

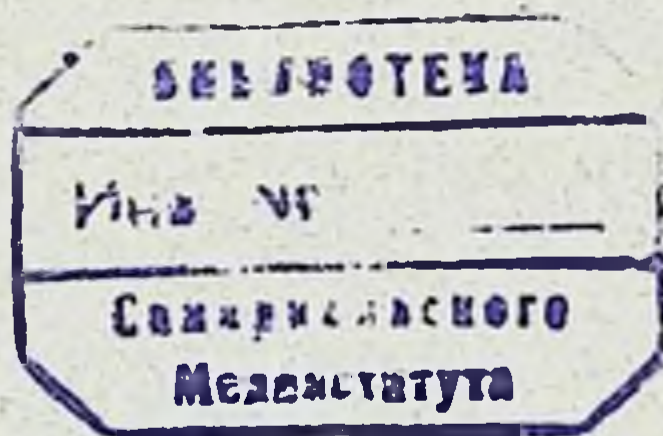
003
АКАДЕМИЯ МЕДИЦИНСКИХ НАУК СССР

На правах рукописи

А. И. ТЕРЕХИНА

ИЗУЧЕНИЕ ЗАКОНОМЕРНОСТЕЙ ЦИРКУЛЯЦИИ
МЕПРОБАМАТА В ОРГАНИЗМЕ В УСЛОВИЯХ
ОДНОКРАТНОГО И ПОВТОРНОГО ВВЕДЕНИЯ

А в т о р е ф е р а т
диссертации на соискание ученой степени
кандидата медицинских наук



Москва — 1965

А. И. ТЕРЕХИНА

ИЗУЧЕНИЕ ЗАКОНОМЕРНОСТЕЙ ЦИРКУЛЯЦИИ
МЕПРОБАМАТА В ОРГАНИЗМЕ В УСЛОВИЯХ
ОДНОКРАТНОГО И ПОВТОРНОГО ВВЕДЕНИЯ

А в т о р е ф е р а т
диссертации на соискание ученой степени
кандидата медицинских наук

Работа выполнена в лаборатории общей фармакологии (зав. проф. Г. А. Пономарев) Института фармакологии и химиотерапии АМН СССР (директор — действительный член АМН СССР, профессор В. В. Закусов) и в лаборатории химиотерапии (зав. — канд. мед. наук Э. А. Рудзит) Новокузнецкого научно-исследовательского химико-фармацевтического института Министерства здравоохранения СССР (директор — канд. хим. наук А. Г. Печенкин).

Научные руководители:

Доктор медицинских наук профессор Г. А. Пономарев
Действительный член АМН СССР, профессор В. В. Закусов

Официальные оппоненты:

Доктор медицинских наук профессор Д. А. Харкевич

Доктор медицинских наук профессор М. Ф. Меркулов

Защита диссертации состоится на заседании Межинститутского Совета по физиологии и биохимии АМН СССР (Москва, Солянка, 14) « 18 » . *мая* . 1965 года.

Автореферат разослан « 1 » . *апреля* . 1965 года.

Введение мепробамата в лечебную практику явилось одним из крупных достижений современной психофармакологии. Высокая терапевтическая эффективность и малая токсичность препарата способствовали широкому распространению его во многих областях медицины.

Фармакологические эффекты мепробамата в значительной степени определяются концентрациями вещества, создающимися в крови и тканях (Берджер, 1954; Гоффман и Людвиг, 1959; Дельга и др., 1962; Филлипс и др., 1962; Като и др., 1962, 1963). Между тем закономерности циркуляции мепробамата в организме изучены недостаточно даже в условиях однократного введения. В связи со значительной продолжительностью принятых в клинике курсов лечения транквилизаторами важное значение приобретает вопрос об особенностях их фармакодинамики при повторном применении.

Снижение чувствительности к фармакологическому действию мепробамата при его длительном использовании отмечалось как в эксперименте (Свиньяр и др., 1957, 1959; Гласс и др., 1961; Филлипс и др., 1962), так и в клинике (Кохен, 1956; Фридлиндер, 1958; Хайзлип и Эвинг, 1958; Мор и Мид, 1958; Эйтингер и др., 1962). Рядом авторов было высказано предположение о том, что развитие толерантности к мепробамату связано с ускоренным его разрушением в организме, которое определяется активацией ферментных систем микросом печени, принимающих участие в химических превращениях лекарств (Като и Вассанелли, 1962; Филлипс и др., 1962; Дуглас и др., 1963). Однако литературные сведения, касающиеся влияния повторности введения мепробамата на скорость его разрушения, весьма противоречивы, и механизм привыкания к действию препарата нельзя считать выясненным. Кроме того, многими исследователями вообще отрицается возможность развития толерантности к токсическим и терапевтическим эффектам мепробамата (Боррус, 1957; Стоу, 1958; Бойд и др., 1958; Мерсье и др., 1962).

В настоящей работе мы изучали влияние длительности введения мепробамата на его циркуляцию в организме и некоторые фармакологические эффекты. Опыты по изучению динамики содержания вещества в крови и тканях после однократного введения были проведены как контрольные. Однако они могут пред-

ставлять самостоятельный интерес, дополняя и уточняя литературные сведения, имеющиеся по этому вопросу. Для выяснения роли фактора ускоренного разрушения мепробамата в изменении его эффективных концентраций в организме была проведена специальная серия опытов, в которой изучали циркуляцию препарата в условиях предварительного применения люминала, являющегося активным стимулятором ферментных систем микросом печени (Реммер, 1959; Конней, 1960; Като, 1960). В дополнение к экспериментальным данным в работу включены клинические наблюдения над больными Новокузнецкой психиатрической больницы, получавшими препарат с терапевтической целью.

В опытах использовали 65 кроликов, 300 крыс и более 750 белых мышей. Клинико-экспериментальные данные содержат результаты повторного определения концентраций неизмененного мепробамата в плазме крови 13 больных.

Содержание неизмененного мепробамата в плазме крови, моче, ткани головного мозга и содержимом желудочно-кишечного тракта определяли колориметрическим методом Гоффмана и Людзига (1959), основанным на реакции незамещенных амидов с паради-метиламинобензальдегидом и треххлористой сурьмой в присутствии уксусного ангидрида. Препарат экстрагировали из биологических субстратов при помощи эфира (Валькенштейн и др., 1958) или 50% этилового спирта (Г. А. Пономарев, 1961). О содержании глюкуронида мепробамата в плазме крови и моче судили по разности между концентрациями свободного вещества до и после кислотного гидролиза, проведенного по методу Дельга и др. (1962).

Связывание мепробамата белками плазмы крови изучали методом равновесного диализа через целлофановую мембрану. Почечный клиренс вычисляли по общепринятой формуле, предложенной Смитом (1937). Скорость клубочковой фильтрации оценивали по инулину, концентрации которого в плазме крови и моче определяли колориметрическим методом Шрайнера (1950), основанным на реакции с резорцином. Показатели общего очищения плазмы крови от мепробамата и объем его распределения в организме вычисляли по способу Видмарка—Доминье в описании Э. А. Рудзита (1962).

Для изучения мышечно-расслабляющего действия мепробамата использовали метод Фроммеля и др. (1957) в модификации Г. А. Пономарева (1962). Противосудорожный эффект исследовали по коразоловому тесту. Коразол вводили подкожно в дозе 90 мг/кг для мышей и 120 мг/кг для крыс. О противосудорожной активности мепробамата у мышей судили по дозам вещества, предотвращающим при введении внутрь за 1 час до коразола клонические судороги ($ED_{50-суд}$) или гибель животных ($ED_{50-лет}$) в 50% случаев. Острую токсичность мепробамата выражали величиной LD_{50} . Отношения LD_{50} к ED_{50} рассматривали как по-

казатель широты терапевтического действия препарата. Значения LD_{50} и ED_{50} вычисляли по методу Беренса, стандартную ошибку к ним — по формуле Гэддама. В опытах на крысах противосудорожную активность мепробамата оценивали по проценту предотвращения коразоловых судорог, в условиях введения мепробамата внутрь в дозе 100 мг/кг за 1 час до коразола.

Активность ферментных систем микросом печени, принимающих участие в разрушении лекарственных веществ, изучали по тесту продолжительности гексеналового сна у крыс (Реммер, 1959; Като, 1960 и др.). При этом гексенал вводили внутрибрюшинно в дозе 200 мг/кг.

Статистическая обработка данных включала вычисление средней арифметической и ее стандартной ошибки. Достоверным считали различие со степенью вероятности не менее 95%.

Три раздела экспериментального исследования содержат данные о закономерностях циркуляции мепробамата в организме, полученные соответственно при (1) однократном изолированном введении препарата, (2) при его введении в условиях предварительного применения веществ, стимулирующих разрушение лекарств в организме (люминал и др.), и (3) при повторном введении мепробамата. В третий раздел включены также результаты опытов по изучению противосудорожного и мышечно-расслабляющего действия мепробамата при однократном и повторном введении.

При однократном пероральном введении мепробамата крысам в дозе 100 мг/кг нами были установлены следующие закономерности. Максимальная концентрация неизменного препарата в плазме крови ($4,8 \pm 0,4$ мг%) достигается уже через 15 минут после введения. Высокий уровень содержания вещества в плазме сохраняется до конца второго часа ($4,0 \pm 0,5$ мг%), снижаясь до $1,5 \pm 0,3$ мг% к шести часам после введения. Концентрация неизменного мепробамата в ткани головного мозга крыс через 2 часа после введения достоверно не отличается от соответствующей концентрации в плазме крови, составляя около 90% от содержания в плазме. К концу третьего часа после введения в содержимом желудка и тонкого кишечника определяется $3,2 \pm 0,4\%$ от введенной дозы мепробамата. В содержимом толстого кишечника препарат не удается обнаружить. С мочой в течение суток экскретируется в неизменном виде $14,5 \pm 1,0\%$ от введенной дозы.

После однократного перорального введения мепробамата кроликам (также 100 мг/кг) максимальная концентрация неизменного вещества в плазме крови достигается позднее, чем у крыс (через 2 часа после введения) при этом она несколько выше, чем у крыс ($6,0 \pm 0,5$ мг%). Концентрации снижаются медленнее, и через 12 часов после введения в плазме еще выявляются определенные количества препарата ($0,7 \pm 0,1$ мг%). Содержание неизменного мепробамата в ткани головного мозга кроликов через 2 часа после введения составляет около 75% от его уровня в плазме

крови. При этом не обнаружено достоверного различия между концентрациями вещества в больших полушариях, среднем мозгу, продолговатом мозгу и мозжечке.

Количественные показатели общего и почечного очищения плазмы от мепробамата были получены в опытах на кроликах в условиях внутривенного введения в дозе 80 мг/кг. При вычислениях исходили из того установленного нами факта, что концентрации неизмененного препарата в плазме крови снижаются в этих условиях экспоненциально во времени. Период двукратного снижения концентраций составляет по нашим данным $2,9 \pm 0,1$ часа. Общий плазматический клиренс равен $33,2 \pm 3,2$ мл/мин/1 м² поверхности тела. Объем распределения мепробамата в организме достигает $62 \pm 5,2\%$ от веса тела. Поскольку это значительно больше объема экстрацеллюлярной фазы организма, то можно думать о достаточно высокой проницаемости клеточных мембран для вещества.

Скорость почечной экскреции неизмененного мепробамата у кроликов прямо пропорциональна величине его концентраций в плазме крови, начиная со второго часа после введения. Почечный клиренс равен $2,5 \pm 0,4$ мл/мин/1 м², что составляет $3,5 \pm 0,5\%$ от одновременно измеренного клиренса инулина. Учитывая тот установленный нами факт, что связывание мепробамата белками плазмы незначительно ($8,0 \pm 2,0\%$ для кроличьей плазмы), следует считать, что неизмененный мепробамат подвергается почти полному обратному всасыванию при прохождении через почечные каналы.

Внепочечный клиренс неизмененного мепробамата у кроликов составляет в среднем $28,9 \pm 3,3$ мл/мин/1 м², т. е. приблизительно 90% от значения общего плазматического клиренса и в 10 раз больше почечного клиренса. Учитывая, что экстраренальная экскреция мепробамата ничтожна (Валькенштейн и др., 1958), на основании наших данных можно сделать вывод о том, что скорость разрушения препарата в организме кроликов в 10 раз превышает скорость его почечного выведения.

В плазме крови кроликов нами обнаружен глюкуронид мепробамата в концентрациях, составляющих от 7 до 37% от содержания неизмененного вещества. Уровень глюкуронида в плазме и скорость его выведения с мочой не зависят от высоты концентраций неизмененного мепробамата в крови. Методом сравнения почечных клиренсов установлено, что глюкуронид мепробамата выводится с мочой почти в 10 раз быстрее, чем неизмененное вещество ($p < 0,001$), однако его обратное всасывание в почечных канальцах все же значительно (около 50%).

Наблюдения, проведенные на 9 больных, показали, что через 2 часа после однократного перорального введения мепробамата в дозе 400 мг концентрации неизмененного вещества варьируют в пределах от 0,3 до 1,0 мг%, составляя в среднем $0,6 \pm 0,1$ мг%.

В опытах, описанных во втором разделе работы, введению

мепробамата предшествовало применение лекарств, активирующих ферментные системы микросом печени. В качестве стимуляторов использовали люминал (50 мг/кг), проминал (50 мг/кг) и фенакон (200 мг/кг). Активирующие свойства первого вещества широко известны, двух последних веществ — обнаружены нами. Все три препарата вводили внутрь 1 раз в день в течение 2 дней. Животных брали в опыт через 24 часа после последнего введения стимулятора. В этих условиях продолжительность тексеналового сна у крыс сокращалась по нашим данным в два раза под влиянием люминала и фенакона и приблизительно в три раза под влиянием проминала (во всех случаях $p < 0,001$).

Концентрации неизмененного мепробамата в плазме крови крыс после перорального введения в дозе 100 мг/кг снижались под влиянием люминала в среднем в два раза через 15—30 минут после введения ($p < 0,01$) и почти в 10 раз через 2—4 часа после введения ($p < 0,001$). Сходное, но несколько менее выраженное снижение концентраций отмечали под влиянием проминала и фенакона.

Предварительное введение люминала не оказывало влияния на скорость всасывания мепробамата из желудочно-кишечного тракта крыс. Количество препарата в содержимом желудке и тонкого кишечника через 2 часа после перорального введения составляло $5,3 \pm 0,6\%$ от дозы, т. е. достоверно не отличалось от данных, полученных в условиях однократного изолированного введения мепробамата. Почечная экскреция неизмененного мепробамата значительно снижалась под влиянием люминала. Так у животных, получавших люминал, с мочой в течение суток выводилось $4,7 \pm 0,7\%$ от дозы, или приблизительно в три раза меньше, чем у интактных крыс ($p < 0,001$).

На основании полученных данных сделан вывод о том, что в условиях предварительного применения люминала разрушение мепробамата в организме крыс существенно ускоряется.

Сходные результаты были получены в опытах на кроликах. Снижение концентраций неизмененного мепробамата в плазме под влиянием люминала было, однако, выражено в меньшей степени, чем у крыс, не превышая 1,5—2-кратного в сроки от 30 минут до 5 часов после перорального или внутривенного введения. Через 2 часа после введения внутрь содержание неизмененного мепробамата в ткани головного мозга кроликов снижалось в условиях предварительного применения люминала приблизительно пропорционально снижению концентраций в крови.

В условиях внутривенного введения мепробамата кроликам (80 мг/кг) предварительное применение люминала укорачивало период двукратного снижения концентраций мепробамата в плазме крови до 1,8 часа, т. е. приблизительно в полтора раза по сравнению с интактными животными. В такой же степени возрастал под влиянием люминала общий плазматический клиренс неизмененного мепробамата. Значение почечного клиренса вещества при

этом существенно не менялось. Следовательно, ускоренную элиминацию неизмененного мепробамата из плазмы кроликов можно полностью отнести за счет экстраренальных факторов очищения, из которых решающим является разрушение в организме.

Снижение концентраций неизмененного мепробамата в плазме крови и ткани головного мозга, отмеченное нами в условиях предварительного применения люминала, сопровождалось существенным уменьшением физиологической активности изучаемого вещества. Так суточная ЛД₅₀ мепробамата для мышей при пероральном введении повышалась под влиянием люминала до 1744 ± 86 мг/кг по сравнению с 734 ± 39 мг/кг в обычных условиях.

Установленные нами факты свидетельствуют о том, что стимуляция ферментных систем микросом печени, принимающих участие в разрушении лекарственных веществ, существенно изменяет закономерности циркуляции мепробамата в организме лабораторных животных, снижая его физиологическую активность. Сходные результаты были получены в опытах других авторов (Като и др., 1962, 1963), проведенных почти одновременно с нашими. Полученные данные можно трактовать как проявление перекрестной толерантности между люминалом и мепробаматом, возможность которой следует учитывать при клиническом использовании комбинации этих двух веществ.

Нами было обнаружено также, что предварительное введение самого мепробамата достоверно укорачивает продолжительность гексеналового сна у крыс ($p < 0,01$), по-видимому, за счет того, что мепробамат сходно с люминалом, проминалом и фенаконом (хотя и в меньшей степени) повышает активность микросомных ферментов. В сопоставлении с вышележащими данными это свидетельствовало в пользу предположения о том, что в условиях длительного применения концентрации мепробамата в крови и тканях должны быть ниже, чем после однократного введения, в связи с ускорением препаратом собственного разрушения в организме.

Третий раздел нашего исследования посвящен изучению особенностей циркуляции мепробамата при повторном введении в сопоставлении с фармакологической активностью препарата в этих условиях. Мепробамат вводили предварительно крысам в дозе 100 мг/кг внутрь ежедневно в течение 3 дней, 2 недель, 3 недель или 4 недель. Концентрации препарата в плазме крови и ткани головного мозга определяли через 2 часа после перорального введения в той же дозе на 4-й, 15-й, 22-й и 28-й день от начала применения. Установлено достоверное снижение концентраций в условиях предварительного трехдневного применения ($p < 0,02$) и отсутствие изменений в концентрациях при увеличении срока введения до 2—4 недель. Отношение концентраций мепробамата в ткани головного мозга к концентрациям в плазме крови не изменялось в зависимости от длительности применения препарата, варьируя в пределах 0,8—0,9. На этом основании

можно считать, что проницаемость гемато-энцефалического барьера для изучаемого вещества не меняется в зависимости от длительности его введения.

Сходные результаты были получены в опытах на кроликах. В этом случае мепробамат вводили предварительно в дозе 80 мг/кг внутрибрюшинно в течение 3 или 14 дней. В опыте ту же дозу препарата вводили внутривенно. В условиях предварительного трехдневного применения отмечено некоторое снижение концентраций в плазме крови, сопровождающееся достоверным укорочением времени двукратного снижения концентраций (до $2,2 \pm 0,2$ часа) и повышением общего плазматического клиренса (до $47,5 \pm 4,8$ мл/мин/1 м²). При этом существенно возрастало значение внепочечного клиренса (до $48,5 \pm 5,1$ мл/мин/1 м²) и в меньшей степени почечного клиренса вещества (до $4,5 \pm 0,8$ мл/мин/1 м²). Данные позволяют сделать вывод о том, что в условиях предварительного трехдневного применения мепробамата его ускоренная элиминация из плазмы объясняется стимуляцией разрушения в организме, и отчасти — почечного выведения.

В условиях предварительного двухнедельного применения мепробамата его концентрации в плазме крови кроликов и показатели почечного и внепочечного очищения плазмы от вещества достоверно не отличались от контрольных значений, полученных при однократном введении.

Повторное применение мепробамата у людей в течение 10, 20, 30 и 40 дней также не сопровождалось существенным изменением концентраций препарата в плазме крови, измеряемых через 2 часа после введения внутрь.

В опытах на мышах и крысах нами было подтверждено, что мепробамат обладает высокой противосудорожной активностью по коразоловому тесту. ED_{50} -суд препарата для мышей составляет по нашим данным $90,0 \pm 7,3$ мг/кг, ED_{50} -лет — $80 \pm 8,4$ мг/кг. Отношения LD_{50} к ED_{50} равны соответственно 11,5 и 12,9, что свидетельствует о большой широте противосудорожного действия вещества. При введении крысам в дозе 100 мг/кг мепробамат предотвращает коразоловые судороги у 55% животных.

Противосудорожная активность мепробамата у мышей существенно не изменяется при предварительном трехдневном применении мепробамата и достоверно снижается при удлинении срока предварительного введения до 2 недель ($p < 0,01$) или до 3 недель ($p < 0,001$). Острая токсичность препарата во всех случаях остается без изменений (LD_{50} при пероральном введении около 1 г/кг). Соответственно показатель широты терапевтического действия мепробамата несколько уменьшается при его 2—4-недельном предварительном применении.

Результаты изучения противосудорожной активности мепробамата на крысах в принципе подтвердили закономерности, установленные на мышах. Процент предотвращения коразоловых судорог

составляли при предварительном введении препарата в течение 3, 14, 21 и 28 дней соответственно 50, 36, 10 и 28.

В опытах на мышах было также показано снижение мышечно-расслабляющей активности мепробамата в процессе его длительного применения. Через 30 минут после перорального введения в дозе 200 мг/кг препарат уменьшал мышечную силу животных на $56 \pm 3,1\%$ от исходной. Миорелаксанта́ный эффект мепробамата был выражен в значительно меньшей степени в условиях предварительного применения в течение 2 недель ($p < 0,001$) или 4 недель ($p < 0,05$).

Таким образом, в наших опытах не было выявлено корреляции между снижением фармакологической активности мепробамата в процессе его длительного применения и содержанием вещества в плазме крови и ткани головного мозга. В тех случаях, когда фармакологическая активность снижена (предварительное введение в течение 2—4 недель), концентрация достоверно не отличается от контрольных. И наоборот, при отсутствии изменений в фармакологической активности (трехдневное предварительное применение) имеет место достоверное (хотя и не резкое) снижение концентраций. Следовательно, развитие толерантности к фармакологическому действию мепробамата не связано с нарушениями в циркуляции препарата в организме в условиях длительного использования. Привыкание к эффекту мепробамата может быть объяснено специфической адаптацией рецепторной ткани, подобно тому, как это имеет место при привыкании к барбитуратам (Бутлер и др., 1956) или производным фенотиазина (Лагершлетц и Тирри, 1961).

ВЫВОДЫ

1. В опытах на животных установлено, что мепробамат быстро всасывается из желудочно-кишечного тракта, длительно циркулирует в крови, легко проходит через гематоэнцефалический барьер, не накапливаясь при этом в ткани головного мозга, выводится с мочой в неизменном виде не более чем на 10—15% и в таком же количестве в виде глюкуронида. Время двукратного снижения концентрации в крови составляет около 3 часов. Связывание белками плазмы крови незначительно. Объем распределения в организме приближается к 60% от веса тела.

2. Медленная экскреция мепробамата почками объясняется высокой степенью обратного всасывания в почечных канальцах (более чем на 95%). Скорость разрушения в организме в 10 раз превышает скорость почечного выведения. В крови обнаружен глюкуронид мепробамата, который выводится с мочой значительно быстрее, чем неизмененный препарат.

3. Стимуляторы ферментных систем микросом печени, принимающих участие в разрушении лекарств (люминал, проминал, фенакон) в условиях предварительного применения значительно

снижают концентрации мепробамата в крови и ткани головного мозга за счет ускорения процессов химических превращений препарата в организме.

4. В условиях предварительного трехдневного применения мепробамата его концентрации в плазме крови и ткани головного мозга достоверно снижаются по сравнению с однократным введением за счет стимуляции разрушения в организме и отчасти в связи с ускорением почечного выведения.

5. При удлинении срока предварительного применения мепробамата до 2—4 недель закономерности его циркуляции в организме не отличаются от установленных при однократном введении, что подтверждено также в наблюдениях на больных, получавших препарат с терапевтической целью.

6. При длительном введении мепробамата животным отмечено умеренное снижение чувствительности к его фармакологическому эффекту, не связанное с изменением концентраций препарата в организме. Привыкание может быть объяснено адаптацией рецепторной ткани к действию вещества.

7. Установленные закономерности представляют интерес в плане уточнения терапевтических возможностей мепробамата в условиях длительного применения, а также для обсуждения некоторых общих вопросов, связанных с разрушением лекарств в организме.

Работы, опубликованные по материалам диссертации:

1. Г. А. Пономарев, А. И. Терехина — «Влияние люминала и других лекарственных веществ, гидроксилирующихся в организме, на метаболизм мепротана и гексенала».

Материалы X Всесоюзной конференции фармакологов.
Волгоград, 1962, 280—281.

2. Г. А. Пономарев, А. И. Терехина — «Определение мепробамата в биологических жидкостях и ткани головного мозга».

Фармакология и Токсикология, 1964, № 2, 238—242.

3. Г. А. Пономарев, А. И. Терехина — «Влияние люминала, проминала и фенакона на циркуляцию мепробамата в организме животных».

Фармакология и Токсикология, 1964, № 4, 432—436.

4. А. И. Терехина — «Изучение противосудорожного действия мепробамата при повторном применении».

Фармакология и Токсикология, 1964, № 4, 436—439.

Л 119959 от 15/III-65 г.

Заказ 345

Тираж 250

Типография ХОЗУ МФ СССР. Москва, ул. Куйбышева, 9.

