

PRÍSPEVOK K POZNANIU SEDATÍVNEHO PÔSOBNIA DIFENYLIMIDAZOLIDÍNŮVÝCH DERIVÁTOV

L. MOLNÁR, FR. SELECKÝ, J. TAMCHYNA

Výskumný ústav pre farmáciu a biochémiu v Bratislave

Látky používané na upokojenie nervove vzrušeného organizmu s centrálnym podmieneným pôsobením sa v posledných dvoch desaťročiach indikačne rozvetvili v zásade do dvoch smerov. Jednak sa používajú ako sedatíva vo vlastnom slova smysle, jednak ako složky iných liečiv, kde sedatívne pôsobenie je buď korigujúcou složkou, buď žiadaným doplnkom komplexného pôsobenia. Je zaujímavé, že vývojom došlo tu k určitej diferenciácii používaných látok, z ktorých len niektoré sa používajú celkom univerzálne.

V prvom smere stále dominuje kyselina fenyletylbarbiturová alebo niektoré ureidy, napr. brómizovalerylkarbamid, v druhom smere sa strieda široký rad rozličných substituovaných barbiturových kyselín (vždy bez substitúcie fenylom). Príčiny tohto rozčlenenia nie je zaiste potrebné analyzovať, pretože v zásade vyplývajú z farmakologických poznatkov a klinických skúseností.

Mnoho poznatkov a skúseností tu získaných sa často prekrýva so štúdiom látok s antikonvulzívnou účinnosťou, ktorá sa najmä v poslednom čase s väčšou pozornosťou sledovala a s hľadiska experimentálnej farmakológie sprístupnila.

Sú to najmä látky ovplyvňujúce stavy psychomotorických porúch, ktoré azda môžu vytvárať určitú hraničnú styčnú plochu medzi obidvoma, ináč svojím pôvodom a povahou sa tak rôzniacimi indikačnými okruhmi.

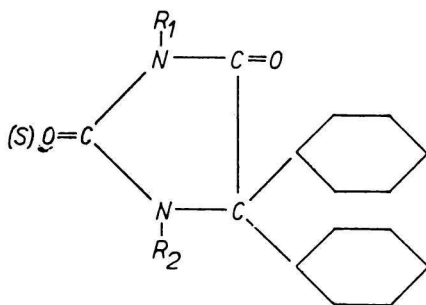
Jedným z odvetví praktického upotrebenia sedatívne účinných látok je ich použitie v analgeticky pôsobiacich kompozitných liečivách. Tu prirodzene dominujú — ako sa vyššie spomínalo — rôzne barbiturové deriváty a len v menej častých prípadoch iné látky. Je zaujímavé, že nepoznáme širšie upotrebenie imidazolidínových odvodnení v tomto odbore, ba dokonca nepoznáme, že by bolo sedatívne pôsobenie týchto látok podrobené hlbšej farmakologickej analýze, hoci veľmi mnoho derivátov sa podrobne študovalo s iných farmakologických hľadísk.

Aj samo experimentálne zistenie sedatívneho pôsobenia bolo v poslednom čase podstatne prehľbené. Nová, veľmi presná metóda, o ktorej budeme podrobnejšie referovať na inom mieste, umožňuje tu, ako vysvitne ďalej z opisu v experimentálnej časti, dostatočne objektívne porovnávanie a stano-

venie sedatívneho pôsobenia, čím je daná uspokojujúca základňa pre farmakologickú kritiku predtým dosť ťažko stanoviteľného efektu.

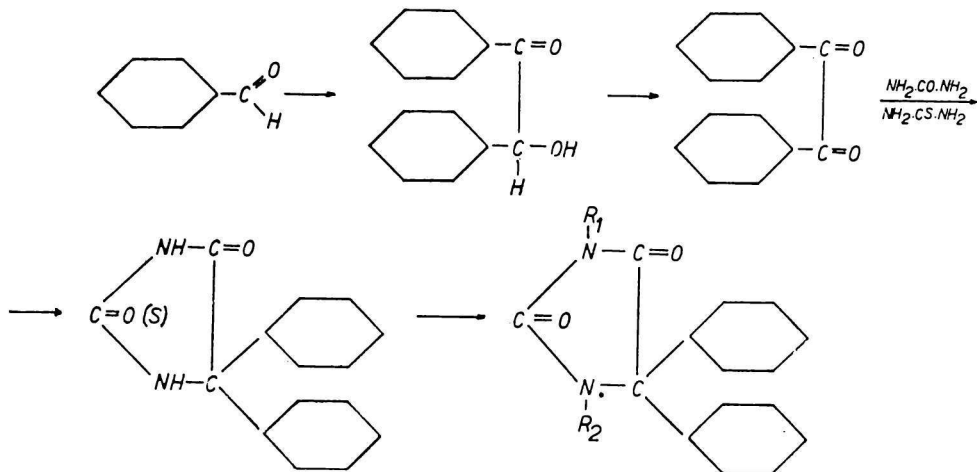
Preto sme sa u niektorých difenylimidazolidínových odvodenín pokúsili po stránke kvalitatívnej i porovnávacej zistiť, či javia tieto látky sedatívne pôsobenie, na základe čoho sme sa potom pokúsili nashromáždiť hlavný experimentálny materiál pre zdôvodnenie možnosti ich upotrebenia ako složiek analgeticky pôsobiacich liečiv. K tomu nás viedly nielen dôvody dané farmakologickou analýzou účinnosti týchto látok, ale aj hospodárske dôvody, pretože domáce suroviny a bezprostredná možnosť výroby dávajú tejto otázke celkom racionálny význam.

Zo syntetizovaných látok sme preto pre bližšie štúdium vybrali tie, u ktorých bol spomínaný predpoklad splnený. V tejto práci sa budeme zapodievať derivátmi tohto složenia:



Experimentálna časť

Po preparatívnej stránke sú difenylimidazolidínové deriváty dobre prístupné. Pripravili sme ich obvyklou syntézou, ktorá sa dá naznačiť takto:



Tabuľka 1

látka	R ₁	R ₂	O	S	b. t.	analýza				rozpustnosť			
						obsah N v %		obsah S v %		H ₂ O	C ₂ H ₅ OH 25° C	acetón 25° C	iné rozpuštné
						teoret.	nájde- né	teoret.	nájde- né				
2,5-dioxo- 4,4-difenylimidazolidín	H	H	O	—	286° C	11,00	11,10	—	—	nerozpustné	2,9	9,4	éter chloroform málo rozp.
1-metyl-2,5-dioxo- -4,4-difenylimidazolidín	CH ₃	H	O	—	216—17° C	10,32	10,06 10,12	—	—	nerozpustné	3,2	9,8	éter ligroín málo rozp.
2,5-dioxo-3-acetyl- -4,4-difenylimidazolidín	H	COCH ₃	O	—	215—17° C	9,48	9,50 9,36	—	—	za varu 0,1	3,45	10,3	éter benzol. rozpust.
2,5-dioxo-3-benzoyl-4,4-difenylimidazolidín	H	C ₆ H ₅ CO	O	—	280—82° C	7,95	8,05 8,02	—	—	nerozpustné	2,8	7,6	éter chloroform málo rozp.
2-tio-5-oxo-4,4-difenylimidazolidín	H	H	—	S	235° C	10,44	10,20 10,60	11,95	11,90 11,98	nerozpustné	pozri tab.	16,80	chloroform ligroín málo rozp.

Netreba teda bližšie preberať ich prípravu, stačí azda poznamenať, že sa nám nepodarila alkylácia 2,5-dioxo-4,4-difenyylimidazolidínu alkylhalogenidmi. Ak totiž uhlík 4 nie je substituovaný, bolo možné hladko vykonať alkyláciu alkylhalogenidmi, ak však je substituovaný fenyлом, pravdepodobne stúpa kyslý charakter a potom sa nedarí alkylácia alkylhalogenidmi ani za tepla, tlaku alebo za prítomnosti práškovitej medi ako katalyzátora. Uspokojivé výsledky sme dosiahli len s dialkylsulfátmi, a to obvyklým spôsobom v alkalickom prostredí.

Slúčeniny, ktoré sme použili pre ďalšiu experimentálnu prácu, shrnujeme v tab. 1, kde sa uvádza aj bežný, už dlho ako liečivo používaný 2,5-dioxo-4,4-difenyylimidazolidín pre porovnanie s ostatnými derivátmi.

Výťažky pri alkyláciách sú dosť nízke. Napr. u metylderivátu v tabuľke uvedeného je 60% na počiatočný difenyylimidazolidín. Podobne aj výťažok acetylderivátu je 70% na počiatočný produkt.

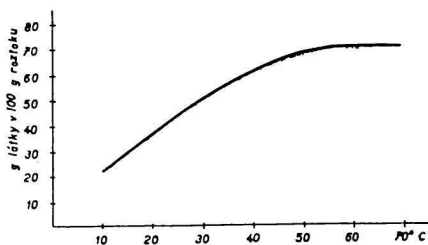
Podrobnejšie uvádzame len prípravu benzoylderivátu, ktorý sa doteraz v literatúre neopisoval:

25,7 g 2,5-dioxo-4,4-difenyylimidazolidínu sa rozpustí v 250 ml benzénu a za intenzívneho miešania sa po malých dávkach pridáva priebehom 2 hod. 15,9 g benzoylchloridu. Po skončení pridávania benzoylchloridu sa reakčná smes zahreje na bod varu benzénu a odstaví sa na kryštalizáciu. Po vychladnutí kryštáliky odsajeme, premyjeme a prekryštalujeme z alkoholu. Získame takto 17—18 g čistého 2,5-dioxo-3-benzoyl-4,4-difenyylimidazolidínu o b. t. 280°C. Výťažok je tu teda 45—50% a nezvyší sa ani vtedy, ak benzoyláciu robíme za prítomnosti látok viažucích reakciou vzniknutú kyselinu soľnú (napr. NaHCO_3 , CaCO_3 a pod.).

S hladiska ciela, ktorý sme v úvode charakterizovali, ukázal sa z týchto látok najzaujímavejším sírny analogon základného produktu, a to 2-tio-5-oxo-4,4-difenyylimidazolidín. Preto sme vlastnostiam tejto látky venovali väčšiu pozornosť. Napr. s hladiska rozpustnosti je táto látka vo vode takmer nerozpustná, v alkohole sa rozpúšťa podstatne lepšie a tab. 2 udáva krivku rozpustnosti v tomto rozpúšťadle. Aj v acetóne je látka dostatočne rozpustná a pri 25°C sa rozpúšťa 16,8 g látky v 100 g acetónu. V chloroforme, éteri, benzéne a toluéne je ťažko rozpustná.

Tabuľka rozpustnosti v 96%-nom etanole

teplota rozpúšťadla	g látky/100 g roztoku
15° C	3,015
20° C	3,62
25° C	4,55
30° C	5,15
35° C	5,80
40° C	6,30
50° C	6,75
60° C	6,90
70° C	6,99



Ak na vodnú suspenziu tejto látky pôsobíme oxidačnými činidlami (1,5% KMnO_4 , 5% HNO_3), odštiepuje síru a prechádza na stálejší 2,5-dioxo-4,4-difenyylimidazolidín. S alkáliami tvorí soli vo vode dosť dobre rozpustné, roztoky sú prirodzene nestabilné a po niekoľkých dňoch dochádza už k ich rozkladu. Pomalšie sa rozkladajú soli s organie-

kými zásadami (napr. s dietylaminom, trietanolaminom a pod.) ako roztoky solí sodných alebo draselných. Ináč je látka veľmi stála. K vlastnostiam tejto látky sa s galenického hľadiska ešte vrátime.

Za účelom overenia sedatívneho účinku, ako aj rozlíšenia od prípadného hypnotického účinku, ktorý by mohol byť na závalu pri použití látky 2-tio-5-oxo-4,4-difenyylimidazolidínu v kombinácii lieku, ktorý má slúžiť ako bežné analgetikum v perorálnej aplikácii, robily sa nižšie opísané farmakologické skúšky. Sedatívny účinok je pri bolestiach vítaným prídavným činiteľom a niekedy dokonca nadaditívne pôsobiacim činiteľom pri zvládnutí analgetického efektu. Hypnotický účinok by však mohol zabráňovať jeho bežnému použitiu, keďže pacient má zachovať svoju čulosť, ale pritom sa zbaviť rozrušenia, vyvolaného pocitom bolesti. Z týchto dôvodov sme sa sústredili najmä na vykonanie experimentov, ktoré nám umožňujú rozlíšiť sedatívny efekt od efektu hypnotického.

Z experimentálnych metód sme v podstate zvolili dve, a to pôvodnú Irrgangovu metódu a metódu, ktorú sme sami modifikovali za použitia trasavých klietok Jacquetovho typu, ktorá nám, hoci oveľa citlivejšia, umožňovala dosiahnuť reprodukovateľné hodnoty aj pri látkach s veľmi príbuznými účinkami. Irrgangovu metódu, pri ktorej sme používali jeho originálne klietky, použili sme z týchto dôvodov. Išlo nám o overenie rozpätia použiteľnosti tejto metódy, ako aj o snahu využiť získané skúsenosti touto metódou. V princípe ide o klietku, ktorá zavesená na špirále prenáša pohyby jednak na písadlo, ktoré na kimografickom bubne značí výkyvy, spôsobené pohybom zvierata v klietke, jednak na koliesko sumátora. Toto koliesko má na svojom obvode štyri kontakty, pohybované je tiež výkyvmi trasavej klietky, takže podľa množstva pohybov tieto kontakty uvádzajú do pohybu písadlo, ktoré je priťahané magnetom. V našej modifikovanej metóde každý pohyb klietky, ktorý je zvýšený alebo znížený podľa pohyblivosti zvierata, prenášaný je kontaktom priamo na elektromagnet, ktorý ovláda počítadlo, z ktorého možno množstvo pohybov odčítat priamo v číslach. Táto metóda nám nielen umožňovala zaregistrovať až desaťnásobné množstvo pohybov, ako sa ďalej v texte pri experimente podrobne uvádza, ale umožnila nám jednoduchšiu experimentálnu techniku, ako aj tú dobrú skutočnosť pre biologický experiment, že za tú istú dobu bolo možné vykonať oveľa väčší počet pokusov. Detailný rozbor metód, ako aj kritika ich použiteľnosti budú opísané na inom mieste.

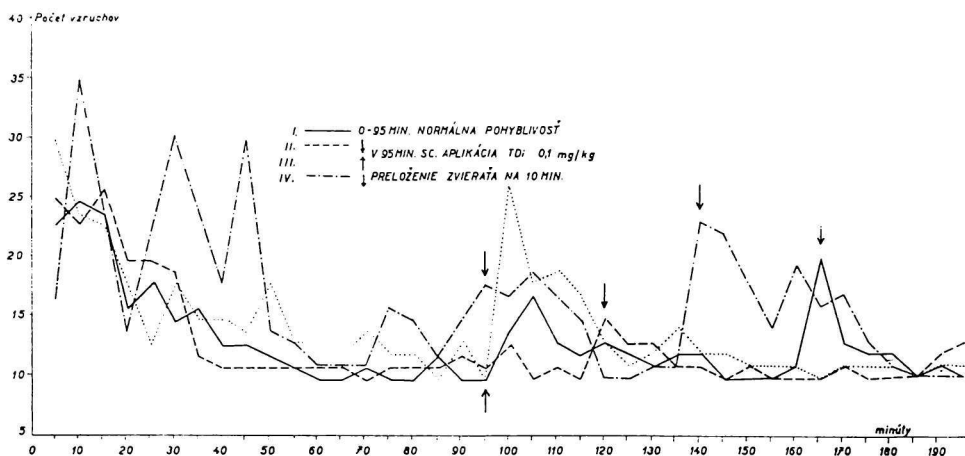
Pri všetkých experimentoch sa rešpektoval druh zvierat. Použili sa myšky H-albino, a to samce nášho chovu o váhe 20—25 g. Zvieratá sa kŕmily jednoduchou diétou. Veľká pozornosť sa venovala štandardnej manipulácii s týmito zvieratmi, ako aj ich ustajneniu. Tieto skutočnosti sa rešpektovaly najmä preto, že v podrobných kontrolných pokusoch sme sa presvedčili o nevyhnut-

nosti dodržiavania týchto kritérií. Pri nedodržiavaní niektorých z uvedených podmienok sa výsledky stávajú aberantnejšími.

Pri metóde stanovenia sedatívneho efektu, ako aj rozlíšenia od hypnotického efektu išlo najmä o stanovenie vhodných dávok 2-tio-5-oxo-4,4-difenyylimidazolidínu (ďalej ako TDi), ako aj o porovnanie tejto látky s ostatnými jej príbuznými derivátmi.

acetyl-2,5-dioxo-4,4-difenyylimidazolidín (ďalej ako ADi), metyl-2,5-dioxo-4,4-difenyylimidazolidín (ďalej ako MDi), benzoyl-2,5-dioxo-4,4-difenyylimidazolidín (ďalej ako BDi).

Na porovnanie sa pribrala i základná počiatočná látka 2,5-dioxo-4,4-difenyylimidazolidín.

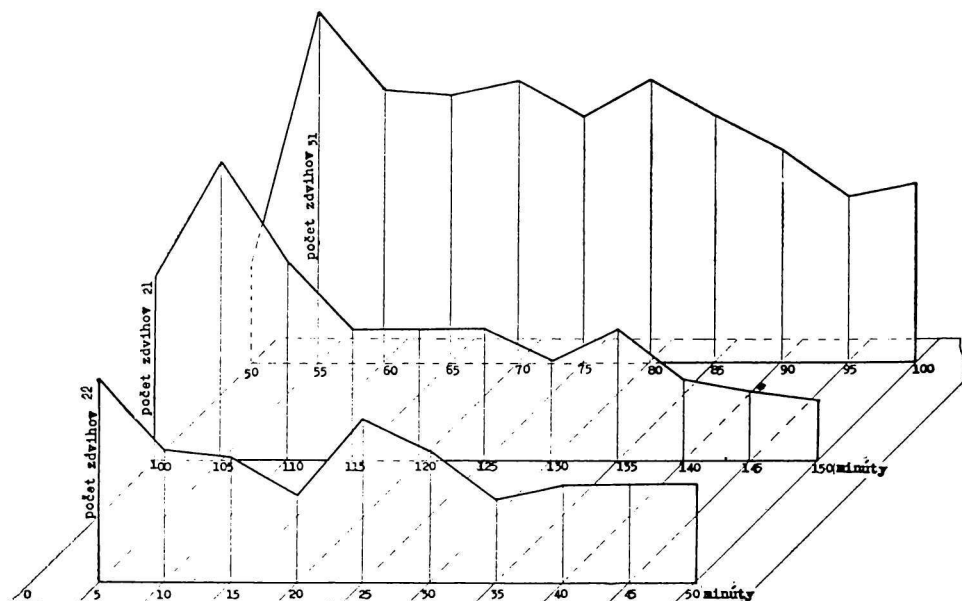


Graf 1. Registrácia pohyblivosti pokusných zvierat.

Myškám sa látka TDi aplikovala v dávke 0,1 mg/kg, a to podkožne (subkutánne, s. c.). Šípky značia, že zviera bolo z trasavej kliečky vyložené na dobu 10 minút do svojej nádoby, aby znovuzískalo svoju normálnu pohyblivosť v navyknutom prostredí. Z grafu vidieť, že zviera po aplikácii látky stratilo zo svojej pohyblivosti, avšak nemožno hovoriť o vymiznutí pohyblivosti. Táto je minimálna len u zvierat, ktorých normálna počiatočná pohyblivosť bola nižšia.

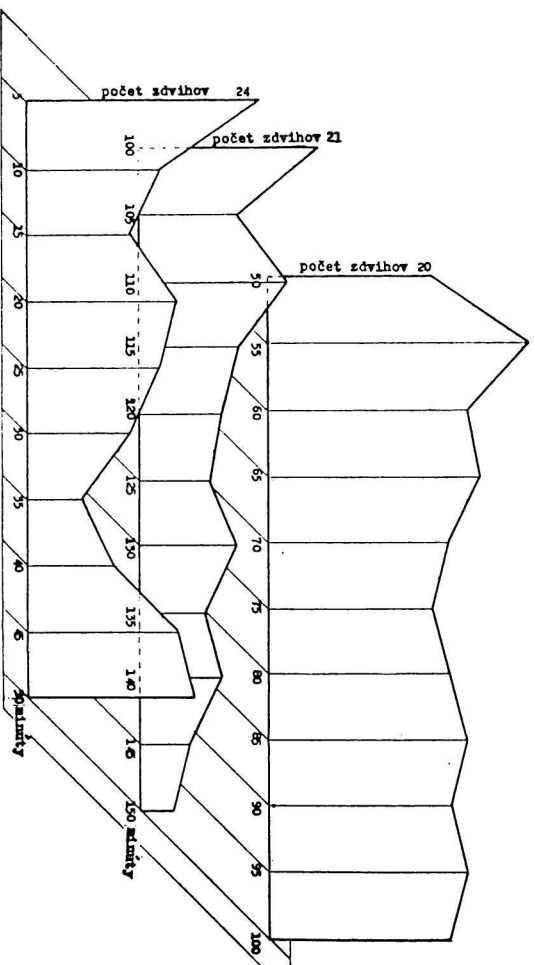
Keďže vykladanie zvierat do nádob nás celkom nepresvedčilo o možnostiach znovuzískať ich väčšiu pohyblivosť, museli sme prikročiť k aplikovaniu látky, ktorá zvyšuje nepokoj a pohyblivosť zvierat, pôsobiac na kortikomotorické centrá. Po viacerých predbežných pokusoch sme za najvýhodnejšiu látku pre naše experimenty zvolili fenylaminopropán. Pokus sme potom robili takto:

Po zaznamenávaní normálnej pohyblivosti každých 10 minút sme v 50 minútach pokusu aplikovali fenylaminopropán podkožne, a to v dávke 0,25 mg/kg váhy zvierata. Túto dávku sme takisto volili na základe priemerov z experimentov vykonaných na viac ako 100 zvieratách. Táto dávka vyhovovala aj čo do účinku podráždenia, aj čo do doby trvania. Excitačný účinok sa v priemere demonštroval priebehom ca až 100 minút. Z týchto dôvodov sme aplikovali skúmané látky, ktoré mali prejsť sedatívny alebo hypnotický efekt v 50 minútach pôsobenia excitačnej látky, čo však zodpovedá 100 minútam od začiatku pokusu. Skúmanú látku sme takto nasadzovali približne v polovičnej dobe pôsobenia excitačného účinku.

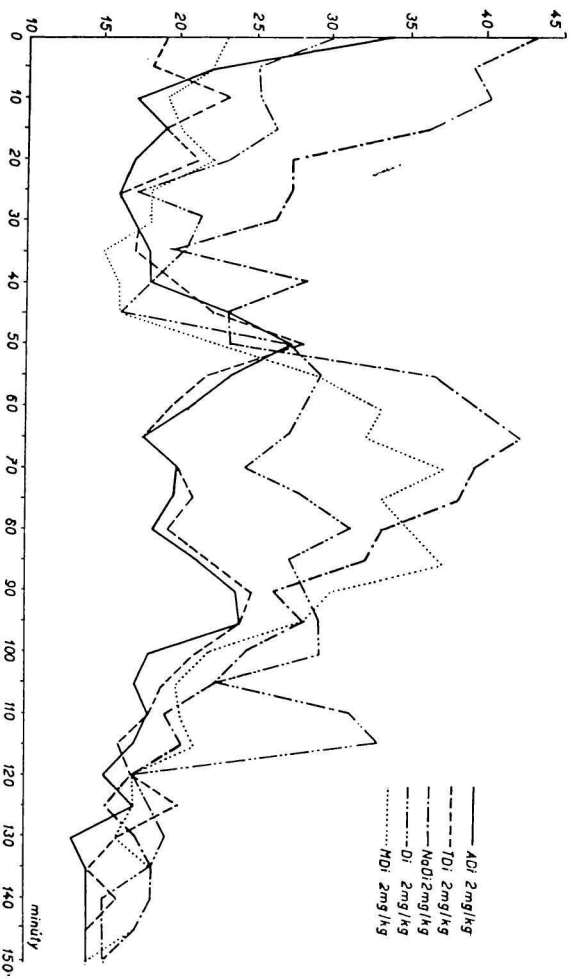


Graf 2.

Z grafu 2 vidieť, že je jasný rozdiel medzi normálnou pohyblivosťou a zvýšenou pohyblivosťou po aplikovaní excitačnej látky, ktorá zapríčinila a vyvolala zvýšenú pohyblivosť a nepokoj pokusných zvierat. V tej istej minúte trvania pokusu sa aplikovala látka TDi; v prvých 10 minútach po tejto dobe pohyblivosť stúpala, čo treba pripísať samej aplikácii, ale už v 115. minúte pokusu sa pohyblivosť vracia k pôvodnej hodnote pred aplikáciou látky TDi. Pohyblivosť sa potom pozvoľna snižuje a ustaluje sa na pôvodných normálnych hodnotách. Z toho sa dá usudzovať, že aj táto nízka dávka je schop-



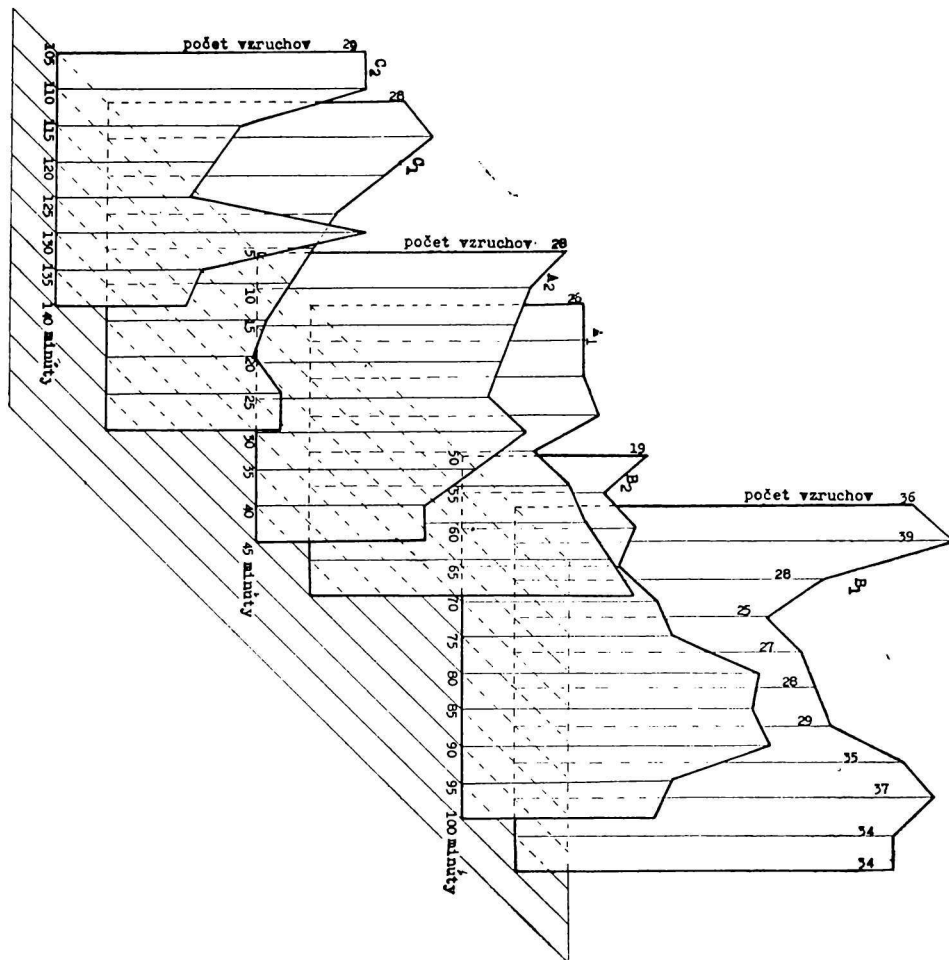
Graf 3.



Graf 4.

ná podkožne ako aj pri aplikovaní sondou perorálne vykompenzovať po-
zvoľným spôsobom predráždenosť zvieraťa, a to bez toho, že by zviera upada-
lo do hypnotického stavu alebo sa objavily vedľajšie nevítané príznaky.

Ani dávka 0,3 mg TDi/kg váhy (graf 3) nevyvolala nijaké vedľajšie príznaky.
I tento pokus sme robili podobným spôsobom, ako je naznačené na grafe 2.
Vidíme teda, že je rozdiel medzi zvýšenou pohyblivosťou po aplikácii 0,25 mg
excitačnej látky a normálnou pohyblivosťou. Okrem toho vidieť aj pozvoľné
prerušovanie zvýšenej pohyblivosti po aplikácii TDi a návrat k normálnej
pohyblivosti. Pri tejto látke možno dokonca uvažovať o tom, že látka



Graf 5.

nielenže potlačila účinok excitačnej látky, ale dokonca vyvolala sníženie pohyblivosti oproti pôvodnému normálu.

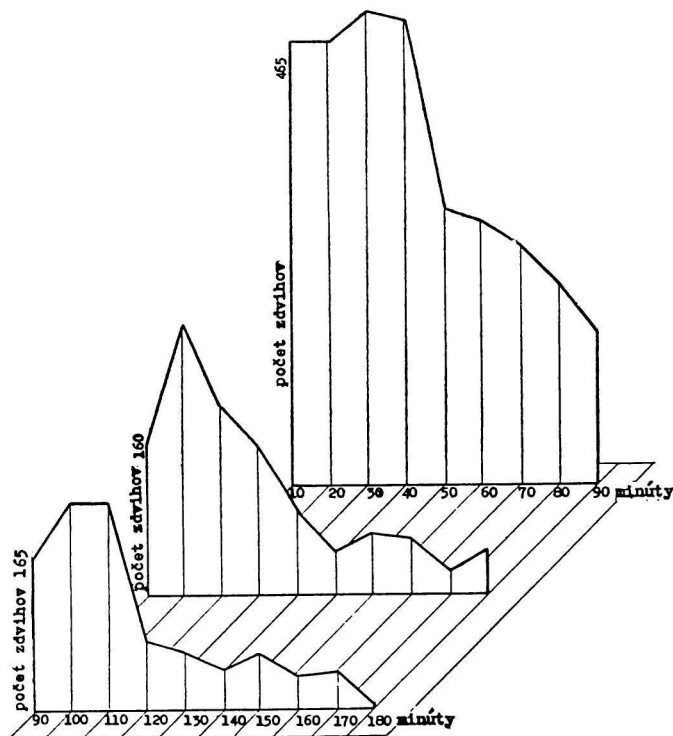
Z uvedených grafov sa dalo usúdiť, že najvhodnejšou dávkou bude 0,2 mg TDi/kg váhy. Preto sa táto dávka aplikovala u viacerých zvierat, urobili sa priemery a venovala sa jej väčšia pozornosť. Táto látka sa preto zvolila aj pri kritériu a porovnávaní účinkov sedatívneho pôsobenia ostatných difenylimidazolidínových derivátov (graf 4). Z tohto grafu možno dedukovať, že látka TDi spôsobuje najvyrovnanejší návrat k miernym sedatívnym hodnotám, utlmujúc excitačný účinok, ktorý je v každom experimente zrejmy prakticky hneď po aplikácii excitačnej látky. Ani táto dávka látky TDi nezapríčinila objavenie vedľajších nežiadúcich príznakov a všetky zvieratá pokus riadne prežili. Keďže nám u tejto dávky išlo o podrobnejšiu analýzu, úmyselne sme na jej zhotovenie volili zvieratá, ktoré na tú istú dávku excitačnej látky nereagovaly takým markantným excitačným účinkom, ako to vidieť vo všetkých ostatných grafoch.

V grafe 5 vidieť jasný rozdiel v reagovaní skupiny zvierat (čiarkovaný graf), ktoré na dávku 0,25 mg/kg excitačnej látky vôbec nereagujú podstatným zvýšením pohyblivosti, oproti zvieratám (plná čiara), ktoré po aplikovaní tej istej dávky, podanej tou istou aplikačnou formou, jasne reagujú predráždením, z ktorého vyplýva ich zvýšená pohyblivosť. Ani u tejto veľmi odlišne sa chovajúcej skupiny zvierat 0,2 mg TDi/kg váhy nevidieť nijaké vedľajšie účinky, aj keď sa sedatívny efekt zdá zreteľnejším a pohyblivosť klesá o niečo nižšie, ako bola pôvodná normálna pohyblivosť. O hypnotickom efekte však vôbec nemožno hovoriť.

U sumárneho grafu 4 si možno všimnúť, že acetyldioxodifenylimidazolidín sa vo svojom účinku drží pomerne blízko priebehu krivky látky TDi, a preto sme tieto dve slúčeniny porovnali už spomínanou modifikovanou metódou trasavej kletky, ktorej pohyby zaznamenával počítač, poháňaný elektromagnetom. Pri tomto pokuse nebolo už potrebné zvyšovať pohyblivosť zvierat aplikovaním excitačnej látky. Značne citlivejšia registračná metóda zaznamenávala tu už pri normálnej pohyblivosti zvierat dostatočný počet vzruchov. Zatiaľ čo u experimentu podľa Irrganga sa priebehom 10 minút zaregistrovalo 30—35 pohybov, počítač ovládaný elektromagnetom zaznamenal 250—350 vzruchov. Tieto údaje sú priemerom z viacerých stoviek záznamov. Tento zvýšený počet záznamov je zrejmy z grafu 6, kde napriek tomu, že sa zvieratám neaplikovala nijaká excitačná látka, počiatkové záznamy sa pohybujú okolo 500 vzruchov. Zvieratá sú v trasavých kliečkach 90 minút a potom sa prekladajú do svojho obvyklého prostredia na 1,5 hod., aby získali svoju normálnu pohyblivosť a aby sa eliminoval návyk na trasavú kliečku. V 180. minúte experimentu sa zvieratá vyberú zo svojich nádob, aplikuje sa

dávka TDi jednej skupine myší a ADi druhej skupiny. Z grafu je zrejmé, že dávka 0,2 mg/kg váhy u oboch skupín zjavne snížila pohyblivosť zvierat, z čoho sa dá usudzovať na plynulý sedatívny efekt látok. Markantný pokles krivky nesmie však zviest k predstave akéhosi hypnotického účinku, lebo treba si všimnúť, že ešte aj v 260. minúte experimentu počet vzruchov obsahuje výšku okolo 50 záznamov. Takýto počet záznamov sa zriedkavo zaznačuje pri normálnej pohyblivosti registrovanej Irrgangovou metódou. Z priebehu pokusov reprezentovaných grafom 6 bolo možné demonštrovať sedatívny efekt látky TDi, ktorý je význačnejší ako u látky ADi, pohyblivosť zvierat sa však zachovala bez príznakov somnolencie, ataxie alebo akýchkoľvek iných vedľajších príznakov, ktoré by boli zabránili normálnemu prežitiu všetkých experimentovaných zvierat.

Z priebehu pokusov, do ktorých bolo pojatých 200 pokusných zvierat a ktorých cieľom bolo overenie čistej sedatívnej účinnosti bez hypnotického efektu, ako aj prípadných vedľajších nežiadúcich účinkov, možno sumovať, že u látky TDi sa tieto účinky nepozorovali v aplikačnom rozpätí od 0,1 mg/kg



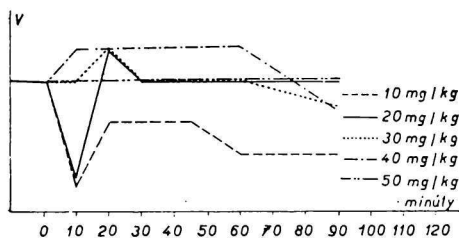
Graf 6.

do 0,4 mg/kg váhy. Za účelom pozorovania sa pribraly aj ostatné deriváty z difenylimidazolidínového radu, ako metyldioxodifenylimidazolidín, acetyldioxodifenylimidazolidín, dioxodifenylimidazolidín a natriumdioxodifenylimidazolidín. Všetky riedenia skúmaných roztokov sa pripravovali vždy čerstvé. Ako najoptimálnejšia dávka pre experiment sa stanovila dávka 0,2 mg/kg váhy u látky TDi. Pokiaľ ide o dobu nasadenia trvania sedatívneho efektu, medzi jednotlivými dávkami nebol podstatný rozdiel. Účinok sa prejavil priemerne do 30 minút po aplikácii, dobu trvania možno hodnotiť v rozpätí 2 až 3 hod.

Keďže v prípade látky TDi ide v podstate o látku, ktorej príbuzné slúčeniny patria medzi látky antikonvulzívne a používané ako antiepileptiká, aj látka TDi sa zaradila do série pokusov s antikonvulzívnymi látkami, ktorej hlavným reprezentantom bol fenylacetylkarbamid. Na vyvolanie epileptiformných záchvatov sa použili 100%-né letálne dávky pentametyléntetrazolu, ktorý sa v prvej sérii pokusov aplikoval intravenózne v dávke 70 mg/kg. Toto množstvo už niekoľko sekúnd po aplikácii vyvolalo celkom bezpečne záchvat a zvieratá hynuli v prvom tonickom štádiu. V druhej sérii pokusov sa pentametyléntetrazol aplikoval intraperitoneálne, a to v dávke 100 mg/kg. Táto dávka zapríčinila smrť takisto v tonickom štádiu záchvatu ca 2 minúty po aplikácii, čo bolo pre techniku experimentu výhodnejšie. Látka TDi sa aplikovala pred aplikáciou uvedených konvulzívnych dávok pentametyléntetrazolu v týchto rozpätiach: 100, 500, 1 000, 1 500 mg/kg váhy. Ani jedna z uvedených dávok neprejavila pretekčný antikonvulzívny vplyv. Všetkých 20 myšiek uhynulo najneskôr 12 minút po aplikácii pentametyléntetrazolu. Kŕčový charakter sa síce odlišoval od klasického priebehu pri samotnom nastrekovaní pentametyléntetrazolu, pretože takmer pri všetkých záchvatoch chýbala charakteristická extenzia dolných končatín, najmä pri tonickom kŕči, v ktorom všetky zvieratá exitovali. Aj keď myška prežila viac ako 2 minúty, po celú dobu bola v bezvedomí, zmietaná tonickými kŕčmi, rýchlo sa opakujúcimi. U samcov sa v tonickom štádiu pozorovala pri exite erekcia, sprevádzaná ejakuláciou, u všetkých sa v tlamičke objavila pena, u niektorých aj krv. Pri pitve uhynutých zvierat bolo vidieť mozog silne anemický, u niektorých ruptúru pľúc, srdcový sval sa nachádzal v silnej kontrakcii bez krvnej náplne, pečeň a ostatná abdominálna dutina bola bez podstatných makroskopických zmien. Luxácia a fraktúry predných alebo zadných končatín sa nepozorovali. Uvedené príznaky sa shodujú so všetkými typickými príznakmi, ktoré nachádzame u typicky prebiehajúcich epileptiformných kŕčov. Na doplnenie treba pripomenúť, že terapeuticky účinná látka, ako je napr. fenurón (fenylacetylkarbamid), v dávke 600 mg/kg váhy je schopná zabrániť akýmkoľvek uvedeným typickým príznakom epileptoidným a všetky zvieratá ostávajú nažive. α -bróm, derivát tejto látky, už len v dávke 1 500 mg/kg zachraňuje iba 90% zvierat

od exitu, ale aj u týchto sa objavujú konvulzívne krče. Po 12 hod. sú zvieratá už čulé. Tiofenurón, sirné analogon fenurónu, nie je ani v dávke 1 500 mg/kg váhy schopný zabrániť tonickým kŕčom, v ktorých zvieratá hynú.

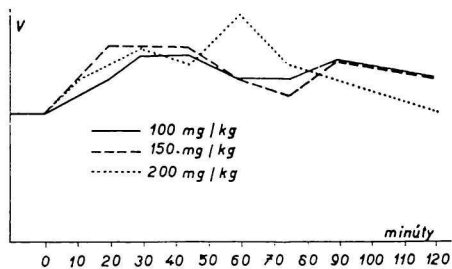
Hoci podľa doteraz známych experimentálnych skúseností nebolo možné očakávať vyslovený analgetický efekt tak typický pre deriváty morfinového radu, látka TDi sa predsa preskúšala, či má schopnosť ovplyvniť prah citlivosti po určitých stimuloch. Je známe a klinickou skúsenosťou overené, že napr. látky z radu antipyretík, ako napr. kyselina acetylsalicylová, amidopyrín, fenacetín, kyselina fenylchinolínkarbónová, samy, ako aj v určitých kombináciách a za určitých chorobných príznakov vedú u človeka veľmi bezpečne odstrániť pocit bolesti hlavy, svalov, údov a pod., skutočnosť, ktorá sa v klinickej praxi každodenne overuje. Analgetiká s účinkom ako morfin sú bezpečne účinné nielen u človeka, ale aj u zvierat. Avšak u látok z druhej skupiny tento účinok u zvierat nie je vôbec demonštrovateľný, alebo iba v náznakoch, a to len vo vysokých dávkach. U človeka však, ako sme už spomenuli, tieto látky sú veľmi účinné. Je to jasný dôkaz toho, že sa tu stretávame s dvoma fenoménmi, ktoré nevykazujú vzájomné vzťahy, a to proti doteraz predpokladanému akémusi spoločnému analgetickému efektu. Presná analýza týchto dvoch veľmi komplikovaných zjavov nespadá do rámca tejto práce, širšie bude rozvedená na inom mieste. Treba však pripomenúť, že jedna z najbežnejších látok, amidopyrín, ktorej účinok v humánnej aplikácii je nad všetky pochyby jasný v určitých dávkach, a to vo vysokých dávkach, dokonca zvyšuje prah citlivosti



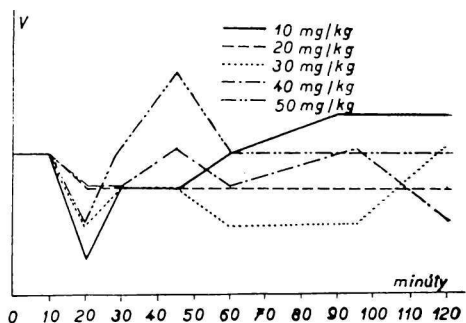
Graf 7.

na bolestivé stimuly. Zapríčiňuje predráždenie a len v určitých dávkach je naznačený mierny analgetický efekt (graf 7 a graf 11). Napr. pri perorálnej dávke by bolo možné jasne vypočítať, že najnižšie dávky, a to 10 a 20 mg/kg váhy naznačujú krátkodobé sníženie citlivosti na elektrické podráždenie, zatiaľ čo väčšie dávky sa týmto nevyznačujú, ba naopak v niektorých prípadoch nastáva zvýšenie prahu citlivosti. Niet podstatného rozdielu medzi aplikáciou perorálnou alebo subkutánnou. Ani aplikácia intraperitoneálna nevykazuje podstatné úchyľky.

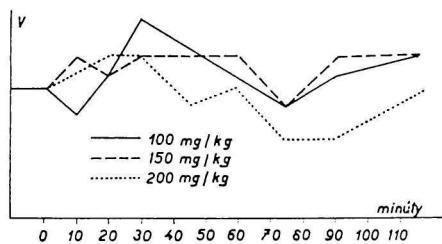
Princíp pokusu sa zachoval aj pri skúmaní analgetických vlastností difenylimidazolidínov. V podstate sa modifikovala metóda opísaná v Burnových biologických štandardizačných metódach, ktoré používal Reinhard a de Beer. Kritika metód, ako aj ich presná analýza sa takisto podá na inom mieste. Podá sa i výklad vývoja metód, ako aj rôzne princípy, ktoré sú pod-



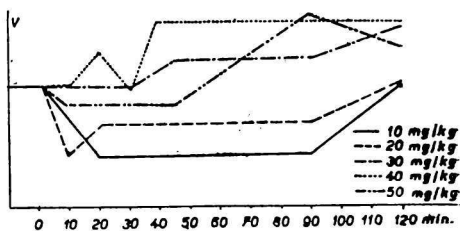
Graf 8.



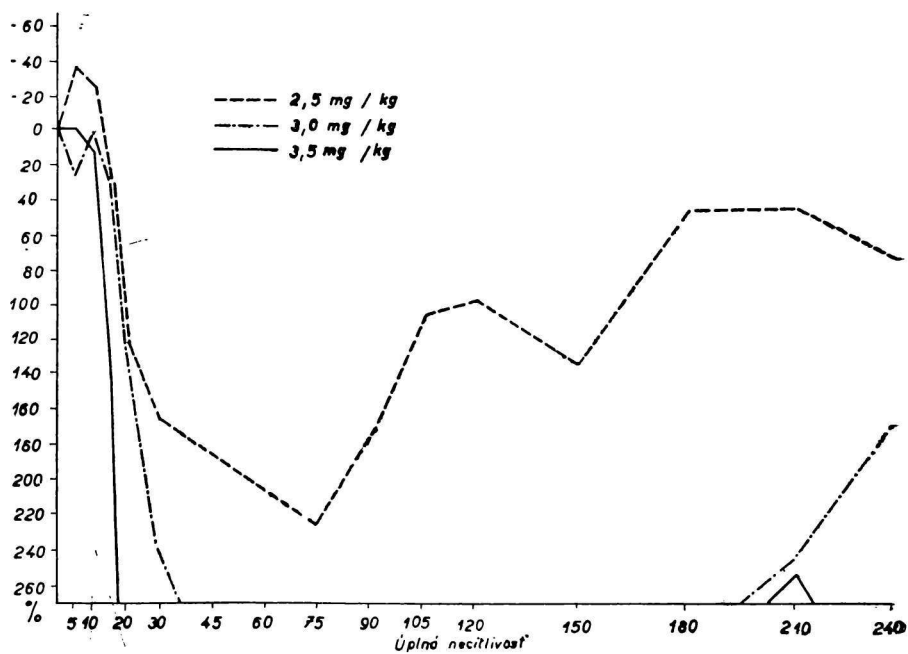
Graf 9.



Graf 10.

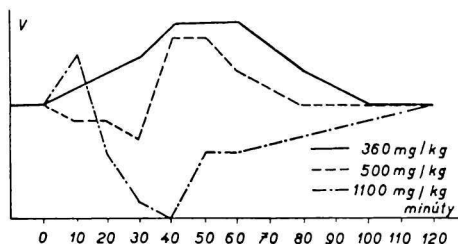


Graf 11.

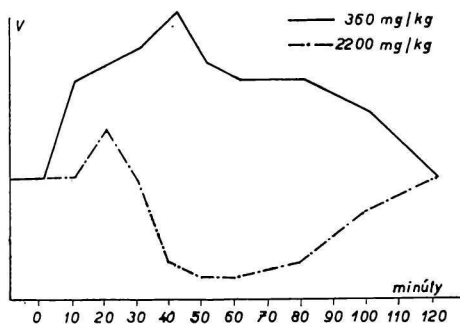


Graf 12.

statne dôležité pri zhodnocovaní analgetických účinkov. V princípe sa dráždilo striedavým prúdom z induktora. Do okruhu sa zapojil voltmeter, ktorý slúžil ako kontrola napätia v okruhu. Tento prúd sa viedol do dráždiacej kliečky, v ktorej zviera priebehom stimulov zotrvalo. Prísne sa prihliadalo aj k štandardným podmienkam, ako sa uvádzalo pri zhodnocovaní sedatívnych účinkov. Najväčšia pozornosť sa venovala selekcii zvierat, ich citlivosti na stimulus, návyk a pod. Pri pokuse sa hodnotili len tie zvieratá, ktoré na známy impulz reagovaly vždy jednotne bez značných individuálnych výchyliiek. Za účelom overenia experimentálnej techniky sa touto metódou vyskúšali niektoré deriváty morfinového radu. Tieto ukazovali jasný analgetický efekt rôzneho účinku a doby trvania. Za účelom demonštrovania metódy uvádzame graf 12, z ktorého jasne vidieť silný a markantný účinok Mo-HCl. Použili sme bežný komerčný prípravok Slovakofarmy vo forme 1%-ných injekcií. Videli sme, že už dávka 2,5 mg/kg váhy vyvoláva markantný analgetický účinok a že vyššie dávky spôsobujú už taký stupeň necitlivosti, že použitou metódou nemožno dráždenie zosilniť do tej miery, aby zviera reagovalo. Časové rozpätie k návratu citlivosti závisí od aplikovaného množstva.



Graf 13.

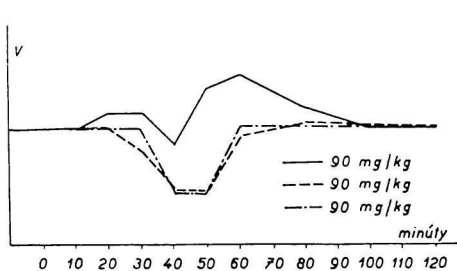


Graf 14.

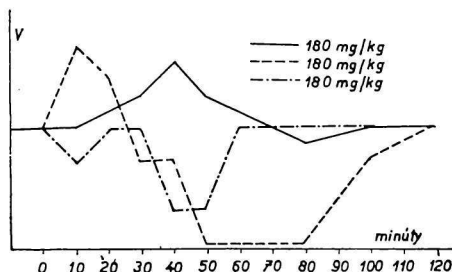
Z grafov 13, 14 možno vypočítať pôsobenie látky Di a TDi. U obidvoch látok si možno všimnúť, že látky 360 mg/kg zvyšujú prah citlivosti na elektrický stimulus, efekt podobný tomu, ktorý je znázornený v grafoch s vyššími dávkami amidopyrínu. Vo veľmi vysokých dávkach, a to u látky Di pri dávke 1 100 mg/kg možno po krátkom prechode zvýšenia prahovej citlivosti pozorovať určitý pokles, teda akýsi náznak analgetického efektu, ktorý však trvá pomerne krátky čas na rozdiel od látky TDi, kde sa dokonca aplikovalo 2 200 mg/kg váhy, u ktorej návrat k normálnej citlivosti je pozvoľnejší, ale návrat pôvodnej citlivosti pred aplikáciou sa v obidvoch prípadoch dosiahne po 120 minútach. Treba si všimnúť, že aj látka TDi podobne ako látka Di zapríčiňuje najprv mierne zvýšenie prahu citlivosti. Z obidvoch grafov je

markantné, že pomerne nižšie dávky súhlasne u oboch látok spôsobujú väčšie zvýšenie prahovej citlivosti a že návrat k pôvodnej citlivosti takisto nastáva pri 120 minútach. O dobrej znášanlivosti u látky TDi svedčí najmä možnosť aplikácie takého veľkého množstva, ako je 2 200 mg/kg váhy, čo by prepočítané na priemerne 70 kg človeka znamenalo 154 g látky TDi. Podobne vysoké množstvo by v humánnej aplikácii absolútne nemohlo prísť do úvahy, najmä nie pri použití kombinovaného lieku ako analgetika, a to ani pri pokuse o samovraždu. Toto je len ako pripomienka ku skutočnej neškodnosti látky TDi, pretože ani pri stanovení akútnej alebo chronickej toxicity nebolo možné dávky už naďalej ľubovoľne zvyšovať pre nerozpustnosť látky, ktorá sa už aj v najvyšších koncentráciách musela podávať v suspenzii. Zvieratá znášali tieto koncentrácie bez akýchkoľvek podstatných vedľajších príznakov.

Aby sme si overili prípadne možné zmeny čo do farmakologických účinkov, a to najmä čo do spomenutého analgetického efektu alebo prípadného zvýšenia prahu citlivosti, preskúšali sme niektoré kombinácie s obsahom a bez obsahu látky TDi na sérii zvierat, používajúc spomenutý elektrický stimulátor. Z grafu 15 vidieť, že prímes látky TDi síce podstatne nesnižuje prahovú citlivosť od kombinácie, kde sa táto látka nepridáva, možno však usudzovať, že sníženie prahovej citlivosti oniečo skorej nasadzuje, oniečo dlhšie zotrúva a konštantne sa vracia k pôvodným hodnotám. Pri zvýšených dávkach (graf 16) je zrejmé, že kombinácia bez látky TDi nesnižuje prahovú citlivosť, ba naopak túto zvyšuje, a že práve maximum tohto zvýšenia koliduje, možno povedať, so začatím snižovania prahovej citlivosti. Možno teda pripomenúť, že v shode so spomenutými experimentmi s amidopyrínom zvyšuje tento pri vyšších dávkach prahovú citlivosť, ale ak je v kombinácii s látkou TDi, toto zvýšenie sa už neprejavuje. Táto skutočnosť by sa mohla kladne hodnotiť v prospech kombinácie s prídavkom látky TDi. Ani graf 17 nedovoľuje nijaké námietky v neprospech prídavku látky TDi, pretože nemožno pozorovať nijaké zvrtné aberantné úchylky. Táto experimentálna skutočnosť je aj v súlade s vykonanými klinickými skúškami, ako aj so skúsenosťami aplikácie tejto látky v bežnej praxi. Nepozo-



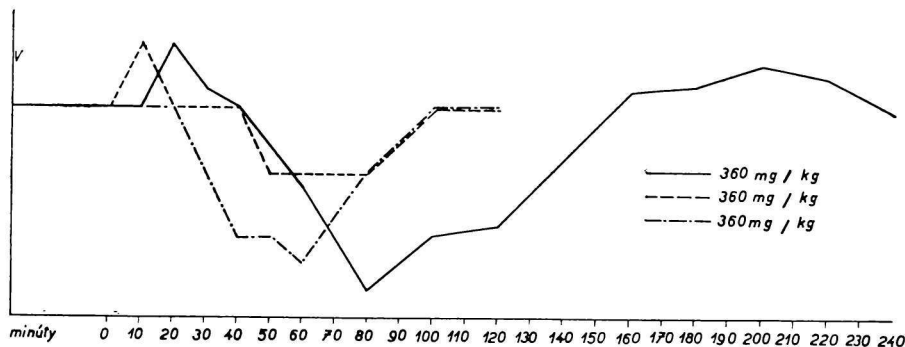
Graf 15.



Graf 16.

rovaly sa nijaké podstatné vedľajšie príznaky a v experimente vyznačený sedatívny efekt sa prejavil pocitom upokojenia bez akýchkoľvek príznakov únavy alebo straty na agilite. Je totiž známe, že látky barbiturového radu, ktoré v určitých dávkach takisto majú schopnosť pôsobiť sedatívne, v dávkach, keď sú účinnými antiepileptikami, podstatne snižujú výkonnosť, privodiac a vyvolávajúc značnú únavu a ospalosť, ktorá je veľmi často sprevádzaná až otupelosťou. Keďže nám záležalo na tejto veľmi dôležitej skutočnosti, všetky spomenuté deriváty, ku ktorým sa pripojil ešte diacetyl-dioxo-4,4-difenyylimidazolidín, preskúšali sa, či nevyvolávajú zvýšenú únavu alebo či nesnižujú agilitu zvierat. Zvolil sa tento princíp pokusu:

Vybrali sa krysy o váhe 200 g. Použil sa kmeň Wistar-biele, chovaný za štandardných podmienok, a priemerné hodnoty sa brali zo zvierat z jedného vrhu. Krysy boli vycvičené na stály nútený beh v bubne, ktorý poháňal elektromotor štandardne volenou rýchlosťou. Vybrali sa len tie zvieratá, ktorých únavu prichádzala v pomerne tých istých časových intervaloch a ktorých beh bol celkom pravidelný. Za únavu sa bralo to kritérium, že sa zviera začalo v bubne šmýkať, prípadne sa pohybom bubna prevažovalo. Časové priemery týchto normálnych krýs sa shrnuli a brali za 100%-ný výkon. Ďalším skupinám zvierat sa aplikovali vyššie uvedené látky a sledovali sa podobným spôsobom ako v predchádzajúcich prípadoch, a to za akú dobu sa u nich začne objavovať únavu. U zvierat, ktorým sa aplikoval fenobarbitál v dávke 5 mg/kg, výkon poklesol až na 33%. Ani u jedného z difenyylimidazolidínových derivátov pri tej istej dávke nepoklesol výkon pod 82%. Dokonca ak sa spomenuté deriváty podávaly takisto podkožne vo zvýšenej dávke 7,5 mg/kg váhy, výkon po podaní všetkých študovaných derivátov, ako aj u samého imidazolidínu stúpol bez výnimky nad 100% a v prípade podania látky diacetyl-2,5-dioxo-4,4-difenyylimidazolidínu až na 162%. Týmto považujeme za vylúčenie jednu z prípadných najdôležitejších námietok, že by



Graf 17.

uvedené slúčeniny v kombinácii analgetického lieku byly schopné vyvolať na úkor sedatívneho pôsobenia nevítaný efekt adynamičnosti.

Nakoniec uvedieme ešte niektoré poznatky o 2-tio-5-oxo-4,4-difenyylimidazolidíne s hľadiska galenicko-farmaceutického. Tu nás predovšetkým zaujíma stabilita rôznych mesí tejto látky s inými liečivami, ako aj zistenie, či aj tu sa vyskytuje tvorba žltosfarbených látok s amidopyrínom, ako je napr. známa u substituovaných kyselín barbiturových.

Pripravili sme preto rozmanité smesi liečiv so študovanou látkou a prechovávali sme ich pre toto zistenie obvyklým spôsobom na vzduchu, v papierových obaloch, v sklených fľašiach s korkovým a skleným zabrúseným uzáverom, a to na svetle i v tme. Niektoré smesi sa ožarovali ultrafialovým svetlom. Ukázalo sa, že smesi s fenacetínom, kofeínom a kyselinou acetylsalicylovou sú dobre stále. Ani ožiarenie ultrafialovým svetlom tu nevyvoláva známky inkompatibility.

Smesi s amidopyrínom sa chovajú veľmi podobne ako smesi amidopyrínu s rôznymi kyselinami barbiturovými a ureidmi. Smes amidopyrínu s 2-tio-5-oxo-4,4-difenyylimidazolidínom pri zvýšenej teplote 35° C žltne rýchlo a v celom svojom objeme nadobúda typicky žltú až žltohnedastú farbu.

Vzdušná vlhkosť, ako aj zvlhčenie mesí najmä alkoholom a acetónom veľmi podporuje žltnutie prášku alebo tabletiiek. Aj ožiarenie ultrafialovým svetlom podporuje rýchlosť vzniku žltozafarbenej podvojnej soli, pretože už ožiarenie trvajúce 30 minút vyvolá znateľne žlté zafarbenie.

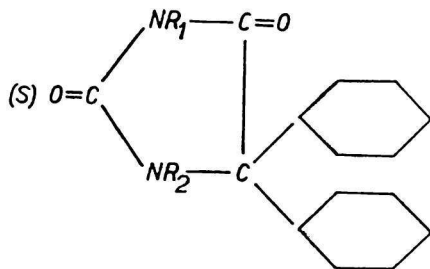
Vzniku žltozafarbených látok sa dá zabrániť celkom obvyklými spôsobmi, aké sú známe pre smesi amidopyrínu s kyselinami barbiturovými, a je ľahostajné, ktorý spôsob volíme, či už granuláciu obidvoch komponentov osobitne, či briketovanie suchej tabletoviny, či iné dobre známe spôsoby z galenickej farmácie. Zaujímavý je dlhodobý účinok denného svetla na študovaný 2-tio-5-oxo-4,4-difenyylimidazolidín, a to či už na látku čistú alebo v smesiach s inými liečivami. Tu za dobu 8—12 mesiacov dochádza k povrchovému svetloružovému zafarbeniu, ktoré len u mesí s amidopyrínom má žltkastý charakter. Shodné smesi vo forme práškov či tabletiiek, prechovávané v rovnakých obaloch a za rovnakých vonkajších podmienok na tmavom mieste (napr. v zasklenej skrini na strane odľahlej od okien) alebo v tme, sú neobmedzene stále. Rovnako stále sú tieto smesi v nepriesvitných obaloch či už sklených, papierových alebo kovových.

S galenického hľadiska nás zaujímala aj rozpadavosť tabletiiek, obsahujúcich študovanú látku, a ukázalo sa, že s obvyklými tabletovacími prísadami sa dá vždy dosiahnuť dobrá rozpadavosť; v smesi s kofeínom, amidopyrínom a fenacetínom dokonca pod 20 sekúnd. Aj u čistej látky sa podarilo ľahko získať rozpadavosť tabletiiek pod 1 minútu. Zaujímavé je ďalej, že rozpadavosť tu

neklesá s časom a že tabletky prechovávané dlhšie ako 10 mesiacov nestrácajú svoju dobrú rozpadavosť. Napr. u tabletiiek s amidopyrínom a kofeínom ostáva vždy pod 20 sekúnd, pričom podotýkame, že skúšky rozpadavosti sme robili za menej priaznivých podmienok iba s destilovanou vodou 37° C teplou, bez prísady kyseliny soľnej a pepsínu.

Súhrn

U difenylimidazolidínových odvodenín typu:



sa preskúmala sedatívna účinnosť, a to metódou v trasných klietkach s rôznymi spôsobmi záznamov pohyblivosti. Použila sa pri tom nová, veľmi spresnená metóda, ktorá dovoľuje vysoké množstvo záznamov pohyblivosti a tým exaktnejšie stanovenie sedatívneho efektu na veľkom množstve pokusného materiálu. Tieto látky sa podrobili aj analýze s hľadiska experimentálneho zistenia analgetickej účinnosti elektrickým podráždením a ich antikonvulzívnej účinnosti. Ukázalo sa, že najvýhodnejšie vlastnosti pre prípadné terapeutické použitie má 2-tio-5-oxo-4,4-difenylimidazolidín, ktorý je takmer netoxickým derivátom s jasne vyhraneným sedatívnym účinkom, bez hypnotického pôsobenia v dávkach sedatívne pôsobiacich a javiacich analgetický efekt experimentálne porovnateľný s účinkami analgetík typu amidopyridínu. 2-tio-5-oxo-4,4-difenylimidazolidín nejaví v pentametyléntetrazolovom teste antikonvulzívne pôsobenie.

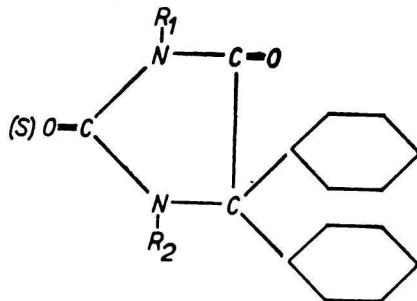
Študované deriváty sa tiež podrobili zisteniu únavy a ukázalo sa, že týmito látkami sa únava nezvyšuje, ba u vyšších dávok dokonca vzrastá výkon a agilita zvierat, hoci kyselina fenyletylbarbiturová v podobnom pokuse jasne únavu zvyšuje a agilitu a výkon snižuje až na tretinu normálu. Experimentálne sa študovaly i smesi 2-tio-5-oxo-4,4-difenylimidazolidínu s inými liečivami (amidopyrínom, fenacetínom a kofeínom) s hľadiska ich pôsobenia ako analgetík i so stránky farmaceuticko-galenickej a stanovily sa potrebné predpoklady pre ďalšie využitie tejto látky na terapeutické účely.

К ИССЛЕДОВАНИЮ СЕДАТИВНОГО ДЕЙСТВИЯ ПРОИЗВОДНЫХ ДИФЕНИЛИМИДАЗОЛИДИНА

Л. МОЛНАР, Ф. СЕЛЕЦКИ, И. ТАМХИНА
Институт фармации и биохимии, Братислава

Выводы

У производных типа дифенилимидазолидина



исследовано седативное действие методом наблюдения в сотрясаемых клетках с разными способами записи подвижности. Применялся новый уточненный метод, позволяющий большое количество записей подвижности и точное определение седативного эффекта в большом количестве опытного материала. Эти вещества подверглись также анализу с точки зрения опытного определения аналгетического действия электрическим раздражением и их антиконвульзионного действия. Оказалось, что для терапевтического применения наиболее пригодным является 2-тио-5-оксо-4, 4-дифенилимидазолидин, который почти нетоксичный с ясно выраженным седативным действием, свободным от гипнотического действия в дозах, действующих седативно и проявляющих аналгетический эффект, который можно экспериментально сравнивать с действием аналгетиков типа амидопирин. 2-тио-5-оксо-4, 4-дифенилимидазолидин не проявляет при пентаметилентетразоловом тесте антиконвульзионного действия.

Исследованные производные подвергались также определению усталости и оказалось, что этими веществами утомленность не убольшается, но при больших дозах мощность и деятельность животных даже возрастает, между тем как фенилацетилбарбитуровая кислота в подобном опыте ясно повышает усталость и деятельность и мощность понижается вплоть до одной трети нормальной величины.

Опытным путем исследовались также смеси 2-тио-5-оксо-4, 4-дифенилимидазолидина с другими лекарствами (амидопирином, фенацетином и кофенном) с точки зрения их действия в качестве аналгетиков и с фармацевтико-галенической стороны и установлены нужные предпосылки для дальнейшего использования этого вещества для терапевтических целей.

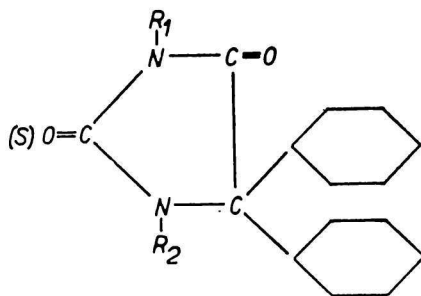
Получено в редакции 31-го октября 1952 г.

BEITRAG ZUR ERKENNUNG DER SEDATIVEN WIRKUNG VON DIPHENYLIMIDAZOLIDINODERIVATEN

L. Molnár, F. Selecký, J. Tamechyna
Forschungsinstitut für Pharmazie und Biochemie in Bratislava

Zusammenfassung

Diphenylimidazolidinoderivate des Types



wurden auf ihre sedative Wirksamkeit untersucht und zwar nach der Methode in Vibrierkäfigen mit verschiedenen Mobilitätsnotierungsarten. Es wurde eine neue, sehr verfeinerte Methode benützt, welche eine grosse Menge Mobilitätsnotierungen und somit eine exaktere Bestimmung des sedativen Effektes an einer grossen Menge von Versuchsmaterial ermöglicht. Diese Stoffe wurden auch einer Analyse vom Standpunkt der experimentellen Erforschung auf analgetische Wirksamkeit durch elektrische Reizung und auf ihre antikonvulsive Wirksamkeit unterzogen. Es zeigte sich, dass 2-Thio-5-oxo-4,4-diphenylimidazolin über die vorteilhaftesten Eigenschaften für eventuelle therapeutische Anwendung verfügt. Es ist beinahe ganz ohne Toxizität, hat eine ausgesprochen sedative Wirkung ohne sich bei sedativ wirkenden Dosen hypnotisch zu äussern, wobei es über einen mit von amidopyrinartigen Analgetica vergleichbaren analgetischen Effekt verfügt. Im Pentamethylenetetrazoltest äussert es keine antikonvulsive Wirkung.

Die angeführten Derivate wurden auch auf Ermüdung untersucht, wobei es sich zeigte, dass diese durch die Derivate nicht erhöht wird, ja bei höheren Dosen wächst sogar die Leistung und Agilität der Tiere an, obzwar Phenylazetylbarbitursäure in einem ähnlichen Versuch die Ermüdung klar steigert, wobei sie Agilität und Leistung auf ein Drittel des Normals senkt.

Experimentell wurden auch Mischungen von 2-Thio-5-oxo-4,4-diphenylimidazolidin mit anderen Arzneimitteln (Amidopyrin, Phenazetin, Koffein) sowohl vom Standpunkt ihrer analgetischen Wirkung als auch pharmazeutisch-galenisch untersucht.

Schliesslich wurden die notwendigen Voraussetzungen für die weitere Ausnützung dieses Stoffes für therapeutische Zwecke bestimmt.

In die Redaktion eingelangt den 31. X. 1952.

LITERATÚRA

1. Kaliner S. S., Nevropatologija i psichiatrija 5, 50 (1950).
2. Starycina J. S., Nevropatologija i psichiatrija 5, 52 (1950).
3. Biltz, Ber. deutsch. Chem. Ges. 40, 4814; 41, 169, 1386, 1391; 42, 1795; 43, 1992.
4. Amour F. E. D., Smith D. L., J. Pharm. Expl. Therapy 72, 74 (1941).
5. Barlow O. W., J. Am. Med. Assoc. 99, 968 (1932).
6. Buchel L., Lévy J., J. Pharm. Expl. Therapy 33, 43 (1928).
7. Haffner F., Dent. med. Wchschr. 55, 731 (1929).
8. Hesse E., Arch. Expl. Path. Pharm. 158, 233 (1930).
9. Himmelsbach C. K., Gerlach G. H., Stanton E. J., J. Pharm. Expl. Therapy 53, 179 (1935).
10. Irrgang K., Forsch. Ther. 18 (1942).
11. Jung K., Südent. Apth. Ztg. 88, 181 (1948).
12. Schaumann O., Arch. Expl. Path. Pharm. 196, 109 (1940).
13. Woolfe G., Macdonald A. D., J. Pharm. Expl. Therapy 80, 300 (1944).
14. Biltz, Liebigs Annalen 368, 391, 217, 231.
15. Seydel, Liebigs Annalen 391, 217.

Došlo do redakcie 31. X. 1952