

УДК 615.015.13;615.217.5;615.015.23

М. А. Мохорт, д-р мед. наук, проф.,
О. В. Пушишева

ПОРІВНЯЛЬНА СПАЗМОЛІТИЧНА АКТИВНІСТЬ ДРОТАВЕРИНУ, ПІНАЦИДИЛУ ТА ЙОГО АНАЛОГА ФЛОКАЛІНУ

Державна установа «Інститут фармакології та токсикології НАМН України», Київ

Спазм — патологічний стан, що характеризується стійким і довготривалим скороченням гладеньких м'язів. Спастичні реакції супроводжують значну кількість захворювань, основу фармакологічної терапії яких становлять спазмолітики [1]. За механізмом дії спазмолітичні препарати поділяють на нейротропні та міотропні [2].

Зважаючи на те, що спазм розвивається внаслідок надмірного скорочення гладеньком'язових клітин, широкого розповсюдження набули саме міотропні спазмолітики, що впливають на біохімічні внутрішньоклітинні процеси, зумовлюючи, таким чином, зменшення м'язового тону [3].

Вміст кальцію всередині м'язової клітини та за її межами відіграє провідну роль у патогенезі спастичної реакції. За механізмом впливу на рівень кальцію та скоротливу активність гладеньком'язових клітин спазмолітичні препарати можна поділити на дві основні групи:

— засоби, що впливають на іонні канали (активатори калієвих і блокатори кальцієвих каналів);

— препарати, що змінюють активність внутрішньоклітин-

них ферментів (донатори оксиду азоту, інгібітори фосфодіестерази) [2].

Сучасні дані поглибленого вивчення вже відомих лікарських засобів групи міотропних спазмолітиків свідчать, що розвиток спазмолітичного ефекту різних груп препаратів має спільні ланки механізму дії.

Зокрема, донатори оксиду азоту [4–6] та інгібітори фосфодіестерази [7] сприяють нагромадженню в клітині вторинного посередника цГМФ, який через протеїнкіназу G активує калієві канали [8; 9]. Відкриття калієвих каналів призводить до гіперполяризації клітинних мембран і закриття потенціал-залежних кальцієвих каналів [10], унаслідок чого вміст внутрішньоклітинного кальцію зменшується, що призводить до розслаблення гладеньком'язової клітини.

Метою нашого дослідження, враховуючи спільні ланки механізму дії міотропних спазмолітиків, був порівняльний аналіз спазмолітичної активності дротаверину й активаторів АТФ-чутливих калієвих каналів пінацидилу та його фторованого аналога флокаліну.

Сьогодні дротаверин вважають класичним спазмолітиком, що широко використовується в клінічній практиці. Його спазмолітичні властивості зумовлені інгібуванням фосфодіестерази 4-го типу й опосередкованим впливом на калієві канали, а також на кальцій-кальмодуліновий взаємозв'язок [11].

Активатори АТФ-чутливих калієвих каналів зарекомендували себе як вазотропні препарати, однак останнім часом спектр їх спазмолітичної активності розширився і вони є перспективним класом сполук для лікування сечокам'яної хвороби, гіперактивності сечового міхура, захворювань дихальних шляхів [12].

Нова сполука флокалін є аналогом пінацидилу за структурою та фармакологічною активністю. Препарат виявляє кардіопротекторні, гіпотензивні властивості, але на відміну від пінацидилу є потенційною детрузороселективною сполукою [13].

Матеріали та методи дослідження

Дослідження спазмолітичної активності дротаверину, пінацидилу та флокаліну дослі-

джували на сегментах грудної аорти та смужках сечового міхура шурів обох статей (лінія Вістар) масою 140–220 г. Після умертвіння тварин шляхом цервікальної дислокації ізольовану аорту та сечовий міхур розміщували в модифікованому розчині Кребса такого складу (в мМ/л): 132 NaCl; 4,7 KCl; 1,4 NaH₂PO₄; 1,05 MgCl₂; 2,5 CaCl₂; 16,3 NaHCO₃; 6,5 глюкози, рН 7,4 підтримували шляхом продування газовою сумішшю 5 % CO₂ / 95 % O₂. Ізольовані препарати очищували від жирової та сполучної тканини та розрізали на кільця завширшки 1–2 мм (аорту) або смужки завдовжки 4–5 мм та завширшки 1–2 мм (сечовий міхур).

Фрагменти аорти та сечового міхура фіксували в проточній камері на двох сталевих гачках із попереднім навантаженням 15 та 2,5 мН відповідно. Камеру перфузували розчином Кребса (1,5 мл/хв) з постійною температурою на рівні (37,0±0,5) °С.

Вихідне тонічне скорочення ізольованих фрагментів аорти та сечового міхура викликали відповідно до протоколу гіперкалієвим (60 ммоль/л) розчином чи розчином фенілефрину концентрацією 10–6 моль/л. Досліджувані сполуки використовували в концентраціях 10⁻⁸–3·10⁻³ моль/л.

Силу скорочувальних реакцій судин вимірювали в ізометричному режимі за допомогою емкісних тензометричних датчиків (ФТК-0.1). Запис скорочень здійснювали на персональному комп'ютері із застосуванням програми "DataTrax2" за допомогою аналогово-цифрового перетворювача ("WPI LabTrax 4/16", США).

Вимірювання амплітуди скорочень ізольованих препаратів проводили після стабілізації їх реакції на періодичну стимуляцію гіперкалієвим розчином Кребса (KCl, 60 мМ) протягом 40–60 хв. Величину дилататорних реакцій обчислювали у

відсотках відносно рівня максимального тонічного напруження в стаціонарній фазі (від 0 до 100 %).

Середню ефективну концентрацію (EC₅₀) та рівень максимального розслаблення (E_{max}) було розраховано на основі графічно побудованих кривих «доза–ефект», апроксимованих кривою Хіла.

Статистичну обробку отриманих результатів виконано за методом t-тесту Стьюдента для непарних вимірів. Розходження вважали статистично вірогідними по відношенню до дротаверину при p<0,05. Усі розрахунки проводили з використанням комп'ютерних програм "Origin 7.5" ("OriginLab Co.", США) та "Excel 2002" ("Microsoft", США).

Результати дослідження та їх обговорення

Дослідження спазмолітичної активності дротаверину, пінацидилу та флокаліну на ізольованих кільцях аорти проводили на моделі гіперкалієвого спазму та адреностимуляції.

На тлі фенілефринової констрикції активатори калієвих каналів пінацидил (EC₅₀ (0,618±0,100) μМ, p<0,001; E_{max} (100,07±3,74) %) та флокалін (EC₅₀ (0,11±0,02) μМ, p<0,001; E_{max} (89,54±5,61) %, p<0,05) ефективніше усували спазм порівняно з дротаверином (EC₅₀ (26,80±3,52) μМ; E_{max} (113,60±5,19) %).

Реакція судин на дію флокаліну мала фазний характер: у

низьких концентраціях (0,01–10 μМ) спостерігалось розслаблення ізольованих кілець аорти шурів, а починаючи з концентрації 30 μМ було відмічено тенденцію до констрикції (рис. 1).

За умов K⁺-деполяризації рівень максимального розслаблення дротаверину та пінацидилу був майже однаковий (E_{max} (84,44±3,03) та (80,98±9,53) % відповідно), натомість флокалін продемонстрував меншу здатність усувати спазм (E_{max} (72,20±4,92) %). Про більшу чутливість судин до дії неселективного інгібітора фосфодіестерази свідчить і показник середньої ефективної концентрації, який дорівнював (5,16±0,57) μМ порівняно з (24,7±8,8) та (44,60±8,29) μМ для пінацидилу та флокаліну.

В експериментах на сечовому міхурі (рис. 2) було виявлено однаковий рівень ефективності пінацидилу (E_{max} (89,42±8,93) %; EC₅₀ (36,10±10,98) μМ) та флокаліну (E_{max} (81,24±6,28) %; EC₅₀ (23,30±6,63) μМ). Однак активатори калієвих каналів не приводили до повного усунення спазму, на відміну від дротаверину (E_{max} (107,47±5,21) %; EC₅₀ (7,72±1,15) μМ).

Слід відмітити, що на тлі гіперкалієвої констрикції ізольованої аорти та сечового міхура при використанні великих концентрацій (більше 30 μМ) флокаліну тенденції до констрикції, що була відмічена на попередньо скорочених фе-

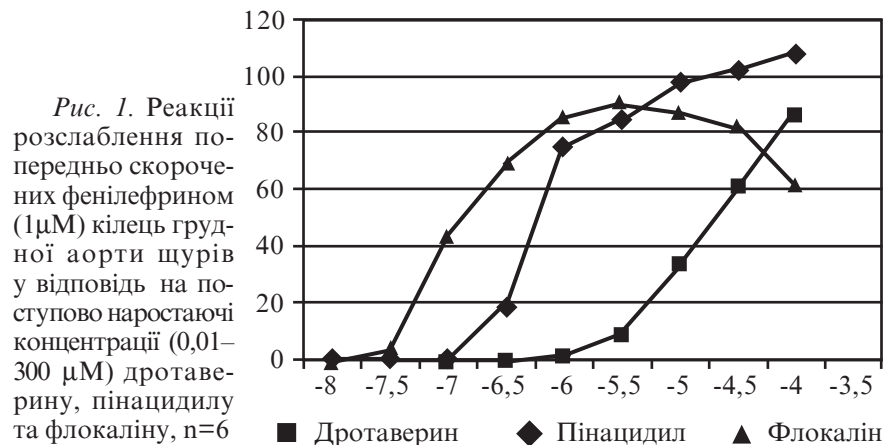


Рис. 1. Реакції розслаблення попередньо скорочених фенілефрином (1 μМ) кілець грудної аорти шурів у відповідь на поступово наростаючі концентрації (0,01–300 μМ) дротаверину, пінацидилу та флокаліну, n=6

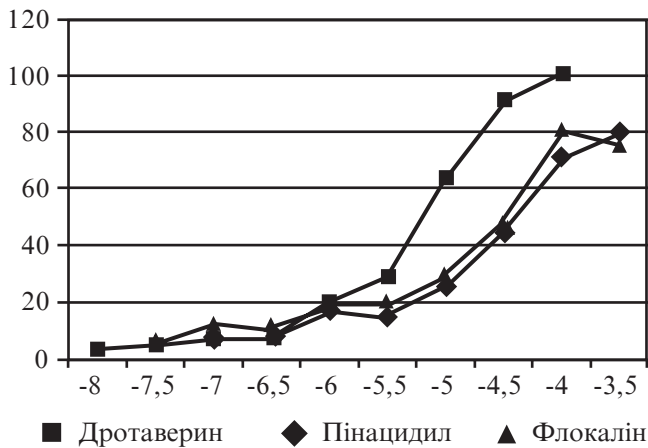


Рис. 2. Спазмолітична активність дротаверину, пінацидилу та флокаліну (0,01–1 мМ) на ізольованих, попередньо скорочених гіперкалієвим (60 мМ) розчином Кребса, смужках сечового міхура щурів, n=6

нілефринином кільцях аорти, не спостерігалось. Враховуючи те, що середня ефективна концентрація активатора АТФ-чутливих калієвих каналів флокаліну на сечовому міхурі дорівнює 23,3 μМ, а на попередньо скорочених фенолефринином кільцях аорти спостерігається зменшення дилататорного ефекту у великих концентраціях, цей препарат потенційно може бути селективним спазмолітиком вісцеральних органів, зокрема сечового міхура.

У проведених експериментах були використані ізольовані препарати гладеньком'язових органів, що належать до двох функціональних типів — тонічні (аорта) та фазнотонічні (сечовий міхур). Отримані результати свідчать, що класичний інгібітор фосфодіестерази дротаверин здатний більш ефективно знімати спазм, викликаний неспецифічним констриктором (гіперкалієвим розчином), на відміну від специфічного α-адреноміметика фенолефрину, що й обумовлює часте використання дротаверину в клінічній практиці при спазмах вісцеральних органів і його меншу ефективність при вазоспазмах [5]. На відміну від дротаверину, пінацидил проявляв більшу активність за умов фенолефринового спазму та селективність по відношенню до судин. Фторований аналог пінацидилу флокалін був здатний досить ефективно знімати

спазм сечового міхура в концентраціях, в яких, на попередньо скорочених фенолефринином ізольованих кільцях аорти щурів, спостерігалась тенденція до констрикції.

Висновки

Таким чином, отримані дані свідчать про можливу селективність до окремих органів активаторів калієвих каналів порівняно з неспецифічною дією інгібіторів фосфодіестерази, що доцільно враховувати при використанні зазначених сполук у клінічній практиці та здійснюючи пошук нових спазмолітиків.

ЛІТЕРАТУРА

1. Гуревич К. Г. Миотропные спазмолитики / К. Г. Гуревич, Е. Г. Лобанова // *Consilium Provisorum*. – 2001. – Т. 1, № 2. – С. 38–41.
2. Пчелинцев М. В. Спазмолитики: от клинической фармакологии до фармакотерапии / М. В. Пчелинцев // *Лечащий врач*. – 2008. – № 7. – С. 74–77.
3. Гуревич К. Г. Неспецифические миотропные спазмолитики: применение в современной медицинской практике / К. Г. Гуревич, Е. Г. Лобанова // *Фарматека*. – 2001. – № 8. – С. 40–47.
4. Evidence that different mechanisms underlie smooth muscle relaxation to nitric oxide and nitric oxide donors in the rabbit isolated carotid artery / F. Plane, K. E. Wiley, J. Y. Jeremy [et al.] // *British Journal of Pharmacology*. – 1998. – Vol. 123. – P. 1351–1358.
5. Murphy M. E. Nitric oxide hyperpolarizes rabbit mesenteric arteries via ATP-sensitive potassium channels

/ M. E. Murphy, J. E. Brayden // *Journal of Physiology*. – 1995. – Vol. 486, N 1. – P. 47–58.

6. Ferdinandy P. Interaction of cardiovascular risk factors with myocardial ischemia/reperfusion injury, preconditioning, and postconditioning / P. Ferdinandy, R. Schulz, G. F. Baxter // *Pharmacological Reviews*. – 2007. – Vol. 59, N 4. – P. 418–458.

7. Boswell-Smith V. Phosphodiesterase inhibitors / V. Boswell-Smith, D. Spina, C. P. Page // *British Journal of Pharmacology*. – 2006. – Vol. 147, N S1. – P. S252–S257.

8. Physiological roles of K⁺ channels in vascular smooth muscle cells / E. A. Ko, J. Han, I. D. Jung, W. S. Park // *J. Smooth Muscle Res*. – 2008. – Vol. 44, N 2. – P. 65–81.

9. Guanylyl Cyclases and Signaling by Cyclic GMP / K. A. Lucas, G. Pitari, S. Kazeronian [et al.] // *Pharmacological Reviews*. – 2000. – Vol. 52, N 3. – P. 375–413.

10. Regulation and modulation of calcium channels in cardiac, skeletal, and smooth muscle cells / T. F. McDonald, S. Pelzer, W. Trautwein, D. J. Pelzer // *Physiol. Rev.* – 1994. – Vol. 74, N 2. – P. 365–507.

11. Белоусов Ю. Б. Но-шпа: классика спазмолитической терапии / Ю. Б. Белоусов // *Русский медицинский журнал*. – 2002. – Т. 10, № 15. – С. 669–674.

12. Jahangir A. KATP channel therapeutics at the bedside / A. Jahangir, A. Terzic // *J. Mol. Cell. Cardiol*. – 2005. – Vol. 39, N 1. – P. 99–112.

13. Мохорт Н. А. Модуляция сократительной активности мочевого пузыря и сосудов новыми фторсодержащими аналогами пинацидила / Н. А. Мохорт, Л. М. Ягупольский, И. В. Лимаренко // *Биомедицинский журнал*. – 2005. – Т. 6. – С. 725–742.

ПОРІВНЯЛЬНА СПАЗМОЛІТИЧНА АКТИВНІСТЬ
ДРОТАВЕРИНУ, ПІНАЦИДИЛУ ТА ЙОГО АНАЛОГА
ФЛОКАЛІНУ

В експериментах *in vitro* на ізольованих кільцях аорти та сечового міхура щурів вивчена спазмолітична активність інгібітора фосфодіестерази дротаверину й активаторів калієвих каналів пінацидилу та флокаліну. Встановлено, що пінацидил був найбільш ефективним на попередньо скорочених фенілефріном ізольованих кільцях аорти (EC_{50} $(0,618 \pm 0,100)$ μM); флокалін в концентрації $(23,30 \pm 6,63)$ μM викликав 50 % розслаблення смужок сечового міхура, не проявляючи значної активності на судинах. Дротаверин був найбільш ефективним за умов неспецифічної констрикції ізольованих гладеньком'язових препаратів. Отримані результати доцільно враховувати при використанні зазначених препаратів у клінічній практиці.

Ключові слова: дротаверин, пінацидил, флокалін, міотропні спазмолітики, *in vitro*, аорта щурів, сечовий міхур щурів.

COMPARATIVE SPASMOlyTIC ACTIVITY OF DRO-
TAVERIN, PINACIDIL AND ITS FLUORINATED
ANALOG FLOCALIN

In the *in vitro* experiences on the isolated rat aortic rings and urinary bladder strips the spasmolytic activity of the phosphodiesterase inhibitor drotaverine and the ATP-sensitive (K_{ATP}) potassium channel openers pinacidil and flocalin were studied. It was found that the K_{ATP} potassium channel opener pinacidil was the most effective in the phenylephrine pre-contracted isolated rat aortic rings (EC_{50} (0.618 ± 0.100) μM); the flocalin caused 50% relaxation of urinary bladder strips at concentration (23.30 ± 6.63) μM and has no considerable effect on the vessels. The phosphodiesterase inhibitor drotaverin was the most effective at nonspecific constriction of isolated smooth muscle preparations. Our results can be taken into account when these drugs are used in clinic.

Key words: drotaverin, pinacidil, flocalin, myotropic spasmolytics, *in vitro*, rat aorta, rat urinary bladder.

УДК 614.715

О. Б. Приходько, канд. фарм. наук, доц.,

Т. І. Ємець, канд. фарм. наук, доц.

ДОСЛІДЖЕННЯ ЗАКОНОМІРНОСТЕЙ
ВИКИДУ ПИЛКУ РОСЛИНАМИ
В «ІДЕАЛЬНИХ УМОВАХ»

Запорізький державний медичний університет

У наш час важливою проблемою є запобігання масовим загостренням алергічних реакцій, значна частина яких обумовлена рослинним пилком. Для запобігання поленовим алергіям — полінозам і бронхіальній астмі — необхідний комплекс профілактичних дій, розробка якого неможлива без дослідження закономірностей викиду пилку рослинами (палінації), тому актуальності набуває така проблема, як статистично вірогідна обробка даних багаторічних аеробіологічних спостережень. Зазвичай вона включає визначення середніх показників, які характеризують палінацію. Наприклад, у Європейській базі аероалергенного спостереження використовують такі показники [1]: старт, пік, фініш та ін.

Але при усередненні добових багаторічних показників

виникають певні труднощі, які пов'язані з тим, що кожен рік має свої особливості палінації, які не збігаються. Так, при узагальненні не піків, що не збігаються, шляхом визначення середньоарифметичної добової концентрації пилку за декілька років неможливо оцінити максимальні показники. Також не буде відповідати дійсності і термін палінації, він буде подовжений за рахунок років, коли палінація починалася раніше і коли затримувалася.

У сучасній літературі відсутня інформація про статистичну обробку та виявлені закономірності палінації, не визначені методологічні підходи щодо встановлення взаємозв'язку між рівнем пилку в повітрі й ендогенними особливостями палінації та умовами погоди. На наш погляд, це пов'язано з неможливістю викорис-

тання стандартних підходів. Для аналізу даних багаторічних спостережень необхідно застосовувати відповідні методи статистичних досліджень, які дозволять обробити результати з подальшою можливістю використання в алергології, але таку обробку в літературі знаходимо дуже рідко.

Пауль Комтоїс проаналізував дані аеропалінологічного моніторингу за 11 років, що становило 4070 днів. Він порівняв розподіл пилку у часі з нормальним (Гауссовим) розподілом і довів, що за рахунок різких стрибків концентрації пилку реальні дані далекі від нормального розподілу. Також він наголосив на постійній асиметрії реальних показників і запропонував використовувати гамма-розподіл як такий, що краще описує динаміку концентрації пилку у повітрі [2].