan Feliks Kania, ul. Capri 4 m. 18, 02-762 Warszawa

Apteka Dobrej Ceny



anipracit

szerokie spektrum działania przeciw tasiemcom

- wysoka aktywność wobec osobników dorosłych i postaci larwalnych
- bardzo atrakcyjna cena

prostMedica

74-106 Stare Czarnowo 77; tel.(091) 31 24 290, 31 24 236; tel./fax (091) 31 24 117

anipracit: roztwór do iniekcji dla psów i kotów. **Skład:** 56,8 mg prazikwantelu. **Wskazania:** do zwalczania inwazji tasiemców u psów i kotów: *Echinococcus multilocularis*, *Echinococcus granulosus*, *Dipylidium caninum*, *Taenia hydatigena*, *Taenia pisiformis*, *Taenia taeniaeformis* (T.Hydatigera), *Multiceps multiceps*, *Joyeuxiella pasquali*, *Mesocestoides* spp. **Przeciwwskazania:** nieznanne. **Działania uboczne:** większe dawki podawane podskórnie mogą wywołać objawy miejscowego podrażnienia. **Interakcje:** nie stosować łącznie z Dexamethasonem. **Wydaje się z przepisu lekarza weterynarii.** **Opakowania:** fiołki a 10ml.