ФАРМАКОЛОГИЯ ВЫДЕЛИТЕЛЬНОЙ СИСТЕМЫ

ВЛИЯНИЕ НОВЫХ ФТОРСОДЕРЖАЩИХ АНАЛОГОВ ПИНАЦИДИЛА НА СОКРАТИТЕЛЬНУЮ АКТИВНОСТЬ МОЧЕВОГО ПУЗЫРЯ И ТОНУС СОСУДОВ

Н. А. Мохорт[1], И. В. Самарская[1], Л. М. Ягупольский[2]

Исследовано влияние новых фторсодержащих аналогов пинацидила на сократительную активность мочевого пузыря *in vitro* и *in vivo*, на тонус сосудов *in vitro*. Все четыре вещества концентрационнозависимым образом угнетали сократительную активность изолированных полосок мочевого пузыря и изолированных колец аорты крыс. Эффект вещества PF-5 уменьшался после предварительной перфузии глибенкламидом. Это вещество угнетало сократительную активность мочевого пузыря *in vivo*.

Ключевые слова: пинацидил, фторсодержащие аналоги пинацидила, изолированные полоски мочевого пузыря и сосудистые кольца

ВВЕДЕНИЕ

Гиперактивность мочевого пузыря характеризуется частым мочеиспусканием, императивными позывами с ургентным недержанием мочи или без него, является одной из наиболее частых причин нарушений мочеиспускания [2, 7]. Данное состояние сопровождается некоординированными сокращениями детрузора во время фазы наполнения. Для лечения гиперактивности мочевого пузыря используют различные фармакологические препараты, однако из-за наличия у них большого количества выраженных побочных эффектов ведется поиск новых средств. Перспективными в данном направлении считают активаторы калиевых каналов [6]. Они представляют относительно новый класс антигипертензивных, противоишемических и антиангинальных препаратов. В публикациях последних лет представлено большое количество данных относительно влияния этих средств не только на гладкомышечные элементы сосудов, но и на гладкомышечные элементы мочевого пузыря, кишечника, матки и других органов. Активируя определенные виды калиевых каналов в клеточной мембране, они увеличивают выход ионов калия из клеток, что вызывает ее стойкую гиперполяризацию. При этом увеличивается пороговый потенциал клеточной мембраны, снижается возбудимость клеток, что приводит к релаксации гладкомышечных клеток и снижению их сократительной активности [3, 8]. Пинацидил, активатор калиевых каналов 1-го поколения, показал высокую эффективность в опытах *in vitro* и *in vivo*, но при клинических исследованиях не было выявлено его выраженного влияния на симптомы гиперактивности мочевого пузыря в дозах, которые не снижают артериальное давление до недопустимых величин [4, 5]. Однако поиск и изучение новых детрузорселективных активаторов калиевых каналов продолжается [1]. Это обусловлено, с одной стороны, выраженными миотропными свойствами соединений указанного типа [9], с другой — результатами последних исследований, которые свидетельствуют о том, что активация менее 1 % АТФ-зависимых калиевых каналов мочевого пузыря приводит к выраженному его расслаблению[10].

Целью исследования было изучение влияния новых фторсодержащих аналогов пинацидила, синтезированных в Институте органической химии НАН Украины под руководством Л. М. Ягупольского, на сократительную активность мочевого пузыря и тонус сосудов *in vitro* (рис. 1). Кроме того, эффективность наиболее детрузорселективного соединения была изучена *in vivo*. По данным литературы введение фтора или фторсодержащей группы в молекулу лекарственного препарата может приводить к увеличению его фармакологической активности и/или уменьшению токсичности.

МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Исследования in vitro. Эксперименты проводили на изолированных полосках мочевого пузыря и изолированных сосудистых кольцах крыс-самок массой 250 – 350 г. Полоски были выделены из дна мочевого пузыря, имели длину приблизительно 10 мм и ширину 4 – 5 мм. Изолированные сосудистые кольца выделяли из грудной аорты, они имели диаметр 2 мм, ширину 1,5 мм. Перед исследованиями препараты, закрепленные в экспериментальной камере, перфузировали на протяжении 30 мин при 37° С солевым раствором следующего состава (в моль/л): NaCl (118,4), KCl (4,7), $CaCl_2$ (2,5), $MgSO_4$ (1,2), KH_2PO_4 (1,2), $NaHCO_3$ (24,9), глюкоза (11,1). Затем 90 мин — солевым раствором с концентрацией хлорида калия 60 или 15 ммоль/л в зависимости от цели эксперимента. Рабочие растворы насыщали газовой смесью 95 % O_2 и 5 % CO_2. Автоматический термостат позволял поддерживать температуру раствора в камере 37 ± 0,5 °С. Все опыты проводили в изометрическом режиме. Фторсодержащие соединения и пинацидил подавали непосредственно в экспериментальную камеру в концентрациях от 10 нмоль/л до 100 мкмоль/л. Как контрольный препарат испо-

[1] Отдел фармакологии сердечно-сосудистых средств (зав. — проф. Н. А. Мохорт) Института фармакологии и токсикологии Украины, Киев, 01024, ул. Эжена Потье, 14.
[2] Институт органической химии НАН Украины, Киев.

льзовали пинацидил. Исследуемые соединения растворяли в диметилацетамиде, концентрация которого в экспериментальной камере не превышала рекомендованные уровни и практически не влияла на тонус полосок мочевого пузыря [6].

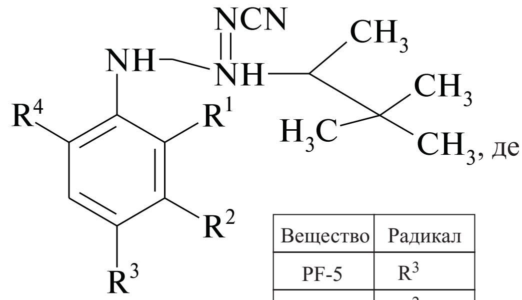
Исследования in vivo. Эксперименты проведены на крысах-самках (300 – 400 г), анестезированных уретаном (1,2 г/кг). Внутрипузырное давление измеряли через интрауретральный катетер. Катетер был подключен через трехходовой переключатель к трансдьюсеру давления и перфузионному насосу, который инфузировал солевой раствор в мочевой пузырь. Система была заполнена физиологическим раствором. Объем инфузированного солевого раствора в мочевой пузырь составлял 0,1 – 0,15 мл и не вызывал рефлекса мочеиспускания. Максимальные эффекты исследуемых веществ фиксировали в течение 20 мин после их внутрибрюшинного введения.

Величины реакций представлены как $M \pm m$ для количества экспериментов (n). Достоверность расхождений между значениями определяли по t-критерию Стьюдента. Различия считали статистически значимыми при $p < 0{,}05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

В первой серии экспериментов полоски мочевого пузыря перфузировали на протяжении 90 мин гиперкалиевым раствором с молярностью 15 ммоль/л или 60 ммоль/л, в зависимости от цели эксперимента. При перфузии препаратов солевым раствором с концентрацией хлорида калия 15 ммоль/л наблюдалось увеличение амплитуды и частоты волн спонтанной сократительной активности полосок мочевого пузыря, а при перфузии их раствором с концентрацией хлорида калия 60 ммоль/л наблюдалось повышение тонуса полосок. Установлено, что новые фторсодержащие производные гуанидина (аналоги пинацидила) уменьшают тонус полосок мочевого пузыря, индуцированный солевым раствором с концентрацией хлорида калия 60 ммоль/л концентрационнозависимым способом. Расслабление полосок мочевого пузыря на 50 % (EC_{50}) наблюдалось при концентрации вещества PF-5 0,23 мкмоль/л, PF-15 – 10 мкмоль/л, PF-20 – 20 мкмоль/л, PF-10 – 0,563 мкмоль/л. Таким образом, новые фторсодержащие аналоги пинацидила действительно угнетают сократительную активность детрузора крыс *in vitro*. EC_{50} вещества PF-5 составляет 0,23 мкмоль/л, а контрольного препарата пинацидила 0,502 мкмоль/л. Таким образом, PF-5 имеет более выраженную миорелаксирующую активность, чем пинацидил и прочие исследуемые вещества. Полученные результаты позволяют выстроить вещества в ряд по мере снижения их активности: PF-5 > пинацидил ≥ PF-10 > PF-15 > PF-20.

Для выяснения механизма действия наиболее активного вещества PF-5 мы использовали глибенкламид — специфический блокатор АТФ-зависимых калиевых каналов. При этом полоски мочевого пузыря предварительно (перед введением исследуемых веществ) перфузировали на протяжении 10 мин глибенкламидом (5 мкмоль/л). При последующей перфузии исследуемым веществом наблюдали уменьшение его миорелаксирующего эффекта и сдвиг прямой концентрация-эффект вправо. Полученные результаты позволяют предположить, что вещество PF-5 можно идентифицировать как активатор АТФ-зависимых калиевых каналов.



R^1 – $OCHF_2$; R^2 – Cl
R^3 – $OCHF_2$; R^4 – Cl

Вещество	Радикал
PF-5	R^3
PF-10	R^2
PF-15	R^2, R^3
PF-20	R^1, R^4

Рис. 1. Общая формула фторсодержащих производных гуанидина (аналоги пинацидила).

Установлено, что PF-5 концентрационнозависимым образом уменьшает амплитуду волн спонтанной сократительной активности полосок мочевого пузыря, индуцированной при перфузии их солевым раствором с концентрацией хлорида калия 15 ммоль/л. Концентрация исследуемого вещества, при которой наблюдается уменьшение амплитуды волн на 50 %, составляет 79,5 нмоль/л. Концентрация пинацидила, при которой наблюдается полумаксимальный эффект, составляет 0,166 мкмоль/л.

Все изучаемые фторсодержащие аналоги пинацидила уменьшали сократительную активность изолированных сосудистых колец аорты крыс концентрационнозависимым образом. Полученные результаты позволяют составить ряд веществ по мере снижения их активности (увеличения EC_{50}):

пинацидил (1,6 мкмоль/л) > PF-20 (5,65 мкмоль/л) > PF-10 (20 мкмоль/л) > PF-15 (63 мкмоль/л) > PF-5 (0,178 ммоль/л).

Соединение PF-5 и пинацидил уменьшают внутрипузырное давление после внутрибрюшинного введения концентрационнозависимым образом. EC_{50} составляют 2,89 ($n = 21$) и 4,58 мг/кг ($n = 24$) соответственно.

Полученные результаты свидетельствуют о том, что соединение PF-5 приблизительно в 2 – 80 раз активнее, чем другие, как релаксант гладкомышечных элементов мочевого пузыря, и в 2 – 8 раз менее активно, чем другие соединения, как релаксант гладкомышечных элементов сосудистых колец. Глибенкламид существенно уменьшал миорелаксирующий эффект PF-5 и обусловливал сдвиг прямой концентрация-эффект вправо, на основании чего можно предположить, что в механизм действия этого соединения вовлечена активация АТФ-зависимых калиевых каналов. Установлено, что PF-5 в 2,2 раз активнее, чем пинацидил, как релаксант гладкомышечных элементов мочевого пузыря (EC_{50} 0,23 мкмоль/л и 0,502 мкмоль/л соответственно) и в 11 раз менее активен, чем пинацидил как релаксант гладкомышечных элементов сосудистых

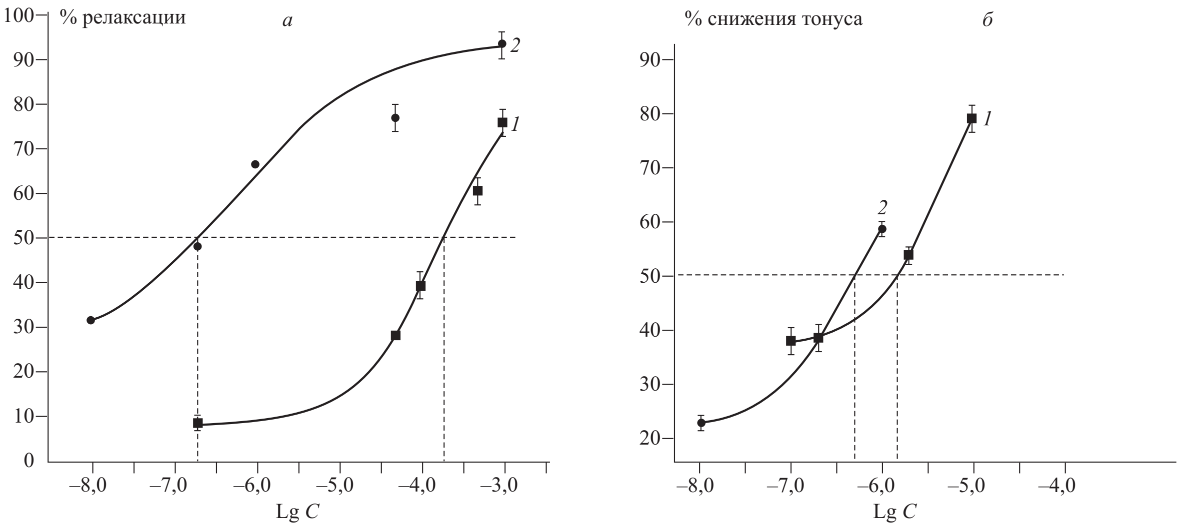


Рис. 2. Кривые концентрация-эффект влияния PF-5 (*а*) и пинацидила (*б*) на тонус сосудов (*1*) и сократительную активность мочевого пузыря (*2*) крыс *in vitro*.

колец (EC_{50} 0,178 ммоль/л и 1,6 мкмоль/л соответственно). Внутрибрюшинное введения соединения PF-5 и пинацидила дозозависимым образом уменьшало внутрипузырное давление *in vivo*. Соединение PF-5 более активно, чем пинацидил приблизительно в 1,7 раз (EC_{50} 3,5 мг/кг и 5,5 мг/кг соответственно). Различие между уровнями EC_{50} для соединения PF-5 в релаксации детрузора (0,23 мкмоль/л) и EC_{50} для релаксации сосудов (0,178 ммоль/л) показывает, что оно более селективно относительно детрузора, чем сосудов (рис. 2). Изолированные сосудистые кольца в 77 раз менее чувствительны к этому соединению, чем детрузор. Для пинацидила эти величины составляют 0,502 и 1,6 мкмоль/л соотвественно. Следовательно, изолированные сосудистые кольца в 3,2 раза менее чувствительны к пинацидилу, чем детрузор.

ВЫВОДЫ

1. Новый фторсодержащий аналог пинацидила PF-5 проявляет выраженную детрузорселективную способность уменьшать сократительную активность мочевого пузыря *in vitro* и *in vivo*.

2. Вещесто PF-5 обладает более выраженной активностью по сравнению с пинацидилом.

3. В механизм действия PF-5 вовлечена активация АТФ-зависимых калиевых каналов мочевого пузыря крыс.

ЛИТЕРАТУРА

1. Н. А. Мохорт, И. В. Самарская, *Укр. мед. часопис*, **6**(38), 26 – 38 (2003).
2. J. A. Butera, M. M. Antane, S. A. Antane, et al., *J. Med. Chem.*, **43**, 1187 – 1202 (2002).
3. G. J. Christ, N. S. Day, M. Day, et al., *Am. J. Physiol. Regulatory Integrative Comp. Physiol.*, **281**(5), R 1699 – 1709 (2001).
4. M. Fovaeus, K. E. Andersson, and H. Hedlund, *J. Urol.*, **141**(Suppl 3), 637 – 640 (1989).
5. S. M. Gopalakrishnan, S. A. Buckner, I. Milicic, et. al., *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, **300**(3), 910 – 917 (2002).
6. M. Gopalakrishnan, S. A. Buckner, K. L. Whiteaker, et. al., *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, **303**(1), 379 – 386 (1999).
7. M. Gopalakrishnan, K. L. Whiteaker, E. J. Molinari, et. al., *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, **289**(1), 551 – 558 (1999).
8. I. Gross, A. Toman, and I. Uhde, *Mol. Pharmacol.*, **56**(6), 1370 – 1373 (1999).
9. G. M. Herrera, M. J. Pozo, P. Zvara, et. al., *J. Physiol.*, **551**(3), 893 – 903 (2003).
10. G. V. Petkov, T. J. Heppner, A. D. Bonev, et. al., *Am. J. Physiol. Regulatory Integrative Comp. Physiol.*, **280**(5), R 1427 – 1433 (2001).
11. D. E. Rizk and K. Arafat, *Arch. Gynecol. Obstet.*, **265**(3), 141 – 147 (2001).

Поступила 17.10.06

COMPARATIVE STUDY OF THE EFFECTS OF NEW FLUORINE-CONTAINING PINACIDYL ANALOGS ON BLADDER CONTRACTILE FUNCTION AND VESSEL TONE

N. A. Mokhort[1], I. V. Samarskaya[1], and L. M. Yagupol'skii[2]

[1] Department of Cardiovascular Pharmacology, Institute of Pharmacology and Toxicology, National Academy of Medical Sciences of Ukraine, 03057 Kiev, Ukraine

[2] Institute of Organic Chemistry, National Academy of Sciences of Ukraine, Kiev, Ukraine

The effects of four new fluorine-containing pinacidyl analogs (FPs) on the bladder contractile function *in vitro* and *in vivo*, and on the vessel tone *in vitro* were examined. All the four drugs produced a concentration-dependent relaxation of isolated rat detrusor strips and isolated aorta rings. The contractility inhibition effect of compound FP-5 was decreased by preliminary glibenclamide perfusion. This compound also effectively inhibited bladder contractility function *in vivo*.