原 著

麻酔下イヌでのアセチルコリンによる膀胱収縮に対するオキシブチニンの代謝物である 4-ethylamino-2-butyny[(2-cyclohexyl-2-phenyl) glycolate (DEOB) の作用

内田 勝幸, 中島 学, 小金井 恵, 山地 健人

明治乳業株式会社

要約: オキシブチニンは神経因性膀胱治療薬として広く臨床で用いられており, *in vitro* の検討で抗コリン作用を持つことが明らかになっている. オキシブチニンの代謝物である 4-ethylamino-2-butyny[(2-cyclohexyl-2-phenyl) glycolate (*N*-desethyloxybutynin: DEOB) も同様な作用を持つことが知られているが, *in situ* での効果については明らかでない. そこで, 麻酔下イヌを用いアセチルコリンによる膀胱収縮に対する作用についてオキシブチニンの作用と比較検討した. アセチルコリンの動脈内投与は用量依存的に (3 ~ 300 $\mu\text{g}/\text{body}$) 膀胱内圧を上昇させた. DEOB の静脈内前投与はアセチルコリンによる膀胱内圧の上昇を用量依存的に抑制した. オキシブチニンも同様な抑制作用を示した. 各用量における用量反応曲線から 5 cmH_2O の膀胱内圧上昇を引き起こすアセチルコリン濃度を算出した. Schild プロットから DEOB およびオキシブチニンの傾きを求めたところそれぞれ 0.78 (95% 信頼区間 0.45 ~ 1.11) および 1.49 (0.91 ~ 2.08) であった. また, アセチルコリンの用量反応曲線を 2 倍だけ高濃度側に移動させるのに必要な DEOB およびオキシブチニンの用量はそれぞれ 6.4 $\mu\text{g}/\text{kg}$ (95% 信頼区間 1.7 ~ 12.8 $\mu\text{g}/\text{kg}$) および 13.9 $\mu\text{g}/\text{kg}$ (6.3 ~ 24.5 $\mu\text{g}/\text{kg}$) であった. 以上のことから DEOB はオキシブチニンと同様に麻酔下イヌの膀胱においても抗ムスカリン作用を示し, その作用はオキシブチニンとほぼ同等もしくはやや強いと推察された. また, DEOB はオキシブチニンの治療効果に重要な役割を果たしていると考えられた.

緒 言

頻尿治療薬としてオキシブチニンやトルテロジンのような抗ムスカリン薬やプロピペリンやフラボキサートのようなパパベリン様作用をもつ薬物が広く用いられている(1).

オキシブチニンは臨床において神経因性膀胱治療薬として広く用いられており, 生体内では肝臓において代謝を受けて 4-ethylamino-2-butyny[(2-cyclohexyl-2-phenyl) glycolate (*N*-desethyloxybutynin: DEOB) に変換されることが報告されている(2~4). DEOB の薬理作用については Smith ら(5) がモルモット摘出膀胱標本を用いて検討し, 抗ムスカリン作用やカルシウムチャネル拮抗作用がオキシブチニンとほぼ同等の強さであると報告している. ま

た, Waldeck ら(6) もヒトの排尿筋を用いて同様な結果を見出し, 著者ら(7) もラットの摘出膀胱標本を用いて, DEOB の抗コリン作用やカルシウムチャネル拮抗作用がオキシブチニンの作用とほぼ同等であることを報告した.

一方, *in situ* での膀胱収縮に対する効果については Nishizawa ら(8) が除脳したイヌを用いて排尿反射に対するオキシブチニンの有効性を評価している. また, 黛ら(9) はネコを用いてアセチルコリンによる膀胱収縮に対しオキシブチニンが抑制作用を示すこと, また, ウサギを用いたシストメトログラムに対し用量依存的な排尿閾値の増加を報告している. 用量依存的な抗コリン作用を評価する方法としては *in vitro* でのマグヌス法が一般に用いられているが, 麻酔下の動物を用いて用量依存的な膀胱収縮に対する薬物の用量反応性について評価を行った報告はない. そこで, *in situ* の系でアセチルコリンによる膀胱収縮の用量反応性について検討するとともに, それに対する抗ムスカリン薬の作用評価が可能であるかどうかの検討を行った. 具体的には麻酔下のイヌを用い, アセチルコリンを段階的

キーワード: デスエチルオキシブチニン, オキシブチニン, イヌ, 膀胱, 膀胱内圧

〒250-0862 神奈川県小田原市成田 540

e-mail: MASAYUKI_UCHIDA@MEIJI-MILK.COM

原稿受理日: 2004 年 2 月 18 日

に繰り返し動脈内投与することにより惹起される膀胱収縮に対する DEOB の用量依存的な抗コリン作用を評価するとともに, その作用をオキシブチニンの作用と比較検討した。

実験方法

1. 実験動物

6~9 カ月齢の雌性ビーグル犬をオリエンタル丸一共同(株)より購入し, 2 週間以上の予備飼育後, 一般状態の観察において異常のみられない動物を実験に使用した。使用時の体重は $8.55 \sim 10.51$ kg であった。動物は温度 21 ± 3 , 湿度 $55 \pm 15\%$, 換気回数 10~15 回/時間および照明時間午前 7 時~午後 7 時の環境下で飼育した。実験に使用するイヌは実験前日の午後から 1 晩絶食させた。なお, 飲水は自由摂取させた。動物は 1 群 5 匹を用いた。

なお, 動物実験は日本薬理学会の定める Guiding Principles for the Care and Use of Laboratory Animals に従って行った。

2. 使用薬物

4-Ethylamino-2-butynyl(2-cyclohexyl-2-phenyl) glycolate HCl (DEOB, Orgamol S.A., Switzerland), 4-diethylamino-2-butynyl(±)- α -cyclohexyl- α -phenylglycolate (オキシブチニン, Orgamol S.A., Switzerland), アセチルコリンクロライド (Sigma), ネンブタール注射液 (ペントバルビタールナトリウム, ダイナボット(株)) を使用した。なお, DEOB は塩酸塩として, また, オキシブチニンは塩酸に溶解後, 水酸化ナトリウムで中性に調整し実験に用いた。

3. 各種測定用および投与用カニューレの装着

動物はペントバルビタールナトリウム約 25 mg/kg の静脈内投与により麻酔した後, 気管カニューレを挿入して気道を確保した。腹部正中線切開を行い, 両側の輸尿管に対して膀胱側で結紮した後, 腎臓側にアトム静脈カテーテル (7Fr) を挿入固定し, 体外への尿の導出を行った。左大腿動脈にはアトム静脈カテーテル (6Fr) を挿入し, 先端が内腸骨動脈枝より約 3 cm 上になる位置で固定し, アセチルコリン投与用に用いた。なお, アセチルコリンの注入部位は予備検討の結果, 血圧や心拍数に対する影響ができるだけ少なく膀胱内圧の上昇を確認できる部位として内腸骨動脈枝の上 3 cm を選定した。

右大腿動脈にはアトム静脈カテーテル (6Fr) を挿入・固定し, 血圧および心拍数を記録するため圧トランスデューサーに接続した。左大腿静脈にはアトム多用途チューブ

(6Fr) を挿入・固定し, 検体投与用に用いた。尿道からはウロダイナミックカテーテル (8Fr: クリエートメディック社製) を膀胱内に挿入・固定した。膀胱へのカニューレは 2 本に分岐させ, 1 本は膀胱内圧測定用に, 他の 1 本は膀胱内から尿排泄や生理食塩液注入用に用いた。膀胱へのカニューレより残尿を抜き取った後, 生理食塩液 15 mL を膀胱内に注入した。以上のカニューレーションが終了した後, 腹部切開部を縫合した。なお, 膀胱内液量は予備検討の結果から今回用いた最大投与量のアセチルコリンによる収縮反応においても排尿が起きず, かつ収縮反応が見やすい容量として 15 mL を選択した。

膀胱内および大腿動脈に挿入したカテーテルに接続した圧トランスデューサーは, ひずみ圧力用アンプ (AP-601G, 日本光電工業(株)) に接続し, それぞれ膀胱内圧および血圧を測定した。また, 心拍数はレクチコーダ (RJG-4128, 日本光電工業(株)) を用いて記録した。

4. アセチルコリンの段階的動脈内投与による膀胱収縮反応

膀胱内圧, 血圧および心拍数が安定していることを確認した後, アセチルコリン 0.3, 1, 3, 10, 30, 100 および 300 μ g/body の用量を 1 分間隔で投与して膀胱収縮を誘発した。

30 分おきにアセチルコリンの投与を行い, 少なくとも 6 回は繰り返し投与した。なお, アセチルコリン投与 3 分前には注射用水を静脈内投与した。また, 膀胱内圧は上昇値で示した。

5. アセチルコリンの段階的動脈内投与による膀胱収縮に対する DEOB およびオキシブチニンの作用

アセチルコリンによる段階的膀胱収縮が安定した後 DEOB またはオキシブチニンを静脈内投与し, 3 分後にアセチルコリンを段階的に投与した。30 分ごとに DEOB またはオキシブチニンの用量を順次増加させながら (3, 10, 30, 100 および 300 μ g/kg) アセチルコリンの段階的動脈内投与を繰り返した。なお, 対照群には媒体を静脈内投与した。

実験結果

1. アセチルコリンによる膀胱収縮

アセチルコリンを内腸骨動脈内に投与することにより, 投与直後を最大値とする一過性の膀胱内圧上昇が観察され, アセチルコリンの用量の増加に伴い, 膀胱内圧値は用量依存的な増加を示した (Fig. 1)。この収縮反応は 30 分ごとに繰り返ししても少なくとも 6 回は同一個体で再現よく認め

Fig. 1 Representative chart of acetylcholine-induced urinary bladder contraction in an anesthetized dog. Acetylcholine was cumulatively injected intra-arterially to a dog.

Fig. 2 Effects of repeated and dose-escalated acetylcholine administration on the urinary bladder pressure in anesthetized dogs. Acetylcholine was cumulatively and repeatedly administered intra-arterially to dogs. Values represent the mean $\pm$ S.E. of 5 dogs.

られ、個体間でも反応に程度の差はあるものの大きく異なることはなかった (Fig. 2)。

Fig. 3 Changes of heart rate and blood pressure just before vehicle or DEOB administration in anesthetized dogs. The horizontal axis indicates the number of vehicle or oxybutynin administration times. Vehicle or DEOB was administered intravenously every 30 min. Values represent the mean $\pm$ S.E. of 5 dogs.

2. 投与薬物による心拍数, 血圧および膀胱内圧に対する作用

今回用いた DEOB の用量では 30 分ごとの静脈内投与前における心拍数に対する作用は対照群と比較して差がなかった (Fig. 3). 血圧に対しては対照群と投与群で投与前から差が認められた (Fig. 3). しかし, その後の DEOB の段階的な静脈内投与によっても血圧はほぼ同様な値で推移した. オキシブチニンの心拍数および血圧に対する作用は対照群と比較して差がなかった (Fig. 4). また, 膀胱内圧に関してはいずれの薬物でも影響は認められなかった.

一方, アセチルコリンの段階的投与は心拍数を高用量においてやや増加させた (Fig. 5). また, 血圧に関しては用量依存的に顕著な低下作用を示した (Fig. 5). しかし, これらの作用も 30 分後では回復した.

3. アセチルコリンによる膀胱収縮に対する DEOB およびオキシブチニンの作用

アセチルコリンの用量依存的な膀胱内圧上昇に対し, DEOB の前処置は用量依存的に膀胱内圧上昇を抑制し, 300 $\mu\text{g}/\text{kg}$ の用量では 100 $\mu\text{g}/\text{body}$ までのアセチルコリンによる膀胱収縮をほぼ完全に抑制した (Fig. 6). オキシブチニンの前処置も用量依存的に膀胱内圧の上昇を抑制し, 300 $\mu\text{g}/\text{kg}$ の用量では 100 $\mu\text{g}/\text{body}$ までのアセチルコリンによる膀胱収縮をほぼ完全に抑制した (Fig. 7).

4. Schild プロットによる解析

DEOB またはオキシブチニンのアセチルコリンによる膀胱収縮に対する作用を解析するために Schild プロット解析を行った. 具体的には DEOB またはオキシブチニンの各用量前処置下に膀胱内圧を 5 cmH_2O 上昇させるのに

Fig. 4 Changes of heart rate and blood pressure just before vehicle or oxybutynin administration in anesthetized dogs. The horizontal axis indicates the number of vehicle or oxybutynin administration times. Vehicle or oxybutynin was administered intravenously every 30 min. Values represent the mean $\pm$ S.E. of 5 dogs.

必要なアセチルコリンの用量を用いて解析を行った。解析の結果から傾きを算出したところ、DEOB が 0.78 (95% 信頼区間: 0.45 ~ 1.11) (Fig. 8), オキシブチニンが 1.49 (95% 信頼区間: 0.91 ~ 2.08) (Fig. 9) であった。

また、アセチルコリンによる用量反応曲線を 2 倍高濃度側に移動させるのに必要な DEOB およびオキシブチニンの用量を求めると、それぞれ 6.4 $\mu\text{g}/\text{kg}$ (95% 信頼区間 1.7 ~ 12.8 $\mu\text{g}/\text{kg}$) および 13.9 $\mu\text{g}/\text{kg}$ (6.3 ~ 24.5 $\mu\text{g}/\text{kg}$) であった。

考 察

麻醉したイヌを用いて *in situ* でアセチルコリンの動脈内投与による膀胱内圧上昇作用を検討したところ用量依存的な膀胱内圧の上昇が認められ、*in situ* でもアセチルコリンによる用量依存的な膀胱収縮反応が得られた。この膀胱

内圧の上昇に対し DEOB は用量依存的な内圧上昇抑制作用を示した。また、DEOB による膀胱収縮抑制作用強度はオキシブチニンのそれとほぼ同等もしくはやや強かった。

オキシブチニンは日本でも膀胱痙攣、神経因性膀胱、遺尿症などの頻尿を中心とした膀胱疾患の治療に広く用いられている(1)。また、*in vitro* のマグヌス法でアセチルコリンやベサネコールによる膀胱平滑筋の収縮に対し競合的な拮抗作用を示し、カリウム収縮に対しても拮抗作用を示すことが報告されており(10)、著者らも同様な成績を得ている(7)。

オキシブチニンは肝臓において酸化を受け DEOB に代謝されることが知られている(2~4)。DEOB の薬理作用についての報告は少ないが、オキシブチニンと同様な作用を持っているとの報告が多い(5,6)。しかし、これらの報

Fig. 5 Effects of cumulatively administered acetylcholine on heart rate and blood pressure in anesthetized dogs. Values represent the mean $\pm$ S.E. of 5 dogs.

Fig. 6 Effect of DEOB on acetylcholine-induced bladder contraction in dogs. DEOB was administered intravenously 3 min before acetylcholine administration in dogs. Values represent the mean $\pm$ S.E. of 5 dogs.

告は摘出膀胱標本を用いたもので, in vivoあるいはin situで膀胱収縮作用を示す薬物に対するDEOBの抑制効果を評価した報告はなく, 黛ら(9)の報告によるネコを用いたアセチルコリン 30 µg/kgの投与によるオキシブチニンの膀胱収縮抑制効果の評価のみである。

そこで, 著者らは麻酔下のイヌを用いてアセチルコリン

を 0.3~300 µg/bodyの用量で動脈内に段階的に繰り返し投与することによって膀胱内圧を上昇させ, 膀胱内圧上昇に対する薬物反応の評価が可能であるかについて検討した。

今回の検討によりアセチルコリンの用量増加に伴い膀胱内圧は用量依存的に上昇し, マグヌス法とほぼ同様なアセチルコリンによる膀胱収縮の用量反応性が得られた。また,

Fig. 7 Effect of oxybutynin on acetylcholine-induced bladder contraction in dogs. Oxybutynin was administered intravenously 3 min before acetylcholine administration in dogs. Values represent the mean $\pm$ S.E. of 5 dogs.

Fig. 8 Schild plot for antagonism for acetylcholine-induced contraction by DEOB in the anesthetized dog urinary bladder. Schild plots for each tissue were constructed with the dose-ratios (DR) from individual experiments.

Fig. 9 Schild plot for antagonism for acetylcholine-induced contraction by oxybutynin in the anesthetized dog urinary bladder. Schild plots for each tissue were constructed with the dose-ratios (DR) from individual experiments.

この反応は繰り返し行うことが可能であった。血圧に関しては用量依存的な低下が、心拍数に関しては高用量において増加が認められたが、30 分の回復時間をとることにより、元の値に回復することが明らかになった。また、DEOB やオキシブチニンを 30 分ごとに静脈内投与しても、循環

系に対し大きな影響を与えないことから、本方法を用いることによりアセチルコリンによる用量依存的な膀胱内圧上昇に対する薬物の作用を各種用量で評価することが可能と考えられた。

DEOB あるいはオキシブチニンを前処置することによ

リアセチルコリンによる膀胱内圧上昇に対する用量反応曲線は用量依存的に右方ヘシフトした。膀胱のムスカリン受容体については各種の動物で検討されており(11~15), イヌについても Choppin and Eglen (16) は M3 受容体が膀胱に存在することを明らかにしている。オキシブチニンのムスカリン受容体に対する拮抗様式についてはこれまで多くの報告がされ, 競合的拮抗作用であることが明らかにされている。今回, アセチルコリンによる膀胱内圧上昇に対する抑制作用について Schild プロットで解析した結果, DEOB はオキシブチンと同様な傾きを示した。DEOB については著者らが *in vitro* での検討でオキシブチンと同様, 競合的拮抗作用を示すことを明らかにしており(7), 今回の *in situ* の検討でも DEOB とオキシブチンが同様な作用様式を示すことが推察された。

今回用いた各薬物の拮抗作用の強さについて比較するため *in vitro* の評価で行われているような用量反応曲線を2倍だけ高濃度側ヘシフトさせる薬物の用量を求めた。その結果, DEOB およびオキシブチニンの用量はそれぞれ 6.4 $\mu\text{g}/\text{kg}$ (95% 信頼区間 1.7~12.8 $\mu\text{g}/\text{kg}$) および 13.9 $\mu\text{g}/\text{kg}$ (6.3~24.5 $\mu\text{g}/\text{kg}$) となり, 値のみを比較すると約2倍 DEOB の方が強いという結果になった。しかし, 95% 信頼限界を考慮に入れるとほぼ同等もしくはやや強いと判断された。著者らは麻酔下のラットを用いたシストメトリ法(17)および律動的膀胱収縮反応(7)で DEOB とオキシブチンは静脈内投与でほぼ同等の効果を示すことを報告しており, 今回の成績を支持するものであった。しかし, Modiri ら(18)は覚醒下のラットを用いて排尿反射に対する DEOB の作用をオキシブチンと比較し, DEOB の抑制作用はオキシブチンの作用より弱かったと報告しており, 今回の成績とは異なる結果である。この違いについては実験方法や用いた動物が異なるものの詳細については明らかではなく今後の検討課題である。

以上の結果から, 麻酔下のイヌを用いて用量依存的なアセチルコリンによる膀胱内圧上昇に対する薬物の評価が可能となった。また, オキシブチニンの代謝物である DEOB はアセチルコリンによる膀胱内圧上昇に対して用量依存的な抑制作用を示すことから, オキシブチンによる頻尿治療において代謝物である DEOB が薬効発現の一部を担っているものと考えられた。

この論文の要旨は第75回日本薬理学会年会において発表した。

文 献

- 1) 高濱和夫・頻尿・尿失禁治療薬の薬理。薬局。2002;53: 2155-2162.
- 2) Yaich M, Popon M, Medard Y, Aigrain EJ. In-vitro cytochrome P450 dependent metabolism of oxybutynin to N-desethyloxybutynin in humans. *Pharmacogenetics* 1998;8:449-451.
- 3) Lukkari E, Taavistainen P, Juhakoski A, Pelkonen O. Cytochrome P450 specificity of metabolism and interactions of oxybutynin in human liver microsome. *Pharmacol Toxicol*. 1998;82:161-166.
- 4) Lindeke B, Hallstrom G, Johansson C, Ericsson O, Olsson LI, Stromberg S. Metabolism of oxybutynin: establishment of desethyloxybutynin and oxybutynin N-oxide formation in rat liver preparation using deuterium substitution and gas chromatographic mass spectrometric analysis. *Biomed Mass Spectrom*. 1981;8:506-513.
- 5) Smith ER, Wright SE, Aberg G, Fang Y, McCullough JR. Comparison of the antimuscarinic and antispasmodic actions of racemic oxybutynin and desethyloxybutynin and their enantiomers with those of racemic terodiline. *Arzneimittelforschung*. 1998;48:1012-1018.
- 6) Waldeck K, Larsson B, Andersson KE. Comparison of oxybutynin and its active metabolite, N-desethyl-oxybutynin, in the human detrusor and parotid gland. *J Urol*. 1997;157:1093-1097.
- 7) Uchida M, Koganei M, Murata N, Yamaji T. Effects of 4-ethylamino-2-butynyl(2-cyclohexyl-2-phenyl) glycolate, a metabolite of oxybutynin, on bladder specimens and rhythmic urinary bladder contraction in rats. *Jpn J Pharmacol*. 2002;88 Suppl I:208P.
- 8) Nishizawa O, Matsuzaki Aoto H, Makamura H, Harada T, Tsuchida S. Role of pelvic nerve in the dynamics of micturition in the decerebrate dog as determined by suprapubic endoscopic and urodynamic evaluation. *J Urol*. 1987;138:442-445.
- 9) 黛清, 渡辺潔, 田丸健次, 笠間俊男. Oxybutynin hydrochloride の膀胱および尿道に対する作用。日薬理誌。1986;87:557-571.
- 10) 金子茂, 中野大三郎, 大原雅弘, 西森司雄. 尿失禁・頻尿改善薬 Propiverine hydrochloride のラットおよびイヌ摘出膀胱における作用。日薬理誌。1999;113:145-156.
- 11) Choppin A. Muscarinic receptors in isolated urinary bladder smooth muscle from different mouse strains. *Br J Pharmacol*. 2002;137:522-528.
- 12) An J, Yun HS, Lee YP, et al. The intracellular path way of acetylcholine-induced contraction in cat detrusor muscle cells. *Br J Pharmacol*. 2002; 137:1001-1010.
- 13) Choppin A, Eglen RM, Hegde SS. Pharmacological characterization of muscarinic receptors in rabbit isolated iris sphincter muscle and urinary bladder smooth muscle. *Br J Pharmacol*. 1998;124:883-888.
- 14) Yamanishi T, Chapple CR, Yasuda K, Chess-Williams R. The role of M(2)-muscarinic receptors in mediating contraction of the pig urinary bladder *in vitro*. *Br J Pharmacol*. 2000;131:1482-1488.
- 15) Fetscher C, Fleischman M, Schmidt M, Krege S, Michel MC. M(3) muscarinic receptors mediate contraction of human urinary bladder. *Br J Pharmacol*. 2002;136:641-643.

- 16) Choppin A, Eglen RM. Pharmacological characterization of muscarinic receptors in dog isolated ciliary and urinary bladder smooth muscle. *Br J Pharmacol.* 2001;132:835-842.
- 17) Yamaji T, Murata N, Kozutsumi D, Uchida M. Effects of transdermal administration of oxybutynin on urinary bladder function. *Jpn J Pharmacol.* 2002;88 Suppl I:208P.
- 18) Modiri AR, Alberts P, Gillberg PG. Effect of muscarinic antagonists on micturition pressure measured by cystometry in normal, conscious rats. *Urology.* 2002;59:963-968.

Abstract - Effect of 4-ethylamino-2-butyny(2-cyclohexyl-2-phenyl) glycolate, metabolite of oxybutynin, on intra-artery administered acetylcholine-induced urinary bladder contraction in anesthetized dogs. Masayuki UCHIDA, Manabu NAKAJIMA, Megumi KOGANEI, and Taketo YAMAJI (Meiji Dairies Corporation, Naruda 540, Odawara 250-0862, Japan)

Folia Pharmacol. Jpn. (Nippon Yakurigaku Zasshi) **123**, 363 ~ 371 (2004)

Oxybutynin has been used for neurogenic bladder disorders in clinic and known to have anti-cholinergic and spasmolytic properties. Metabolite of oxybutynin, 4-ethylamino-2-butyny(2-cyclohexyl-2-phenyl) glycolate (*N*-desethyloxybutynin: DEOB) has been known to have similar anti-cholinergic and spasmolytic properties. However, the effect of DEOB on the urinary bladder has not been clarified in situ. Therefore, in the present study, we studied the effect of DEOB on acetylcholine-induced urinary bladder contraction in comparison with oxybutynin in anesthetized dogs. Intravenously administered DEOB dose-dependently inhibited acetylcholine-induced contractions. Oxybutynin also showed similar efficacy. From the Schild plot, it was found that the slope of DEOB and oxybutynin were 0.78 (95% confidence limit: 0.45-1.11) and 1.49 (95% confidence limit: 0.91-2.08), respectively. The dose of DEOB or oxybutynin needed to shift the concentration-dependent curve of acetylcholine rightward to a two times higher dose was calculated. The doses of DEOB and oxybutynin were 6.4 $\mu\text{g}/\text{kg}$ (95% confidence limit: 1.7-12.8 $\mu\text{g}/\text{kg}$) and 13.9 $\mu\text{g}/\text{kg}$ (95% confidence limit: 6.3-24.5 $\mu\text{g}/\text{kg}$), respectively. From the above results, it was found that DEOB has the same anti-cholinergic property as oxybutynin and that its activity was almost equipotent to that of oxybutynin. Therefore, DEOB was suggested to play an important role during oxybutynin therapy for neurogenic bladder disorder.

Keywords: DEOB; oxybutynin; dog urinary bladder; bladder pressure