

2m11.2431.6

Université de Montréal

Le rôle des organes présystémiques et de la dose dans le métabolisme
des énantiomères du propranolol chez le lapin.

par

Jean-François Marier

Département de pharmacologie

Faculté de Médecine

Mémoire présenté à la faculté des études supérieures

en vue de l'obtention de grade de

Maître ès sciences (M.Sc.)

en pharmacologie

Novembre 1995

© Jean-François Marier, 1995



W

4

U58

1996

V.027

Université de Montréal
Faculté des études supérieures

Ce mémoire intitulé:

Le rôle des organes présystémiques et de la dose dans le métabolisme
des énantiomères du propranolol chez le lapin.

présenté par:

Jean-François Marier

a été évalué par un jury composé des personnes suivantes:

Patrick du Souich (directeur de recherche)

Chantal Lambert (présidente du jury)

Jean Spénard (membre du jury)

Mémoire accepté le 21 février 1996

SOMMAIRE

Il est important de connaître le métabolisme stéréosélectif du R,S-propranolol car le pouvoir β -bloquant de l'énantiomère S(-) est environ 100 fois plus puissant que celui de l'énantiomère R(+). La stéréosélectivité du métabolisme des énantiomères du propranolol semble dépendante de la voie d'administration. Ainsi, les surfaces sous la courbe des concentrations plasmatiques ($SSC_{0-\infty}$) de l'énantiomère S(-) suivant l'administration orale et l'injection intraveineuse sont 1,48 et 1,17 fois supérieures à celles de l'énantiomère R(+). Deux hypothèses sont proposées dans le but de connaître les facteurs responsables des différences stéréosélectives dans le métabolisme des énantiomères du propranolol.

La première hypothèse est basée sur la capacité des organes extrahépatiques à métaboliser les médicaments. Il a été démontré que les poumons, les reins et les cellules épithéliales de l'intestin contiennent des isoenzymes du cytochrome P-450. Suivant une administration orale, la contribution intestinale au premier passage du propranolol est de 43% alors que son extraction systémique est de 23%. Nous postulons que le métabolisme préférentiel de l'énantiomère R(+) dans la paroi intestinale est, en grande partie, responsable de la stéréosélectivité suivant l'administration orale.

La deuxième hypothèse repose sur le fait que la dose atteignant le foie influence la stéréosélectivité du métabolisme des énantiomères du propranolol. En effet, lorsque 0,1 mg/kg ou 5 mg de propranolol sont injectés par la voie intraveineuse, une quantité maximale de 2 à 3 mg atteint le foie. Par contre, lorsque 40 mg ou plus sont administrés par voie orale, le propranolol traverse les cellules épithéliales de l'intestin et, même en tenant compte de la

capacité d'extraction de l'intestin, au moins 25 mg atteindront le foie.

Afin de déterminer l'effet de la voie d'administration et de la dose sur la stéréosélectivité du métabolisme des énantiomères du propranolol, des lapins conscients ont reçu des doses variables de R,S-propranolol par voie orale (40, 80 et 120 mg/kg) et intraveineuse (0,5 et 10 mg/kg). Des expériences *in vitro* ont permis de déterminer la capacité des cellules épithéliales de l'intestin, du foie, des poumons et des reins à métaboliser le R,S-propranolol. L'incubation de chaque énantiomère individuellement a permis de déterminer si l'interaction entre les énantiomères ou la saturation du métabolisme d'un énantiomère pourraient influencer la stéréosélectivité du métabolisme.

Suivant l'administration orale de 40 mg/kg et l'injection intraveineuse de 0,5 mg/kg, le métabolisme des énantiomères du propranolol n'est pas stéréosélectif. Les doses orales de 80 et 120 mg/kg génèrent une augmentation non-linéaire des $SSC_{0-\infty}$ des deux énantiomères et la des $SSC_{0-\infty}$ du S(-)-propranolol augmente plus rapidement que celle du R(+)-propranolol signifiant qu'une stéréosélectivité dans le métabolisme des énantiomères du propranolol apparaît lorsque la dose augmente. Suivant l'administration orale de 120 mg/kg, on observe des concentrations plasmatiques de S(-)-propranolol nettement supérieures à celles de son antipode ($p < 0,05$). L'injection intraveineuse de 10 mg/kg génère également une cinétique d'ordre zéro, mais dans ce cas, les des $SSC_{0-\infty}$ du S(-)-propranolol sont inférieures à celles du R(+)-propranolol ($p < 0,05$).

In vitro, seulement le foie et la muqueuse intestinale métabolisent le propranolol. Suivant l'incubation de 5,8 et 58 mM de R,S-propranolol dans les cellules épithéliales de

l'intestin, les vitesses d'élimination du R(+)-propranolol sont plus rapides que celles du S(-)-propranolol. Aux concentrations de 5,8 mM dans les cellules hépatiques, un métabolisme rapide sans stéréosélectivité est observé. Par contre, suivant l'incubation de 58 mM de R,S-propranolol, une diminution des vitesses d'élimination des deux énantiomères du propranolol et l'apparition d'un métabolisme préférentiel de l'énantiomère R(+) sont notées. Ces résultats suggèrent que la stéréosélectivité de la cinétique des énantiomères du propranolol est dépendante de la dose dans les cellules hépatiques.

Par rapport à ces derniers résultats, l'incubation de 2,9 et 29 mM de chaque énantiomère individuellement dans les cellules épithéliales de l'intestin montre que le métabolisme du S(-)-propranolol est saturé. À une concentration de 2,9 mM dans les cellules hépatiques, les vitesses d'élimination de chaque énantiomère sont le double par rapport au mélange racémique, ce qui signifie que les énantiomères d'un mélange racémique inhibent l'élimination de leur antipode. À une concentration de 29 mM, la saturation de l'élimination de l'énantiomère S(-) et l'apparition d'un métabolisme stéréosélectif sont observées.

Nous concluons que l'intestin et le foie sont responsables du métabolisme stéréosélectif des énantiomères du propranolol. La stéréosélectivité dose-dépendante dans les cellules hépatiques est principalement responsable de l'élimination préférentielle du R(+)-propranolol observé *in vivo* chez le lapin. Finalement, ces résultats démontrent que la stéréosélectivité ne dépend pas d'une différence de clairance intrinsèque pour les deux énantiomères, mais de la saturation du métabolisme du S(-)-propranolol.

Mots clés: propranolol, énantiomères, pharmacocinétique, métabolisme intestinal, métabolisme hépatique, lapin.

TABLES DES MATIÈRES:

SOMMAIRE.....	iii
LISTE DES TABLEAUX.....	x
LISTE DES SCHÉMAS.....	xi
LISTE DES FIGURES.....	xii
LISTE DES SIGLES ET ABRÉVIATIONS.....	xiii
REMERCIEMENTS.....	xv

A. INTRODUCTION**1. NOTIONS GÉNÉRALES**

1.1 Historique.....	2
1.2 Chiralité.....	3

2. PROPRIÉTÉS PHARMACODYNAMIQUES

2.1 Pouvoir β -bloquant.....	4
2.2 Effets hémodynamiques.....	5
2.3 Autres propriétés.....	8

3. PROPRIÉTÉS PHARMACOCINÉTIQUES	
3.1 Absorption.....	9
3.2 Distribution.....	10
3.3 Élimination.....	10
3.4 Métabolisme.....	12
3.5 Cinétique non-linéaire.....	16
3.6 Facteurs influençant la pharmacocinétique.....	17
4. INDICATIONS	
4.1 Hypertension artérielle.....	19
4.2 Infarctus du myocarde.....	23
4.3 Arythmies cardiaques.....	24
4.4 Autres indications.....	26
5. CONTRE-INDICATIONS ET EFFETS SECONDAIRES	
5.1 Insuffisance cardiaque.....	26
5.2 Voies respiratoires.....	27
5.3 Effets métaboliques.....	28
5.4 Autres contre-indications.....	28
6. DESCRIPTION DU PROJET DE RECHERCHE.....	29

B. ARTICLE: Stereoselective disposition of propranolol in the rabbit:	
role of presystemic organs and dose.....	32
C. DISCUSSION ET CONCLUSION.....	63
D. BIBLIOGRAPHIE.....	74

LISTE DES TABLEAUX

<u>Table I:</u>	Paramètres pharmacocinétiques des énantiomères du propranolol suivant l'administration orale de 40, 80, et 120 mg/kg de propranolol racémique à des lapins conscients (n=4-5).....	55
<u>Table II:</u>	Paramètres pharmacocinétiques des énantiomères du propranolol suivant l'injection intraveineuse de 0,5 et 10 mg/kg de propranolol racémique à des lapins conscients (n=5).....	56

LISTE DES SCHÉMAS

<u>Schéma 1</u> : Structure des énantiomères du propranolol.....	3
<u>Schéma 2</u> : Voies métaboliques du propranolol.....	14

LISTE DES FIGURES

- Figure 1: Concentrations plasmatiques des énantiomères du propranolol en fonction du temps suivant l'administration orale de 120 (○,●), 80 (□,■) and 40 (◇,◆) mg/kg de R,S-propranolol chez des lapins (n=4-5).....58
- Figure 2: Concentrations plasmatiques des énantiomères du propranolol en fonction du temps suivant l'injection intraveineuse de 0,5 (○,●) et 1,0 (□,■) mg/kg de R,S-propranolol chez des lapins (n=5).....59
- Figure 3: Vitesse d'élimination du propranolol *in vitro* dans les cellules hépatiques: R(+)-propranolol: ■ , S(-)-propranolol: □.....60
- Figure 4: Vitesses d'élimination du propranolol *in vitro* dans les cellules épithéliales de l'intestin: R(+)-propranolol: ■ , S(-)-propranolol: □.....61

LISTE DES SIGLES ET ABRÉVIATIONS

ASI: activité sympathomimétique intrinsèque

C: Celcius

Clo: clairance orale

Cl_t: clairance systémique

C_{max}: concentration plasmatique maximale

D_o: dose orale

HPLC: chromatographie en phase liquide à haute performance

IECA: inhibiteurs de l'enzyme de conversion de l'angiotensine

K_{el}: constante de la vitesse d'élimination

kg: kilogramme

M: molaire, mol/L

mM: millimolaire

mg: milligramme

mL: millilitre

μg: microgramme

ng: nanogramme

NADPH: nicotinamide adénine dinucléotide phosphate

NLA: acide naphtoxylactique

4-OH: 4-hydroxypropranolol

PG: glucuronide du propranolol

Prot: protéines

R-PEIC: R(+)-phényléthylisocyanate

RPM: révolutions par minute

S.E.: erreur-type

SSC_{0-∞}: surface sous la courbe des concentrations plasmatiques du S(-) ou R(+)-propranolol
en fonction du temps

t_{1/2}: temps de demi-vie d'élimination

V_{dss}: volume de distribution à l'état d'équilibre.

REMERCIEMENTS:

Je tiens à témoigner ma reconnaissance envers le Docteur Patrick du Souich, qui par son support et sa disponibilité a su me transmettre les connaissances et les conseils qui m'ont guidé à l'aboutissement de mon travail. Je remercie également Hélène Maurice, Lucie Héroux et mes partenaires de laboratoire pour la réalisation technique des expériences. Je voudrais aussi témoigner ma reconnaissance envers le Conseil de Recherche Médical (CRM) qui a accordé le soutien financier du projet.

A. INTRODUCTION

1. NOTIONS GÉNÉRALES.

1.1 Historique.

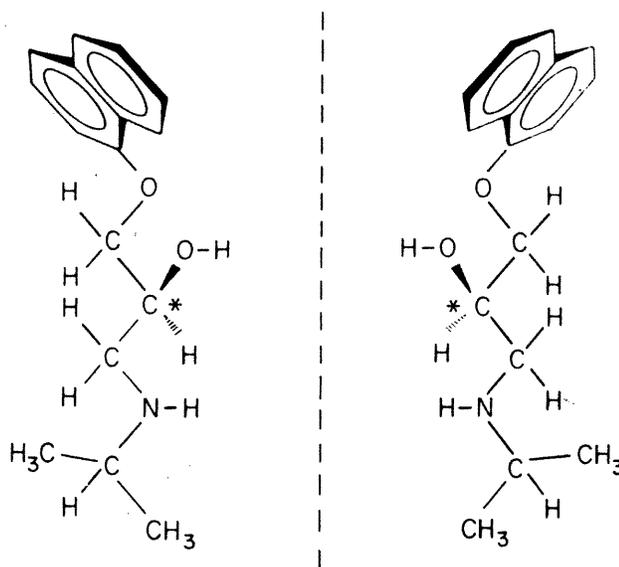
Le dichloro-isoprotérénol fut le premier β -bloquant mis au point mais il demeura inutilisable en thérapeutique à cause de son activité sympathomimétique intrinsèque élevée (Powell et Slater, 1958). Peu de temps après, deux nouveaux médicaments ayant la même activité de blocage adrénergique furent développés: le pronéthanolol et le propranolol. Ceux-ci n'avaient pas l'inconvénient de leur prédécesseur et ils ont été rapidement utilisés en clinique pour le traitement de l'angine de poitrine et des arythmies cardiaques (Prichard et coll., 1963; Fulton et Green, 1963). Des études cliniques ont démontré que le pronéthanolol avait une fenêtre thérapeutique étroite et des effets secondaires dangereux (Fulton et Green, 1963). Peu de temps après l'évaluation des propriétés cliniques du pronéthanolol, celui-ci a été abandonné car des chercheurs ont découvert que ce médicament induisait des tumeurs chez les rats (Paget, 1963).

Après avoir confirmé que le propranolol ne présentait aucun effet secondaire majeur à long-terme, la possibilité d'abaisser la pression artérielle fut mise en évidence chez l'hypertendu (Black et coll., 1964). Le traitement clinique des malades hypertendus et des patients souffrant d'angine de poitrine commença dès 1964. Le propranolol est la molécule prototype des β -bloquants de la première génération. Ceux-ci ont la caractéristique générale d'avoir une action antagoniste sur les récepteurs β_1 et β_2 . Depuis ce temps, des β -bloquants de deuxième et troisième générations ont été synthétisés pour différentes indications cardio-vasculaires dont l'hypertension artérielle est la principale (Wallin et coll., 1987).

1.2 Chiralité.

La molécule de propranolol a un centre chiral, c'est-à-dire un carbone ayant quatre substituants différents. De ce fait, le propranolol peut exister sous la forme lévogyre ou dextrogyre. Cependant, dans la littérature, on les nomme plus communément de la façon suivante: énantiomères S(-) et R(+) du propranolol (Howe et Shanks, 1966). Le propranolol est commercialisé sous la forme d'un mélange racémique, c'est-à-dire une proportion équivalente des énantiomères S(-) et R(+). La structure chimique des énantiomères du propranolol est présentée dans le schéma 1. Le centre chiral du propranolol est indiqué par un astérisque.

Schéma 1. Structure chimique des énantiomères du propranolol.



S(-)-propranolol

R(+)-propranolol

1-[(1-Méthylethyl)amino]-3-(1-naphtalenyloxy)-2-propanol

2. PROPRIÉTÉS PHARMACODYNAMIQUES.

2.1 Pouvoir β -bloquant.

L'activité pharmacologique du propranolol est le résultat du blocage des récepteurs β aux catécholamines endogènes ou exogènes. Dans une étude sur les propriétés anti-arythmiques du propranolol, Barrett et Cullum (1968) ont démontré que l'énantiomère S(-) est environ 100 fois plus puissant que son antipode pour inhiber la tachycardie induite par l'isoprénaline. De plus, 40 mg de S(-)-propranolol sont aussi efficaces que 80 mg de R,S-propranolol pour abaisser la pression artérielle chez des volontaires sains (Stoschitzky et coll., 1992). Le blocage β -adrénergique est compétitif et réversible, de sorte que le S(-)-propranolol peut être déplacé par des concentrations élevées de catécholamines. La courbe dose-réponse est alors déplacée d'une manière parallèle vers la droite avec conservation de l'effet maximum (Cruickshank et Prichard, 1988; Lucchesi et Whitsitt, 1969).

L'action β -bloquante du propranolol n'est pas cardiosélective: l'énantiomère S(-) peut donc antagoniser l'effet des catécholamines sur les récepteurs β_1 et β_2 (Prichard, 1978a). Les récepteurs β_1 répondent à la fois à la stimulation neuronale (noradrénaline) et hormonale (adrénaline), alors que les récepteurs β_2 sont principalement activés par l'adrénaline et seulement par de fortes concentrations de noradrénaline (Lands et coll., 1967). Les récepteurs β_1 interviennent dans la stimulation cardiaque, dans la lipolyse et dans l'inhibition des contractions intestinales alors que les récepteurs β_2 sont responsables de la vasodilatation, de la bronchodilatation et de la relaxation utérine. D'une façon générale, le S(-)-propranolol inhibe tous ces effets. La réduction de ces effets est d'autant plus importante que le tonus sympathique

est préalablement élevé car le propranolol réduit les réactions à support β -adrénergique de l'organisme dans les situations où le système nerveux sympathique est stimulé d'une manière physiologique (effort, stress ou orthostatisme) ou pathologique (insuffisance cardiaque ou phéochromocytome).

L'activité sympathomimétique intrinsèque (ASI) représente la propriété que possèdent certains β -bloquants de pouvoir agir comme agoniste partiel sur les récepteurs β -adrénergique. Le pindolol, l'oxprénolol, l'alprénolol et à un moindre degré l'acébutolol sont des β -bloquants possédant l'ASI. Puisque le propranolol est un antagoniste pur, son ASI est nulle (Cruickshand et Prichard, 1988).

2.2 Effets hémodynamiques.

D'une façon générale, le propranolol diminue la fréquence cardiaque et la contractilité myocardique dans les circonstances où le système nerveux sympathique est stimulé. Il est convenable de dissocier les effets hémodynamiques observés lors d'une administration aiguë de ceux constatés lors d'administrations chroniques.

Suivant une administration aiguë, le S(-)-propranolol entraîne une réduction du débit cardiaque. Étant donné que le volume d'éjection systolique demeure constant, la diminution du débit cardiaque s'effectue proportionnellement à la réduction de la fréquence cardiaque (Safar, 1986). Malgré la chute significative du débit cardiaque, la pression artérielle demeurera inchangée à cause d'une élévation de la résistance périphérique de 20 à 30% (débit cardiaque

diminué x résistance périphérique augmentée = pression artérielle inchangée). Cet effet est plutôt une réponse réflexe à la chute du débit cardiaque qu'une réaction du tonus vasculaire suite au démasquage de la vasoconstriction par le blocage β_2 -adrénergique (Colfer et coll., 1984). Plusieurs heures après l'administration aiguë ou lors d'un traitement prolongé, la résistance périphérique se stabilise à des valeurs qui demeurent de 5 à 15% plus élevées que celles d'avant le début du traitement. Pendant cette phase, la chute tensionnelle sera due au retour progressif de la résistance périphérique vers sa valeur initiale en considérant que le débit cardiaque est toujours abaissé. L'importance de la chute de la pression artérielle sera en fonction du niveau auquel la résistance périphérique se stabilisera (Cruickshank et Prichard, 1988). En traitement chronique, la réduction du débit cardiaque est moins importante que lors des traitements aigus. Par contre, on assiste quelques heures après une administration aiguë ou lors d'un traitement oral prolongé, à une réduction des résistances périphériques totales jusqu'à une valeur habituellement légèrement supérieure à celle observée en début de traitement (de l'ordre de 5 à 15%). C'est alors que la pression artérielle s'abaissera (Cruickshank et Prichard, 1988). Le propranolol augmente les résistances vasculaires et réduit les débits périphériques par l'abaissement du débit cardiaque et la mise en jeu des barorécepteurs (Nies et coll., 1973). Le mécanisme de vasoconstriction périphérique est le résultat de la réponse réflexe de l'augmentation du tonus sympathique en réponse à la chute du débit cardiaque. Étant donné que l'effet du propranolol sur la vascularisation périphérique est minimale, l'augmentation réflexe du tonus sympathique se refléterait par une vasoconstriction α_1 , l'effet β_2 étant bloqué par l'énantiomère S(-) (Nies et coll., 1973). La modification des débits périphériques ne concerne pas seulement la circulation dans les membres. Ainsi, un flux plasmatique rénal diminué entraînera une diminution de la clairance de la créatinine et une rétention hydrosodée.

Lors de l'administration chronique, les modifications de la fonction rénale induites par plusieurs β -bloquants se réduisent et tendent à disparaître alors qu'elles demeurent significatives pour le propranolol (Zech et coll., 1986).

Au niveau de la circulation coronarienne, le propranolol diminue la consommation myocardique d'oxygène et de ce fait, tend à réduire la circulation coronaire au repos comme à l'effort (Wolfson et Gorlin, 1969). La réduction de la consommation d'oxygène explique l'intérêt pour le propranolol dans l'angine d'effort. De plus, le propranolol permet une redistribution du débit sanguin coronaire des tissus sous-épicaux vers les couches les plus exposées à l'ischémie, soient les couches endocardiques (Gross et Winbury, 1973).

La libération de la rénine est essentiellement sous le contrôle des récepteurs β -adrénergiques du cortex rénal. Les cellules de l'artériole afférente du glomérule à partir desquelles se fait la libération de rénine sont sensibles à l'activité sympathique, au taux d'angiotensine II (feed-back négatif) et à la teneur en Na^+ et Cl^- de l'urine distale (Davis, 1973). L'inhibition de la stimulation des nerfs sympathiques rénaux diminuera la libération de rénine et il y aura une diminution de l'angiotensine II circulante et, par conséquent, une réduction de ses effets vasopresseurs périphériques, une réduction de la production d'aldostérone et une élévation de la kaliémie.

L'effet des β -bloquants sur les catécholamines a fait l'objet de plusieurs études qui ont donné des résultats contradictoires. Suivant l'effort, le propranolol peut induire une élévation

du taux de catécholamines, mais l'augmentation est moindre lorsque le β -bloquant utilisé est cardio-sélectif (Virtanen et coll., 1982).

2.3 Autres propriétés.

L'horizon thérapeutique du propranolol s'est élargi à des domaines qui dépassent celui du système cardiovasculaire et il existe une importante documentation sur ses effets au niveau du système nerveux oculaire et central (Cruickshank et Prichard, 1988). Ainsi, les deux énantiomères du propranolol agissent sur un mécanisme cholinergique impliqué dans les effets anti-arythmiques et hypotensifs oculaires. On a également suggéré qu'un effet inhibiteur présynaptique à la jonction neuro-musculaire squelettique expliquerait l'effet bénéfique du propranolol dans le tremblement (Alkondon et coll., 1986). Le propranolol a un effet stabilisateur sur la membrane et d'anesthésie locale, mais les concentrations requises pour que ces effets se développent sont supérieures à celles retrouvées en thérapeutique (Tong et coll., 1990).

Une partie des symptômes associés à l'hyperthyroïdie sont liés à une hyperactivité du système nerveux central, plus précisément à une hypersensibilité tissulaire aux catécholamines. L'énantiomère R(+) du propranolol contribue à diminuer de nombreux symptômes de l'hyperthyroïdie en inhibant la conversion de la thyroxine (T4) en triiodothyronine (T3) (Stoschitzky et coll., 1992).

Durant l'investigation clinique du propranolol dans la prévention de l'angine de poitrine, une diminution des maux de têtes fut observée chez des patients souffrant de migraine (Rabkin

et coll., 1966). Le propranolol s'est avéré efficace dans le traitement des symptômes de la migraine mais demeure impuissant en présence d'attaques aiguës. La puissance du R(+)-propranolol à diminuer les symptômes de la migraine est similaire à celle du R,S-propranolol (INDERAL) (Stensrud et Sjaastad, 1976). La physiopathologie de la migraine demeure complexe mais le mécanisme d'action du propranolol ne serait pas reliée à l'activité -bloquante de l'énantiomère S(-), mais plutôt à la grande capacité des deux énantiomères du propranolol à traverser la barrière hématoencéphalique. La dose utilisée en prophylaxie de la migraine est de 40 mg par jour (Stensrud et Sjaastad, 1976; Weber et Reinmuth, 1972).

3. PROPRIÉTÉS PHARMACOCINÉTIQUES.

3.1 Absorption.

Suivant une administration orale, le propranolol est rapidement et complètement absorbé par le système gastro-intestinal (Paterson et coll., 1970; Routledge et Shand, 1979). Les Cmax de propranolol d'une formulation à libération immédiate sont observées entre 60 et 90 minutes chez des patients à jeûn (Paterson et coll., 1970; Shand et Rangno, 1972; Lowenthal et coll., 1974). Les temps auxquels les Cmax sont observées ne sont pas modifiés lorsque le propranolol est ingéré avec un repas, mais une augmentation de sa biodisponibilité est notée (Melandier et coll., 1977; Modi et coll., 1988; Olanoff et coll., 1986). Puisque l'absorption se fait par la diffusion passive à travers une membrane composée essentiellement de lipides, l'absorption des énantiomères du propranolol ne devrait pas être stéréosélective.

3.2 Distribution.

Le propranolol est fortement lié aux protéines plasmatiques. À des doses thérapeutiques, la liaison avec l'acide α_1 -glycoprotéine représente environ 75% de toute la liaison protéinique (Sager et coll., 1978). La fraction libre des énantiomères R(+) et S(-) est d'environ 20,3 et 17,6% (Olanoff et coll., 1984). Le volume apparent de distribution des énantiomères S(-) et R(+) est d'environ 4,1 et 4,8 L/kg (Olanoff et coll., 1984). La différence de liaison des énantiomères aux protéines plasmatiques est responsable du volume de distribution stéréosélectif. Le volume de distribution des énantiomères du propranolol est supérieur au volume d'eau que l'on retrouve dans le corps. Ceci indique une distribution du propranolol dans les tissus qui ont une perfusion tissulaire importante (Gibaldi et Perrier, 1982). L'accumulation du propranolol se fait rapidement au niveau des poumons, du foie, des reins, du cerveau et du coeur (Hayes and Cooper, 1971; Myers et coll. 1975; Walle et coll., 1989; Vermeulen et coll., 1992). Le poumon est le principal site d'accumulation du propranolol: les rapports des concentrations pulmonaires sur les concentrations sanguines sont de l'ordre de 250 chez le chien et le rat (Walle et coll., 1989; Vermeulen et coll., 1992).

3.3 Élimination.

Le propranolol subit au cours de son premier passage au foie une élimination considérable en raison d'une épuration hépatique marquée. (Olanoff et coll., 1986; Lalonde et coll., 1988; Stoschitzky et coll., 1992; Egginger et coll., 1994). L'importance quantitative du premier passage est directement proportionnelle au niveau d'activité microsomiale hépatique (clairance

intrinsèque) alors que l'affinité du site catalytique des isoenzymes du cytochrome P-450 pour un énantiomère détermine la vitesse de sa biotransformation (Masubuchi et coll., 1993).

Suivant l'administration orale du R,S-propranolol chez l'homme, une cinétique stéréosélective est observée: les $SSC_{0\infty}$ de l'énantiomère S(-) et les C_{max} sont 1,2 à 1,8 fois plus élevées que celles de l'énantiomère R(+) ($p < 0.05$) (Walle et coll. 1983a; Olanoff et coll. 1984; von Bahr et coll. 1982a). Les concentrations plasmatiques varient d'un individu à l'autre selon l'activité et la quantité des isoenzymes du cytochrome P-450 (von Bahr et coll., 1982b; Ward et coll., 1986; Ward et coll., 1989). Des facteurs génétiques, environnementaux et physiologiques sont responsables de ces variations interindividuelles.

Contrairement à la voie orale, où la dose est entièrement exposée à l'intestin et au foie, l'injection intraveineuse évite l'effet de premier passage hépatique en distribuant le propranolol dans tous les tissus possédant une perfusion sanguine importante avant que celui-ci atteigne le foie (Nies et Shand, 1975). La clairance d'un organe est définie comme étant le volume de sang complètement épuré par unité de temps (Gibaldi et coll., 1982). A l'état d'équilibre, la clairance hépatique peut être exprimée selon l'équation suivante:

$$Cl_H = QE$$

où Cl_H : clairance hépatique (mL/min)

Q : débit hépatique (mL/min)

E : coefficient d'extraction hépatique

La clairance hépatique est donc une fonction du débit hépatique et de la fraction de médicament extraite par le foie à chaque passage et soustraite à la circulation générale. Le

propranolol a un coefficient d'extraction qui s'approche de l'unité ($\approx 0,75$) étant donné la forte activité du système enzymatique des hépatocytes pour cette substance (Nies et coll., 1973). Ainsi, l'élimination systémique du propranolol est essentiellement contrôlée par le débit sanguin hépatique. Weiss et coll. (1976) ont été les premiers à proposer l'utilisation de la clairance systémique de l'énantiomère R(+) pour déterminer le débit sanguin hépatique.

Chez l'homme, le $t_{1/2}$ des énantiomères du propranolol est d'environ 3,5 heures (Olanoff et coll., 1984). Suivant l'administration par la voie intraveineuse chez l'homme, on observe des cinétiques qui ne sont pas stéréosélectives: les clairances systémiques des énantiomères S(-) et R(+) sont de 1,0 et 1,2 L/min et les $SSC_{0-\infty}$ du S(-)-propranolol sont de 1,17 celle du R(+)-propranolol ($p > 0,05$) (Olanoff et coll., 1984; Olanoff et coll., 1986). L'élimination du propranolol administré par la voie intraveineuse est donc beaucoup moins stéréosélective que lors de son administration orale. La variabilité interindividuelle des concentrations plasmatiques de propranolol suivant l'injection intraveineuse est très faible (Olanoff et coll., 1984). Chez les volontaires sains, le changement du débit hépatique est responsable de cette variabilité interindividuelle. Il est à noter que la relation entre les concentrations de S(-)-propranolol et l'effet thérapeutique est satisfaisante seulement suite à l'injection intraveineuse (Coltart et Shand, 1970; Walle et coll., 1980).

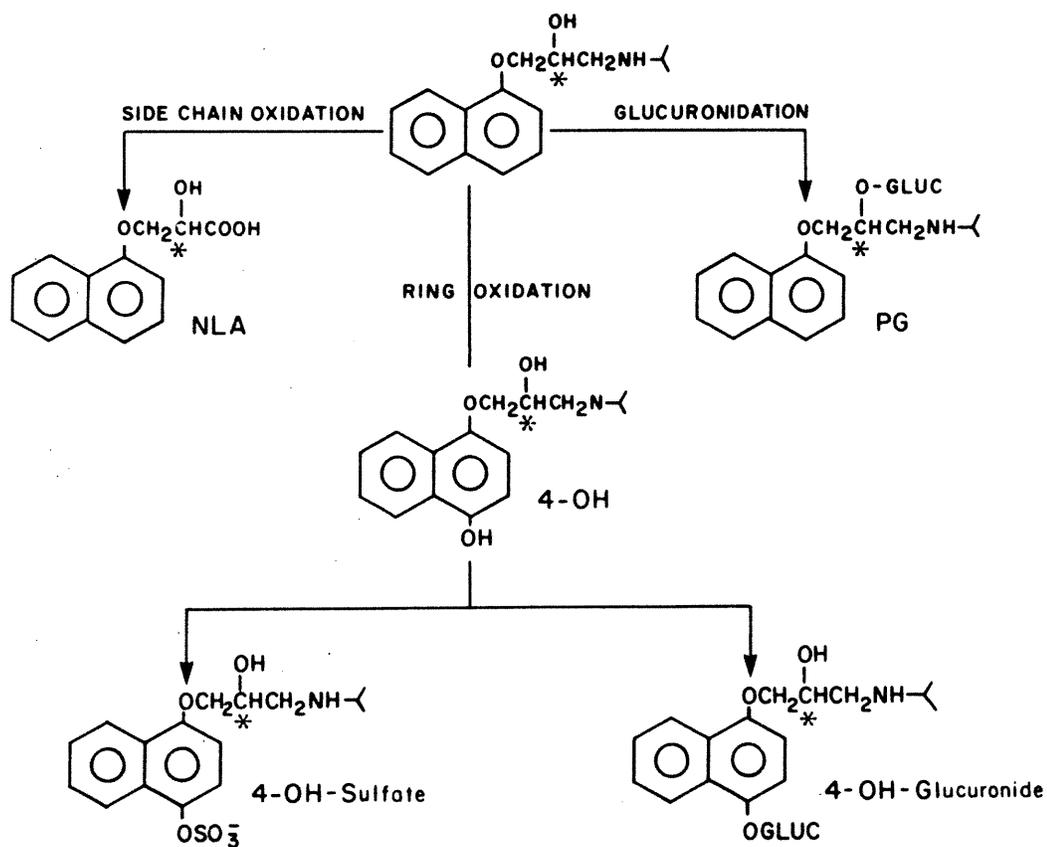
3.4 Métabolisme.

Le propranolol est essentiellement éliminé par métabolisme car seulement 1 à 4% de propranolol sont retrouvés sous forme inchangée dans les selles et les urines (Paterson et coll.,

1970). D'une façon générale, les isoenzymes du cytochrome P-450 transforment une molécule en un métabolite plus hydrosoluble pour faciliter son élimination éventuelle par la bile et/ou l'urine et diminuer sa capacité de diffusion tissulaire. Suivant une administration orale, on retrouve le 4-hydroxypropranolol qui est un métabolite qui conserve le pouvoir β -bloquant de la molécule-mère (Paterson et coll., 1970; Fitzgerald et O'Donnell, 1971). Le spectre d'action pharmacodynamique du propranolol suivant une administration orale est donc prolongé et il est supérieur à celui suivant une injection intraveineuse (Coltart et Shand, 1970; Walle et coll., 1980).

Le propranolol peut subir de nombreuses biotransformations de phase I tels l'hydroxylation, la désamination oxydative ainsi que des réaction de phase II comme la glucuronidation et la sulfatation (Ward et coll., 1989; Marathe et coll., 1993). Les réactions de 4-hydroxylation, N-désisopropylation et glucuronoconjugaison sont essentiellement responsables de l'élimination stéréosélective des énantiomères du propranolol. Les principales voies métaboliques du propranolol sont présentées dans le schéma 2 (page 14). L'oxydation de la chaîne alkyle latérale génère l'acide naphtoxylactique (NLA) alors que l'oxydation du cycle naphtyle génère le métabolite actif 4-hydroxypropranolol (4-OH) qui peut être par la suite glucuronidé (4-OH-Glucuronide) ou sulfaté (4-OH-Sulfate). De plus, le propranolol peut être directement conjugué à l'acide glucuronique (PG).

Schéma 2.: Voies métaboliques du propranolol (Ward et coll., 1989)..



Le métabolisme des énantiomères du propranolol est principalement dépendant de l'activité des isoenzymes biotransformant la débrisoquine (CYP2D6) et la méphénytoïne (CYP2C19). Les proportions de ces isoenzymes permettent d'évaluer le potentiel d'un individu à métaboliser les énantiomères du propranolol (Ward et coll., 1989; Ward et coll., 1986). Une déficience enzymatique de nature génétique, environnementale diminue la vitesse d'élimination du R,S-propranolol et modifie la stéréosélectivité de son métabolisme. Chez les métaboliseurs présentant une faible vitesse d'élimination de la débrisoquine et de la méphénytoïne (PM_D , PM_M), les $SSC_{0-\infty}$ du R,S-propranolol sont augmentées par un facteur trois et l'élimination des énantiomères n'est plus stéréosélective par rapport aux métaboliseurs présentant une grande vitesse d'élimination (Ward et coll., 1989). Chez ces métaboliseurs, les concentrations de 4-hydroxypropranolol sont environ trois fois inférieures à celles des métaboliseurs rapides (Ward et coll., 1989). Le métabolisme du métoprolol est plus sensible au polymorphisme enzymatique que celui du propranolol. Ainsi, l'administration orale de métoprolol chez les PM_D et les PM_M conduit à des changements pharmacocinétiques beaucoup plus importants que pour le propranolol (Lennard et coll., 1983).

L'isoenzyme qui métabolise la débrisoquine (CYP2D6) est principalement responsable de la formation des métabolites 4-hydroxylés du propranolol. Celle-ci a un rôle important dans l'élimination stéréosélective des énantiomères du propranolol car la clairance de l'énantiomère R(+) par la 4-hydroxylation est 2,5 fois plus élevée que celle de l'énantiomère S(-) (Ward et coll., 1986). Étant donné que la quinidine est un excellent substrat pour le CYP2D6, la coadministration de celle-ci avec le propranolol inhibe principalement l'élimination de

l'énantiomère R(+) suite à une diminution significative de la 4-hydroxylation par compétition pour l'enzyme (Zhou et coll., 1990).

3.5 Cinétique non-linéaire.

Lorsqu'il est administré par voie orale de façon chronique, les concentrations plasmatiques du R,S-propranolol augmentent plus rapidement que ce que l'on pourrait prédire, ce qui traduit l'existence d'une cinétique non-linéaire (Keller et coll., 1989; Evans et Shand, 1973; Shand et Rangno, 1972). Il a été postulé que la cinétique non-linéaire soit le résultat de la saturation graduelle des enzymes du cytochrome P-450 catalysant la 4-hydroxylation et la N-désisopropylation du propranolol (von Bahr et coll., 1982b). La saturation de ces voies métaboliques modifierait l'élimination du propranolol et ceci expliquerait que seulement le 4-hydroxypropranolol soit retrouvé suivant une administration orale (Coltart et Shand, 1970). L'élimination du 4-hydroxypropranolol, de l'acide α -naphthoxylactique, des conjugués à l'acide glucuronide et au sulfate sont également dépendante de la dose de propranolol et la quantité relative excrétée est d'autant moins élevée que la dose administrée est importante (Silber et coll., 1983). Selon Ghabrial et coll., (1994), l'accumulation des métabolites serait également responsable de la saturation du métabolisme du R,S-propranolol. Chez le rat, l'injection intraveineuse de fortes doses de R,S-propranolol induit une saturation des voies métaboliques et elle génère ainsi une cinétique non-linéaire (Woolfrey et coll., 1989). Les doses intraveineuses injectées chez l'homme sont cependant beaucoup trop faibles pour qu'une telle saturation se produise.

3.6 Facteurs influençant la pharmacocinétique.

Il existe une préparation spéciale qui consiste en une gélule remplie de granules d'où le propranolol est libéré de façon progressive. Le propranolol d'une préparation à libération progressive est complètement absorbé par le système intestinal. Une partie du médicament absorbé n'atteint pas la circulation générale à cause du métabolisme intestinal et de l'effet de premier passage hépatique (Harron et coll., 1983). Les C_{max} de propranolol d'une préparation à libération progressive se retrouvent environ six heures après l'administration et les $SSC_{0-\infty}$ atteignent environ 60 à 65% de celles notées avec les comprimés à libération immédiate. Les concentrations sanguines sont constantes pendant 12 heures puis elles diminuent d'une façon exponentielle. L'efficacité antihypertensive de 160 mg die de propranolol à libération progressive est équivalente à 80 mg b.i.d. d'une formulation à libération immédiate (Prichard et col, 1978b).

D'une façon générale, une augmentation de la biodisponibilité du propranolol est notée lorsque celui-ci est ingéré avec un repas (Melander et coll., 1977; Mclean et coll., 1978; Olanoff et coll., 1986). Puisque l'absorption de cette substance est similaire chez les sujets à jeûn et non à jeûn, une diminution de l'effet de premier passage semble expliquer l'augmentation de la biodisponibilité. Des études ont démontré qu'un repas riche en protéines augmente la clairance systémique mais diminue la clairance orale (Olanoff et coll., 1986). L'importance de ces changements est proportionnel à l'augmentation du débit hépatique mesuré par la technique du vert d'indocyanine. Cependant, en simulant l'effet de la nourriture sur la perfusion hépatique, d'autres chercheurs n'ont pas observé de différence métabolique (Modi et coll., 1988). Il a donc

été proposé que l'augmentation de la biodisponibilité du propranolol n'était pas reliée à des changements du débit hépatique mais plutôt à une diminution de la clairance hépatique, à une modification de la liaison aux protéines plasmatiques dans le sang sinusoidal ou encore à une liaison intra-hépatique réversible (Modi et coll., 1988). L'effet de la nourriture sur le métabolisme des énantiomères du propranolol a été étudié par plusieurs chercheurs et il n'existe actuellement aucune explication univoque du phénomène (Olanoff et coll., 1986; Modi et coll., 1988). Ces études n'ont montré aucun changement stéréosélectif.

Chez les femmes, les concentrations plasmatiques de propranolol sont de 1,6 à 2,0 fois supérieures à celles retrouvées chez les hommes (Walle et coll., 1985). Cette différence est principalement due à une diminution de l'activité métabolique de certaines enzymes régulées par les hormones sexuelles (Walle et coll., 1989; Walle et coll., 1994).

Les concentrations plasmatiques de propranolol sont plus élevées chez les personnes âgées en raison d'un débit hépatique diminué de 40 à 45% (Castleden et coll., 1975; Greenblatt et coll., 1982). Dans cette population, les concentrations plasmatiques de propranolol sont environ 3 à 4 fois plus élevées que chez les jeunes et le $t_{1/2}$ est augmenté à des valeurs qui oscillent entre 4,2 et 5,2 heures (Rigby et coll., 1985).

Certaines situations pathologiques modifient la pharmacocinétique du propranolol. Lors de la cirrhose hépatique, le propranolol s'accumule car sa clairance hépatique est diminuée (Branch et Shand, 1976). On observe également une fraction libre du médicament 3 fois plus élevée et une augmentation de son volume de distribution. Chez les patients avec une

insuffisance rénale, on observe une augmentation du C_{max} et de la biodisponibilité (Bianchetti et coll., 1976). Certaines anomalies pharmacocinétiques sont notables chez des patients atteints de maladies inflammatoires chroniques. Ces pathologies ont pour effet d'augmenter les concentrations plasmatiques de l'acide α_1 -glycoprotéine et de diminuer la fraction libre du propranolol (Schneider et coll., 1981; Routledge et coll., 1980). Chez les patients atteints de la maladie de Crohn et de l'arthrite rhumatoïde, une diminution du premier passage hépatique serait responsable des C_{max} plus tôt que prévu et des SSC_{∞} plus grandes que chez les volontaires sains (Borga et coll., 1977; Schneider et coll., 1976). Les mêmes observations ont été portées chez des patients ayant eu des dommages tissulaires et des opérations chirurgicales (Aronson et coll., 1972; Feely et coll., 1980; Piafsky et coll., 1978). Chez des patients atteints de la maladie de Graves, la clairance systémique du propranolol est 1,5 fois plus élevée que chez les volontaires sains. L'augmentation du débit cardiaque durant l'hyperthyroïdie est potentiellement responsable de cette augmentation (Rubenfield et coll., 1978).

4. INDICATIONS.

4.1 Hypertension artérielle.

La découverte de l'action anti-hypertensive du propranolol a été le fait d'observations cliniques et il n'existe actuellement aucune explication univoque du mécanisme par lequel cette substance abaisse la pression artérielle. Le mécanisme intermédiaire par lequel le blocage β -adrénergique réduit la pression artérielle a fait l'objet de nombreuses hypothèses.

La réduction du débit cardiaque est une hypothèse mais elle ne peut expliquer seule l'effet anti-hypertenseur du propranolol car il n'y a de corrélation entre la baisse tensionnelle et la réduction du débit cardiaque (Tarazi et Dustan, 1972; Morgan et coll., 1975). De plus, le débit cardiaque est abaissé de la même façon chez les patients qui ne répondent pas au traitement au propranolol que chez les répondeurs (Fouad et coll., 1983). Finalement, l'effet anti-hypertenseur du propranolol observé plus tardivement que son effet sur le débit cardiaque (Prichard et Gillam, 1969; Tarazi et Dustan, 1972).

L'effet du propranolol sur la sécrétion de la rénine est une autre hypothèse pour expliquer l'action anti-hypertensive du propranolol. Le mécanisme de l'inhibition de la sécrétion de la rénine par le propranolol est double. En effet, il y a une inhibition de la libération de la rénine totale (rénine active et prorénine) de même qu'une inhibition de la conversion de la prorénine en rénine active (Buhler et coll., 1973). La diminution de la pression artérielle est beaucoup plus importante chez les sujets présentant des taux plasmatiques élevés de rénine alors que les patients hypertendus ayant de faibles taux de rénine ne répondent pas au propranolol (Zacharias et coll., 1972). Par ailleurs, d'autres β -bloquants qui réduisent efficacement la pression artérielle n'inhibent pas la libération de la rénine. Ceci porte à croire qu'une partie seulement des effets du propranolol sont reliés à l'inhibition de la rénine (Stokes et coll., 1974).

Chez des animaux anesthésiés, la chute de la pression artérielle s'observe plus rapidement suivant l'administration du propranolol dans la carotide que dans l'artère fémorale (Stern et coll., 1971). La diminution du tonus nerveux sympathique des centres vasomoteurs du cerveau

pourrait expliquer cette différence. L'effet central du propranolol constitue un autre mécanisme diminuant la pression artérielle.

Il a été postulé que l'hypertension se développe suite à l'augmentation de la sécrétion d'adrénaline par la médulla des glandes surrénales. La stimulation des récepteurs β_2 au niveau des terminaisons nerveuses par l'adrénaline augmente la libération de noradrénaline et ses effets vasoconstricteurs (Majewski et coll., 1980; Starke, 1977). Par conséquent, le blocage β_2 -adrénergique par le propranolol au niveau des terminaisons nerveuses diminuerait la libération de noradrénaline. Cependant, cette hypothèse va à l'encontre du fait que suivant l'administration du β -bloquant, il y a une augmentation des concentrations de catécholamines lors de l'effort. Finalement, il a été rapporté que le S(-)-propranolol peut être capté par les terminaisons nerveuses sympathiques et peut être libéré lors de la stimulation de celles-ci. Selon Daniell et coll., (1979), le propranolol se comporte comme un faux neurotransmetteur, ce qui contribue à diminuer la stimulation sympathique.

En résumé, il apparaît qu'un seul mécanisme ne peut expliquer l'action anti-hypertensive du propranolol. Il est possible que selon le type d'hypertension, plusieurs mécanismes interviennent simultanément (Colfer et col, 1984). Toutefois, selon Van Baak et coll. (1985), la réduction du débit cardiaque par le blocage β -adrénergique et la diminution de la sécrétion de rénine avec la subséquente réduction d'angiotensine II sont principalement responsables de l'action anti-hypertensive du propranolol.

La posologie d'attaque du propranolol dans l'hypertension est de deux prises quotidiennes de 40 mg. Si nécessaire, cette dose peut être augmentée au besoin à 80 mg deux fois par jour. La diminution tensionnelle se manifeste ordinairement dans les 3 à 7 jours suivant l'atteinte de la dose efficace. La baisse maximale de la tension artérielle se produit de 2 à 4 semaines après l'instauration du traitement (Cruickshank et Prichard, 1988).

Une dose élevée de propranolol doit être utilisée pour obtenir un abaissement significatif de la pression artérielle chez les hypertendus de race noire (Venter et Joubert, 1984). Des groupes de chercheurs ont observé une résistance de cette population aux agents β -bloquants et ils ont recommandés l'utilisation de ceux-ci avec un diurétique (Grell, 1983; Obel, 1983). Selon Banks et coll. (1981), le faible taux de rénine chez la population noire est responsable de la résistance au traitement. Environ 60-70% des hypertendus ayant une activité plasmatique élevée de rénine répondent très bien au propranolol (Cruickshank et Prichard, 1988).

L'association du propranolol avec un diurétique thiazidique avec ou sans vasodilatateur périphérique s'est révélée compatible et plus efficace que le propranolol seul (Stumpe et coll., 1979). L'effet thérapeutique est augmenté et les effets secondaires sont diminués car les deux médicaments n'ont pas le même mécanisme d'action et ils sont prescrits à des doses plus faibles qu'en monothérapie (Cruickshank et Prichard, 1988). L'effet hypokaliémique des diurétiques est atténué lorsqu'ils sont administrés avec le propranolol (Castenfors, 1977). Des gélules comprenant les deux médicaments ont été introduites sur le marché afin d'assurer la fidélité au traitement.

Le propranolol peut être associé avec profit aux inhibiteurs de l'enzyme de conversion de l'angiotensine (IECA), aux antagonistes calciques et à l'hydralazine (Pickering et coll., 1982; Lynch et coll., 1980; Prichard et coll., 1981).

L'âge a été proposé comme un facteur déterminant de l'intensité de l'effet anti-hypertenseur du propranolol (Buhler et col, 1973). Les différences selon l'âge sont reliées aux caractéristiques hémodynamiques relatives à la vieillesse: les sujets jeunes ont un débit cardiaque élevé alors que chez les sujets âgés, le débit cardiaque tend à baisser et les résistances périphériques à augmenter (Niarchos et coll., 1980). Les doses chez les personnes âgées sont plus faibles et l'augmentation doit se faire avec prudence.

Chez l'hypertendu, l'incidence de l'infarctus du myocarde n'est pas réduite par le propranolol (Snow, 1980; Tonkin et coll., 1981). La prescription de propranolol aux hypertendus fumeurs n'entraîne pas de baisse des accidents vasculaires cérébraux et coronariens alors qu'elle réduit l'incidence de ces accidents chez les non-fumeurs (Medical Research Council Working Party, 1985).

4.2 Infarctus du myocarde.

Le propranolol réduit les besoins du coeur en oxygène à tous niveaux d'effort en bloquant l'augmentation de la fréquence cardiaque, de la pression systolique et de la force des contractions du myocarde induites par les catécholamines . Le propranolol est indiqué pour diminuer les risques de mortalité chez les sujets qui ont survécus à la phase aiguë d'un infarctus

du myocarde et dont l'état est cliniquement stable (Yusuf coll., 1985). Le mécanisme par lequel le propranolol réduit la fréquence de la mortalité secondaire à la maladie cardiovasculaire chez les sujets ayant déjà fait un infarctus du myocarde n'est pas encore complètement déterminé. Les traitements sont amorcés avec 20 à 40 b.i.d. En absence de réponse satisfaisante après une semaine, la posologie peut être augmentée à 80 mg b.i.d.

En revanche, le propranolol accroît les besoins en oxygène en augmentant la longueur des fibres de la paroi du ventricule gauche, la tension télédiastolique et la tension durant la période d'éjection systolique chez les sujets normaux et les angineux (Sonneck et coll., 1965; Crawford et coll., 1975). L'effet bénéfique chez les angineux se manifeste à l'effort ou en présence de stress en retardant la crise douloureuse et en diminuant la fréquence et la gravité des attaques angineuses.

4.3 Arythmies cardiaques.

Le propranolol est un médicament anti-arythmique de la classe II de Vaughan-Williams (1975). Il est principalement utilisé pour traiter les arythmies supraventriculaires comme les tachycardies sinusales, les tachycardies supraventriculaires paroxystiques et les arythmies induites par les catécholamines ou associées au syndrome de Wolff-Parkinson-White (Singh et Jewitt, 1977). L'effet thérapeutique du propranolol est moins prévisible dans les arythmies ventriculaires que dans les arythmies supraventriculaires (Singh et Jewitt, 1977). Le propranolol n'est pas la substance de choix dans ce premier cas, sauf dans les tachycardies ventriculaires induites par les catécholamines ou la digitale.

D'une façon générale, les catécholamines augmentent la vitesse de dépolarisation et par conséquent, la vitesse de formation des impulsions dans les tissus présentant une activité cellulaire "*pacemaker*" (Hutter et Trautwein, 1956). L'intensité des effets électrophysiologiques du propranolol est en fonction de l'importance de la stimulation du système nerveux sympathique par les catécholamines au moment de l'administration. Ainsi, durant la stimulation sympathique, le propranolol inhibe la dépolarisation induite par les catécholamines (blocage α_1 -adrénergique) et diminue l'automatisme des cellules "*pacemaker*" (Davis et Temte, 1968). Les effets bénéfiques du propranolol sont également le résultat de la diminution de la capacité de la conduction nodale dans la jonction auriculo-ventriculaire. Ceci a pour conséquence de prolonger la période réfractaire (Hombach et coll., 1982).

Dans les arythmies ventriculaires induites par les catécholamines ou la digitale, le blocage des récepteurs β_1 -adrénergique ne serait pas responsable de l'effet thérapeutique du R,S-propranolol (Murray et coll., 1990). Chez des modèles animaux, Barrett et Cullum (1968) ont démontré que les énantiomères S(-) et R(+) possèdent le même potentiel dépresseur sur le muscle auriculo-ventriculaire et le même potentiel d'anesthésie local sur les tissus innervés. Ces dernières propriétés sont similaires à celles de la "quinidine" dans les arythmie ventriculaires (Iansmith et coll., 1983). Au repos et durant la stimulation sympathique, le propranolol n'a pas d'effet sur la conduction et les périodes réfractaires des tissus du système His-Purkinje (Hombach et coll., 1982). L'administration intraveineuse du propranolol est réservée pour les arythmies potentiellement fatales.

4.4 Autres indications.

Le propranolol est indiqué en prophylaxie de la migraine et dans le traitement du tremblement essentiel. Les mécanismes d'action des effets antimigraine et antitremblement du propranolol n'ont pas encore été élucidés. L'effet antimigraine semble dû à l'inhibition de la vasodilatation ou des spasmes artériolaires du cortex alors que l'effet antitremblement semble le résultat de l'action du propranolol dans les sites d'actions périphériques et centraux (Cruickshank et Prichard, 1988).

5 CONTRE-INDICATIONS ET EFFETS SECONDAIRES.

5.1 Insuffisance cardiaque.

Le blocage β -adrénergique est utile dans certaines situations où l'activité sympathique est excessive ou inappropriée, donc nuisible au malade. Cependant, dans certaines situations, la stimulation sympathique est vitale comme, par exemple, en présence de bloc auriculo-ventriculaire ou d'insuffisance cardiaque. Par conséquent, l'inhibition de la réponse β -adrénergique par le propranolol représente un risque puisqu'elle peut accentuer la dépression de la contractilité myocardique et provoquer un arrêt cardiaque (Greenblatt et Koch-Weser, 1973). Cependant, une étude à grande échelle a démontré que la prescription de propranolol au décours d'un infarctus du myocarde réduit, dans un groupe avec insuffisance cardiaque, la mortalité globale de 27% et la mort subite de 47% (Chadda et coll., 1986). Le mécanisme de l'effet bénéfique du propranolol demeure discuté mais plusieurs hypothèses ont été proposées. L'hypothèse la plus communément admise est la protection contre l'effet toxique des

catécholamines (augmentation de la consommation d'oxygène du myocarde, ischémie sous-endocardique et augmentation de la post-charge). Un effet anti-arythmique tel que suggéré par Hermida et coll. (1987) pourrait également avoir une influence bénéfique.

Chez les malades avec une insuffisance cardiaque, l'augmentation des catécholamines plasmatiques induit une réduction de la densité membranaire des récepteurs β -adrénergiques et par conséquent, une diminution de l'effet des catécholamines. Selon Ruffolo et coll. (1986) l'administration de propranolol pourrait prévenir la "*down regulation*" des récepteurs β_1 . L'utilisation du propranolol dans l'insuffisance cardiaque demeure classiquement contre-indiquée. Cependant, une meilleure connaissance de la dynamique des récepteurs β pourrait fournir une base rationnelle à son utilisation dans l'insuffisance cardiaque.

5.2 Voies respiratoires.

Les récepteurs β -adrénergiques bronchiques sont à 70% de nature β_2 (Clague et coll., 1984). Par conséquent, l'utilisation d'un antagoniste β -adrénergique non-sélectif comme le propranolol est contre-indiqué chez les personnes sujettes aux bronchospasmes (Tattersfield et coll., 1983). La consommation maximale d'oxygène est limitée par la prise de propranolol, ce qui peut réduire la capacité d'exercice maximale au cours d'épreuves d'effort (Violante et coll., 1984).

5.3 Effets métaboliques.

En présence d'une hypoglycémie, le propranolol réduit l'effet compensatoire de l'action sympatho-adrénale, ce qui a pour conséquence de masquer la tachycardie qui est un signe avant-coureur de l'hypoglycémie (Garber et coll., 1976). Le propranolol inhibe la glycogénolyse hépatique qui est contrôlée par un mécanisme impliquant les récepteurs β -adrénergiques et il diminue l'accumulation de lactate et de glycérol dans le foie en limitant leur disponibilité (Harms et coll., 1978). Par conséquent, l'utilisation du propranolol est contre-indiquée chez les diabétiques.

5.4 Autres contre-indications.

Le propranolol se retrouve dans le lait maternel et par son extrême liposolubilité, il traverse très bien les barrières placentaire et hématoencéphalique (Redman, 1980; Neil-Dwyer et coll., 1981; Myers et coll., 1975). La perméabilité de cette dernière membrane au propranolol semble expliquer la nature des effets secondaires centraux comme l'insomnie et les cauchemars (Greenblatt et Shader, 1972). En raison du risque d'augmentation de la contraction utérine et de l'effet sur le fœtus, l'utilisation du propranolol chez la femme enceinte fait l'objet de réserve. Certaines complications, tel le retard de croissance utérine et le défaut de la croissance du placenta ont été rapportées chez quelques femmes enceintes traitées avec le propranolol (Redman et coll., 1980). Smith et coll. (1993) ont rapporté que l'énantiomère S(-) est responsable de la diminution de l'efficacité copulatoire chez le rat par un mécanisme impliquant les récepteurs β -adrénergiques et 5-HT_{1A} . Chez l'homme, le propranolol diminue les niveaux

plasmatiques de testostérone et les performances sexuelles (Kostis et coll., 1986). Cet effet secondaire peut contribuer à augmenter les problèmes de fidélité à un traitement.

6. DESCRIPTION DU PROJET DE RECHERCHE.

Plusieurs études ont montré que la voie d'administration influence la stéréosélectivité du métabolisme du propranolol. Ainsi, von Bahr et coll.(1982a) ont rapporté que, suivant l'injection intraveineuse de 5 mg de propranolol, la cinétique des énantiomères était presque identique, alors que le ratio des concentrations plasmatiques de l'énantiomère S(-) par rapport à celles du R(+) était d'environ 1,48 suivant l'administration orale de 40 mg. D'une façon similaire, Olanoff et coll.(1984) ont rapporté que suivant l'injection intraveineuse de 0,1 mg/kg, le ratio des concentrations plasmatiques S(-)/R(+) est d'environ 1,17. Par contre, suivant l'administration orale de 40 à 160 mg ou après de multiples administration jusqu'à l'état d'équilibre, les rapports des concentrations plasmatiques S(-)/R(+) sont de 1,32 à 1,77 (Olanoff et coll., 1986; Lalonde et coll., 1988; Stoschitzky et coll., 1992; Egginger et coll., 1994). Deux hypothèses seront avancées dans le but d'expliquer ces différences stéréosélectives.

Suivant l'administration orale, l'effet de premier passage du propranolol a lieu dans les organes présystémiques: soit en premier lieu dans les cellules épithéliales de l'intestin et par la suite, dans les hépatocytes (Krishna et coll., 1994; du Souich et coll., 1995). Chez le lapin, la contribution intestinale au premier passage du propranolol est de 43% alors que son extraction systémique est de 23% (du Souich et coll., 1995). Nous postulons que chez l'humain, le métabolisme préférentiel de l'énantiomère R(+) dans la muqueuse de l'intestin grêle est

responsable d'une stéréosélectivité plus marquée suivant l'administration orale que l'injection intraveineuse.

La deuxième hypothèse repose sur l'effet de la dose atteignant l'organe responsable du métabolisme du R,S-propranolol. En considérant qu'environ 30% du volume d'éjection systolique est dirigé vers le foie et que 0,1 mg/kg ou 5 mg de propranolol sont administrés par la voie intraveineuse, une quantité maximale de 1,5 à 2 mg atteindront le foie. Par contre, lorsque 40 mg ou plus sont administrés par la voie orale, le propranolol traverse les cellules épithéliales de l'intestin, et même en tenant compte de la capacité d'extraction de l'intestin, au moins 25 mg atteindront le foie. Cette hypothèse de recherche est appuyée par d'autres résultats qui ont démontré que de fortes doses de propranolol incubé dans des hépatocytes isolés contribuent à augmenter la stéréosélectivité du métabolisme chez l'homme, le chien et le rat (Marathe et coll., 1994; Masubuchi et coll., 1993; Fujita et coll., 1993; von Bahr et coll., 1982b) et que la saturation des voies métaboliques d'un énantiomère et la compétition entre les énantiomères sont des phénomènes dose-dépendants qui peuvent potentiellement modifier la stéréosélectivité du métabolisme (Karim et Pierges, 1995; Wilson et Thompson, 1984).

Ce projet de recherche a comme objectif d'étudier le métabolisme des énantiomères du propranolol suivant l'administration de plusieurs doses de R,S-propranolol selon différentes voies. Dans le but d'appuyer les résultats obtenus *in vivo*, des expériences *in vitro* ont été effectuées afin de déterminer les organes responsables du métabolisme stéréosélectif du propranolol. De plus, chaque énantiomère du propranolol a été incubé dans des homogénats d'organes dans le but d'étudier les mécanismes stéréosélectifs de leur élimination.

B. ARTICLE

Stereoselective disposition of propranolol in the rabbit:

role of presystemic organs and dose.

**STEREOSELECTIVE DISPOSITION OF PROPRANOLOL IN RABBITS:
ROLE OF PRESYSTEMIC ORGANS AND DOSE¹**

Jean-François Marier and Patrick du Souich

Department of Pharmacology, Faculty of Medicine

Université de Montréal

1. This study was made possible by a grant of the Medical Research Council of Canada (Grant # MT-10894).

RUNNING TITLE: Propranolol enantiomer metabolism

Correspondence should be addressed to: Patrick du Souich, M.D.,Ph.D.
 Department of Pharmacology
 Faculty of Medicine
 University of Montréal
 P.O. box 6128, Stat. Centre-Ville
 Montréal, Québec, Canada
 Canada H3C 3J7

Telephone: (514) 343-6335
 Facsimile: (514) 343-2204
 Email: dusouicp@ERE.UMontreal.CA

Abbreviations:

AUC ₀	AUC _{0-∞} of propranolol given orally
AUC _{0-∞}	area under the plasma concentration-time curve extrapolated to infinity
AUC _{0-t}	area under the plasma concentration-time curve from 0 to C _m
C _m	propranolol last concentration measured
C _{max}	propranolol maximal plasma concentration
Cl _o	apparent oral clearance
Cl _T	systemic clearance
D _o	oral dose
HPLC	High Performance Liquid Chromatography
NADP	reduced nicotinamide adenine dinucleotide phosphate
R-PEIC	R(+)-phenylethylisocyanate
S.E.	standard error
t _{1/2}	terminal half-life of elimination
V _{dss}	predicted volume of distribution at steady-state
z	propranolol rate constant of disposition

Abstract

In order to document whether the dose or the route of administration determine the stereoselective kinetics of propranolol enantiomers, conscious rabbits received orally 40, 80 and 120 mg/kg and intravenously 0.5 and 10 mg/kg of racemic propranolol, and serial blood samples were drawn to assay propranolol enantiomers concentrations. At low oral and intravenous dosages, the kinetics of propranolol enantiomers were identical. Following the 120 mg/kg dose, the kinetics of the enantiomers were zero-order and stereoselective, i.e. the area under S(-)-propranolol concentrations as a function of time ($AUC_{0-\infty}$) was greater than the $AUC_{0-\infty}$ of R(+)-propranolol ($p < 0.05$). The intravenous injection of 10 mg/kg generated zero-order kinetics but, in this case, there was a preferential elimination of S(-)- over R(+)-propranolol. *In vitro*, following the incubation of 5.8 or 58 mM of R,S-propranolol in 10,000xg supernatant of homogenates of intestinal mucosa cells or liver, R(+)-propranolol was more rapidly metabolized than S(-)-propranolol at both concentrations in the intestine, and only at higher concentration in the liver. Incubation of each enantiomer individually (2.9 and 29 mM) showed that there is a preferential saturation of S(-)-propranolol in the intestine and in the liver. It is concluded that at low oral or intravenous doses, the intrinsic clearance for R(+)-propranolol is equal to that of its antipode, but at higher doses, the kinetics of propranolol enantiomers are stereoselective because of a preferential saturation of S(-)-propranolol metabolism in the intestine and liver.

KEY WORDS: propranolol, enantiomers, kinetics, intestinal metabolism, hepatic metabolism, rabbit.

Propranolol is a non-specific β -blocker clinically used as a racemic mixture of S(-)- and R(+)-propranolol for the treatment of hypertension, angina and cardiac arrhythmias (Ridell *et al.*, 1987). The pharmacodynamic profile of propranolol enantiomers presents some striking differences; for instance, S(-)-propranolol is about 100 times more potent as a β -blocker than its antipode. On the other hand, both S(-)- and R(+)-propranolol exert class II antiarrhythmic activity (Barrett and Cullum, 1968; Rahn, 1983; Murray *et al.*, 1990). The pharmacokinetics of propranolol enantiomers are also stereoselective. The unbound fraction of S(-)-propranolol in plasma is smaller than that of R(+)-propranolol (Walle *et al.*, 1983a) and, as a consequence, the apparent volume of distribution of S(-)-propranolol is smaller than that of its antipode (Olanoff *et al.*, 1986). Plasma concentrations of S(-)-propranolol are higher than those of its antipode and consequently, the ratio of S(-)-propranolol over R(+)-propranolol area under plasma concentration-time curves ($AUC_{0-\infty}$) is greater than unity (Olanoff *et al.*, 1986; Lalonde *et al.*, 1988; Stoschitzky *et al.*, 1992; Egginger *et al.*, 1994).

The stereoselective kinetics of the enantiomers of propranolol appear to be influenced by the route of administration. For instance, von Bahr *et al.* (1982) reported, that following the intravenous injection of 5 mg of racemic propranolol, the kinetics of propranolol enantiomers were almost identical. However, when 40 mg were given orally, the ratio of S(-)-propranolol over R(+)-propranolol $AUC_{0-\infty}$ averaged 1.48. Olanoff *et al.* (1984) reported that following the intravenous administration of 0.1 mg/kg of racemic propranolol, the average ratio of S(-)-propranolol over R(+)-propranolol $AUC_{0-\infty}$ was 1.17. On the other hand, when racemic propranolol was given orally, at single dose ranging from 40 to 160 mg, or after multiple doses to reach steady-state, average ratio of S(-)-propranolol over R(+)-propranolol $AUC_{0-\infty}$ ranged

from 1.32 to 1.77 (Olanoff *et al.*, 1986; Lalonde *et al.*, 1988; Stoschitzky *et al.*, 1992; Egginger *et al.*, 1994).

Two mechanisms, not mutually exclusive, could be proposed to explain the route-dependent stereoselective kinetics of propranolol enantiomers. First, the stereoselective elimination of propranolol enantiomers is primarily associated to the first-pass metabolism that occurs in the epithelial cells of the intestine and in the liver. The rationale of this hypothesis relies upon the fact that the intestine contributes with the liver to the first-pass metabolism of propranolol (Krishna and Klotz, 1994; du Souich *et al.*, 1995). Secondly, the stereoselective kinetics of propranolol enantiomers could be modulated by the dose of racemic propranolol reaching presystemic organs. This second hypothesis is supported by the fact that when 0.1 mg/kg or 5 mg racemic propranolol is injected intravenously (Olanoff *et al.*, 1984; Von Bahr *et al.*, 1982), a maximum of 1.5 to 2 mg of the dose administered reaches the liver immediately after its administration; although when 40 mg or more were given orally (Olanoff *et al.*, 1986; Stoschitzky *et al.*, 1992; Egginger *et al.*, 1994), the entire dose crosses the intestine and assuming a 43% first-pass metabolism by this organ (du Souich *et al.*, 1995), at least 24 mg will reach the liver.

The present study aimed to document *in vivo* and *in vitro* whether the intestinal mucosa and/or the liver are responsible for the stereoselectivity of the kinetics of propranolol enantiomers. The effect of increasing doses of propranolol on the stereoselective kinetics of the enantiomers was also assessed.

Methods

In vivo studies. Pharmacokinetic studies were performed on male New Zealand rabbits weighing approximately 2.7 kg purchased from Ferme Cunicole (Mirabel, Québec, Canada). The rabbits were acclimatized in their cages for at least 1 week before any experimental procedure were undertaken. The central artery and the lateral vein of an ear were cannulated with a Butterfly-25 (Venisystems, Abbot Ireland, Sligo, Ireland) which contained 0.02% of heparin dissolved in a 0.9% NaCl solution.

Three groups of rabbits (n = 4-5/group) received by gavage 40, 80 and 120 mg/kg of racemic propranolol, and blood samples (2 to 4 ml) were withdrawn from the central artery of the ear before and at 5, 10, 20, 30, 60, 90, 120, 180, 240 and 300 minutes after oral administration. Two other groups of rabbits (n = 5/group) received intravenous doses of 0.5 and 10 mg/kg of racemic propranolol dissolved in saline through the venous catheter, and blood samples (2 to 4 ml) were withdrawn from the central artery of the ear before and at 5, 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80 and 90 minutes after the injection. The blood samples were transferred into glass tubes containing 40-80 µl of 0.02% heparin, the plasma were separated by centrifugation at 2000 RPM for 10 minutes at 4°C, and stored at -20°C until assayed.

In vitro studies. The *in vitro* studies were aimed to support the *in vivo* results by demonstrating the ability of the liver and other extrahepatic organs to metabolize propranolol. Rabbits (n = 6) were sacrificed by cerebral dislocation, and the first 30 cm of the intestine, right lobe of the liver, kidneys, and lungs were removed. The epithelial cells of the small intestine were isolated by gently scrapping the mucosa. The medulla was removed from the kidneys. The tissues and

intestinal mucosa cells were carefully washed and diluted to 25% with 1.15% KCl:0.05 M phosphate buffer (pH 7.4), and finally homogenized with a polytron (Brinkman, Rexdalle, Sweden). The homogenates were centrifuged at 10,000xg and 1 ml of the supernatant was used to assess the ability of these tissues to metabolize propranolol by adding 0.5 ml of 7.5 µg/ml of the racemate (final concentration: 5.8 mM) or 3.75 µg/ml of each enantiomer (final concentration: 2.9 mM). The mixture was incubated at 37°C and the reaction was started by adding 1 ml of the buffer 0.05 M phosphate containing NADP (1.3 µM), glucose-6-phosphate (20 µM), nicotinamide (100 µM), and MgCl₂ (50 µM). Identical *in vitro* studies were carried out with a concentration of 75 µg/ml of the racemate (final conc.: 58 mM) or 37.5 µg/ml of each enantiomer (final concentration: 29 mM). Propranolol enantiomers were assayed from samples of 100 µl that were withdrawn every minute for 10 minutes from liver homogenates and every 20 minutes for 3 hours from other tissue homogenates.

Assay of propranolol enantiomers. S(-)- and R(+)-propranolol were separated by HPLC after derivatization with R(+)-phenylethylisocyanate (R-PEIC) (Fluka, Switzerland) as described elsewhere (Spahn-Langguth *et al.*, 1991) with some modifications. Briefly, to 0.5 or 1.0 ml aliquots of plasma, 100 µl of a solution containing the internal standard (50 µg/ml of metoprolol in methanol), 1 ml of carbonate buffer (pH = 10.5), and 10 ml of diethyl ether were added in centrifuge tubes with Teflon-coated sealed screw-caps. After mixing for 20 minutes, and centrifuging at 2000 RPM for 5 minutes, 9 ml of the organic phase were transferred into test tubes and evaporated under a nitrogen stream at ambient temperature. The residue was reconstituted in 200 µl of methanol, 50 µl of R-PEIC (0.1% in dichloromethane) were added and the mixture was incubated at 4°C for 20 minutes. Following evaporation under a nitrogen

stream, the residue was reconstituted in 200 μl of mobile phase and 20-80 μl was injected into the chromatograph. The samples obtained from the *in vitro* studies were processed as follow. To precipitate the proteins, the samples were mixed with 600 μl of methanol containing the internal standard (metoprolol, 50 $\mu\text{g}/\text{ml}$), and left for ten minutes at 4°C. Following centrifugation at 2000 RPM for 5 minutes, 200 μl of the supernatant was transferred into another tube, and the derivatization with R-PEIC was carried out. Proteins in the homogenates were quantified according to the technique of Lowry et al. (1951).

The separation of enantiomers was performed on a reversed-phase Inertsil ODS column (5 mm, 150 mm x 4.6 i.d.) with a Waters 501 HPLC pump equipped with a WISP 710B autosampler. The mobile phase consisted of methanol/water/acetic acid (75/25/0.1 v/v) that was delivered isocratically at a flow rate of 1.0 ml/min. The excitation and emission wavelengths of a Spectroflow 980 fluorescence detector were set at 220 and 340 nm. The peaks of the enantiomers of propranolol were integrated by a Chromatopack C-R4A. The recovery of S(-)- and R(+)-propranolol at concentrations of 4, 8, 16, 32 and 64 ng/ml after extraction from plasma was on average (S.E.) 92.2 ± 0.4 and $92.5 \pm 0.5\%$, respectively. Mean within-batch and inter-day coefficients of variability were 2.2 and 8.2%. S(-)/R(+)-enantiomer peak height ratios were near unity at all time, indicating that the two enantiomers reacted with the chiral derivatizing agent at the same rate at every concentrations in the standard curve (Spahn-Langguth *et al.*, 1991).

Data and statistical analysis. S(-)- or R(+)-propranolol AUC_{0-t} was estimated by means of the trapezoidal method. The $\text{AUC}_{0-\infty}$ was obtained by adding to the AUC_{0-t} the value of C_m/z

where z is propranolol rate constant of disposition estimated from the slope of the terminal phase of propranolol plasma concentrations. Standard non-compartmental equations (Gibaldi, 1991) were used to calculate the systemic clearance (Cl_T), terminal half-life ($t_{1/2}$), and predicted apparent volume of distribution at steady-state (Vd_{ss}). The apparent oral clearance (Cl_o) of S(-)- and R(+)-propranolol was calculated using the following equation $Cl_o = D_o/AUC_o$, where D_o is the oral dose of enantiomers, and AUC_o is the $AUC_{0-\infty}$ of the enantiomers given orally.

All the results are expressed as mean \pm standard error (S.E.). Differences between the pharmacokinetic parameters of the enantiomers for *in vivo* experiments were assessed using a one-way analysis of variance for parallel groups, and the significance was determined using Dunnett's table. Differences between the rate constant of elimination of the enantiomers for the racemate and the enantiomers incubated individually were assessed using a paired and an unpaired t-test. The significance threshold was established at $p < 0.05$.

Results

In vivo studies. Following the oral administration of 40, 80 and 120 mg/kg of R,S-propranolol, peak plasma concentrations of both enantiomers were observed at about 20 minutes (Fig. 1), and then declined with similar terminal $t_{1/2}$. Compared with the 40 mg/kg dose, the oral administration of 80 and 120 mg/kg of the racemate generated S(-)- and R(+)-propranolol plasma concentrations higher than predicted. As a consequence, the $AUC_{0-\infty}$ normalized by the 40, 80 and 120 mg/kg doses were 33.3, 65.4 and 144.2 ng.min.kg/ml.mg for S(-)-propranolol and 30.5, 41.1, and 86.7 ng.min.kg/ml.mg for R(+)-propranolol.

Assuming that the whole dose of R,S-propranolol was absorbed, the oral clearance of S(-)-propranolol decreased from 17444 ± 3301 to 9874 ± 2191 and 3639 ± 489 ($p < 0.05$) ml/min/kg for the 40, 80 and 120 mg/kg dosages respectively. The oral clearance of R(+)-propranolol decreased from 20859 ± 4845 to 12077 ± 2073 and 5770 ± 53 ($p < 0.05$) ml/min/kg for the 40, 80 and 120 mg/kg doses.

Following the oral dosages of 40 and 80 mg/kg, the $AUC_{0-\infty}$ for S(-)-propranolol did not differ from that of R(+)-propranolol. However, following the oral dose of 120 mg/kg, the $AUC_{0-\infty}$ of S(-)-propranolol was greater ($p < 0.05$) than the $AUC_{0-\infty}$ of R(+)-propranolol (Table I). The ratio of the $AUC_{0-\infty}$ of S(-)-propranolol over the $AUC_{0-\infty}$ of R(+)-propranolol increased ($p < 0.05$) as the dose was enhanced from 40 to 120 mg/kg (Table I).

Following the intravenous injection of 0.5 mg/kg of the racemate, plasma concentrations of S(-)-propranolol and R(+)-propranolol (Fig. 2) were in the same range as when the

concentrations of propranolol enantiomers when the racemate was administered orally at the dose of 40 mg/kg. The intravenous dose of 10 mg/kg generated plasma concentrations of S(-)- and R(+)-propranolol (Fig. 2) higher than those observed following the oral administration of 120 mg/kg of the racemate. Following the intravenous dose of 10 mg/kg, the $AUC_{0-\infty}$ of S(-)- or R(+)-propranolol corrected by the dose was significantly greater than that observed after the low intravenous dose. After the high dose, the systemic clearance of the enantiomers were lower ($p < 0.05$) than those estimated after the intravenous injection of 0.5 mg/kg (Table II). At the dose of 10 mg/kg, the predicted volume of distribution at steady-state of R(+)-propranolol was lower ($p < 0.05$) than that estimated following the 0.5 mg/kg dose (Table II).

At the intravenous dose of 0.5 mg/kg, the disposition of propranolol enantiomers was identical, i.e. no stereoselectivity was observed (Table II). Following the intravenous dose of 10 mg/kg, the $AUC_{0-\infty}$ of S(-)-propranolol was smaller than that of its antipode ($p < 0.05$). The ratio of $AUC_{0-\infty}$ of S(-)-propranolol over the $AUC_{0-\infty}$ of R(+)-propranolol decreased from 1.00 ± 0.01 , following the 0.5 mg/kg dose, to 0.82 ± 0.02 ($p < 0.05$) after the 10 mg/kg dose, because at this dose level, the systemic clearance of R(+)-propranolol was smaller ($p < 0.05$) than that of S(-)-propranolol (Table II).

In vitro studies. Intestinal mucosa and liver homogenates metabolized R,S-propranolol but not lungs and renal cortex supernatants. After the incubation of R,S-propranolol at the concentration of 5.8 mM in liver 10,000xg supernatant, the rate constants of elimination of propranolol enantiomers were similar (Fig. 3). The rate constant of elimination of the enantiomers incubated individually were significantly greater than when the racemate was

incubated (Fig. 3), and no differences were observed between the two enantiomers. When the racemate was incubated at the concentration of 58 mM, the rate constants of elimination of the enantiomers decreased to almost half the value estimated at 5.8 mM. In addition, at the concentration of 58 mM of the racemate, the rate constant of elimination of R(+)-propranolol was faster ($p < 0.05$) than that of its antipode. When the enantiomers were incubated individually at 29 mM, the rate constant of elimination of R(+)-propranolol was greater than that of S(-)-propranolol.

Following the incubation of the racemate at the concentration of 5.8 mM in epithelial cells of the intestine, the rate constant of elimination of R(+)-propranolol was faster ($p < 0.05$) than that of S(-)-propranolol (Fig. 4). This difference persisted when the racemate was incubated at the concentration of 58 mM, even if the rate of elimination of the enantiomers was almost ten times slower than at the concentration of 5.8 mM. When the enantiomers were incubated individually in the supernatant of the intestinal mucosa, the rate constant of elimination of R(+)-propranolol was almost three fold faster ($p < 0.05$) than that of S(-)-propranolol at both concentrations (Fig. 4). Furthermore, the rate constant of elimination of R(+)-propranolol was greater when incubated individually than following the incubation of the racemate (Fig. 4).

Discussion

This study demonstrates that, at low oral (40 or 80 mg/kg) or intravenous doses (0.5 mg/kg) of R,S-propranolol, the kinetics of the enantiomers are very similar. However, when the oral doses of R,S-propranolol are increased to 80 and 120 mg/kg, there is a greater increase in the $AUC_{0-\infty}$ of S(-)-propranolol, indicating that propranolol enantiomers depict stereoselective kinetics at higher doses. Similar results have been reported in humans because the $AUC_{0-\infty}$ of S(-)-propranolol is greater than that of R(+)-propranolol after oral administration only (von Bahr *et al.*, 1982). The intravenous doses of 10 mg/kg of R,S-propranolol generate a nonlinear increase in the $AUC_{0-\infty}$ of both enantiomers but in this case, the $AUC_{0-\infty}$ of R(+)-propranolol was slightly higher than that of S(-)-propranolol.

In vitro, at the concentration of 5.8 mM of R,S-propranolol, the rate of elimination of R(+)-propranolol is faster than that of S(-)-propranolol in epithelial cells of the intestine but not in the liver. When the concentration of R,S-propranolol in the epithelial cells of the intestine is enhanced to 58 mM, the stereoselective elimination of propranolol enantiomers persists, even if their rate of elimination is reduced. At the concentration of 58 mM, the elimination of propranolol enantiomers in the liver is also stereoselective. These results suggest that the stereoselective kinetics of propranolol enantiomers are dose-dependent. Unlike rats and dogs (Takahashi *et al.*, 1990; Walle *et al.*, 1989), the stereoselective kinetics after oral administration of R,S-propranolol in rabbits resemble that described in humans (Walle *et al.*, 1983a; Olanoff *et al.*, 1984; von Bahr *et al.*, 1982; Silber *et al.*, 1986).

Several factors may influence the systemic clearance of a drug, such as plasma protein binding, blood flow to the organ and intrinsic clearance. Walle *et al.* (1983a) reported that R(+)-propranolol was less bound to plasma proteins than S(-)-propranolol; the authors concluded that this difference could explain the stereoselective distribution, but probably not the stereoselective clearance of the enantiomers since hepatic clearance of drugs with high extraction ratio is independent of fractions unbound (Gibaldi et Perrier, 1982; Olanoff *et al.* 1984). Even if in the present study the plasma protein binding of propranolol enantiomers was not assessed, the presence of stereoselective elimination of propranolol enantiomers *in vitro* confirms that plasma protein binding is not at the origin of the stereoselective elimination. The same argument can be applied to discard changes in blood flow as a cause for the stereoselective elimination of propranolol enantiomers. On the other hand, since at low intravenous and oral dosages the rates of elimination of the enantiomers are identical, it is highly improbable that the stereoselective elimination of propranolol enantiomers may be secondary to differences in the intrinsic clearance for the enantiomers.

The stereoselective clearance of R,S-propranolol following oral dosage is only apparent when high doses of the racemate are administered, i.e. when the kinetics of both enantiomers appear to be zero-order. Two mechanisms could explain this dose-dependent stereoselectivity; a competitive inhibition of S(-)-propranolol by its antipode, or a preferential saturation of the metabolism of S(-)-propranolol over that of R(+)-propranolol.

As compared with the incubation of the individual enantiomers, the incubation of 5.8 mM of the racemate in the liver decreased the rate of elimination of both enantiomers to a similar

extend. This observation suggests that one enantiomer inhibits the metabolism of its antipode, although at this concentration, even in presence of an enantiomer-enantiomer interaction, the elimination of the enantiomers was not stereoselective. Several examples support the hypothesis that one enantiomer can compete and inhibit the elimination of its antipode. Masubuchi *et al.* (1993) showed that in liver homogenates of rats, the rate of formation of 4-, 5-, and 7-hydroxypropranolol as well as N-desisopropylation of one enantiomer was inhibited by the presence of its antipode. In dog liver microsomes, S(-)-propranolol is a non-competitive inhibitor of the glucuronoconjugation of R(+)-propranolol (Wilson and Thompson, 1984). On the other hand, at concentrations of 29 mM, the rate of elimination of S(-)-propranolol was not influenced by the presence of R(+)-propranolol, suggesting that R,S-propranolol stereoselectivity is associated to a saturation of the metabolism of S(-)-propranolol in the liver.

At both concentrations in the epithelial cells of the intestine, the presence of S(-)-propranolol reduced the rate of elimination of R(+)-propranolol by a factor of two as compared with the incubation of the individual enantiomers. On the other hand, at concentrations of 2.9 or 29 mM, the rate of elimination of S(-)-propranolol was not influenced by the presence of R(+)-propranolol, suggesting that the stereoselective elimination of propranolol enantiomers in the intestine is also associated to a saturation of the metabolism of S(-)-propranolol.

Hence, the present result suggest that, in the liver, low concentrations of R,S-propranolol result in a reduction of the rate elimination of both enantiomers by mutual competitive inhibition whereas at higher concentrations, there is a preferential saturation of S(-)-propranolol metabolism from which originates the stereoselectivity. Supporting our deductions, it has been

shown that an immediate-release oral formulation of R,S-verapamil generates higher plasma concentrations of S(-)-verapamil than when the racemate is administered in a sustained-release formulation, suggesting that the rate of absorption of R,S-verapamil in the immediate-release formulation is responsible for the preferential saturation of S(-)-verapamil and appearance of stereoselectivity (Karim and Pierges, 1995).

In vivo in the rabbit, the first-pass metabolism of R,S-propranolol is carried out by the intestine and liver, the former extracting 43% of the dose given orally, and the latter around 95% of the remaining (du Souich *et al.*, 1995). According to the present results in the epithelial cells of the small intestine, the kinetics of propranolol enantiomers were stereoselective at concentrations of the racemate lower than those required in the liver. Therefore, it is conceivable that low oral doses of R,S-propranolol may already generate stereoselective kinetics of the enantiomers, but it may not be apparent since at low concentrations, the liver does not contribute to the stereoselectivity of the elimination. To disclose the stereoselective kinetics of propranolol enantiomers, high oral doses are needed to saturate the elimination of S(-)-propranolol in both organs.

The present results may be helpful to understand why in humans following intravenous doses of 5 to 10 mg of R,S-propranolol, the ratio of the $AUC_{0-\infty}$ of S(-)-propranolol over the $AUC_{0-\infty}$ of R(+)-propranolol is lower than that estimated after the oral administration of 40 mg or higher doses of R,S-propranolol (Silber *et al.*, 1986; Olanoff *et al.*, 1986; Stoschitzky *et al.*, 1992; Egginger *et al.*, 1994). According to the present results, these route-dependent

differences may be generated by the dose administered, i.e. the doses of R,S-propranolol injected are insufficient to saturate the liver metabolism of S(-)-propranolol.

The intravenous administration of 10 mg/kg of R,S-propranolol decreased significantly the clearance of both enantiomers, implying that, at this dose level, the kinetics of propranolol enantiomers were zero-order. However, the repercussions of the increasing doses was more notable on the clearance of R(+)-propranolol. As a consequence, the ratio of $AUC_{0-\infty}$ of S(-)-propranolol over the $AUC_{0-\infty}$ of R(+)-propranolol was 0.82. That is, compared to the 120 mg/kg oral dose, a reversal of stereoselectivity. The volume of distribution of R(+)-propranolol was also decreased. It is improbable that an increase in protein binding could explain these changes. Since propranolol enantiomers are highly extracted, it is possible to predict that protein binding is not a limiting factor to their extraction. Since the 40 mg/kg oral dose was almost totally absorbed, and taking into account that propranolol first-pass extraction by the intestine is 43% (du Souich *et al.*, 1995), around 24 mg/kg should reach the portal vein and the liver. On the other hand, considering the blood flow to the intestine and liver, less than 30% of the 10 mg/kg of the intravenous dose will reach the liver. Therefore, we speculate that the route-dependent stereoselectivity observed after the intravenous injection of 10 mg/kg, is not associated to the amount of R,S-propranolol reaching the intestine and the liver.

The difference in propranolol enantiomer stereoselectivity generated by the route of administration may be tentatively explained by the heterogeneous distribution of cytochrome P-450 in the liver. It has been demonstrated that sulpho- and glucurono-conjugation of

acetaminophen (Pang and Terrell, 1980; Pang *et al.*, 1994), phenacetin deethylation (Pang *et al.*, 1988) and enalapril hydrolysis (Pang *et al.*, 1991) are different in the periportal and perihepatic artery region of the liver. Therefore, it is conceivable that depending on the route of arrival, portal vein or hepatic artery, and exposure to enzymes, one enantiomer might be preferentially metabolized over its antipode. Supporting such hypothesis, it has been reported in dogs and humans that glucurono-conjugation is rather selective for S(-)-propranolol (Silber *et al.*, 1982; Walle *et al.*, 1983b), whereas the formation of desisopropylpropranolol is R(+)-enantioselective at low substrate concentrations and S(-)-enantioselective at high concentrations (Marathe *et al.*, 1994). Indeed, further studies are required to explain why high intravenous doses reverse propranolol stereoselectivity.

In conclusion, low doses of R,S-propranolol administered intravenously or orally do not generate stereoselective kinetics of the enantiomers of propranolol, suggesting that differences in the intrinsic clearances for the enantiomers are not the cause for their stereoselective elimination. On the other hand, high oral doses depress more profoundly S(-)-propranolol metabolism and generate stereoselective differences in the rate of elimination of the enantiomers. *In vitro* studies support that the mechanism underlying the stereoselective kinetics of oral propranolol is a preferential saturation of the metabolism of S(-)-propranolol in the intestine and liver. Finally, high intravenous doses generating zero-order kinetics induce small stereoselective differences in the elimination of the enantiomers of propranolol, but in this case S(-)-propranolol is eliminated more rapidly than R(+)-propranolol.

References

- BARRETT, A.M., AND CULLUM, V.A. The biological properties of the optical enantiomers of propranolol and their effects on cardiac arrhythmias. *Br. J. Pharmacoll.* **34**: 43-55, 1968.
- DU SOUICH, P., MAURICE, H., AND HEROUX, L. Contribution of the small intestine to the first-pass uptake and systemic clearance of propranolol in rabbits. *Drug Metab. Dispos.* **23**: 279-284, 1995.
- EGGINGER, G., LINDNER, W., BRUNNER, G., AND STOSCHITZKY, K. Direct enantioselective determination of (R)- and (S)-propranolol in human plasma. Application to pharmacokinetic studies. *J. Pharm. Biomed. Anal.* **12**: 1537-1545 1994.
- GIBALDI, M. AND PERRIER, D. Noncompartmental analysis based on statistical moment theory. In "Pharmacokinetics". J. Swarbrick ed. 2nd ed. Marcel Dekker, Inc. New York, pp. 409-418, 1982.
- KRISHNA, D.R., AND KLOTZ, U. Extrahepatic metabolism of drugs in humans. *Clin. Pharmacokin.* **26**: 144-160, 1994.
- LALONDE, R.L., BOTTORF, M.B., STRAKA, R.J., TENERO, D.M., PIEPER, J.A., AND WAINER, I.W. Nonlinear accumulation of propranolol enantiomers. *Br. J. Clin. Pharmacoll.* **26**: 100-102, 1988.
- LOWRY, O.H., ROSEBROUGH, N.J., FARR, A.L., AND RANDALL, R.J. Protein measurement with the folin phenol reagent. *J. Biochem. Chem.* **193**: 265-275, 1951.
- MARATHE, P.H., SHEN, D.D., AND NELSON, W.L. Metabolic kinetics of pseudoracemic propranolol in human liver microsomes. Enantioselectivity and quinidine inhibition. *Drug Metab. Dispos.* **22**: 237-247, 1994.
- MASUBUCHI, Y., YAMAMOTO, L.A., UESAKA, M., FUJITA, S., NARIMATSU, S., AND SUZUKI, T. Substrate stereoselectivity and enantiomer/enantiomer interaction in propranolol metabolism in rat liver. *Biochem. Pharmacoll.* **46**: 1759-1565, 1993.
- MURRAY, K.T., REILLY, C., KOSHAKJI, R.P., RODEN, D.M., LINEBERRY, M.D., WOOD, A.J.J., SIDDOWAY, L.A., BARBEY, J., AND WOOSLEY, R.L. Suppression of ventricular arrhythmias in man by d-propranolol independent of beta-adrenergic receptor blockade. *J. Clin. Invest.* **85**: 836-842, 1990
- OLANOFF, L.S., WALLE, T., COWARD, T.D., WALLE, U.K., OEXMANN M.J., AND CONRADI, E.C. Food effects on propranolol systemic and oral clearance; support for a blood flow hypothesis. *Clin. Pharmacoll. Ther.* **40**: 408-414, 1986.
- OLANOFF, L.S., WALLE, T., WALLE, U.K., COWARD, T.D., AND GAFFNEY, T.E. Stereoselective clearance and distribution of intravenous propranolol. *Clin. Pharmacoll. Ther.* **35**: 755-761, 1984.
- PANG, K.S., AND TERRELL, J.A. Retrograde perfusion to probe the heterogeneous distribution of hepatic drug metabolizing enzymes in rats. *J. Pharmacoll. Exp. Ther.* **216**: 339-3346, 1980.
- PANG, S.K., CHERRY, W.F., ACCAPUTO, J., SCHWAB, A.J., AND GORESKY, C.A. Combined hepatic arterial-portal venous and hepatic arterial-hepatic venous perfusions to probe the abundance of drug metabolizing activities: perihepatic venous O-deethylation activity for phenacetin and periportal sulphation for acetaminophen in the once-through rat liver preparation. *J. Pharmacoll. Exp. Ther.* **247**: 690-700, 1988.

- PANG, S.K., BARKER III, F., CHERRY, W.F., AND GORESKY, C.A. Esterases for enalapril hydrolysis are concentrated in the perihepatic venous region of the rat liver. *J. Pharmacoll. Exp. Ther.* **257**: 294-301, 1991.
- PANG, S.K., SCHWAB, A.J., GORESKY, C.A., AND CHIBA, M. Transport, binding, and metabolism of sulphate conjugates in the liver. *Chem. Biol. Interac.* **92**: 179-207, 1994.
- RAHN, K.H. Haemodynamic effects of the optical isomers of beta receptor blocking agents. *Eur. Heart J.* **4(suppl)**: 27-30, 1983.
- RIDELL, G., HARRON, D.W., AND SHANKS, R.G. Clinical pharmacokinetics of beta-adrenoceptor antagonists. *Clin. Pharmacokin.* **12**: 305-320, 1987.
- SILBER, B., HOLFORD, N.H.G., AND RIEGELMAN, S. Stereoselective disposition and glucuronidation of propranolol in humans. *J. Pharm. Sci.* **71**: 699-703, 1986.
- SPAHN-LANGGUTH, H., PODKOWIK, B., STAHL, E., MARTIN, E., AND MUTSCHLER, E. Improved enantiospecific RP-HPLC assays for propranolol in plasma and urine with pronethalol as internal standard. *J. Anal. Tox.* **15**: 327-331, 1991.
- STOSCHITZKY, K., LINDNER, W., EGGINGER, G., BRUNNER, F., OBERMAYER-PIETSCH, B., PASSATH, A., AND KLEIN, W. Racemic (R,S)-propranolol versus half-dosed optically pure (S)-propranolol in humans at steady state: hemodynamic effects, plasma concentrations, and influence on thyroid hormone levels. *Clin. Pharmacoll. Ther.* **51**: 445-453, 1992.
- TAKAHASHI, H., OGATA, H., KANNO, S., AND TAKEUCHI, H. Plasma protein binding of propranolol enantiomers as a major determinant of their stereoselective tissue distribution in rats. *J. Pharmacoll. Exp. Ther.* **252**: 272-278, 1990.
- VON BAHR, C., HERMANSSON, J., AND TAWARA, K. Plasma levels of (+) and (-)-propranolol and 4-hydroxypropranolol after administration of racemic (\pm)-propranolol in man. *Br. J. Clin. Pharmacoll.* **14**: 79-82, 1982.
- WALLE, T., WILSON, M.J., WALLE, U.K., AND BAI, S.A. Stereochemical composition of propranolol metabolites in the dog using stable isotope-labelled pseudoracemates. *Drug Metab. Dispos.* **11**: 544-549, 1983b.
- WALLE, U.K., WALLE, T., BAI, S.A., AND OLANOFF, L.S. Stereoselective binding of propranolol to human plasma α_1 -acid glycoprotein, and albumin. *Clin. Pharmacoll. Ther.* **34**: 718-723, 1983a.
- WALLE, U.K., THIBODEAUX, H., PRIVITERA, P.J., AND WALLE, T. Stereochemistry of tissue distribution of racemic propranolol in the dog. *Chirality* **1**: 192-196, 1989.
- WILSON, B.K., AND THOMPSON, J.A. Glucuronidation of propranolol by dog liver microsomes. Effects of enantiomeric inhibition and detergent treatment on stereoselectivity. *Drug Metab. Dispos.* **12**: 161-164, 1984.

Footnote

1

This study was made possible by a grant from the Medical Research Council of Canada (Grant # MT-10894).

Acknowledgments

The authors wish to thank Mrs. Hélène Maurice and Lucie Héroux for their excellent technical assistance.

TABLE I. Pharmacokinetic parameters of S(-)- and R(+)-propranolol following the oral administration of increasing doses of racemic propranolol to conscious rabbits (n=4-5).

	S(-)-propranolol	R(+)-propranolol	S(-)/R(+)
$t_{1/2}$ (min)			
40 mg/kg	69 ± 9*	69 ± 5	1.00 ± 0.01
80 mg/kg	63 ± 6	62 ± 7	1.02 ± 0.02
120 mg/kg	58 ± 7	65 ± 8	0.89 ± 0.05
C_{max} (ng/ml)			
40 mg/kg	13 ± 2	12 ± 2	1.04 ± 0.08
80 mg/kg	121 ± 28	70 ± 21	1.43 ± 0.23
120 mg/kg	356 ± 37	209 ± 29 ^{a,b,c}	1.76 ± 0.21 ^a
$AUC_{0-\infty}$ (ng.min/ml)			
40 mg/kg	1332 ± 254	1218 ± 293	1.14 ± 0.06
80 mg/kg	5235 ± 1347	3291 ± 1054	1.32 ± 0.12
120 mg/kg	17308 ± 2054	10401 ± 952 ^{a,b,c}	1.66 ± 0.19 ^a

* values are mean ± S.E.

^a p<0.05 compared with 40 mg/kg

^b p<0.05 compared with 80 mg/kg

^c p<0.05 compared with S(-)-propranolol

TABLE II. Pharmacokinetic parameters of S(-)- and R(+)-propranolol following the intravenous administration of increasing doses of racemic propranolol to conscious rabbits (n=5).

	S(-)-propranolol	R(+)-propranolol	S(-)/R(+)
$t_{1/2}$ (min)			
0.5 mg/kg	48 ± 7*	47 ± 6	1.02 ± 0.01
10.0 mg/kg	59 ± 3	65 ± 3	0.91 ± 0.03
AUC _{0-∞} (ng.min/ml)			
0.5 mg/kg	1067 ± 72	1069 ± 100	1.00 ± 0.01
10.0 mg/kg	38689 ± 981 ^a	47222 ± 1358 ^{a,b}	1.82 ± 0.02 ^a
Cl _T (ml/min/kg)			
0.5 mg/kg	248 ± 16	248 ± 24	1.00 ± 0.01
10.0 mg/kg	124 ± 4 ^a	106 ± 3 ^{a,b}	1.22 ± 0.02 ^a
V _{dss} (l/kg)			
0.5 mg/kg	14.6 ± 1.0	14.5 ± 1.0	1.01 ± 0.01
10.0 mg/kg	12.4 ± 0.5	11.0 ± 0.5 ^{a,b}	1.12 ± 0.01 ^a

* values are ± S.E.

^a compared with 0.5 mg/kg

^b p<0.05 compared with S(-)-propranolol

Legends for figures

Figure 1. Mean plasma concentration-time curves of propranolol enantiomers following the oral administration of 120 (O, ●), 80 (□, ■) and 40 (◇, ◆) mg/kg of R,S-propranolol to conscious rabbit (n=4-5). Vertical bars are \pm S.E.

Figure 2. Mean plasma concentration-time curves of propranolol enantiomers following the intravenous administration of 0.1(O, ●) and 0.5 (□, ■) mg/kg of R,S-propranolol to conscious rabbit (n=5). Vertical bars are \pm S.E.

Figure 3. Rate constant of elimination of and R(+)-propranolol (close bars) S(-)-propranolol (open bars) in the 10,000xg supernatant of rabbit homogenates of the liver following the incubation of 5.8 or 58 mM of R,S-propranolol or 2.9 and 29 mM of each enantiomer individually. * $p < 0.05$ compared with S(-)-propranolol.

Figure 4. Rate constant of elimination of and R(+)-propranolol (close bars) and S(-)-propranolol (open bars) in the 10,000xg supernatant of rabbit homogenates of epithelial cells of the intestinal mucosa following the incubation of 5.8 and 58 mM of R,S-propranolol or 2.9 and 29 mM of each enantiomer individually. * $p < 0.05$ compared with S(-)-propranolol.

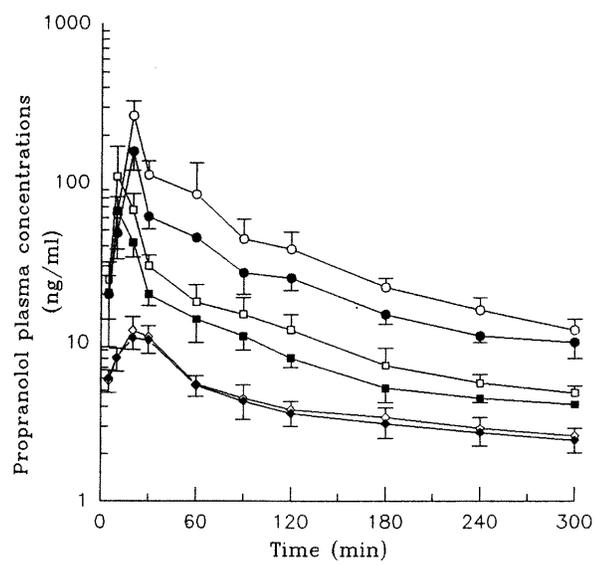


Figure 1

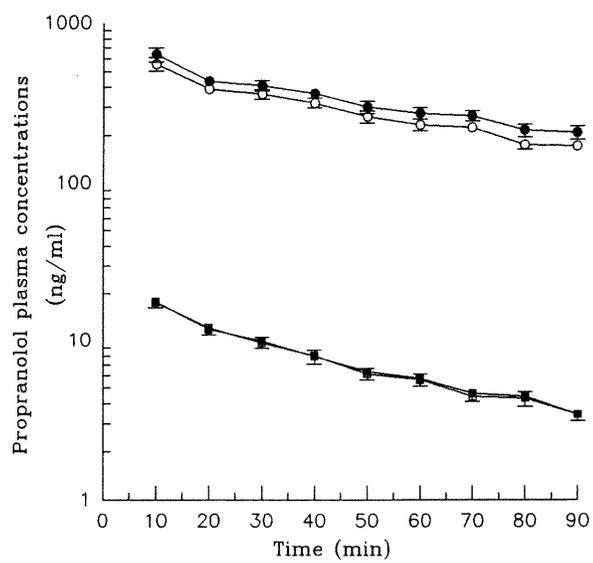


Figure 2

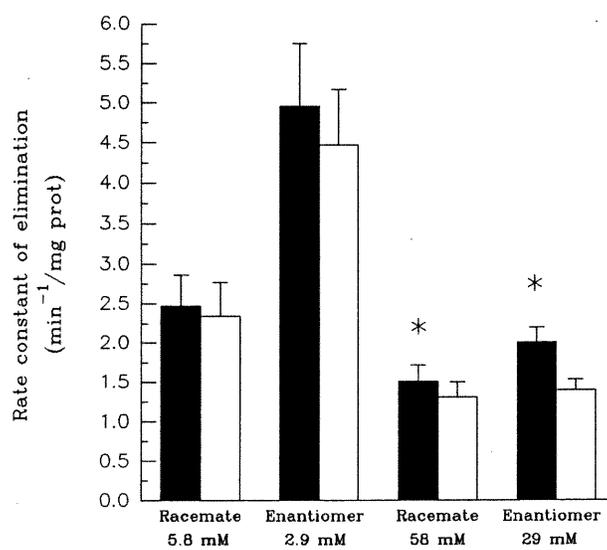


Figure 3

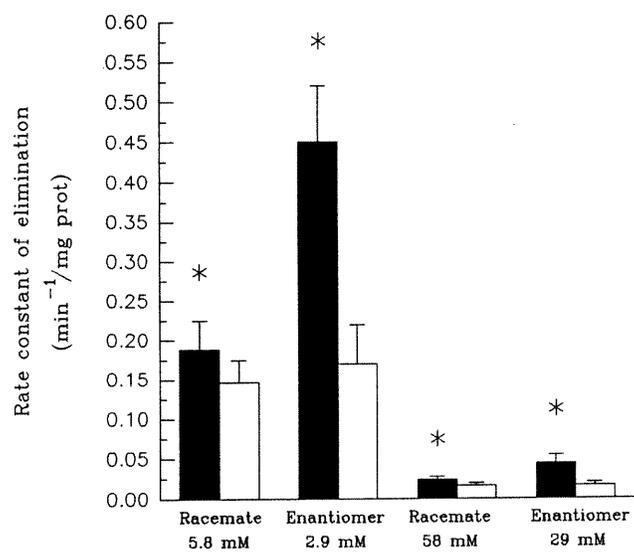


Figure 4

INDEX TERMS

Marier, J.F., du Souich, P.: Stereoselective disposition of propranolol in rabbits: role of presystemic organs and dose.

du Souich, P., see Marier J.F.

Propranolol, stereoselective disposition of; role of presystemic organs and dose.

Dose, role in the stereoselective disposition of propranolol; role of presystemic organs.

Presystemic organs, role in the stereoselective disposition of propranolol in rabbits; role of the dose.

C. DISCUSSION ET CONCLUSION

Cette étude montre que la cinétique des énantiomères du propranolol n'est pas stéréosélective suivant l'administration d'une faible dose orale de 40 mg/kg et suite à l'injection intraveineuse d'une faible dose de 0,5 mg/kg. En augmentant la dose orale à 80 ou 120 mg/kg, une cinétique d'ordre zéro est observée car il y a une augmentation non-linéaire des $SSC_{0-\infty}$ des deux énantiomères (Table I). La $SSC_{0-\infty}$ du S(-)-propranolol augmente plus rapidement que celle du R(+)-propranolol, ce qui signifie qu'une stéréosélectivité apparaît au fur et à mesure que la dose augmente. Suivant l'administration orale de 120 mg/kg, des concentrations plasmatiques de S(-)-propranolol significativement supérieures à celles de R(+)-propranolol ($p < 0,05$) sont observées. L'apparition d'une cinétique non-linéaire et l'augmentation graduelle des concentrations de S(-)-propranolol par rapport à son antipode potentialise les effets thérapeutiques du propranolol (Takahashi et coll., 1992) puisque le S(-)-propranolol est environ 100 fois plus puissant que le R(+)-propranolol (Barrett et Cullum, 1968).

Suivant l'administration orale de R,S-propranolol chez le rat, des concentrations plasmatiques de R(+)-propranolol environ cinq fois supérieures à celles de S(-)-propranolol sont observées (Vermeulen et coll., 1992). La clairance orale de l'énantiomère S(-) chez le chien est environ 80% plus élevée que celle de l'énantiomère R(+) (Lankford et coll., 1994). Par opposition au métabolisme oral du chien et du rat, la stéréosélectivité retrouvée suivant l'administration orale chez le lapin est semblable à celle chez l'homme (Walle et coll. 1983a; Olanoff et coll. 1984; Von Bahr et coll. 1982; Silber et coll. 1986). En considérant la stéréosélectivité du métabolisme oral, nous croyons que le lapin est un bon modèle animal pour les études pharmacocinétiques du propranolol.

En augmentant la dose injectée intraveineuse à 10 mg/kg, une augmentation non-linéaire des $SSC_{0-\infty}$ pour les deux énantiomères est également observée. Contrairement à l'administration orale, l'augmentation de la $SSC_{0-\infty}$ du R(+)-propranolol est supérieure à celle du S(-)-propranolol, ce qui signifie que l'énantiomère S(-) est éliminé plus rapidement que son antipode (Table II).

Considérant la quantité d'isoenzymes de phase I et II qui est retrouvée au niveau du foie, celui-ci est reconnu comme étant l'organe principalement responsable du métabolisme des médicaments. Cependant, d'autres organes comme l'intestin, les reins, les poumons et le cerveau possèdent également la capacité de métaboliser certains médicaments (Krishna et coll., 1994). Ainsi, le salbutamol est extrait à 92% par l'intestin et à 47% par les poumons (Perreault et coll., 1993), le diltiazem à 57% par l'intestin et à 16% par les poumons (Lefebvre et coll., 1995), et le furosémide à 24% par les reins (Vergés et du Souich, 1995). Par conséquent, le métabolisme d'un médicament pourrait être modifié selon sa voie d'administration suite à une exposition préliminaire à d'autres organes que le foie. Puisque le propranolol est constitué de deux énantiomères, l'hypothèse qu'une différence stéréosélective dans le métabolisme extrahépatique existe est à considérer.

In vitro, suivant l'incubation de R,S-propranolol dans les homogénats d'organes pouvant potentiellement métaboliser les médicaments, on observe une élimination du propranolol dans les cellules épithéliales de l'intestin et du foie seulement. Ainsi, suite à l'incubation de R,S-propranolol aux concentrations de 5,8 mM dans les homogénats de cellules hépatiques, nous n'observons pas de stéréosélectivité (Figure 3, p. 60). Cependant, aux mêmes concentrations

dans les homogénats de cellules épithéliales de l'intestin (Figure 4, p. 61) la vitesse d'élimination du R(+)-propranolol est plus rapide que celle de son antipode. Après avoir incubé des concentrations de R,S-propranolol dix fois plus élevées, une diminution de la vitesse d'élimination du propranolol est observée dans les deux homogénats. À cette concentration, on note une élimination préférentielle du R(+)-propranolol dans les homogénats de cellules hépatiques et la même stéréosélectivité dans les homogénats de cellules épithéliales intestinales (Figure 3 et 4). Ceci suggère que la stéréosélectivité de l'élimination est dépendante de la dose de propranolol dans les homogénats de cellules hépatiques. Ces résultats sont en accord avec ceux d'autres études qui ont rapporté que la stéréosélectivité est plus marquée à fortes doses dans les homogénats de cellules hépatiques provenant de l'homme, du chien et du rat (Marathe et coll., 1994; Masubuchi et coll., 1993; Fujita et coll., 1992; von Bahr et coll., 1982).

D'une façon générale, la liaison aux protéines plasmatiques, le débit hépatique, et la clairance intrinsèque sont des facteurs qui peuvent influencer l'élimination systémique d'un médicament (Gibaldi et Perrier, 1982). Plusieurs études ont démontré que le S(-)-propranolol est lié plus fortement que son antipode aux protéines plasmatiques (Olanoff et coll., 1984). Les auteurs ont conclu que cette différence a une influence sur la stéréosélectivité de la distribution des énantiomères du propranolol, mais qu'elle n'a pas d'influence sur la stéréosélectivité du métabolisme (Olanoff et coll., 1984; Walle et coll., 1983a). *In vitro*, la stéréosélectivité du métabolisme observées dans les homogénats confirment l'hypothèse que la liaison aux protéines plasmatiques et aux tissus n'est pas responsable de la cinétique stéréosélective. Il est bien connu qu'un changement de débit hépatique peu avoir une répercussion sur la cinétique d'un

médicament. Encore ici, nos études *in vitro* montrent que la stéréosélectivité est présente sans changement de débit hépatique.

L'élimination des énantiomères du propranolol est stéréosélective seulement après l'administration orale de fortes doses. La présence de cinétique des énantiomères du propranolol identiques suivant l'administration de faibles doses orales ou intraveineuses suggère que la clairance intrinsèque n'est pas responsable du métabolisme stéréosélectif. Deux mécanismes sont proposés dans le but d'expliquer la stéréosélectivité dose-dépendante: une inhibition compétitive du S(-)-propranolol par son antipode ou une saturation préférentielle du métabolisme de l'énantiomère S(-). L'incubation de chaque énantiomère individuellement dans les homogénats de cellules épithéliales de l'intestin et hépatiques ont permis de déterminer le mécanisme responsable de la stéréosélectivité dose-dépendante.

Par rapport à l'incubation des énantiomère individuel, l'incubation de 5,8 mM du mélange racémique dans les cellules hépatiques (Figure 3, p. 60), diminue la vitesse d'élimination des deux énantiomères d'une façon similaire. Ceci démontre que dans les cellules hépatiques, les énantiomères du mélange racémique inhibent l'élimination de leur antipode respectif. Par contre, à cette concentration, l'inhibition observée ne produit pas de changement stéréosélectif. Notre observation renforce les résultats de différents travaux réalisés *in vitro* qui ont souligné la présence d'une inhibition compétitive entre les énantiomères du propranolol. Ainsi, les vitesses de formation des métabolites 4-, 5-, 7-hydroxylés et N-désisopropylés étaient diminuées en présence de leur antipode dans les cellules hépatiques de rat (Masubuchi et coll. 1993). De plus, le S(-)-propranolol inhibe la glucuronidation du R(+)-propranolol dans les microsomes de chien

(Wilson et Thompson, 1984). Cependant, à une concentration de 29 mM dans les cellules hépatiques, la vitesse d'élimination du S(-)-propranolol ne semble pas affectée par la présence de R(+)-propranolol (Figure 3, p. 60). Ces observations suggèrent que l'élimination stéréosélective du propranolol dans les cellules hépatiques n'est pas associée à une interaction énantiomère-énantiomère (inhibition compétitive), mais à une saturation de la voie d'élimination du S(-)-propranolol.

Par comparaison avec l'incubation des mélanges racémique dans les cellules épithéliales de l'intestin, l'incubation du S(-)-propranolol aux concentrations de 2,9 et 29 mM, diminue la vitesse d'élimination du R(+)-propranolol par un facteur deux. Cependant, aux mêmes concentrations, la vitesse d'élimination du S(-)-propranolol n'est pas modifiée par la présence de l'antipode. Ces observations nous porte à croire que la saturation du métabolisme de l'antipode. Ces observations nous porte à croire que la saturation du métabolisme de l'énantiomère S(-) est également responsable de la stéréosélectivité de l'élimination du propranolol dans l'intestin.

La diminution de l'élimination du R(+)-propranolol par l'énantiomère S(-) dans les cellules épithéliales de l'intestin et seulement à la plus haute concentration dans les cellules hépatiques est une conséquence de la saturation du métabolisme de l'énantiomère S(-). En saturant les sites du métabolisme, le S(-)-propranolol bloquerait la liaison enzymatique avec le R(+)-propranolol, et par conséquent, la vitesse d'élimination de ce dernier serait diminuée.

Dans les cellules hépatiques, des concentrations dix fois supérieures à celles requises dans l'intestin sont nécessaires afin de saturer le métabolisme du S(-)-propranolol à un plus haut degré que celui de son antipode. Notre conclusion voulant que la stéréosélectivité du

propranolol dépende de la saturation de l'élimination du S(-)-propranolol, est renforcée par les travaux de Karim et Piergies (1995) qui ont montré que le pourcentage de S(-)-vérapamil présent dans le plasma était plus élevé suivant l'administration du R,S-vérapamil dans une formulation à libération immédiate que lorsque le R,S-vérapamil était administré par une formulation à libération progressive. Les auteurs ont conclu que la saturation du métabolisme de premier passage du S(-)-vérapamil est responsable de cette différence stéréosélective.

Ces expériences *in vitro* permettent de déterminer la capacité intrinsèque des enzymes à métaboliser un énantiomère à une même concentration que dans un mélange racémique, et ce, sans l'interaction possible de l'antipode (von Bahr et coll., 1982; Wilson et Thompson, 1983; Masubuchi et coll. 1993). Cependant, les concentrations d'énantiomères individuels sont seulement la demie des concentrations des racemates. L'élimination d'un énantiomère seul avec le même énantiomère provenant d'un mélange racémique comporte donc une différence dans la quantité totale de médicament à métaboliser par les enzymes. Pour une substance comme le propranolol ayant un métabolisme non-linéaire (Keller et coll., 1989; Evans et Shand, 1973; Shand et Rangno, 1972), la double quantité de médicament à métaboliser dans un racemate, par rapport à la demi dans l'incubation d'un énantiomère seul pourrait potentiellement avoir des répercussion sur la vitesse d'élimination et la stéréosélectivité. Cependant, une augmentation du simple au double dans la quantité totale de propranolol à métaboliser ne devrait pas influencer la constante d'élimination car les cinétiques sont du même ordre à cette concentration. *In vitro*, la stéréosélectivité du métabolisme des énantiomère du propranolol est observée à des concentrations élevées qui génèrent des cinétiques de l'ordre 0 par saturation du métabolisme.

L'intestin et le foie sont responsables de l'effet de premier passage de plusieurs médicaments (Krishna et Klotz, 1994). Suivant l'administration orale, le propranolol est extrait à 43% par l'intestin et à 95% par le foie (du Souich et coll. 1995). En se basant sur nos résultats obtenus *in vitro*, on peut conclure que la cinétique stéréosélective dans les cellules épithéliales de l'intestin est observée à une concentration inférieure à celle requise dans les cellules hépatiques. Lors du premier passage, on peut concevoir qu'une dose élevée de R,S-propranolol soit nécessaire pour saturer l'élimination du S(-)-propranolol dans le foie et que lors du premier passage à faible doses, la stéréosélectivité intestinale soit masquée par le métabolisme hépatique non-stéréosélectif. Cette hypothèse expliquerait l'augmentation du degré de stéréosélectivité (Table I) en fonction de la dose.

Nous concluons que la saturation des voies métaboliques du S(-)-propranolol par de fortes doses orales est responsable de l'élimination stéréosélective. Ainsi, suivant un premier passage, ou après l'injection intraveineuse de propranolol, les faibles concentrations systémiques ont peu d'influence sur la stéréosélectivité du métabolisme. L'extrapolation de ces résultats permet de comprendre qu'après l'injection intraveineuse de 0,1 mg/kg ou de 5 mg de R,S-propranolol chez l'humain, qu'un ratio S(-)/R(+) des $SSC_{0-\infty}$ inférieur à celui obtenu suivant l'administration orale de 40 mg de R,S-propranolol soit observé (Silber et coll., 1986; Olanoff et coll., 1986; Stoschitzky et coll., 1992; Egginger et coll., 1994).

Suivant l'injection intraveineuse de 10 mg/kg chez les lapins, une cinétique d'ordre zéro est observée car il y a une augmentation non-linéaire des $SSC_{0-\infty}$ des deux énantiomères (Table II). Les concentrations plasmatiques de R(+)-propranolol sont significativement supérieures à celles

de S(-)-propranolol ($p < 0,05$) et le ratio S(-)/R(+) des $SSC_{0-\infty}$ est de 0,82. Par opposition aux résultats obtenus suivant l'administration orale, le ratio S(-)/R(+) des $SSC_{0-\infty}$ est inférieur à l'unité, ce qui signifie que l'énantiomère actif S(-)-propranolol est métabolisé plus rapidement que son antipode. De plus, le volume de distribution du R(+)-propranolol est également diminué. Il est peu probable qu'une augmentation de la liaison aux protéines plasmatiques du R(+)-propranolol soit responsable de ces changements car la liaison n'est pas un facteur limitant à l'extraction du propranolol (Gibaldi et Perrier, 1982).

Si la dose de 40 mg/kg est totalement absorbée, et en considérant que l'intestin extrait 43% d'une dose orale chez le lapin (du Souich et coll., 1995), environ 24 mg/kg de propranolol atteignent le foie par la veine porte. Par contre, en considérant le débit sanguin à l'intestin et au foie, moins de 30% (volume d'éjection systolique) d'une dose intraveineuse de 10 mg/kg atteignent le foie. En comparant les résultats obtenus suivant l'administration orale de 40 mg/kg (absence de stéréosélectivité), nous concluons que l'élimination préférentielle de l'énantiomère S(-) suivant une injection intraveineuse de 10 mg/kg n'est pas reliée à la quantité de propranolol atteignant le foie par la veine porte.

Suivant une administration orale, le propranolol traverse l'intestin et il atteint le foie par la veine porte. Cependant, lorsque le propranolol est injecté par voie intraveineuse, du 30% de la dose qui atteint le foie, 25% le fait par l'artère hépatique. Par rapport à l'administration orale de 120 mg/kg, le type de stéréosélectivité des énantiomères du propranolol suivant une injection intraveineuse de 10 mg/kg pourrait s'expliquer par l'hétérogénéité de la distribution des isoenzymes hépatiques métabolisant le propranolol. En effet, la distribution des isoenzymes

responsables de la sulfo- et de la glucurono-conjugaison de l'acétaminophène (Pang and Terrell, 1980; Pang et coll. 1994), de la déethylation de la phénacétine (Pang et coll., 1988) et de l'hydrolyse de l'énalapril (Pang et coll., 1991) est différente dans la région périportale de celle dans la région périhépatique artérielle. Donc, en considérant que les énantiomères sont exposés à une population enzymatique différente, il est concevable que la stéréosélectivité du métabolisme dépende de l'arrivée des énantiomères par la veine porte ou par l'artère hépatique. Il a été démontré que chez l'homme et le chien, la conjugaison est sélective pour l'énantiomère S(-) (Silber et coll., 1982; Walle et coll., 1983) alors que la désisopropylation est sélective pour l'énantiomère R(+) à de faibles concentrations et pour l'énantiomère S(-) à de fortes concentrations (Marathe et coll., 1994). Ceci est une hypothèse qui nécessite des études plus approfondies afin de connaître les mécanismes responsables de la stéréosélectivité inversée suivant l'injection de fortes doses intraveineuses par rapport à celle observée suite à l'administration de fortes doses orales.

Les β -bloquants sont généralement des molécules chirales et ils sont commercialisés sous la forme de mélanges racémiques. L'élimination stéréosélective du R,S-propranolol n'est pas une exception dans cette classe de médicaments. Ainsi, suivant l'administration orale chez l'homme, les énantiomères R(+) du métoprolol (Lennard et coll., 1983), du bufuralol (Dayer et coll., 1986) et du penbutolol (Ochs et coll., 1986) sont éliminés plus rapidement que les énantiomères S(-), alors que l'inverse est observé avec le carvedilol (Neugebauer et coll., 1990). Suivant une administration orale, la stéréosélectivité du métabolisme du métoprolol et du carvedilol est plus marquée que suivant une injection intraveineuse (Neugebauer et coll., 1990). Il serait intéressant de vérifier si la saturation du métabolisme d'un énantiomère dans les isoenzymes

hépatiques et dans les cellules épithéliales de l'intestin est responsable des différences stéréosélectives pour ces substrats.

En résumé, l'élimination des énantiomères du propranolol suivant une administration orale ou une injection intraveineuse de faibles doses n'est pas stéréosélective. Par contre, de fortes doses orales génèrent une cinétique d'ordre zéro et une élimination préférentielle de l'énantiomère R(+). Ceci signifie que la clairance intrinsèque des énantiomères du propranolol n'a pas une valeur fixe, mais plutôt une valeur dépendante de la dose atteignant les cellules hépatique et intestinale. Nos études *in vitro* montrent que le métabolisme de l'énantiomère S(-) est saturé dans les cellules épithéliales de l'intestin mais seulement qu'à des concentrations élevées dans les cellules hépatiques. Donc, la saturation graduelle du métabolisme du S(-)-propranolol dans les cellules épithéliales de l'intestin et du foie semble responsable du métabolisme stéréosélectif dose-dépendant chez le lapin conscient. L'injection intraveineuse de fortes doses de propranolol génère une cinétique d'ordre zéro qui se traduit par l'élimination préférentielle de l'énantiomère S(-)-propranolol. L'exposition du propranolol à la région périhépatique artérielle du foie comportant une distribution enzymatique différente pourrait expliquer ce changement stéréosélectif.

D. BIBLIOGRAPHIE

ALKONDON, M.A. RAY AND P. SEN. Nonstereoselective aspects of propranolol pharmacodynamics. *Can. J. Physiol. Pharmacoll.* **64**: 1455-1462, 1986.

ARONSON, K.F., EKELUND, G., KINDMARK, C.O., LAURELL, C.B. Sequential changes of plasma proteins after surgical trauma. *Scan. J. Clin. Lab. Inv.* **29** (Suppl. 14): 127-136, 1972.

BANKS, R.A., MARKANDU, N.D., ROULSTON, J.E., MACGREGOR, G.A. Differing effects of sodium restriction, spironolactone and captopril in black and white patients with hypertension. 8th Scientific Meeting on the International Society of Hypertension, Milan, **35**(abstr), 1981.

BARRETT, A.M., AND CULLUM, V.A. The biological properties of the optical enantiomers of propranolol and their effects on cardiac arrhythmias. *Br. J. Pharmacoll.* **34**: 43-55, 1968.

BIANCHETTI, G., GRAZIANI, G., BRANCACCIO, D., MORGANTI, A., LEONETTI, G., MANFRIN, M., SEGA, R., GOMENI, R., PONTICELLI, C. AND MORSELLI, P.L. Pharmacokinetics and effects of propranolol in terminal uraemic patients and in patients undergoing regular dialysis treatment. *Clin. Pharmacokinetics* **1**: 373-384, 1976.

BLACK, J.W., CROWTHER, A.F., SHANKS, R.G., SMITH, L.H. AND DORNHORST, A.C. A new adrenergic beta-receptor antagonist. *Lancet* **1**: 1080-1081, 1964.

- BORGA, O., PIAFSKY, K.M. AND NILSEN, O.G. Plasma protein binding of basic drugs. I. Selective displacement from α_1 -acid glycoprotein by tris(2-butotsylethyl) phosphate. J. Clin. Pharmacoll. Exp. Ther. **22**: 539-544, 1977.
- BRANCH, R.A. AND SHAND, D.G. Propranolol disposition in chronic liver disease: A physiological approach. Clin. Pharmacokinetics **1**: 264-279, 1976.
- BUHLER FR, LARAGH JH, VAUGHAN ED *et al.* Antihypertensive action of propranolol: Specific anti-renin responses in high and normal renin forms of essential, renal, renovascular and malignant hypertension. Am. J. Cardiol. **32**: 511-522, 1973.
- CASTENFORS, H. Long-term effect of timolol and hydrochlorothiazide, or hydrochlorothiazide, and amiloride, in essential hypertension. Eur. J. Clin. Pharmacol. **12**: 97-103, 1977.
- CASTLEDEN, C.M., GEORGE, C.F. AND SHORT, M.D. Contribution of individual differences in gastric emptying to variability in plasma propranolol concentrations. Brit. J. Clin. Pharmacoll. **5**(2): 121-122, 1978.
- CASTLEDEN, C.M., KAYE, C.M. AND PARSONS, R.L. The effect of age on plasma levels of propranolol and practolol in man. Brit. J. Clin. Pharmacoll. **2**: 303-306, 1975.

CHADDA, K., GOLDSTEIN, S., BYINGTON, E., CURB, J. Effect of propranolol after acute myocardial infarction in patients with congestive heart failure. *Circulation* :73, 503-510, 1986.

CLAGUE, H.W., AHMAD, D., CARRUTHERS, S.,G. Influence of cardioselectivity and respiratory disease on pulmonary disease and pulmonar responsiveness to β -blockade. *Eur. J. Clin. Pharmacoll.* 27: 517-523, 1984.

COLFER HT, COTTIER C, SANCHEZ R, JULIUS S. Role of cardiac factors in the initial hypotensive action of β -adrenoceptor blocking agents. *Hypertension* 6: 145-151, 1984.

COLTART D.J. AND SHAND, D.G. Plasma propranolol levels in the quantitative assessment of β -adrenergic blockade in man. *Br. Med. J.* 3: 731-734, 1970.

CRAWFORD, M.H., LeWINTER, M.M., O'ROURKE, R.A., KARLINER, J.S., ROSS, J. Combined propranolol and digoxin therapy in angina pectoris. *Ann. Intern. Med.* 83(4): 449-455, 1975.

CRUICKSHANK, J.M. AND PRICHARD, B.N. Beta-blockers in clinical practice. In "Pharmacodynamics". Churchill Livingstone ed. New York, pp. 8-176, 1988.

- DANIELL, H.B., WALLE, T., GAFFNEY, T.E. AND WEBB, J.B. Stimulation induced release of propranolol and norepinephrine from adrenergic neurons. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* **208**: 354-359, 1979.
- DAVIS, J.O., TEMTE, J.V. Effects of propranolol on the transmembrane potentials of ventricular muscle and Purkinje fibres of the dog. *Circ. Res.* **XXII**: 661-677, 1968.
- DAVIS, J.O. The control of renin release. *Am. J. Med.* **55**: 333-350, 1973.
- DAYER, P., LEEMANN, T., KUPFER, A., KRONBACH, T., MEYER, U.A. Stereo- and regioselectivity of hepatic oxidation in man -Effect of the debrisoquin/sparteine phenotype on bufuralol hydroxylation. *Eur. J. Clin. Pharmacol.* **31**: 313-318, 1986.
- DU SOUICH, P., MAURICE, H., AND HEROUX, L. Contribution of the small intestine to the first-pass uptake and systemic clearance of propranolol in rabbits. *Drug Metab. Dispos.* **23**: 279-284, 1995.
- EGGINGER, G., LINDNER, W., BRUNNER, G., AND STOSCHITZKY, K. Direct enantioselective determination of (R)- and (S)-propranolol in human plasma. Application to pharmacokinetic studies. *J. Pharm. Biomed. Anal.* **12**: 1537-1545 1994.

- EVANS, G.H. AND SHAND, D.G. Disposition of propranolol. V. Drug accumulation and steady-state concentration during chronic oral administration in man. *Clin. Pharmacol. Ther.* **14**: 487-493, 1973.
- FEELY, J., FORREST, A., GUNN, A., HAMILTON, W., STEVENSON, I., CROOKS, J. Influence of surgery on plasma propranolol levels and protein binding. *Clin. Pharmacol. Ther.* **28**: 759-764, 1980.
- FITZGERALD, J.D. AND O'DONNELL, S.R. Pharmacology of 4-hydroxypropranolol, a metabolite of propranolol. *Brit. J. Pharmacol.* **43**: 222-235, 1971.
- FUJITA, S., UMEDA, S., FUNAE, Y., IMAOKA, S., ABE, H., ISHIDA, R., ADACHI, T., MASUDA, M., KAZUSAKA, A. AND SUZUKI, T. Regio- and stereoselective propranolol metabolism by 15 forms of purified cytochromes P450 from rat liver. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* **264**: 226-233, 1993.
- FULTON, R.M., GREEN, K.G. Effect of pronethalol in angina pectoris. *Br. Med. J.* **2**: 1228-1229, 1963.
- GARBER, A.J., CRYER, P.E., SANTIAGO, J.V., HAYMOND, M.W., PAGLIARA, A.S., KIPNIS, D.M. The role of adrenergic mechanisms in the substrate and hormonal response to insulin-induced hypoglycaemia in man. *J. Clin. Invest.* **58**: 7-15, 1976.

GHABRIAL, H., NAND, R., STEAD, C.K., SMALLWOOD, R.A. AND MORGAN, D.

Product inhibition and dose-dependent bioavailability of propranolol in the isolated perfused rat liver preparation. *J. Pharmaceu. Sci.* **83**: 1994.

GIBALDI, M. AND PERRIER, D. Noncompartmental analysis based on statistical moment

theory. In "Pharmacokinetics". J. Swarbrick ed. 2nd ed. Marcel Dekker, Inc. New York, pp. 409-418, 1982.

GREENBLATT, D.J., SELLERS, E.M., SHADER, R.I. Drug disposition in old age. *New.*

Engl. J. Med. **306**: 1081-1088, 1982.

GREENBLATT, D.J. AND SHADER, R.I. On the psychopharmacology of beta adrenergic

blockade. *Curr. Ther. Res.* **19**; 615-625, 1972.

GREENBLATT, D.J. AND KOCH WESER, J. Adverse reactions to propranolol in

hospitalized medical patients: a report from the Boston collaborative drug surveillance program. *Amer. Heart J.* **86**; 478-484, 1973.

GRELL, G.A. Hypertension in the West Indies. *Postgrad. Med. J.* **59**: 616-621, 1983.

GROSS, G.J., AND WINDBURY, M.M. *Beta* adrenergic blockade on intramyocardial

distribution of coronary blood flow. *J. Pharmacoll. Exp. Ther.* **187**: 451-464, 1973.

HARMS, D., GOOREN, L., SPOELSTRA, A.J.G., HESSE, C., VERSCHOOR, L. Blockade of isoprenaline-induced changes in plasma free fatty acids, immunoreactive/insulin levels and plasma renin activity in healthy human subjects, by propranolol, pindolol, practolol, atenolol, metoprolol and acebutolol. *Br. J. Clin. Pharmacoll.* **5**: 19-26, 1978.

HARRON, D.W.G., HOWE, A., SHANKS, R.G. Slow release beta-adrenoceptor blocking drugs. *J. Roy. Coll. Physicians* **17(2)**: 126-132, 1983.

HAYES, A. AND COOPER, R.G. Studies on the absorption, distribution and excretion of propranolol in various species. *J. Pharm. Exp. Ther.* **176**: 302-311, 1971.

HERMIDA, J.S., COUMEL, P., LECLERC, J.F. Intérêt des bêta-bloquants dans le traitement des tachycardies ventriculaires récidivantes chez l'insuffisant cardiaque. *Archives des Maladies du Coeur.* **80**: 290-300, 1987.

HOMBACH, V., BRAUN, V., HOPP, H.W., GIL-SANCHEZ, D., BEHRENBACH, D.W., TAUCHERT, M., HILGER, H.H. Electrophysiological effects of cardioselective and non-cardioselective beta-adrenoceptor blockers with and without ISA at rest and during exercise. *Br. J. Clin. Pharmacoll.* **13**: 285S-293S, 1982.

HOWE R. AND SHANKS R.G. Optical isomers of propranolol. *Nature.* **210**: 1336-1338, 1966.

- IANSMITH, D.H.S., NASH, C.B., BANDURA, J.P. Biphasic nature of propranolol's microelectrophysiology effects. *Am. J. Cardiol.* **52**: 245-148, 1983.
- KELLER, F., KUNZENDORF, U., WALZ, G., HALLER, H., OFFERMANN, G. Saturable first-pass kinetics of propranolol. *J. Clin. Pharm.* **29**: 240-245, 1989.
- KEYLER, D.E., PENTEL, P.R. Effects of α_1 -acid glycoprotein administration on propranolol binding and beta blockade in rats. *Biochem. Pharmacoll.* **38**: 1163-1168, 1989.
- KOSTIS, J.B., ROSEN, R.C., JEKELIS, A. Effect of beta-blockers on total and free plasma testosterone. *Circulation* **74**. Part 2. (suppl II): 763, 1986.
- KRISHNA, D.R., AND KLOTZ, U. Extrahepatic metabolism of drugs in humans. *Clin. Pharmacokin.* **26**: 144-160, 1994.
- KROEMER, H.K., FISCHER, C., MEESE, K.O., AND EICHELBAUM, M. Enantiomer/enantiomer interaction of (S)- and (R)-propafenone for cytochrome P450IID6-catalyzed 5-hydroxylation: In vitro evaluation of the mechanism. *Mol. Pharmacoll.* **40**: 135-142, 1991.
- LALONDE, R.L., BOTTORF, M.B., STRAKA, R.J., TENERO, D.M., PIEPER, J.A., AND WAINER, I.W. Nonlinear accumulation of propranolol enantiomers. *Br. J. Clin. Pharmacoll.* **26**: 100-102, 1988.

- LANDS, A.M., LUDUENA, F.P., BUZZO, H.J. Differentiation of receptors responsive to isoproterenol. *Life Sci.* **6**: 2241-2249, 1967.
- LEFEBVRE, M., CAILLE, G., DU SOUICH, P. Pulmonary, hepatic and intestinal first-pass metabolism of diltiazem (D). *Parmaceu. Res.* Sous presse.
- LENNARD, M.S., TUCKER, G.T., SILAS, J.H., FREESTONE, S., RAMSAY, L.E., WOODS, H.F. Differential stereoselective metabolism of metoprolol in extensive and poor debrisoquin metabolizers. *Clin. Pharmacoll. Ther.* **34**: 732-737, 1983.
- LOFDAHL, C.G., SVEDMYR, N. Selectivity of beta-adrenergic stimulating and blocking agents. *Eur. J. Respir. Dis.* **65**(Supl. 136): 101-113, 1984.
- LOWENTHAL, D.T., BRIGGS, W.A., GIBSON, T.P., NELSON, H., CIRKSENA, W.J. Pharmacokinetics of oral propranolol in chronic renal disease. *Clin. Pharmacoll. Ther.* **19**: 761-769, 1974.
- LOWRY, O.H., ROSEBROUGH, N.J., FARR, A.L., AND RANDALL, R.J. Protein measurement with the folin phenol reagent. *J. Biochem. Chem.* **193**: 265-275, 1951.
- LUCCHESI, B.R., WHITSITT, L.S. The pharmacology of beta-adrenergic blocking agents. In: Friedberg(ed). *Current status of drugs of cardiovascular disease.* Grune and Stratton, New York, 20, 1969.

LYNCH, P., DARGIE, H., KRIKLER, S., FRIKLER, D. Objective assessment of antianginal treatment: a double-blind comparison of propranolol, nifedipine and their combination. *Br. Med. J.* **281**: 184-187, 1980.

MAJEWSKI, H., MCCOLLOCH, M.W., RAND, M.J., STORY, D.F. Adrenaline activation of prejunctional beta-adrenoceptors in guinea pig atria. *Br. J. Pharmacoll.* **71**: 435-444, 1980.

MARATHE, P.H., SHEN, D.D., NELSON, W.L. Metabolic kinetics of pseudoracemic propranolol in human liver microsomes. Enantioselectivity and quinidine inhibition. *Drug Metab. Dispos.* **22**: 237-247, 1994.

MASUBUCHI, Y., YAMAMOTO, L.A., UESAKA, M., FUJITA, S., NARIMATSU, S., AND SUZUKI, T. Substrate stereoselectivity and enantiomer/enantiomer interaction in propranolol metabolism in rat liver. *Biochem. Pharmacoll.* **46**: 1759-1565, 1993.

MELANDER, A., DANIELSON, K., SCHERSTEN, B. AND WAHLIN, E. Enhancement of the bioavailability of propranolol and metoprolol by food. *Clin. Pharmacoll. Ther.* **22**: 108-112, 1977.

MCDEVITT, D.G., FRISK-HOLMBERG, M., HOLLIFIELD, J.W. AND SHAND, D.G. Plasma binding and the affinity of propranolol of beta receptor in man. *Clin. Pharmacoll. and Ther.* **25**: 1-7, 1976.

NEUGEBAUER, G., AKPAN, W., KAUFMANN, B., REIFF, K. Stereoselective disposition of carvedilol in man after intravenous and oral administration of the racemic compound. *Eur. J. Clin. Pharmacol.* **38**: S108-S111, 1990.

NIARCHOS, A.P. Pathophysiology, diagnosis, and treatment of hypertension in the elderly. *Cardiovasc. Rev. Rep.* **1(8)**: 621-626, 1980.

NIES, A.S., EVANS, G.H., SHAND, D.G. Regional hemodynamic effects of beta-adrenergic blockade with propranolol in the unanesthetized primate. *Am. Heart J.* **85**: 97-102, 1973.

NIES, A.S. AND SHAND, D.G. Clinical pharmacology of propranolol. *Circulation.* **52**: 6-15, 1975.

OBEL, A.O.K, Practical therapeutics: the use of beta-adrenergic blocking agents in African patients. *East Afr. Med. J.* **60**: 592-596, 1983.

OCHS, H.R., HAJDU, P., GREENBLATT, D.J. Pharmacokinetics and dynamics of penbutolol in humans: Evidence for pathway-specific stereoselective clearance. *Klin. Wochenschr.* **64**: 636-641, 1986.

OLANOFF, L.S., WALLE, T., COWARD, T.D., WALLE, U.K., OEXMANN, M.J., CONRADI, E.C. Food effects on propranolol systemic and oral clearance; support for a blood flow hypothesis. *Clin. Pharmacol. Ther.* **40**: 408-414, 1986.

OLANOFF, L.S., WALLE, T., WALLE, U.K., COWARD, T.D., AND GAFFNEY, T.E.

Stereoselective clearance and distribution of intravenous propranolol. *Clin. Pharmacol.*

Ther. **35**: 755-761, 1984.

PAGET, G.E. Carcinogenic action of pronethalol. *Br. Med. J.* **II**: 1266-1267, 1963.

PANG, K.S., AND TERRELL, J.A. Retrograde perfusion to probe the heterogeneous

distribution of hepatic drug metabolizing enzymes in rats. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* **216**:

339-3346, 1980.

PANG, S.K., CHERRY, W.F., ACCAPUTO, J., SCHWAB, A.J., AND GORESKY, C.A.

Combined hepatic arterial-portal venous and hepatic arterial-hepatic venous perfusions to

probe the abundance of drug metabolizing activities: perihepatic venous O-deethylation

activity for phenacetin and periportal sulfation for acetaminophen in the once-through rat

liver preparation. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* **247**: 690-700, 1988.

PANG, S.K., BARKER III, F., CHERRY, W.F., AND GORESKY, C.A. Esterases for

enalapril hydrolysis are concentrated in the perihepatic venous region of the rat liver. *J.*

Pharmacol. Exp. Ther. **257**: 294-301, 1991.

PANG, S.K., SCHWAB, A.J., GORESKY, C.A., AND CHIBA, M. Transport, binding, and

metabolism of sulfate conjugates in the liver. *Chem. Biol. Interac.* **92**: 179-207, 1994.

PATERSON, J.W., CONOLLY, M.E., DOLLERY, C.T., HAYES, A. AND COOPER, R.G.

The pharmacodynamics and metabolism of propranolol. *Pharmacologia Clinica*. **2**: 127, 1970.

PERREAULT, S., DUMONT, L., VILLIERE, V., ONG, H., ADAM, A., DU SOUICH, P.

Hepatic and extrahepatic metabolism of salbutamol in anesthetized rabbits. *Drug Met. Dispos.* **21**: 485-491, 1993.

PIAFSKY, K. M., BORGA, O., OLDAR-CEDERLOF, I., JOHANSSON, C., SJOQVIST, F.

Increased plasma protein binding of propranolol and chlorpromazine mediated by disease-induced elevations of plasma α_1 -acid glycoprotein. *New England J. Med.* **229**: 1435-1439, 1978.

PICKERING, T.G., CASE, D.B., SULLIVAN, P.A., LARAGH, J.H. Comparison of

antihypertensive and hormonal effects of captopril and propranolol at rest and during exercise. *Am. J. Cardiol.* **49**: 1566-1568, 1982

POWELL, C.E., SLATER, I.H. Blocking of inhibitory adrenergic receptors by a dichloro

analog of isoproterenol. *J. Pharmacoll. Exp. Ther.* **122**: 480-488, 1958.

PRICHARD, B.N.C, BOAKES, A.J., HERNANDEZ, R. Slow propranolol in hypertension.

VIII World Congress of Cardiology, Tokyo, **1093**(abstr), 1978b.

PRICHARD, B.N.C. Beta-adrenergic receptor blocking drugs in hypertension, past, present and future. *Br. J. Clin. Pharmacol.* **5**: 379-399, 1978a.

PRICHARD, B.N.C., WALDEN, R.J., MARKIEWICZ, A., RICHARDS, G.A. Beta-adrenergic blockade in ischaemic heart disease. *Br. J. Clin. Pract. Suppl.* **12**: 12-28, 1981.

RABKIN, R., STABLES, D.P., LEVIN, N.W., SUZMAN, M.M. The prophylactic value of propranolol in angina pectoris. *Am. J. Cardiol.* **18**: 370-380, 1966.

RAHN, K.H. Haemodynamic effects of the optical isomers of beta receptor blocking agents. *Eur. Heart J.* **4(suppl)**: 27-30, 1983.

REDMAN, C.W.G. Treatment of hypertension in pregnancy. *Kidney Int.* **18**: 267-278, 1980.

RIDELL, G., HARRON, D.W., AND SHANKS, R.G. Clinical pharmacokinetics of beta-adrenoceptor antagonists. *Clin. Pharmacokin.* **12**: 305-320, 1987.

RIGBY, J.W., SCOTT, A.K., HAWKSWORTH, G.M., PETRIE, J.C. A comparison of the pharmacokinetics of atenolol, metoprolol, oxprenolol and propranolol in elderly hypertensive and young healthy subjects. *Br. J. Clin. Pharmacol.* **20**: 327-331, 1985.

ROUTLEDGE, P.A., SHAND, D.G. Clinical pharmacokinetics of propranolol. *Clinical pharmacokinetics* **4**: 73-90, 1979.

- ROUTLEDGE, P.A., STARGEL, W.W., WAGNER, G.S. AND SHAND, D.G. Increased plasma propranolol binding in myocardial infarction. *Br. J. Clin. Pharmacol.* **9**: 438-440, 1980.
- RUBENFIELD, S., SILVERMAN, V.E., WELCH, K.M.A., MALETTE, L.E. AND KOHLER, P.O. Propranolol pharmacokinetics in thyrotoxicosis. *Clin. Res.* **26**: 295A, 1978.
- RUBIN, P.C. Beta-blockers in pregnancy. *New Engl. J. Med.* **305(22)**: 1323-1326, 1981.
- RUFFOLO, R.R., KOPIA, G.A. Importance of receptor regulation in the pathophysiology and therapy of congestive heart failure. *Am. J. Med.* **80**: 67-72, 1986.
- RUGG, E.L., BARNETT, D.B., NAHORSKI, S.R. Coexistence of β_1 and β_2 -adrenoceptors in mammalian lung: evidence from direct binding studies. *Mol. Pharmacol.* **14**: 996-1005, 1978.
- SAGER, G., NILSON, O.G. AND JACOBSEN, S. Distribution of propranolol in blood. *International congress of pharmacology, July 16-21, Abstracts*, p.280, 1978.
- SAFAR, M.E. Hemodynamic effects of β -blockade in hypertension. A critical review. *Am. J. Nephrol.* **6(suppl 2)**: 2-7, 1986.

- SHAND, D.G. AND RANGNO, R.E. The disposition of propranolol, Elimination during oral absorption in man. *Pharmacology* 7: 159, 1972.
- SHAND, D.G., NUCKOLLS, E.M. AND OATES, J.A. Plasma propranolol levels in adult, with observation in four children. *Clin. Pharm. Ther.* 11: 112-120, 1970.
- SHNEIDER, R.E., BABB, J., BISHOP, H., MITCHARD, M., HOARE, A.M. Plasma levels of propranolol in treated patients with coeliac disease and patients with Crohn's disease. *Br. Med. J.* 2: 794-795, 1976.
- SHNEIDER, R.E., BISHOP, H., KENDALL, M.J., QUATERMAN, C.P. Effect of inflammatory disease on plasma concentrations of 3 beta-adrenoceptor blocking agents. *Int. J. Clin. Pharmacoll. Ther. Toxicoll.* 19(4): 158-162, 1981.
- SILBER, B., HOLFORD, N.H.G., AND RIEGELMAN, S. Dose-dependent elimination of propranolol and its major metabolites in humans. *J. Pharm. Sci.* 72: 725-732, 1983.
- SILBER, B., HOLFORD, N.H.G., AND RIEGELMAN, S. Stereoselective disposition and glucuronidation of propranolol in humans. *J. Pharm. Sci.* 71: 699-703, 1986.
- SINGH, B.N., JEWITT, D.E. Beta-adrenoceptor blocking drugs. Chapter V. Beta-adrenoceptor blocking drugs in cardiac arrhythmias. *Cardiovascular Drugs.* 2: 119-159, 1977.

- SMITH, E.R., STOKER, D., KUENY, T., DAVIDSON, J.D., HOFFMAN B.B. AND CLARK, J.T. The inhibition of sexual behavior in male rats by propranolol is stereoselective. *Pharmacoll. Biochem Behavior*. **15**: 439-442, 1995.
- SNOW, P.J.D. Personal communications in May 1980 to Yusuf et coll., 1985, *Prog. Cardiovasc. Dis.* **XXVII(5)**:335-371, 1980.
- SONNEBLICK, E.H., BRAUNWALD, E., WILLIAMS, J.F., GLICK, G. Effects of exercise on myocardial force-velocity relations in intact unanesthetized man: relative roles of changes in heart rate, sympathetic activity, and ventricular dimensions. *J. Clin. Invest.* **44(12)**: 2051-2062, 1965
- SPAHN-LANGGUTH, H., PODKOWIK, B., STAHL, E., MARTIN, E., AND MUTSCHLER, E. Improved enantiospecific RP-HPLC assays for propranolol in plasma and urine with pronethalol as internal standard. *J. Anal. Tox.* **15**: 327-331, 1991.
- STARKE, K. Regulation of noradrenaline release by presynaptic receptor systems. *Rev. Physiol. Biochem. Pharmacoll.* **77**: 1-24, 1977.
- STENSRUD, P., SJAASTAD, O. Short-term clinical trial of propranolol in racemic form (INDERAL), D-propranolol and placebo in migraine. *Nerol. Scandinav.* **53**: 229-232, 1976.

STERN, S., HOFFMAN, M., BRAUN, K. Cardiovascular responses to carotid and vertebral artery infusions of propranolol. *Cardiovasc. Res.* **5**: 425-430, 1971.

STOSCHITZKY, K., LINDNER, W., EGGINGER, G., BRUNNER, F., OBERMAYER-PIETSCH, B., PASSATH, A., AND KLEIN, W. Racemic (R,S)-propranolol versus half-dosed optically pure (S)-propranolol in humans at steady state: hemodynamic effects, plasma concentrations, and influence on thyroid hormone levels. *Clin. Pharmacoll. Ther.* **51**: 445-453, 1992.

STOKES, G.,S., WEBER, M.,A. AND THORNELL, I.,R. β -Blockers and plasma renin activity in hypertension. *Br. Med. J.* **1**: 60-62, 1974.

STUMPE, K.,O., OVERLACK, A. Diuretics, β blockers or both as treatment for essential hypertension. *Br. J. Clin. Pharmacoll.* **7** (suppl 2): 189-198, 1979.

TAKAHASHI, H., OGATA, H., KANNO, S., AND TAKEUCHI, H. Plasma protein binding of propranolol enantiomers as a major determinant of their stereoselective tissue distribution in rats. *J. Pharmacoll. Exp. Ther.* **252**: 272-278, 1990.

TAKAHASHI, H., OGATA, H., KASHIWADA, K., OHIRA, M., SOMEYA, K. Dosing rate-dependent relationship between propranolol plasma concentration and β -blockade. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* **265**: 681-689, 1993.

- TARAZI, R.C., DUSTAN, H.P. Beta-adrenergic blockade in hypertension. *Am. J. Cardiol.* **29**: 633-640, 1972.
- TATTERSFIELD, A.,E., HARRISON, R.,N. Effect of β blocker therapy on airway functions. *Drugs.* **25** (suppl. 2): 227-231, 1983.
- TONG, M., KRAMER, J.K., FREEDMAN, A.M., TSE, S.Y.H. AND WEGGLICKI, W.B. Oxygen radical-mediated injury of myocytes-protection by propranolol. *J. Mol. Cell. Cardiol.* **22**: 687-695, 1990.
- TONKIN, A.M., JOEL, S.E., REYNOLDS, J.L. Beta-blockade in acute myocardial infarctions. *Med. J. Aust.* **2**: 145-146, 1981.
- VAUGHAN WILLIAMS, E.M., RAINE, A.E.G., CABRERA, A.A., WHYTE, J.M. The effect of prolonged beta-adrenoceptor blockade on heart weight and cardiac intracellular potentials in rabbits. *Cardiovasc. Res.* **9**: 579-592, 1975.
- VAN BAAK, M.A., STRUYKER BOUDIER, H.A.J, SMITHS, J.F.M. Antihypertensive mechanisms of beta-adrenoceptor blockade: a review. *Clin. Exper. Hypertension Theory and Practice.* **A7(1)**:1-72, 1985.
- VENTER, C.P., JOUBERT, P.H. Ethnic differences in response to beta₁-adrenoceptor blockade by propranolol. *J. Cardiovasc. Pharmacoll.* **6(2)**: 361-364, 1984.

VERGES, J., DU SOUICH, P. Extrahepatic metabolism of furosemide (FUR) in the rabbit. Br. J. Pharmacoll. Sous presse.

VERMEULEN, A.N., BELPAIRE, F.M., MOERMAN, E., DE SMET, F. AND BOGAERT, M.G. The influence of aging on the stereoselective pharmacokinetics of propranolol in the rat. Chirality. 4: 73-79, 1992.

VESTAL, R.E. AND WOOD, A.J.J. Influence of age and smoking on drug kinetic in man: studies using model compounds. Clin. Pharmacokin. 5: 309-319, 1980.

VESTAL, R.E. Adverse drug reactions in the elderly: case studies. Geriatrics. 39: 53-54, 1984.

VON BAHR, C., HERMANSSON, J., AND LIND, M. Oxidation of (R)- and (S)-propranolol in human and dog liver microsomes. Species differences in stereoselectivity. J. Pharmacoll. Exp. Ther. 222: 458-462, 1982b.

VON BAHR, C., HERMANSSON, J., AND TAWARA, K. Plasma levels of (+) and (-)-propranolol and 4-hydroxypropranolol after administration of racemic (\pm)-propranolol in man. Br. J. Clin. Pharmacoll. 14: 79-82, 1982a.

VIOLANTE, B., BUCCHERI, G., BRUSASCO, V. Effects of β adrenoceptor blockade on exercise performance and respiratory response in healthy, physically untreated humans. Br. J. Clin. Pharmacoll. 18: 811-815, 1984.

- VIRTANEN, F., JANNE, V., FRICK, M.,H. Response of blood pressure and plasma norepinephrine to propranolol, metoprolol and clonidine during isometric and dynamic exercise in hypertensive patients. *Eur. J. Clin. Pharmacoll.* **21**: 275-279, 1982.
- WEISS, Y.A., SAFAR, M.E. CHEVILLARD, C. FRYDMAN, A., SIMON, A., LEMAIRE, P., ALEXANDRE, J.M. Comparison of the pharmacokinetics of intravenous dl-propranolol in borderline and permanent hypertension. *Eur. J. Clin. Pharmacoll.* **10**: 387-393, 1976.
- WALLE, T., CONRADI, E.C, WALLE, U.K., FAGAN, T.C. AND GAFFNEY, T.E. 4-hydroxypropranolol and its glucuronide after single and long-term doses of propranolol. *Clin. Pharmacoll. Ther.* **27**; 22-31, 1980.
- WALLE, T., WALLE, U.K., MATHUR, R.S., PALESCH Y.Y. AND CONRADI, E.C. Propranolol metabolism in normal subjects: Association with sex steroid hormones. *Clin. Pharmacoll. Ther.* **56**: 127-132, 1994.
- WALLE, T., WALLE, U.K., COWART, T.D. AND CONRADI, E.C. Pathway-selective sex differences in the metabolic clearance of propranolol in human subjects. *Clin. Pharmacoll. Ther.* **46**: 257-263, 1989.

WALLE, T., WILSON, M.J., WALLE, U.K., AND BAI, S.A. Stereochemical composition of propranolol metabolites in the dog using stable isotope-labeled pseudoracemates. *Drug Metab. Dispos.* **11**: 544-549, 1983.

WALLE, U.K., WALLE, T., BAI, S.A., AND OLANOFF, L.S. Stereoselective binding of propranolol to human plasma α_1 -acid glycoprotein, and albumin. *Clin. Pharmacol. Ther.* **34**: 718-723, 1983.

WALLE, U.K., THIBODEAUX, H., PRIVITERA, P.J., AND WALLE, T. Stereochemistry of tissue distribution of racemic propranolol in the dog. *Chirality* **1**: 192-196, 1989.

WALLIN, J.D., SHAH, S.V. β adrenergic blocking agents in the treatment of hypertension. Choices based on pharmacological properties and characteristics. *Arch. Intern. Med.* **147**: 654-659, 1987.

WARD, S.A., WALLE, T., WALLE, U.K., WILKINSON, G.R. AND BRANCH, R.A. Propranolol's metabolism is determined by both mephenytoin and debrisoquin hydroxylase activities. *Clin. Pharmacol. Ther.* **45**: 72-79, 1989.

WARD, S.A., BRANCH, R.A., WALLE, T., AND WALLE, U.K. Cosegregation of propranolol metabolism with the debrisoquine and mephenytoin polymorphisms. *Pharmacologist* **28**: 137, 1986.

WEBER, R. G., REINMUTH, O.M. The treatment of migraine with propranolol. *Neurology*.

22: 366-369, 1972.

WILSON, B.K., AND THOMPSON, J.A. Glucuronidation of propranolol by dog liver microsomes. Effects of enantiomeric inhibition and detergent treatment on stereoselectivity. *Drug Metab. Dispos.* **12**: 161-164, 1984.

WOLFSON, S. AND GORLIN, R. Cardiovascular pharmacology of propranolol in man.

Circulation. **168**: 303-309, 1969.

WOOLFREY, S.G, PALIN, K.J., DAVIS, S.S. The effect of miglyol 812 oil on the oral absorption in the rat. *J. Pharm. Pharmacoll.* **41**: 579-581, 1989.

YUSUF, S., PETO, R., LEWIS, J., COLLINS, R., SLEIGHT, P. Beta-blockade during and after myocardial infarction: an overview of the randomized trials. *Prog. Cardiovasc. Dis.*

XXVII(5): 335-371, 1985

ZACHARIAS, F.J., COWEN K.J., PRIEST, J., VICKERS, J., AND WALL, B.G.

Propranolol in hypertension. A study of long-term therapy, 1964-1970. *Am. Heart J.* **83**:

755-761, 1972.

ZECH, P., POZET, N., LABEEUW, M. et al. Acute renal effects of β -blockers. *Am. J.*

Nephrol. **6(suppl. 2)**: 15-19, 1986.

ZHOU, H.H., ANTHONY, L.B., RODEN, D.M. AND WOOD, A.J.J Quinidine reduces clearance of (+)-propranolol more than (-)-propranolol through marked reduction in 4-hydroxylation. *Clin. Pharmacoll. Ther.* **47**: 686-693, 1990.