

EKSPERIMENTINIS TYRIMAS

ATF-reguliuojamų kalio kanalų moduliatorių, N-(2-piridil)-N'-(4-toluol) sulfonilkarbamidų įtaka jūrų kiaulytės miokardo elektromechaniniam aktyvumui

Vida Gendvilienė, Danguolė Zablockaitė, Herta Gurskaitė, Irma Martišienė, Antanas Stankevičius
Kauno medicinos universiteto Kardiologijos institutas

Raktažodžiai: jūrų kiaulytės papiliariniai raumenėliai, pinacidilas, 2-aminopiridinas, 2-aminopiridino sulfonilkarbamidiniai dariniai, veikimo potencialų trukmė, susitraukimo jėga.

Santrauka. Tyrimo tikslas. Ištirti 2-aminopiridino (2-AP) ir naujų sulfonilkarbamidinių jo darinių AP21, AP22, AP26 ir AP27 poveikį jūrų kiaulyčių papiliarinių raumenėlių veikimo potencialų trukmei ir susitraukimo jėgai pinacidilu (5×10^{-5} M) aktyvintų reguliuojamų kalio kanalų K_{ATF} sąlygomis. Eksperimentiniai tyrimai atlikti naudojant standartinę miokardo elektromechaninio aktyvumo registravimo metodiką. Perfuzuojant papiliarinius raumenėlius Tyrodė fiziologiniu tirpalu (kontrolė), veikimo potencialų (VP) trukmės, esant 90 proc. (VP_{90}) ir 50 proc. (VP_{50}) repolarizacijos lygmenims, atitinkamai buvo $211,78 \pm 8,6$ ms, $173,22 \pm 8,3$ ms ($n=18$), susitraukimo jėga (P) – $1,77 \pm 0,36$ mN ($n=18$). K_{ATF} kanalų aktyviklio pinacidilas (5×10^{-5} M) mažino VP_{90} iki $58,16 \pm 4,4$ proc., VP_{50} – $52,51 \pm 4,85$ proc. ($n=18$), P – $30,45 \pm 4,06$ proc. ($n=18$), ($p < 0,001$) palyginus su kontrole.

2-AP ir jo sulfonilkarbamidinis darinys AP22 (turintis 4-toluolsulfonilkarbamido fragmentą ir metilo jodidu kvaternizuotą piridino azotą) (10^{-5} – 10^{-3} M) neturėjo įtakos pinacidilu sumažintoms VP trukmei ir susitraukimo jėgai. Junginiai AP21 (su 4-toluolsulfonilkarbamido fragmentu) ir AP26 (turintis alilo bromidu kvaternizuotą piridino azotą) tik nežymiai padidino veikimo potencialų trukmę. Efektyviausiai veikimo potencialų trukmę ir susitraukimo jėgą pinacidilu aktyvintų K_{ATF} kanalų sąlygomis didino 2-AP darinys AP27 su 4-toluolsulfonilkarbamido fragmentu, kuriame piridino azotas kvaternizuotas 4-nitrobenzilu.

Įvadas

ATF-reguliuojamieji kalio kanalai (K_{ATF}), nustatyti įvairiuose audiniuose (miokardo ląstelėse, kasos β-ląstelėse, griaučių bei lygiuosiuose raumenyse, inkstų kanalėlių ir centrinės nervų sistemos ląstelėse), yra susiję su skirtingomis ląstelių funkcijomis: insulino sekrecija kasos β-ląstelėse, lygiųjų raumenų relaksacija, griaučių raumenų dirglumu, neurotransmiterių išsiskyrimu (1–3). Fiziologinėmis sąlygomis miokardo ląstelėse, kai viduląstelinė ATF koncentracija (ATF_i), yra pakankamai didelė (>1 mM), K_{ATF} kanalai esti uždari (4). Sumažėjus (ATF_i), pvz., hipoksiniame ar išeminiame miokarde, ar slopinant ATF sintezę metaboliniais nuodais (2,4-dinitrofenolu, 2-deoksigliukoze, FCCP), šie kanalai atsidero ir padidėja K^+ jonų srovė iš ląstelės (I_{KATF}) (5–7). Be to, nustatyta didelė grupė farmakologinių medžiagų, kurios aktyvina (pi-

nacidilas, kromakalimas, bimakalimas, nikorandilis ir kt.) ir slopina (glibenklamidas, tolbutamidas, repaglinidas, HMR 1402, HMR 1098 ir kt.) šiuos kanalus (6–9). Padidėjus I_{KATF} per aktyvintus K_{ATF} kanalus išemijos ar hipoksijos metu, miokardo ląstelių veikimo potencialų (VP) trukmė sutrumpėja, taip pat sutrumpėja ir refrakterinis laikotarpis. Jeigu toks VP sutrumpėjimas vyksta homogeniškai visose širdies srityse, dėl to sumažėja miokardo susitraukimo jėga. Jeigu išemija ar hipoksija randasi tik kai kuriose širdies srityse, o taip įvyksta susiaurėjus ar užsikimšus vainikinėms arterijoms arba stenozės atveju, K_{ATF} kanalų atsidarymas ir VP sutrumpėjimas sukelia refrakteriškumo dispersiją tarp sveikų ir hipoksinių audinio dalių – tai sukelia ne tik susitraukimo jėgos mažėjimą, bet ir *reentry* tipo aritmijas, kurios gali skatinti skilvelių fibriliaciją (10, 11). Šios žmogaus skilvelių

aritmijos gali būti staigios mirties priežastis, todėl selektyvūs širdies K_{ATF} kanalų slopikliai gali būti svarbi gydymo priemonė apsauganti širdį nuo gyvybei grėsmingų aritmijų. Šią hipotezę patvirtino eksperimentiniai tyrimai, parodę, kad K_{ATF} kanalų slopiklis, sulfonilkarbamido darinys, glibenklamidas slopina išemijos sukeltas šuns ir triušio širdies skilvelių tachiaritmijas ir fibriliaciją (10–12). Tačiau šis vaistas nuo cukrinio diabeto be potencialaus antifibriliatorinio poveikio išeminei širdžiai turi šalutinių poveikių, t. y. mažina gliukozės kiekį kraujyje, pasižymi vainikinių arterijų vazokonstrikcinėmis savybėmis tiek normoksijos, tiek ir hipoksijos sąlygomis (13). Todėl pastaraisiais metais vyksta paieška ir sintezė naujų medžiagų, kurios selektyviai blokuotų miokardo ląstelių K_{ATF} kanalus, savo struktūroje turinčius sulfonilkarbamido receptorių (SUR-2).

Ivertinus 2-, 3- ir 4-aminopiridino fizikines ir chemines savybes (mažesnę nei benzeno darinių lipofiliškumą, heterociklinio azoto gebėjimą protonizuotis ir tapti keturvalenčiu ir kartu padidinti hidrofilumą), jų slopinamąjį poveikį K^+ srovėms per įtampa valdomus K^+ kanalus, t. y. uždelsto išsilyginimo K^+ srovės kanalus (I_{Kr}) ir trumpalaikės išeinančios K^+ srovės kanalus (I_{to}), kilo mintis susintetinti naujus 2-aminopiridino darinius su sulfonilkarbamido fragmentu (jis būdingas K_{ATF} kanalų slopikliui glibenklamidui ir jo analogams) ir skirtingo valentingumo azotu piridino žiede. Taigi buvo susintetinti sulfonilkarbamidiniai 2-aminopiridino dariniai: pakeičiant 2-aminopiridino žiedo amino grupę 4-toluolsulfonilkarbamido fragmentu (junginys AP21), ir 3 jo analogai su kvaternizuotu (keturvalenčiu) piridino azotu, t. y. metilo radikalų (junginys AP22), alilo radikalų (junginys AP26) ir 4-nitrobenzilo radikalų (junginys AP27).

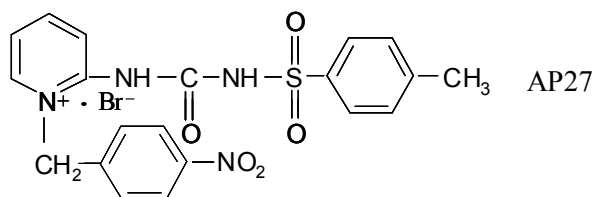
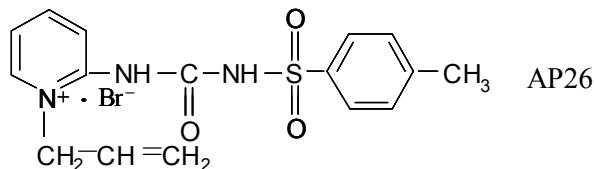
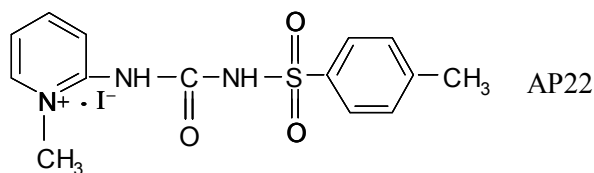
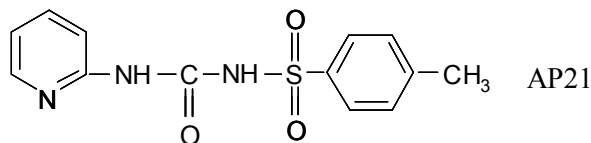
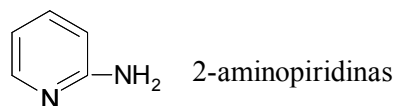
Tyrimo tikslas – ištirti 2-aminopiridino ir jo sulfonilkarbamidinių darinių bei K_{ATF} kanalų slopiklio glibenklamido poveikį jūrų kiaulytės papiliarinių raumenėlių veikimo potencialų trukmei ir susitraukimo jėgai pinacidilu aktyvintų K_{ATF} kanalų sąlygomis.

Tyrimo medžiaga ir metodai

Eksperimentiniai tyrimai atlikti su jūrų kiaulyčių (250–350 g) kairiojo skilvelio papiliariniais raumenėliais. Tyrimams su jūrų kiaulyčių širdies preparatais gautas Lietuvos Respublikos valstybinės maisto ir veterinarijos tarnybos (2004 m. gruodžio 3 d. įsakymas Nr. B1-1047) leidimas Nr. 122. Izoliuoti papiliariniai raumenėliai (3–4 mm ilgio) talpinami į termostatuojamą kamerą ir perfuzuojami oksigenuotu (pO_2 580–600 mmHg) Tyrodė fiziologiniu tirpalu (mM): NaCl 144, $CaCl_2$ 1,8, $MgCl_2$ 1,0, gliukoze 5, TrisOH 10, pH 7,4, 36°C temperatūroje. Raumenėlio susitrauki-

mas izometrinio režimu registruojamas mechanoelektriniu davikliu („Harvard Apparatus“, JAV), veikimo potencialai – 2,5 M KCl tirpalu užpildytais mikroelektrodois. Raumenėlis dirginamas chloruotais sidabriniais elektrodais (dirginimo dažnis – 1 Hz, trukmė – 2–5 ms, amplitudė 3–4 kartus didesnė už slenkstinę). Veikimo potencialų trukmė esant 90 proc. (VP_{90}) ir 50 proc. (VP_{50}) repolarizacijos lygiams ir susitraukimo jėga buvo registruojami ir analizuojami kompiuteriu naudojant specializuotą programą (14).

Tirtas 2-aminopiridino (2-AP) („Sigma“, Vokietija) ir mūsų sintetintų naujų 2-aminopiridino sulfonilkarbamidinių darinių AP21, AP22, AP26, AP27 ir glibenklamido („Sigma“, Vokietija) poveikis jūrų kiaulyčių papiliarinių raumenėlių veikimo potencialų trukmei ir susitraukimo jėgai pinacidilu („Sigma“, Vokietija) aktyvintų K_{ATF} kanalų sąlygomis (pirmame paveiksle pateiktos struktūrinės tirtų junginių formulės).



1 pav. Struktūrinės 2-aminopiridino ir jo sulfonilkarbamidinių darinių formulės

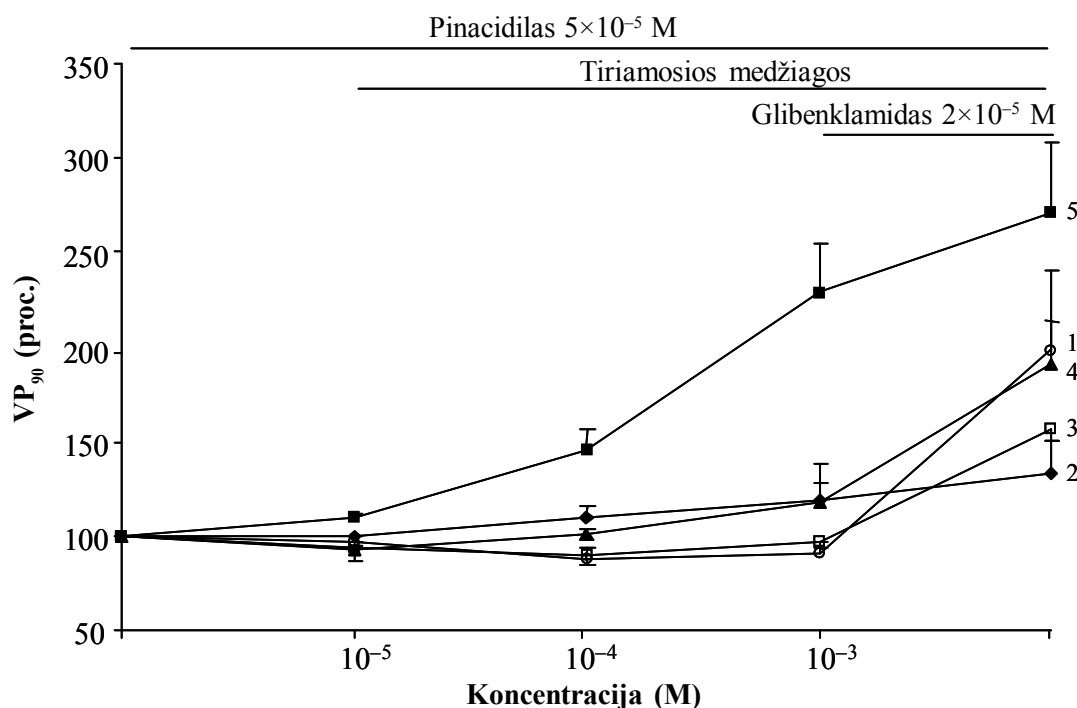
Eksperimentų eiga: po 50–60 min. papiliarinio raumenėlio perfuzijos Tyrodė fiziologiniu tirpalu, nusišalvėjęs stacionarioms susitraukimo jėgos ir veikimo potencialų reikšmėms, raumenėlis 30 min. perfuzuojamas fiziologiniu tirpalu su K_{ATF} kanalų aktyvatoriumi pinacidilu (5×10^{-5} M), po to, 15 min. šiuo tirpalu su tiriamųjų medžiagų, t. y. 2-aminopiridinu ar jo darinių AP21, AP22, AP26, ir AP27 atitinkamomis koncentracijomis pradedant nuo 10^{-5} M ir jas didinant iki 10^{-4} M ir 10^{-3} M. Eksperimentų pabaigoje tirtų medžiagų poveikio VP trukmei ir susitraukimo jėgai aktyvintų K_{ATF} kanalų sąlygomis palyginimui į perfuzinį tirpalą buvo įpilama K_{ATF} kanalų slopiklio glibenklamido (2×10^{-5} M).

VP trukmės ir susitraukimo jėgos kitimas, veikiant pinacidilu, apskaičiuotas procentais, palyginus su kontrole, o 2-aminopiridino ir jo darinių bei glibenklamido poveikis apskaičiuotas procentais palyginus su pinacidilo poveikiu. Taikant Michaelio-Menten lygtį, nustatytos tirtų medžiagų koncentracijos, 50 proc. didinančios pinacidilo sumažintas VP₉₀ trukmės (EC_{50}) ir maksimalios VP₉₀ trukmės padidėjimo reikšmės ($E_{maks.}$) (15, 16). Eksperimentiniai duomenys įvertinti naudojant Stjudento (t) kriterijų, skirtumas tarp tiriamųjų dydžių statistiškai reikšmingas, kai $p < 0,05$.

Rezultatai

Perfuzuojant jūrų kiaulytės papiliarinius raumenėlius Tyrodė fiziologiniu tirpalu (kontrolė), veikimo potencialų trukmė VP₉₀ buvo $211,78 \pm 8,6$ ms, VP₅₀ – $173,22 \pm 8,3$ ms, ($n=18$), susitraukimo jėga – $1,77 \pm 0,36$ mN ($n=18$). K_{ATF} kanalų aktyvatorius pinacidilas (5×10^{-5} M) mažino VP₉₀ iki $58,16 \pm 4,4$ proc., VP₅₀ – $52,51 \pm 4,85$ proc., ($n=18$), ($p < 0,001$), o susitraukimo jėgą – $30,45 \pm 4,06$ proc. ($n=18$), ($p < 0,001$) palyginus su kontrole.

Antrame paveiksle parodytas 2-aminopiridino (1 kreivė) ir jo sulfonilkarbamidinių darinių AP21, AP22, AP26 ir AP27 (atitinkamai 2, 3, 4 ir 5 kreivės) poveikis pinacidilo (5×10^{-5} M) sumažintai VP₉₀ trukmei. Šiomis sąlygomis, didėjant AP21 ir AP26 koncentracijoms nuo 10^{-5} M iki 10^{-3} M, VP₉₀ tik nežymiai padidėjo (2 pav. atitinkamai 2 ir 4 kreivės), tuo tarpu K_{ATF} kanalų slopiklis glibenklamidas (2×10^{-5} M) padidino pinacidilo sumažintą VP₉₀ atitinkamai iki $133,35 \pm 17,31$ proc. ($n=5$) ($p < 0,05$) ir $190,8 \pm 23,4$ proc. ($n=4$), ($p < 0,05$) palyginus su pinacidilo poveikiu. Veikiant 2-aminopiridinui ar jo dariniui AP22, pinacidilo sumažinta VP₉₀ nekito (2 pav., 1 ir 3 kreivės), o glibenklamidas padidino VP₉₀ atitinkamai iki $198,7 \pm 41,9$ proc. ir $156,8 \pm 5,7$ proc. ($n=4$), ($p < 0,001$) palygi-



2 pav. 2-aminopiridino ir jo sulfonilkarbamidinių darinių įtaka jūrų kiaulytės papiliarinių raumenėlių veikimo potencialų trukmei esant fiziologiniame tirpale 5×10^{-5} M pinacidilo

1 kreivė – veikiant 2-aminopiridinui, 2 kreivė – AP21, 3 kreivė – AP22, 4 kreivė – AP26 ir 5 kreivė – AP27. Abscisių ašyje – tirtų medžiagų koncentracijos (M), ordinačių – veikimo potencialų trukmė, esant 90 proc. repoliarizacijai (VP₉₀) (apskaičiuota procentais), palyginus su pinacidilo poveikiu.

nus su pinacidilo poveikiu.

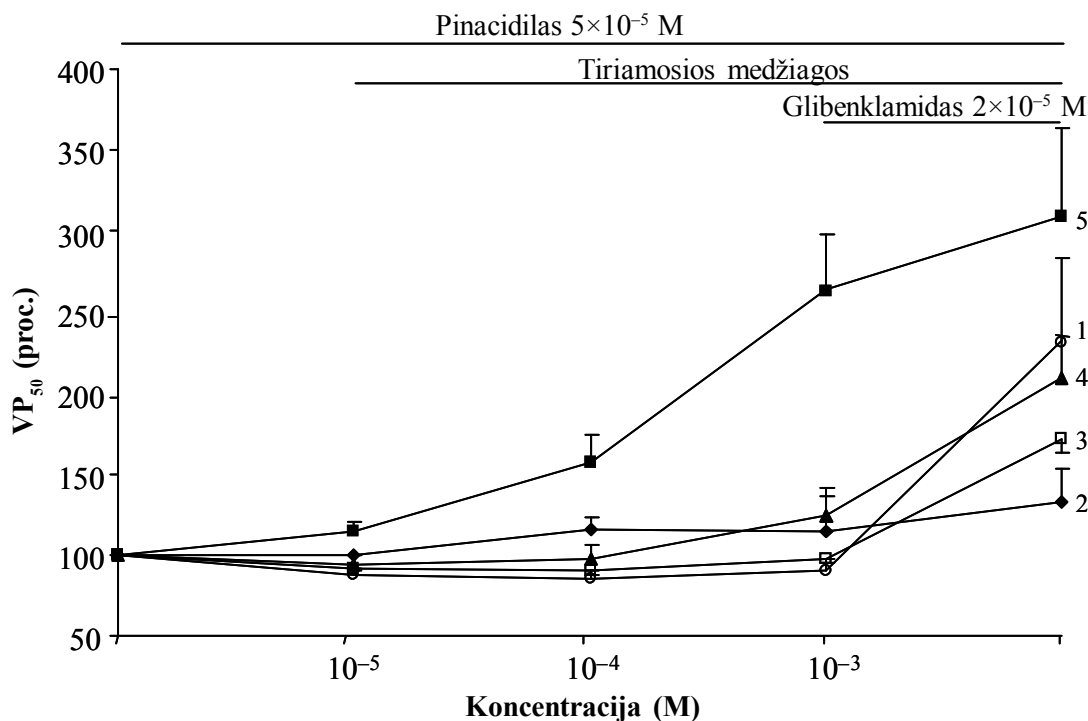
Didžiausias VP_{90} pailgėjimas užregistruotas, veikiant junginiui AP27 – iki $229,2 \pm 25,5$ proc., esant 10^{-3} M koncentracijai, palyginus su pinacidilo poveikiu ($n=4$) ($p<0,05$) (3 pav. 5 kreivė). Glibenklamidas šiomis sąlygomis padidino VP_{90} – $270,8 \pm 37,7$ proc. ($n=4$) ($p<0,001$) palyginus su pinacidilo poveikiu.

Taikant Michaelio-Menten lygtį, nustatytos junginių AP21, AP26 ir AP27 koncentracijos, kurios 50 proc. padidino pinacidilu sumažintą VP_{90} , t. y. EC_{50} , ir maksimalų VP_{90} padidėjimą, $E_{maks.}$, veikiant AP21 buvo atitinkamai $(5,48 \pm 2,76) \times 10^{-4}$ M ir $43,72 \pm 17,39$ proc., AP26 – $(2,38 \pm 0,47) \times 10^{-3}$ M ir $70,7 \pm 20,6$ proc., AP27 – $(2,88 \pm 0,5) \times 10^{-4}$ M ir $144,5 \pm 21,22$ proc. Pinacidilu (5×10^{-5} M) sumažintos veikimo potencialų trukmės 50 proc. repoliarizacijos lygmenyje, kitimas, veikiant 2-aminopiridinui, AP21, AP22, AP26 ir AP27 buvo panašus kaip ir VP_{90} (3 pav., 1–5 kreivės). Jūrų kiaulytės papiliarinio raumenelio veikimo potencialų kreivių eksperimentiniai pavyzdžiai kontrolės sąlygomis ((A, k, B, k'), veikiant pinacidilui (5×10^{-5} M) (A, a, B, a') ir 2-aminopiridinui (10^{-3} M) (A, b) arba junginiui AP27 (10^{-3} M) (B, b'), kai tirpale yra pinacidilo (5×10^{-5} M), pateikiami ketvirtame paveiksle.

2-aminopiridino ir jo sulfonilkarbamidinių darinių AP21, AP22, AP26 ir AP27 poveikis pinacidilu (5×10^{-5} M) sumažintai susitraukimo jėgai pateikiamas lentelėje. Susitraukimo jėga nežymiai padidėjo tik veikiant junginiui AP27, t. y. iki $134,3 \pm 20,3$ proc. ($p<0,05$), esant 10^{-4} M koncentracijai palyginus su pinacidilo poveikiu. Didinant AP27 koncentraciją iki 10^{-3} M, susitraukimo jėga mažėjo.

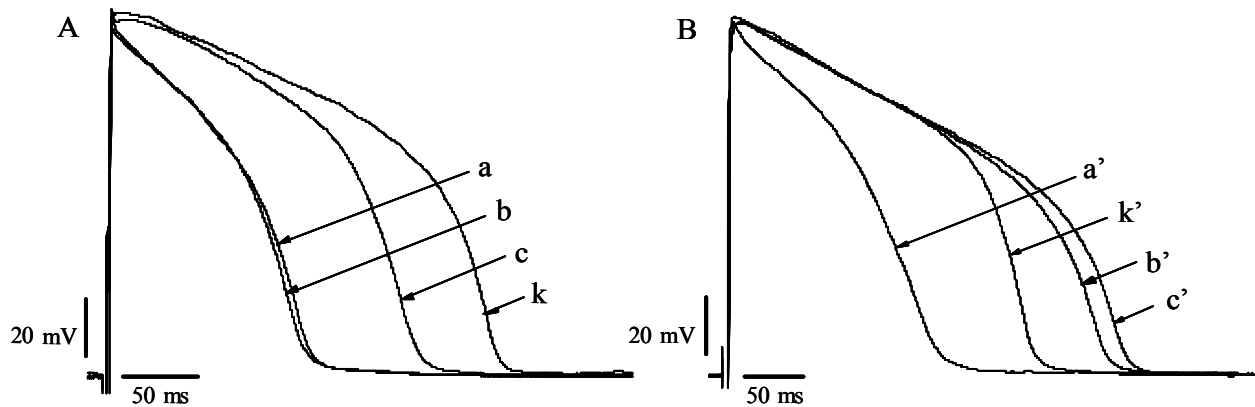
Rezultatų aptarimas

Mūsų atliktų eksperimentinių tyrimų duomenimis, ATF reguliuojamų K^+ kanalų aktyviklis pinacidilas žymiai sumažino jūrų kiaulytės papiliarinių raumenelių veikimo potencialų trukmę ir susitraukimo jėgą. Tokių pinacidilo poveikį veikimo potencialų trukmei lemia ATF reguliuojamų membranos K_{ATF} kanalų atsidarymas ir K^+ jonų srovės iš ląstelės ($I_{K_{ATF}}$) padidėjimas. Tą patvirtina tyrimai, atlikti su eksperimentinių gyvūnų ir žmogaus miokardo preparatais (5, 13, 17). Nustatyta, kad K_{ATF} kanalų aktyvinimas kromakalimu, pinacidilu ar kitais šių kanalų aktyvatoriais didina išeinančią K^+ srovę šiais kanalais, dėl to siaurėja VP, trumpėja refrakterinis laikotarpis. Susiaurėjusio VP metu Ca^{2+} kiekis, patenkantis L-tipo Ca kanalais,



3 pav. 2-aminopiridino ir jo sulfonilkarbamidinių darinių įtaka jūrų kiaulytės papiliarinių raumenelių veikimo potencialų trukmei esant fiziologiniame tirpale 5×10^{-5} M pinacidilo

1 kreivė – veikiant 2-aminopiridinui, 2 kreivė – junginiui AP21, 3 kreivė – AP22, 4 kreivė – AP26 ir 5 kreivė – AP27. Abscisių ašyje – tirtų medžiagų koncentracijos (M), ordinačių – veikimo potencialų trukmė, esant 50 proc. repoliarizacijai (VP_{50}) (apskaičiuota procentais), palyginus su pinacidilo poveikiu.



4 pav. Jūrų kiaulytės papiliarinių raumenėlių veikimo potencialų kreivių eksperimentiniai pavyzdžiai

Potencialų kreivės, registruotos perfuzuojant raumenėlį fiziologiniu tirpalu (A, k, B, k'), veikiant pinacidilu (5×10^{-5} M) (A, a, B, a'), 2-aminopiridinu (10^{-3} M) (A, b) ar AP27 (10^{-3} M) (B, b') bei glibenklamidu (2×10^{-5} M) (A, c, B, c')

Lentelė. Jūrų kiaulytės papiliarinio raumenėlio susitraukimo jėgos kitimas veikiant 2-AP ir sulfonilkarbamidiniais jo dariniais AP21, AP22, AP26 ir AP27

Koncentracijos (M)	Tiriamosios medžiagos					
	Pinacidilas (5×10^{-5} M)	2-AP (n=4)	AP21 (n=5)	AP22 (n=4)	AP26 (n=4)	AP27 (n=4)
10^{-5}	100 proc.	78,18±8,4*	83,01±5,5*	87,34±7,8	72,32±17,2	112,13±9,8
10^{-4}		81,11±18	76,1±11*	71,1±10,6	76,23±12,7	134,33±20,3*
10^{-3}		119,57±31,8	94,03±33,4	81,81±25,7	99,73±17,7	79,2±6,9*

Susitraukimo jėgos kitimas, veikiant 2-aminopiridinui (2-AP) ir jo dariniais AP21, AP22, AP26 bei AP27, lentelėje pateikiamas procentais palyginus su pinacidilo poveikiu, prilygintu 100 proc. * $p < 0,05$.

sumažėja, o tai savo ruožtu mažina miokardo ląstelių susitraukimo jėgą. Be to, dėl K^+ srovės K_{ATF} kanalais padidėjimo, veikiant šių kanalų aktyvikiams arba slopinant miokardo energetinį metabolizmą, ar miokardo išemijos metu gali kilti *reentry* tipo aritmijos ir skilvelių virpėjimas. Nustatyta, kad pinacidilas ar kromakalimas arba nikorandilis sukelia eksperimentinių gyvūnėlių (jūrų kiaulytės, žiurkės, triušio) širdžių, perfuzuojamų Langendorfo metodu, skilvelių tachikardiją ir virpėjimą, o glibenklamidas, K_{ATF} kanalų slopiklis, šį proaritminių veikimą panaikina (10, 12, 18–20).

Miokardo, lygiųjų raumenų ląstelių, gigantinio aksono K^+ srovės tyrimai parodė, kad 2-, 3- ir 4-aminopiridinais slopina trumpalaikę išeinančią K^+ (I_{to}) srovę ir labai greitą uždelsto išsilyginimo K^+ srovės komponentę (I_{Kur}), tačiau nėra duomenų apie šių junginių poveikį miokardo ląstelių ligandų valdomiems K^+ kanalams (K_{ATF} , K_{ACh}) (21–24). Mūsų atlikti tyrimai parodė, kad 2-aminopiridinas nedidino papiliarinių

raumenėlių veikimo potencialų trukmės, sumažėjusios dėl išeinančios I_{KATF} srovės pinacidilu aktyvintais K_{ATF} kanalais. Tačiau 2-aminopiridino darinių su sulfonilkarbamido fragmentu (AP21) ir kvaternizuotų jo analogų, AP22, AP26 ir AP27 poveikio tyrimai pinacidilu aktyvintų jūrų kiaulytės papiliarinių raumenėlių K_{ATF} kanalų sąlygomis parodė, kad šie junginiai (išskyrus AP22) skirtingu laipsniu didino veikimo potencialų trukmę, sumažėjusią dėl K^+ srovės K_{ATF} kanalais padidėjimo. K_{ATF} kanalų slopiklis glibenklamidas, kuris mūsų eksperimentuose po tirtų junginių poveikio dar skirtingu laipsniu (priklausomai nuo prieš tai vartoto tiriamojo junginio) padidino VP trukmę. Todėl galima manyti, kad tokių tirtų junginių poveikį galėjo lemti jų skirtingas K_{ATF} kanalų blokavimo efektyvumas. Pagal nustatytas maksimalias veikimo potencialų trukmės padidėjimo reikšmes ($E_{maks.}$), veikiant tirtoms ir poveikį VP trukmei turinčioms medžiagoms, sudaryta jų efektyvumo eilė, t. y. AP27 >> AP26 >> AP21. Pinacidilo sumažintą veikimo potencialų trukmę ir susi-

traukimo jėgą efektyviausiai didino junginys AP27, t. y. 2-aminopiridino darinys su 4-toluolsulfonilkarbamido fragmentu, kuriame piridino azotas kvaternizuotas 4-nitrobenzilo bromidu. Tačiau junginiai AP21, kuriame 2-aminopiridino žiedo amino grupė pakeista tik 4-toluolsulfonilkarbamido fragmentu, ir AP26, kuriame piridino azotas kvaternizuotas alilo bromidu, žymiai silpniau didino pinacidilo sumažintą veikimo potencialų trukmę. Mūsų eksperimentų sąlygomis junginys AP22, kuriame piridino azotas kvaternizuotas metilo jodidu, nedidino pinacidilu sumažintos VP trukmės.

Efektyviausią poveikį sumažėjusiai jūrų kiaulytės papiliarinių raumenėlių veikimo potencialų trukmei, padidėjus $I_{K_{ATF}}$ srovei, pinacidilu aktyvavus K_{ATF} kanalų, turėjo modifikuotas 2-aminopiridinas, kai vie-

toje amino grupės įvestas 4-toluolsulfonilkarbamido fragmentas ir piridino azotas kvaternizuotas 4-nitrobenzilu, t. y. junginys AP27.

Išvados

1. 2-aminopiridinas ir jo sulfonilkarbamidinis darinys AP22, kuriame piridino azotas kvaternizuotas metilo jodidu, neturėjo įtakos K_{ATF} kanalų aktyvlikio pinacidilo sumažintoms jūrų kiaulytės papiliarinių raumenėlių veikimo potencialų trukmei ir susitraukimo jėgai.

2. K_{ATF} kanalų aktyvlikio pinacidilo sumažintą veikimo potencialų trukmę ir susitraukimo jėgą efektyviausiai didino 2-aminopiridino darinys AP27 su 4-toluolsulfonilkarbamido fragmentu, kuriame piridino azotas kvaternizuotas 4-nitrobenzilu.

Effects of ATP-regulated potassium channels modulators, N-(2-pyridyl)-N'-(4-toluol)sulfonylcarbamides, on electromechanical activity in guinea pig myocardium

Vida Gendvilienė, Danguolė Zablockaitė, Herta Gurskaitė, Irma Martišienė, Antanas Stankevičius
Institute of Cardiology, Kaunas University of Medicine, Lithuania

Key words: papillary muscle of guinea pig, pinacidil, 2-aminopyridine, sulfonylcarbamide derivatives of 2-aminopyridine, action potential duration, contraction force.

Summary. The aim of the study was to investigate the effects of 2-aminopyridine (2-AP) and its new sulfonylcarbamide derivatives AP21, AP22, AP26, and AP27 (10^{-5} – 10^{-3} M) on pinacidil (5×10^{-5} M), an activator of K_{ATP} channels, induced shortening of action potential duration and reduction of contraction force in guinea pig papillary muscles. Experiments were carried out using a standard method of myocardium electromechanical activity registration. Under control conditions (perfusion of papillary muscles with Tyrode solution), an average of action potential duration (APD), measured at 90% (APD₉₀) and 50% (APD₅₀) of repolarization, were 211.78 ± 8.6 ms and 173.22 ± 8.3 ms ($n=18$), respectively, and contraction force was 1.77 ± 0.36 mN ($n=18$). Pinacidil markedly decreased APD₉₀ to $58.16 \pm 4.4\%$, APD₅₀ – to $52.51 \pm 4.85\%$ ($n=18$), and contraction force – to $30.45 \pm 4.06\%$ ($n=18$), ($p < 0.001$) vs. control.

2-aminopyridine and its sulfonylcarbamide derivative AP22 (with 4-toluolsulfonylcarbamide fragment and methyl iodide-quaternized nitrogen of the pyridine ring) had no effect on the pinacidil-induced shortening of action potential and reduction of contraction force. 2-aminopyridine derivatives, AP21 (with 4-toluolsulfonylcarbamide fragment) and AP26 (with allyl bromide-quaternized nitrogen of the pyridine ring), showed a weak effect on pinacidil-induced shortening of action potential duration. The 2-aminopyridine derivative AP27 (with the 4-toluolsulfonylcarbamide fragment where nitrogen of the pyridine ring was quaternized by 4-nitrobenzyl bromide) had the most potent stimulatory effect on action potential duration and contraction force, which were reduced by pinacidil.

Correspondence to V. Gendvilienė, Institute of Cardiology, Kaunas University of Medicine, Sukilėlių 17, 50161 Kaunas, Lithuania. E-mail: membiof@kmu.lt

Literatūra

1. Miki T, Nagashima K, Seino S. The structure and function of the ATP-sensitive K^+ channel in insulin-secreting pancreatic beta-cells. *J Mol Endocrinol* 1999;22(2):113-23.
2. Yokoshiki H, Sunagawa M, Seki T, Sperelakis N. ATP-sensitive K^+ channels in pancreatic, cardiac, and vascular smooth muscle cells. *Am J Physiol* 1998;274(Pt 1):C25-37.
3. Gogelein H, Hartung J, Englert HC. Molecular basis, pharmacology and physiological role of cardiac $K(ATP)$ channels. *Cell Physiol Biochem* 1999;9(4-5):227-41.

4. Isomoto S, Kurachi Y. Function, regulation, pharmacology and molecular structure of ATP-sensitive K^+ channel. *FEBS Lett* 1997;409:232-6.
5. Noma A. ATP-regulated K^+ channel in cardiac muscle. *Nature* 1983;305:147-9.
6. Fujita A, Kurachi Y. Molecular aspects of ATP-sensitive K^+ channels in the cardiovascular system and K^+ channel openers. *Pharmacol Ther* 2000;85(1):39-53.
7. Weyermann A, Vollert H, Busch AE, Bleich M, Gogelein H. Inhibitors of ATP-sensitive potassium channels in guinea pig isolated ischemic hearts. *Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol* 2004;369(4):374-81.
8. Dhein S, Pejman P, Krusemann K. Effects of the I(K.ATP) blockers glibenclamide and HMR1883 on cardiac electrophysiology during ischemia and reperfusion. *Eur J Pharmacol* 2000;398(2):73-84.
9. Nichols CG, Lederer WJ. The regulation of ATP-sensitive K^+ channel activity in intact and permeabilized rat ventricular myocytes. *J Physiol* 1990;423:91-110.
10. Di Diego JM, Antzelevitch C. Pinacidil-induced electrical heterogeneity and extrasystolic activity in canine ventricular tissues. Does activation of ATP-regulated potassium current promote phase 2 reentry? *Circulation* 1993;88(3):1177-89.
11. Bekheit SS, Restivo M, Boutjdir M, Henkin R, Gooyandeh K, et al. Effects of glyburide on ischemia-induced changes in extracellular potassium and local myocardial activation: a potential new approach to the management of ischemia-induced malignant ventricular arrhythmias. *Am Heart J* 1990;119(5):1025-33.
12. Smallwood JK, Ertel PJ, Steinberg MI. Modification by glibenclamide of the electrophysiological consequences of myocardial ischaemia in dogs and rabbits. *Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol* 1990;342(2):214-20.
13. Weyermann A, Vollert H, Busch AE, Bleich M, Gogelein H. Inhibitors of ATP-sensitive potassium channels in guinea pig isolated ischemic hearts. *Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol* 2004;369(4):374-81.
14. Gurskaitė H, Gendvilienė V, Zablockaitė D, Martišienė I, Stankevičius A. Prokainamido ir jo sulfonilkarbamidinių analogų anticholinerginis poveikis jūrų kiaulytės prieširdžių elektromechaniniam aktyvumui. (Anticholinergic effect of procainamide and its sulfonilcarbamide derivatives on electromechanical activity in guinea pig atrium.) *Medicina (Kaunas)* 2005;41(12):1054-60.
15. Zablockaitė D, Gendvilienė V, Mačianskienė R, Skeberdis VA, Jurevičius J, et al. Effect of hyperosmolarity on beta2-adrenergic stimulation in human atrium. *Medicina (Kaunas)* 2005;41(5):401-8.
16. Cortes A, Cascante M, Cardenas ML, Cornish-Bowden A. Relationships between inhibition constants, inhibitor concentrations for 50% inhibition and types of inhibition: new ways of analysing data. *Biochem J* 2001;357(Pt 1):263-8.
17. Gendvilienė V, Mačianskienė R, Benetis R, Jurevičius J. Anoksijos ir adenozintrifosfato reguliuojamų kalio kanalų blokatoriaus glibenklamido įtaka žmogaus prieširdžio trabekulų susitraukimui. (Effect of anoxia and ATP-regulated potassium channel blockers glybenclamide on contraction in human atrial trabeculae.) *Medicina (Kaunas)* 2001;37(12):1494-9.
18. Fischbach PS, White A, Barrett TD, Lucchesi BR. Risk of ventricular proarrhythmia with selective opening of the myocardial sarcolemmal versus mitochondrial ATP-gated potassium channel. *J Pharmacol Exp Ther* 2004;309(2):554-9.
19. D'Alonzo AJ, Zhu JL, Darbenzio RB, Dorso CR, Grover GJ. Proarrhythmic effects of pinacidil are partially mediated through enhancement of catecholamine release in isolated perfused guinea-pig hearts. *J Mol Cell Cardiol* 1998;30(2):415-23.
20. Tosaki A, Hellegouarch A. Adenosine triphosphate-sensitive potassium channel blocking agent ameliorates, but the opening agent aggravates, ischemia/reperfusion-induced injury. Heart function studies in nonfibrillating isolated hearts. *J Am Coll Cardiol* 1994;23(2):487-96.
21. Ridley JM, Milnes JT, Zhang YH, Witchel HJ, Hancox JC. Inhibition of HERG K^+ current and prolongation of the guinea-pig ventricular action potential by 4-aminopyridine. *J Physiol* 2003;549(Pt 3):667-72.
22. Wang Z, Fermini B, Nattel S. Effects of flecainide, quinidine, and 4-aminopyridine on transient outward and ultrarapid delayed rectifier currents in human atrial myocytes. *J Pharmacol Exp Ther* 1995;272(1):184-96.
23. Robertson BE, Nelson MT. Aminopyridine inhibition and voltage dependence of K^+ currents in smooth muscle cells from cerebral arteries. *Am J Physiol* 1994;267(6 Pt 1):C1589-97.
24. Munoz-Caro C, Nino A. The nature of the receptor site for the reversible K^+ channel blocking by aminopyridines. *Biophys Chem* 2002;96(1):1-14.

Straipsnis gautas 2006 05 18, priimtas 2006 08 17

Received 18 May 2006, accepted 17 August 2006