

І.В.Лимаренко

## Порівняльне вивчення впливу нових фторвмісних похідних гуанідину та пінацидилу на скорочувальну активність сечового міхура *in vitro*

*Исследовали влияние новых фторсодержащих производных гуанидина (аналогов пинацидила) на сократительную активность мочевого пузыря *in vitro*. Изолированные полоски мочевого пузыря погружали в солевой раствор следующего состава (ммоль/л): NaCl – 118,4, KCl – 4,7, CaCl<sub>2</sub> – 2,5, MgSO<sub>4</sub> – 1,2, KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> – 1,2, NaHCO<sub>3</sub> – 24,9, глюкоза – 11,1. Дно мочевого пузыря разрезали на полоски шириной 4–5 мм и длиной 10 мм, которые предварительно были растянуты под действием 250–500 мг пассивного натяжения. После 30 мин перфузии они были дополнительно сокращены гиперкальциевым раствором с концентрацией хлорида калия 60 ммоль/л. Исследуемые вещества вводились непосредственно в экспериментальную камеру. Все соединения уменьшали сократительную активность изолированных полосок мочевого пузыря крысы концентрационнонезависимым образом.*

### ВСТУП

Найчастіша причина порушень сечовиділення – імперативне нетримання сечі, яке зумовлене підвищеною активністю детрузора (гіперактивністю сечового міхура). Гіперактивність сечового міхура – стан, що характеризується наявністю частого сечовипускання, імперативних позивів з ургентним нетриманням сечі чи без нього [2–4]. Міжнародне товариство з вивчення цього питання класифікувало гіперактивність сечового міхура як поняття, що уродинамічно визначається мимовільними скороченнями детрузора під час фази наповнення [5, 8]. Лікування імперативного нетримання сечі складне та включає психо-, фізіотерапевтичні та фармакологічні методи. Основна мета лікування – зменшення спонтанної активності детрузора. Для цього використовують препарати різних фармакологічних груп (холіноблокатори, блокатори  $\alpha$ -адренорецепторів, агоністи  $\beta$ -адренорецепторів, антидепресанти, інгі-

бітори синтезу простагландинів, аналоги вазопресину тощо) [7]. Кожна група має свої переваги та недоліки. Пошук і дослідження нових препаратів, які були б ефективними та безпечними, досі триває.

В останні роки збільшився інтерес до активаторів (відкривачів) калієвих каналів, що почали широко вивчатися як потенційні фармакотерапевтичні агенти для лікування гіперактивності сечового міхура [14, 15]. Кромакалім, пінацидил і левкромакалім *in vitro* та *in vivo* показали здатність концентраційнозалежним чином знижувати скорочувальну активність сечового міхура (як спонтанну, так і індуковану) електростимуляцією, високими позаклітинними концентраціями іонів калію, карбахолом тощо [12, 13, 19]. Nurse із співавт. клінічно дослідив можливість застосування кромакаліму для лікування гіперактивності сечового міхура. Під час досліджень у 35 % пацієнтів, що страждали на цю патологію, було зафіксовано невілювання симптомів ургентності та об'єктивне збільшення ем-

ності сечового міхура. Але автор зазначив, що використання кромакаліму обмежується вираженим зниженням артеріального тиску [16, 17]. Komersova та співавт. оцінили клінічну ефективність левкромакаліму при лікуванні хворих на гіперактивність сечового міхура. Результати показали, що ці сполуки не спричинюють відповідного клінічного ефекту в дозах, які виражено не зменшували артеріальний тиск [9, 13]. Вирішення цієї проблеми полягає в створенні та вивченні нових активаторів калієвих каналів більш специфічної дії [6, 18]. Особливо слід відзначити пінацидил, який за хімічною будовою є похідним гуанідину. Він характеризується вираженим міорелаксуючим ефектом відносно гладеньком'язових елементів сечового міхура, матки, кишечника, бронхів, судин тощо. Однак використання його для лікування гіперактивності сечового міхура обмежено наявністю сильного антигіпертензивного ефекту [12]. Виражений міотропний спазмолітичний ефект пінацидилу підштовхнув учених до пошуку інших похідних гуанідину (аналогів пінацидилу), які були б більш специфічні до калієвих каналів гладеньком'язових клітин сечового міхура, ніж до судин. Фторвмісні похідні гуанідину вважаються особливо перспективними в даному напрямку, оскільки відомо, що введення атома фтору або фторованої групи в молекулу лікарської речовини може зменшувати його токсичність і підвищувати фармакодинамічну активність [3].

Метою нашої роботи було дослідження впливу нових фторвмісних похідних гуанідину, синтезованих співробітниками Інституту органічної хімії НАН України під керівництвом професора Л.М. Ягупольського, на скорочувальну активність смужок сечового міхура та ідентифікація механізму дії найбільш активної речовини за допомогою відомого інгібітора АТФ-чутливих калієвих каналів – глібенкламиду. Від пінацидилу ці сполуки відрізняються наявністю фтор-

вмісних замісників у арильному ядрі в різних положеннях [3].

## МЕТОДИКА

Досліди проводили на ізольованих смужках сечового міхура шурів-самиць масою 250–350 г. Смужки, виділені з дна сечового міхура, мали довжину приблизно 10 мм і ширину 4–5 мм. Перед дослідженнями препарати, закріплені в експериментальній камері, витримували протягом 30 хв при 37° С у сольовому розчині наступного складу (ммоль/л): NaCl – 118,4, KCl – 4,7, CaCl<sub>2</sub> – 2,5, MgSO<sub>4</sub> – 1,2, KН<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> – 1,2, NaHCO<sub>3</sub> – 24,9, глюкоза – 11,1, потім ще 90 хв перфузували сольовим розчином з концентрацією хлориду калію 60 ммоль/л. Гіперкалієвий розчин готували еквімолярною заміною NaCl на KCl. Робочі розчини насичували газовою сумішшю 95 % O<sub>2</sub> та 5 % CO<sub>2</sub>. Усі досліди проводили в ізометричному режимі, смужки були попередньо розтягнені під дією 250–500 мг пасивного натягнення. За допомогою автоматичного термостату температура розчину в камері підтримувалась на рівні 37°С ± 0,5 °С. Досліджувані сполуки подавали безпосередньо в експериментальну камеру в концентрації від 10 нмоль/л до 100 мкмоль/л. Як контрольний препарат використовували пінацидил. Досліджувані сполуки розчиняли в діетилацетаміді, концентрація якого в експериментальній камері не перевищувала рекомендовані рівні та практично не впливала на тонус смужок сечового міхура [10].

Дослідження спазмолітичних властивостей експериментальних речовин проводили на фоні підвищеного тону препаратів, який отримували за допомогою попереднього використання гіперкалієвого розчину.

Солі, використані для приготування розчинів, а також диметилсульфоксид були виробництва фірми „Sigma” (США).

Достовірність розходжень між значеннями визначали за критерієм t Стьюдента.

Статистично достовірними вважалися значення при  $P < 0,05$ .

## РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Нами встановлено, що нові фторвмісні похідні гуанідину пригнічують скорочувальну активність смужок сечового міхура щурів концентраційнозалежним способом. Речовина F проявляє більші міорелаксуючі властивості. При концентрації 1 мкмоль/л вона розслаблює смужки сечового міхура на  $65,95 \% \pm 1,27 \% (P < 0,05, n = 7)$ , речовина B – на  $60,38 \% \pm 1,05 \% (P < 0,001, n = 13)$ , речовина S – на  $33,25 \% \pm 1,86 \% (P < 0,001, n = 8)$  і речовина T – на  $20,62 \% \pm 2,1 \% (P < 0,001, n = 6)$  (таблиця). Розслаблення смужок сечового міхура на 50 % ( $EC_{50}$ ) спостерігалось при концентрації 0,23 при 10 і 0,47 мкмоль/л при 20 речовин B, S, T відповідно. Таким чином, ми встановили, що нові фторвмісні похідні відкривача АТФ-чутливих калієвих каналів – пінацидилу, дійсно пригнічують скорочувальну активність детрузора щурів *in vitro*. Як було сказано вище,  $EC_{50}$  речовини F становить 0,23 мкмоль/л, а контрольного препарату пінацидилу – 0,63 мкмоль/л. Таким чином, ми показали, що речовина F має більш

виражену міорелаксуючу ефективність, ніж пінацидил та інші досліджувані речовини. Отримані результати дозволяють записати експериментальні речовини в ряд у міру зниження їх ефективності:  
речовина F > речовина B > пінацидил > речовина S > речовина T

Таким чином, у наших експериментах показано, що нова фторвмісна похідна гуанідину речовина F проявляє більш виражені міорелаксуючі властивості порівняно з пінацидиллом та за механізмом дії може бути ідентифікована як активатор АТФ-чутливих калієвих каналів.

## ВИСНОВКИ

1. На ізольованих смужках сечових міхурів щурів було досліджено вплив декількох нових фторвмісних похідних гуанідину (аналогів пінацидилу) на скорочувальну активність детрузора. Показано концентраційнозалежний міорелаксуючий ефект цих речовин у діапазоні концентрацій від 10 нмоль/л до 1 мкмоль/л для речовини F, від 10 нмоль/л до 10 мкмоль/л для речовини S, від 1 мкмоль/л до 100 мкмоль/л для речовини T, від 10 нмоль/л до 1 мкмоль/л для речовини B.

2. Концентрація, при якій спостерігається

**Залежність величини реакцій (%) ізольованих препаратів сечового міхура від діючої концентрації найбільш активних досліджуваних речовин і пінацидилу**

Досліджувана речовина	Концентрація досліджуваних речовин				
	10 нмоль/л	0,2 мкмоль/л	1 мкмоль/л	10 мкмоль/л	100 мкмоль/л
Пінацидил	22,58±1,18 (n=11)	38,23±2,06 (n=13)	58,61±1,46 (n=8)	-	-
Речовина F	31,63±0,67 (n=7)	49,29±0,57* (n=6)	65,9±1,27 (n=7)	-	-
Речовина B	13,06±1,95 (n=5)	49,83±1,05** (n=14)	60,38±1,2 (n=13)	-	-
Речовина S	18,31±2,2 (n=6)	22,32±2,03 (n=8)	33,25±1,86** (n=8)	51,77±3,08 (n=5)	-
Речовина T	-	-	20,62±2,1** (n=6)	37,31±1,49 (n=5)	83,06%±1,11 (n=5)

\*  $P < 0,05$ ; \*\*  $P < 0,001$  порівняно з пінацидиллом.

розслаблення смужок сечового міхура на 50 %, становить: речовини F – 0,23 мкмоль/л, речовини S – 10 мкмоль/л, речовини T – 20 мкмоль/л, речовини B – 0,47 мкмоль/л, а препарату порівняння – пінацидилу – 0,63 мкмоль/л.

## I. Limarenko

### THE COMPARATIVE STUDY OF THE NEW FLUORINE-CONTAINING GUANIDINE-DERIVATE COMPOUNDS AND PINACIDIL'S INFLUENCE ON THE CONTRACTILE FUNCTION OF A URINARY BLADDER IN VITRO

The effects of the new fluorine-containing guanidine-derivate compounds on bladder contractile function were examined on isolated bladder strips *in vitro*. Female rats (250-350 g) were used. The bladder was removed and placed in the room temperature PSS of the following composition (mM): NaCl (118.4), KCl (4.7), CaCl<sub>2</sub> (2.5), MgSO<sub>4</sub> (1.2), KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> (1.2), NaHCO<sub>3</sub> (24.9), and D-glucose (11.1) gassed with O<sub>2</sub>-CO<sub>2</sub>, 95%-5%. The base of the bladder was then cut into strips 4-to 5-mm wide and 10-mm long. Then strips were pretensioned (0.25-0.5 g) and after 30min of equilibration were contracted with an additional 60mM KCl and again were allowed to equilibrate. Compounds were administered directly into the tissue bath. All compounds produced a concentration-dependent relaxation of isolated rat bladder strips.

*Institute of Pharmacology and Toxicology, Academy of Medical Sciences, Kyiv, Ukraine*

## СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

- Беленький М.Л. Элементы количественной оценки фармакологического эффекта. – Л.: Лениздат, 1963. – С. 130–135.
- Горовий В.І., Головенко В.П., Проценко О.О. та ін. Стресове нетримання сечі у жінок. – Вінobl-друкарня, 2003. – С. 44–47.
- Клебанов Б.М., Малетін І.І., Петко К.І., Шаваран С.С., Ягупольський Л.М. Пат. України, №17071А опубл. 18.03.1997. N-1σ2σ2σ – триметилпропіл-N'-ціано-N''-арілгуанідини з фторвмісними замісниками в арильному ядрі, які проявляють гіпотензивні та кардіотонні дії.
- Лопаткин Н.А., Сивков А.В., Толстова С.С. “Императивное недержание мочи” <http://www.uro.ru/society/plenum/detrus.php3> – Сайт Рос. об-ва урологов.
- Лоран О.Б. Недержание мочи у женщин, этиология, патогенез, диагностика // <http://www.uro.ru/society/plenum/detrus.php3> – Сайт Рос. об-ва урологов.
- Мохорт Н.А., Самарская И.В. Фармакодинамическая активность активаторов калиевых каналов // Укр. мед. часопис. – 2003. – № 6(38). – С.26–37.
- Переверзев А.С. Недержание мочи у женщин // Здоров'я України. – 2001. – №7. – С. 9–12.
- Bonev A.D., Nelson M.T. ATP-sensitive potassium channels in smooth muscle cells from guinea pig urinary bladder // Amer. J. Physiol. – 1993. – 264. – P. C1190–C1200.
- Buckner S.A., Milicic I., Daza A. Pharmacological and molecular analysis of ATP-sensitive K<sup>+</sup> channels in the pig and human detrusor // Eur. J. Pharmacol. – 2000. – 400. – P. 287–295.
- Fry C.H. Experimental model to study the physiology, pathophysiology, and pharmacology of the lower urinary tract // J. Pharmacol. Toxicol. Methods. – 2004. – 49. – P.201–210.
- Gopalakrishnan M., Whiteaker K.L., Molinari E.J. et al. Characterization of the ATP-sensitive potassium channels (K<sub>ATP</sub>) expressed in guinea pig bladder smooth muscle cells // J. Pharmacol. Exp. Ther. – 1999. – 289. – P. 551–558.
- Hedlund H., Mattiasson A., Andersson K.E. Effects of pinacidil on detrusor instability in men with bladder outlet obstruction // J. Urol. – 1991. – 146. – P.1345–1347.
- Komersova K., Rogerson J.W., Conway E.L. et al. The effect of levromakalim (BRL 38227) on bladder function in patients with high spinal cord lesions // Brit. J. Clin. Pharmacol. – 1995. – 39. – P. 207–209.
- Lawson K. Potassium channel activation: A potential therapeutic approach // Pharmacol. Ther. – 1996. – 70. – P. 39–63.
- Nielsen-Kudsk J.E. Potassium channel modulation: a new drug principle for regulation of smooth muscle contractility // Dan. Med. Bull. – 1996. – 43. – P. 429–447.
- Nurse D.E., Restorick J.M., Mundy A.R. The effect of cromakalim on the normal and hyper-reflexic human detrusor muscle // Brit. J. Urol. – 1991. – 68(Suppl 1). – P.27–31.
- Petkov G.V., Heppner T.J., Bonev A.D. Low levels of K<sub>ATP</sub> channel activation decrease excitability and contractility of urinary bladder // Amer. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol. – 2001. – 280. – №5. – P.1427–R1433.
- Quayle J.M., Nelson M.T., Standen N.B. ATP-sensitive and inwardly rectifying potassium channels in smooth muscle // Physiol. Rev. – 1997. – 77. – P.1165–1232.
- Wammack R.U., Nawrath H., Hohenfellner R. Mechanical and electrophysiological effects of cromakalim on the human urinary bladder // Eur. Urol. – 1994. – 26. – P.176–181.

*Ин-т фармакології та токсикології АМН України, Київ*

*Матеріал надійшов до редакції 27.12.2004*