НАЦІОНАЛЬНА АКАДЕМІЯ МЕДИЧНИХ НАУК УКРАЇНИ

**ДЕРЖАВНА УСТАНОВА**

**«ІНСТИТУТ ФАРМАКОЛОГІЇ ТА ТОКСИКОЛОГІЇ НАМН УКРАЇНИ»**

**ДУЧЕНКО КАТЕРИНА АНДРІЇВНА**

**УДК 615.272.2:615.225.2:616.63:547.551.4**

**ДІУРЕТИЧНА, АНАЛГЕЗУЮЧА ТА ПРОТИЗАПАЛЬНА АКТИВНІСТЬ НОВОГО ПОХІДНОГО 1,8-ДИЗАМІЩЕНИХ 7-АЛКІЛ-3-МЕТИЛКСАНТИНІВ**

**14.03.05 – фармакологія**

**Автореферат**

**дисертації на здобуття наукового ступеня**

**кандидата медичних наук**

**Київ – 2017**

Дисертацією є рукопис.

Робота виконана на кафедрі фармакології і токсикології Харківської державної зооветеринарної академії МОН України, м. Харків

**Науковий керівник:** доктор біологічних наук, доцент

**КОРНІЄНКО ВАЛЕНТИНА ІВАНІВНА** ,

Харківська державна зооветеринарна академія (м. Харків),

завідувачка кафедри фармакології і токсикології

**Офіційні опоненти:** доктор медичних наук, професор
**МОХОРТ МИКОЛА АНТОНОВИЧ,**Державна установа «Інститут фармакології
та токсикології НАМН України» (м. Київ),
завідувач відділом фармакології
серцево-судинних засобів

доктор медичних наук, професор
**ДРОГОВОЗ СВІТЛАНА МЕФОДІЇВНА**,
Національний фармацевтичний університет (м. Харків),
професор кафедри фармакології

Захист відбудеться « 5 » липня 2017 р. о 11-00 год на засіданні спеціалізованої вченої ради Д 26.550.01 при ДУ «Інститут фармакології та токсикології НАМН України», за адресою: 03680, м. Київ, вул. Ежена Потьє, 14.

З дисертацією можна ознайомитись у бібліотеці ДУ «Інститут фармакології та токсикології НАМН України» за адресою: 03680, м. Київ, вул. Е.Потьє, 14.

Автореферат розісланий « » 2017 р.

Учений секретар

спеціалізованої вченої ради

к. б. н. І. В. Данова

**ЗАГАЛЬНА ХАРАКТЕРИСТИКА РОБОТИ**

**Актуальність теми**. Фармакологічна корекція нефропатій різного ґенезу є важливою проблемою сучасної нефрології. Вважається, що нефропатія є не окремим захворюванням, а наслідком інших патологічних процесів, крім того, причинами її формування можуть бути тривалий прийом лікарських засобів, інтоксикації екзо- та ендотоксинами, радіаційне ураження, порушення метаболізму, пухлини, аномалії розвитку нирок, захворювання серцево-судинної системи (зокрема, артеріальна гіпертензія), цукровий діабет, вагітність, колагенози, захворювання суглобів тощо (С. М. Дроговоз та ін., 2010; М. В. Шестакова, М. Ш. Шамхалова, 2013; Р. Н. Новикова, Е. К. Шраменко, 2013). Функціональні зміни нормальної діяльності нирок зумовлюють нефропатію, що призводить до дизрегуляції водно-сольового обміну та кислотно-лужної рівноваги (Б. Питт и др., 2010; Р. Б. Косуба та ін., 2012; А. І. Гоженко та ін., 2012; Н. Д. Філіпець, 2016). Одним із напрямів фармакологічної корекції нефропатій є регуляція об’єму рідини, що безпосередньо пов’язана з балансом натрію (Д. Г. Іванченко та ін., 2016; M. Kim et al., 2005).

Для регуляції водно-сольового обміну та екскреторної функції нирок застосовують діуретики, зокрема, препарати групи ксантинів. Багаторічний досвід роботи, присвяченій синтезу та дослідженню фармакологічної активності нових похідних ксантинів, свідчить про виправданий інтерес науковців до цього класу сполук через їх високий потенціал як діуретичних засобів (Б. А. Самура, 2010; Б. А. Самура та ін., 2012, 2016; М. І. Романенко та ін., 2016; Б. О. Прийменко та ін., 2016; В. І. Корнієнко, 2016). Отримано результати досліджень щодо різних видів фармакологічної активності, притаманної похідним ксантинів (М. Г. Бакуменко, 2013; И. Б. Самура, О. А. Кривуша, Н. И. Романенко, 2013). Окрім діуретичної активності для препаратів цього хімічного класу встановлено вазо- та бронходилатуючу, антигіпоксичну, цитопротекторну та антигістамінну дію, здатність стимулювати глікогеноліз, гіпохолестеринемічний, гіполіпідемічний та антиагрегантний ефекти тощо, що обґрунтовує можливість їх застосування за патологічних станів, що зумовлюють розвиток нефропатій (M. Kim et al., 2009; I. Han L. et al., 2011). Водночас, застосування впроваджених у практику охорони здоров’я ксантинів обмежується не лише недостатньою ефективністю нормалізації водно-електролітного обміну, здатністю спричиняти гіпокаліемію, гіперурикемію, метаболічний алкалоз, але й низкою побічних ефектів з боку шлунково-кишкового тракту, серцево-судинної та нервової систем. Постає питання про необхідність удосконалення структури похідних ксантинів із метою підвищення їх ефективності та зменшення спектру побічних реакцій (І. М. Білай, 2011; К. В. Александрова та ін., 2016; Б. А. Самура та ін., 2016). Впровадження нових препаратів – похідних ксантинів – обтяжується не лише маркетинговими, економічними, технологічними обставинами, але й недосконалими характеристиками нових синтезованих сполук, зокрема, лише одним видом активності (діуретичної). Тому наступний аспект актуальності даного дослідження полягає у пошуку сполуки – похідного ксантину, якій притаманні не лише діуретичний, а й знеболювальний та протизапальний ефекти. Це зумовлено тим, що численні патологічні стани, що призводять до розвитку нефропатії, супроводжуються запальним процесом та/або больовим синдромом. Водночас, тривале застосування протизапальних засобів нестероїдної природи (НПЗП) разом із діуретиками в багатьох випадках є не лише недоцільним, але й небезпечним через послаблення діуретичного ефекту та ризик розвитку аналгетичної нефропатії (ниркової недостатності), що зумовлено інгібуванням синтезу простагландину Е2 та простацикліну, вазоконстрикцією та зменшенням ниркового кровотоку і, як наслідок, порушенням водно-електролітного обміну (В. Д. Малишев, 2005).

Зважаючи, що реалізація діуретичного ефекту похідних ксантинів відбувається через інгібування фосфодіестерази та накопичення цАМФ, що призводить до зменшення концентрації вільного кальцію в міоцитах і в опасистих клітинах, а також через вплив на синтез та активність простагландинів (І. Б. Самура та ін., 2013), можна передбачити наявність у сполук цього хімічного ряду протизапальної та знеболювальної дії. Це припущення базується й на вже відомих механізмах розвитку вказаних ефектів: розслаблення гладеньких м’язів та зменшення вивільнення з опасистих клітин гістаміну, серотоніну та інших біогенних амінів, що супроводжують запалення та сенсибілізують больові рецептори. Також встановлено, що похідні ксантинів гальмують продукцію запальних цитокінів, зокрема, інтерлейкіну-1β, та активують синтез інтерлейкіну-10, що опосередковує протизапальну дію (А. Н. Беловол, 2012; І. Б. Самура та ін., 2013). Отже, оптимізація структури та дослідження нових похідних ксантину, яким притаманна, окрім діуретичної, знеболювальна та/або протизапальна дія, будуть сприяти удосконаленню фармакологічної корекції нефропатій.

Таким чином, беручи до уваги необхідність оптимізації фармакологічної корекції водно-сольового гомеостазу та екскреторної функції нирок за нефропатій, що супроводжуються запальним процесом, а також із урахуванням того, що похідні ксантину є структурно наближеними до біологічних молекул організму людини сполуками, і їх метаболізм достатньо адаптований еволюційним процесом, аналізуючи дані комп’ютерного прогнозування фармакологічної активності вперше синтезованих 1,8-дизаміщених-7-алкіл-3-метилксантинів актуальним є проведення фармакологічного скринінгу цих сполук з метою пошуку більш ефективних та безпечних речовин із діуретичною і протизапальною та/або аналгетичною активністю.

Дисертаційне дослідження присвячене фармакологічному скринінгу серед зазначених новосинтезованих похідних ксантину, виділенню сполуки-лідера за діуретичною дією, вивченню інших видів її активності (зокрема, протизапальної і аналгетичної) та нешкідливості.

**Зв’язок роботи з науковими програмами, планами, темами.** Дисертацію виконано відповідно до плану науково-дослідних робіт Запорізького державного медичного університету МОЗ України і Харківської державної зооветеринарної академії в межах теми «Фармакологічне дослідження біологічно активних речовин і лікарських засобів синтетичного та природного походження, їх застосування в медичній практиці» (номер державної реєстрації 0106U003709), в якій дисертант є співвиконавцем.

**Мета та задачі дослідження**. *Мета* роботи – на основі даних комп’ютерного прогнозування та фармакологічного скринінгу 90 вперше синтезованих 1,8-дизаміщених 7-алкіл-3-метилксантинів визначити сполуку-лідер за діуретичною дією та вивчити механізм її реалізації, дослідити протизапальну та аналгезуючу активності, а також гостру токсичність.

Для досягнення поставленої мети необхідно було вирішити такі *задачі*:

1. Провести комп’ютерний прогноз біологічної активності у ряду синтезованих 1,8-дизаміщених 7-алкіл-3-метилксантинів та відібрати сполуки із високою вірогідністю впливу на функцію нирок.
2. Вивчити гостру токсичність обраних похідних 1,8-дизаміщених 7-алкіл-3‑метилксантинів.
3. Визначити сполуку-лідер за діуретичною дією серед похідних 1,8‑дизаміщених 7-алкіл-3-метилксантинів.
4. Встановити вплив сполуки-лідера (фуроксану) на основні показники водно-сольового обміну порівняно з ефектами гідрохлортіазиду.
5. Дослідити функціональний стан нирок за одноразового та курсового уведень фуроксану за умов водного та сольового навантаження.
6. Визначити механізми реалізації діуретичної дії сполуки-лідера.
7. Оцінити вплив фуроксану на морфофункціональний стан нирок за умов експериментальних нефропатій.
8. Дослідити протизапальну та аналгезуючу дію фуроксану, а також його вплив на фізичну витривалість.

*Об’єкт дослідження* – удосконалення фармакологічної корекції нефропатій.

*Предмет дослідження* – гостра токсичність, ефективність (діуретична, протизапальна та аналгезуюча дія) та механізми дії сполуки-лідера (фуроксану) серед похідних 1,8‑дизаміщених 7-алкіл-3-метилксантинів за умов нефропатій.

**Методи дослідження:** комп’ютерний прогноз, фармакологічні, токсикологічні, біохімічні, радіоімунологічні, гістоморфологічні та статистичні.

**Наукова новизна одержаних результатів.** За результатами проведеного комп’ютерного прогнозу визначено фармакологічні властивості вперше синтезованих 1,8‑дизаміщених 7-алкіл-3-метилксантинів як потенційних діуретичних субстанцій із протизапальною та/або аналгетичною дією. Банк даних комп’ютерного прогнозу PASS був доповнений результатами вивчення фармакологічної активності досліджуваних речовин. За результатами фармакологічного скринінгу синтезованих похідних ксантинів виявлено сполуку-лідер (фуроксан) за діуретичною активністю.

Поглиблено уявлення про нешкідливість похідних 1,8‑дизаміщених 7-алкіл-3-метилксантинів – визначено їх низьку токсичність (IV-V класи за класифікацією К. К. Сидорова).

Встановлено виразні діуретичний та натрійуретичний ефекти фуроксану, доведено його здатність нормалізувати порушення кислотно-лужної рівноваги сечі, водно-електролітного обміну, посилювати фільтраційну функцію нирок, зменшувати реабсорбцію води та натрію. Визначено, що фуроксан зменшує об’єм рідини в організмі, нормалізує електролітний склад та біохімічні показники плазми, а також меншою мірою, ніж гідрохлортіазид, виводить калій.

Досліджено, що діуретична активність фуроксану реалізується через вплив на ренін-ангіотензин-альдостеронову та калікреїн-кінінову системи, синтез простагландину Е2, натрійуретичного пептиду.

Встановлено виразну нефропротекторну активність фуроксану за результатами морфофункціональних досліджень нирок на тлі різних моделей нефропатій: індукованої калію хроматом та доксорубіцином.

Доведено, що потенційному діуретичному засобу фуроксану притаманні протизапальна та аналгезуюча дія.

**Практичне значення одержаних результатів.** Дані комп’ютерного прогнозу засвідчили доцільність вивчення різних видів фармакологічної активності похідних 1,8-дизаміщених 7-алкіл-3-метилксантинів для встановлення залежності ефекту від структури синтезованих речовин та виявлення найбільш активних молекул із полімодальною дією. Експериментально обґрунтовано можливість використання фуроксану для нормалізації водно-електролітного обміну, кислотно-лужної рівноваги сечі за умов нефропатій різного ґенезу. Обґрунтовано доцільність подальшого доклінічного вивчення фуроксану як потенційного діуретичного засобу із протизапальною та аналгетичною активністю.

Запропоновано використання похідних 3-метилксантину для фармакологічної корекції порушень водно-сольового обміну при позаклітинній гіпергідратації організму (інформаційний лист МОЗ України, 2016 р.) та корекцію похідними 3‑метилксантину діяльності нирок при пригніченій функції ренін-ангіотензін-альдостеронової системи (інформаційний лист МОЗ України, 2016 р.).

На підприємстві ТОВ «ХФП «Здоров’я народу» планується впровадження в виробництво лікарського засобу у вигляді таблеток та/або капсул «Фуроксан», який проявляє діуретичну, аналгезуючу та протизапальну дію. Розробка лікарського засобу «Фуроксан» включена до плану розробок ТОВ «ХФП «Здоров’я народу» на 2018-2019 роки.

Результати дослідження впроваджено в науково-педагогічний процес профільних кафедр Харківської державної зооветеринарної академії, Запорізького державного медичного університету, Національного фармацевтичного університету, Харківського національного університету імені В. Н. Каразіна, що підтверджено відповідними актами.

**Особистий внесок здобувача**. Дисертаційна робота є самостійною завершеною науковою працею. Разом із науковим керівником визначено напрям досліджень, сформульовано мету і задачі, окреслено методичні підходи та моделі, відповідно до яких виконано експериментальні дослідження. Автором особисто проведені патентно-інформаційний пошук, узагальнений світовий досвід досліджень за темою дисертаційної роботи. Самостійно виконані усі експериментальні дослідження, проведені аналіз та систематизація отриманих даних, їх наукова інтерпретація, сформульовано висновки та практичні рекомендації. У наукових публікаціях дисертантом наведені дані власних досліджень.

**Апробація результатів дослідження.** Результати дослідження доповідались та обговорювались на XXXІІІ Всеукраїнській науково-практичній конференції за участю міжнародних спеціалістів «Ліки – людині. Сучасні проблеми фармакотерапії і призначення лікарських засобів» (Харків, 8 квітня 2016 р.), 7-й інтернаціональній фармацевтичній конференції «Science and practice 2016» (Каунас, Литва, 20-21 жовтня 2016 р.), 3-й міжнародній інтернаціональній науково-практичній конференції «Topical Problem of Modern Science and Possible Solution», «Modern Scientific Achievemants and Their Practical Ahhlicftion» (Дубаї, Об’єднані Арабські Емірати, 28-29 вересня, 27-29 жовтня 2016 р.), міжнародній науково-практичній конференції «Нове у медицині сучасного світу» (Львів, 25-26 листопада 2016 р.).

**Публікації.** За матеріалами дисертації опубліковано 19 робіт, із них 10 статей у фахових наукових виданнях, у тому числі 1 стаття – у зарубіжному виданні, 7 тез доповідей у матеріалах з’їздів, міжнародних конгресів, науково-практичних конференцій, видано 2 інформаційні листи,

**Обсяг і структура дисертації.** Дисертаційна робота викладена на 176 сторінках друкованого тексту, складається зі вступу, огляду літератури, розділу «Матеріали та методи дослідження», 5 розділів власних досліджень, розділу, присвяченого аналізу й узагальненню результатів дослідження, висновків та списку використаних джерел літератури, який містить 302 посилання, серед яких 190 – кирилицею, 112 – латиницею. Дисертація ілюстрована 21 таблицею та 12 рисунками.

**ОСНОВНИЙ ЗМІСТ РОБОТИ**

**Матеріали та методи дослідження.** Експерименти виконано на 430 статевозрілих білих нелінійних щурах обох статей масою 170-200 г, 480 білих нелінійних мишах масою 20-22 г. Дослідження проведено в науково-навчальному центрі та на кафедрі фармакології і токсикології Харківської державної зооветеринарної академії. Тварин утримували у віварії на стандартному харчовому раціоні з вільним доступом до відстояної водогінної води, при сталій температурі повітря (20 ±2 ºС) та вологості (50-60 %). Світловий режим відповідав природному хроноритму «день/ніч». Роботу з тваринами проводили згідно з міжнародними вимогами щодо гуманного ставлення до тварин та з дотриманням вимог директиви 86/609/ЕЕС та «Європейської конвенції захисту хребетних тварин, яких використовують для експериментальних і інших наукових цілей» (Страсбург, 1986). При роботі зі щурами дотримувались загальних етичних принципів експерименту на тваринах (Закон України № 3447-ІV «Про захист тварин від жорстокого поводження»), а також «Положенням про використання тварин у біомедичних дослідженнях» та Статуту Української асоціації з біоетики (1992).

За результатами комп’ютерного прогнозу при застосуванні програми PASS (Prediction of Activity Spectra for Substances) за допомогою Java аплету сайту прогнозу спектру біологічної активності http://www. pharmaexpert.ru/ PASSоline/ predict.php встановлено високу вірогідність діуретичної дії у 90 вперше синтезованих похідних 1,8-дизаміщених 7-алкіл-3-метилксантинів та визначено залежність їх активності від хімічної структури. Досліджувані сполуки відрізняються від раніше синтезованих похідних ксантинів, вивчених та описаних у роботах докт. біол. наук В. І. Корнієнко N-С8-заміщених і конденсованих похідних ксантину, є іншими хімічними сполуками, яким притаманна діуретична, аналгетична та протизапальна дії.

Досліджувані сполуки синтезовано на кафедрі біологічної хімії Запорізького державного медичного університету під керівництвом докт. фарм. наук, професора М. І. Романенка. Структуру синтезованих речовин (рис. 1) підтверджено за допомогою сучасних фізико-хімічних методів елементного аналізу, ІЧ-, УФ-спектроскопії (на приладі «Specord OR – 75»), ПМР-спектрометрії (на приладі «Bruker AC 300») і зустрічним синтезом, а чистоту синтезованих речовин контролювали методом тонкошарової хроматографії на пластинках Silufol UV – 254 в різних системах розчинників.

На основі результатів комп’ютерного прогнозу відібрано 30 перспективних сполук із 90 вперше синтезованих похідних 1,8-дизаміщених 7-алкіл-3-метилксантинів (рис. 1).

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
|

|  |
| --- |
| **Базова структура 1**похідні 8-амінозаміщених 7-(2-гідрокси-3-*п*-метоксифенокси-)пропіл-3-метилксантину   |

 | **Сполуки 1-11**де **R** – С5Н11N2; C8H16N; C4H11N2; C6H15N2; С5Н3NО; C4H10N; C4H8N;C6H13N2; C7H14N; C8H16NO; C11H21N2 |
| **Базова структура 2**похідні 8-аміноаміщених 7-(2-гідрокси-3-*п*-метоксифенокси-)пропілтеофіліну  | **Сполуки 12-22** де **R** – С10Н19N2; С6Н13N3; C4H10N; C3H8N; C4H10N; C2H6N; C2H6N; C6H14N; C8H16N; H2N; C7H14N |
| **Базова структура 3**похідні 8-амінозаміщених 7-(2-гідрокси-*м*-етилфенокси-)пропілксантину | **Сполуки 23-30**де **R** – H (спол. 23-27);CH3 (спол. 28-30)**R1** – C5H11N; С4Н10NО; C10H9N2O; C11H11N2О; C5H10NO; C3H8NO; C4H10NО; C5H11N |

Рис. 1. Структурні формули 30 перспективних похідних 1,8-дизаміщених 7‑алкіл-3-метилксантинів.

З метою вивчення нешкідливості та орієнтовного визначення умовно ефективних доз вперше синтезованих сполук для подальшого фармакологічного скринінгу досліджено гостру токсичність та встановлено середньолетальні дози (ЛД50) за внутрішньоочеревинного введення речовин білим мишам і щурам (для сполуки-лідера). Оцінку результатів вивчення гострої токсичності проведено за класифікацією К. К. Сидорова.

Фармакологічний скринінг діуретичної активності 30 найбільш перспективних 1,8-дизаміщених 7-алкіл-3-метилксантинів, відібраних за результатами комп’ютерного прогнозу, проведено у порівнянні з класичним діуретичним засобом гідрохлортіазидом, для якого відомі механізми реалізації фармакологічної дії, за методом Є. Б. Берхіна (1977) на нелінійних щурах із визначенням діурезу за 2 та 4 години після введення сполук у шлунок у дозі, що становила 1/20 від ЛД50. За виразністю діуретичної дії серед похідних 1,8-дизаміщених 7-алкіл-3-метилксантинів відібрано сполуку-лідер під номером 5 з робочою назвою фуроксан.

Фармакологічну активність фуроксану як потенційного діуретичного засобу досліджували з визначенням показників функціонального стану нирок у щурів за умов індукованого та спонтанного діурезу після одноразового та курсового уведення (Е. Б. Берхин, 1977, В. М. Брюханов, 2009): швидкості клубочкової фільтрації (ШКФ), канальцевої реабсорбції та інших показників за загальноприйнятими формулами (С. И. Рябов, Ю. В. Наточин, 1997); концентрації іонів натрію й калію в сечі й плазмі крові за методом полум’яної фотометрії на плазмовому аналізаторі рідин ПАЖ-2 (В. В. Бардин, Е. С. Войчинова, М. И. Булатов, 1988); умісту креатиніну (ммоль/л) у сечі та плазмі крові на спектрофотометрі СФ‑46 (довжина хвилі 590 нм) за методом Фоліна у модифікації Є. Б. Берхина, Ю. І. Іванова (1972); умісту простагландину Е2 у плазмі за методом Б. М. Яффе (1973); натрійуретичної активності плазми крові щурів за умов підвищеної продукції натрійуретичного пептиду (НУП) шляхом сольового навантаження 0,9 % розчином натрію хлориду в об’ємі 3 % від маси тіла тварини (Ю. И. Иванов, В. Ф. Орловский, 1980). Попередньо визначали натрійуретичну активність плазми крові щурів (в од/мл НУП) за експресією іонів натрію з сечею. За умовну одиницю приймали таку його кількість, що у 2 рази збільує натрійурез порівняно з контролем. НУП плазми крові визначали за формулою (Р. Б. Косуба, І. Г. Кишкан, 2012).

Ефективність та механізми діуретичної дії фуроксану досліджено за умов активації та пригнічення мінералокортикоїдної активності на тлі навантаження 0,9 % розчином натрію хлориду в об’ємі 3 % від маси тіла тварини.

*Модель інгібування альдостеронових рецепторів* відтворювали за введення тваринам спіронолактону («Гедеон-Ріхтер», Угорщина) у дозі 20 мг/кг перорально протягом 4 днів.

*Модель активації альдостеронових рецепторів* відтворювалишляхом введення дезоксикортикостерону ацетату (ДОКСА) у дозі 10 мг/кг перорально протягом 4 днів.

На *моделі пригнічення ренін-ангіотензинової системи* досліджували зміни у функціонуванні нирок після попереднього семиразового (1 раз на добу) перорального введення фуроксану в дозі 25 мг/кг при застосуванні його сумісно з еналаприлом, який уводили протягом останніх 4 діб до власне досліду в шлунок у дозі 10 мг/кг за сольового навантаження 0,9 % розчином натрію хлориду в об’ємі 3 % від маси тіла тварини, що відтворювало умови стимуляції волюморецепторів.

*Нефропатію, індуковану калію хроматом,* викликали одноразовим підшкірним уведенням тваринам 2,5 % розчину калію хромату в дозі 0,07 мл/100 г маси тіла, фуроксан уводили перорально в дозі 25 мг/кг у профілактичному (за 3 доби до розвитку гострої ниркової недостатності (ГНН) та лікувальному (у першу добу на тлі ГНН протягом 6 днів) режимах.

 *Модель експериментальної доксорубіцинової нефропатії* відтворювали внутрішньом’язовим введенням протипухлинного антибіотика антрациклінового ряду доксорубіцину («Хаарлем», Нідерланди) 1 раз на тиждень, всього 4 рази впродовж 28 діб у дозі 5 мг/кг (І. А. Зупанець, С. К. Шебеко, 2004). Фуроксан уводили у шлунок в дозі 25 мг/кг у лікувальному режимі протягом усіх 28 діб моделювання патології.

Заморфометричних досліджень нирок оцінювали ступінь ураження ниркових тілець, нефротелію канальців, наявність змін та їх інтенсивність у інтерстиції за методами (Х. Лупа, 1980).

*Протизапальну активність* фуроксану досліджено на моделі гострого ексудативного запалення в щурів, спричиненого карагеніном (λ-карагенін, «Fluka», Швейцарія), за умов субплантарного введення 1 % розчину в об’ємі 0,1 мл. Активність фуроксану порівнювали із диклофенаком натрію (М. А. Мохорт та ін., 2001).

*Аналгетичну дію* фуроксану вивчено в щурів на моделі «оцтовокислих корчів» за внутрішньочеревного введення 0,75 % водного розчину оцтової кислоти в дозі 1 мл на 100 г маси тіла тварини (М. А. Мохорт та ін., 2001).

Вплив на фізичну витривалість щурів визначали за умов тесту примусового плавання із навантаженням 20 % від маси тіла тварини (О. В. Стефанов, 2001).

 *Статистичні методи*. Нормальність розподілу отриманих даних оцінювали за критерієм Шапіро-Уілка (W). Результати представлені у вигляді середнього арифметичного та стандартної похибки репрезентативності середнього значення. Вірогідність між середніми значеннями у двох вибірках визначали за параметричним критерієм Стьюдента (t) та непараметричним критерієм Манна-Уїтні (U) в залежності від характеру розподілу даних. Статистично значущими вважали відмінності при p<0,05.

**РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕНЬ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ**

За результатами комп’ютерного прогнозу фармакологічної активності із використанням програми PASS визначено вірогідну діуретичну активність, що властива 30 похідним 1,8-дизаміщених 7-алкіл-3-метилксантинів. Цей факт обґрунтував доцільність подальшого фармакологічного скринінгу зазначених сполук на діуретичну активність, визначення сполуки-лідера, вивчення його специфічної діуретичної дії та встановлення механізму її реалізації, а також дослідження інших видів фармакологічної активності, зокрема, протизапальної (антиексудативної) та аналгезуючої.

*Дослідження гострої токсичності нових синтезованих похідних 1,8-дизаміщених 7-алкіл-3-метилксантинів.* Результи дослідження гострої токсичності 30 синтезованих речовин свідчать, що найтоксичнішою є сполука 19 – 7-β-(2-гідрокси-3-метоксифенокси-)пропіл-8-*н*-гексиламінотеофілін (ЛД50 = 225 мг/кг). Заміна у 8-му положенні молекули 8-амінопохідних 7-β-(2-гідрокси-3-*п*-метоксифенокси)пропілтеофіліну *н*-гексиламінового радикалу на *н*-бутиламіновий (сполука 14) або на 4-фенілпіперазин-1-ільний (сполука 12) приводила до зменшення токсичності. Менш токсичними є більшість похідних 8-амінозаміщених 7-β-гідрокси-3-*п*-етилфенокси-)пропілтеофіліну (сполуки 23-27), ЛД50 = 590 – 935 мг/кг. Середньолетальні дози досліджених 8-амінозаміщених 7- β-(2-гідрокси-3-*п*-етилфенокси-)пропілтеофіліну (сполуки 28-30) знаходяться в інтервалі 580 – 1095 мг/кг. За класифікацією К. К. Сидорова у ряду 1,8-дизаміщених 7-алкіл-3-метилксантинів із 30 сполук 28 речовин можна віднести до малотоксичних (ІV клас), а дві сполуки – 28 та 29 – до практично нетоксичних речовин (V клас). При макроскопічному дослідженні внутрішніх органів тварин патологічних змін у морфоструктурі органів (мозку, серця, печінки, нирок і селезінки) не виявлено. Отримані результати дозволяють стверджувати, що досліджувані сполуки мають сприятливий профіль нешкідливості (К. А. Дученко та ін., 2015).

*Фармакологічний скринінг діуретичної активності похідних 1,8-дизаміщених 7-алкіл-3-метилксантинів.* Результати вивчення діуретичної активності свідчать, що похідні 8-аміно-7-(2-гідрокси-3-*n*-метоксифенокси-)-пропіл-3-метилксантинів (сполуки 1-11) у дозі 1/20 від ЛД50 збільшують спонтанний діурез у тварин через 4 години в межах від 25 % (р<0,05) до 225 % (р<0,001), а найвиразніший ефект (посилення сечовиділення на 348 % відносно контролю) чинить сполука 5 – 3‑метил-7-(2-гідрокси-3-*n*-метоксифенокси)пропіл-8-(фурил-2)метиламіноксантин (робоча назва – фуроксан).

 Сполуки 12-22, що є похідними 8-амінозаміщених 7-(2-гідрокси-3-*n*-метоксифенокси)-пропілтеофіліну, чинять різновекторний вплив на видільну функцію нирок: сполуки 12, 14-17 та 19-22 стимулюють її у щурів, підвищуючи діурез за 4 години спостереження на 42,4-157,6 % (р<0,05), водночас, заміни у 8-му положенні молекули диетиламінового радикала (сполука 16) на *n*‑метилбензиламіновий (сполука 20), пропіламіновий (сполука 15), етиламіновий (сполука 17) фрагменти сприє зниженню діуретичної активності; сполука 18 взагалі не впливає на діурез у щурів, а сполука 13 – 7-(2-гідрокси-3-*n*-метоксифенокси)пропіл-8-(4-фенілпіперазин-1-іл)теофілін – чинить виразний антидіуретичний ефект, що характеризується зменшенням сечовиділення на 4 годину на 38,8 % (р<0,05).

Встановлено, що серед похідних 8-амінозаміщених 7-(2-гідрокси-*м*-етилфенокси)-пропілтеофіліну (сполуки 23-30) найвиразнішу діуретичну активність чинить сполука 27 – 3-метил-7-(2-гідрокси-3-*м*-етилфенокси)-пропіл-8-(фурил-2)-метиламіноксантин, однак заміна у базовій структурі (фурил-2)-метиламінового радикалу на інші призводить до суттєвого зниження діуретичної дії (К. А. Дученко, 2016, К. А. Дученко та ін., 2016).

Фармакологічну активність нових похідних ксантинів порівнювали з гідрохлортіазидом, діуретичну дію якого верифіковано на рівні 184,4-190,1 %. Діуретичний ефект найбільш ефективних сполук наведений на рис. 2.



**контроль**

Рис. 2. Діуретична активність 1,8-дизаміщених 7-алкіл-3-метилксантинів. Примітки:

1. По осі ординат – зміна діурезу (відносно контролю), %;
2. \* – статистично значущі відмінності (р<0,05) порівняно з контролем (100 %).

Отже, за результатами скринінгового дослідження визначений лідер – сполука 5 – 3-метил-7-(2-гідрокси-3-метоксифенокси)пропіл-8-(фурил-2)метил-аміноксантин (робоча назва – фуроксан, рис. 3) із найвищою діуретичною активність серед досліджених сполук. ЛД50 фуроксану для мишей за внутрішньоочеревинного введеня становить 835 мг/кг, для щурів – 1320 мг/кг, що дозволяє віднести цю сполуку до ІV класу токсичності за класифікацією К. К. Сидорова. За методом Б. М. Штабського вирахувано середньоефективну (за діуретичною дією) дозу (ЕД50) фуроксану, яка становить 25 мг/кг.

|  |  |
| --- | --- |
|  | Рис. 3. Структурна формула фуроксану.Брутто формула – C21H24N5O6.Молекулярна маса – 441,444. |

За фізико-хімічними властивостями фуроксан являє собою білий кристалічний порошок, без запаху, гіркий на смак, розчинний у воді, диметилформаміді і диметилсульфоксиді, практично не розчинний в етанолі, ефірі, ацетоні; плавиться із розкладанням при температурі 218-220 °С.

*Вивчення специфічної фармакологічної активності фуроксану як діуретичного засобу.* За одноразового внутрішньошлункового введення фуроксану в дозі 25 мг/кг добовий діурез збільшується на 210,4 % (р<0,05). Концентрація іонів натрію в сечі щурів зростає на 51,9 % (р<0,05), водночас концентрація іонів калію в сечі невірогідно збільшується лише на 5,6 % (р>0,05). Екскреція натрію на тлі фуроксану зростає у 1,7 разу (р<0,05), калію – у 1,23 разу (р<0,05), а креатиніну – у 1,49 разу (р<0,05), що свідчить про посилення ШКФ. Гідрохлортіазид в дозі 25 мг/кг (ЕД50) за цих умов збільшує діурез на 92,2 % (р<0,05), тобто, за цим показником поступається фуроксану більш ніж у 2 рази. Крім того, гідрохлортіазид також призводить до зростання в сечі концентрації натрію на 49 % (р<0,05), калію на 12,6 %, а також збільшує екскрецію іонів натрію на 23,3 % (р<0,05) і калію на 27,5 % (р<0,05) відносно контролю.

Фуроксан підвищує концентрацію ендогенного креатиніну в сечі у 2,07 разу (р<0,05), а екскрецію ендогенного креатиніну – у 1,98 разу (р<0,05), тимчасом як гідрохлортіазид збільшує вміст ендогенного креатиніну в сечі у 1,82 разу (р<0,05) та його екскрецію із сечею у 1,28 разу (р<0,05), що також свідчить про посилення ШКФ.

Курсове (7 діб) уведення фуроксану сприяє збільшенню сечовиділення у щурів (табл. 1), про що свідчить зростання діурезу через 3 та 7 діб на 226,1-236,3 % (р<0,05). Екскреція іонів натрію на тлі фуроксану збільшується в 2,27-2,38 разу (p<0,05), калійурез зростає в 1,83 разу (p<0,05) (К. А. Дученко, В. І. Корнієнко, 2016).

*Таблиця 1*

**Вплив курсового (7 діб) введення фуроксану на функцію нирок у щурів**

**за умов спонтанного діурезу (M±m, n=7)**

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| Показники | Контроль(1 доба) | Фуроксан | Через 3 доби після відмінифуроксану |
| через 3 доби | через 7 діб |
| Діурез, мл/доба/100 г маси | 1,57±0,28 | 5,12±0,47\* | 5,28±0,34\* | 1,65±0,18 |
| Споживання води, мл | 17,2±1,41 | 20,7±1,52 | 23,9±1,52\* | 18,0±1,38 |
| Екскреція Na+,мкмоль/доба/100 г маси | 3,64±0,24 | 8,27±0,64\* | 8,68±0,51\* | 4,12±0,22 |
| Екскреція K+, мкмоль/доба/100 г маси | 318,2±37,8 | 582,34±71,6\* | 592,7±41,2\* | 336,0±34,1 |
| Na+/ K+ коефіцієнт | 0,011±0,001 | 0,014±0,001\* | 0,015±0,001\* | 0,012±0,001 |
| Екскреція креатиніну, мкмоль/доба/100 г маси | 2,12±0,17 | 3,52±0,21\* | 3,71±0,25\* | 2,57 ±0,12 |
| Екскреція білка,мг/доба/100 г маси | 0,68±0,06 | 0,74±0,09 | 0,62±0,05 | 0,51±0,03 |

Примітка. \* – статистично значущі відмінності (р<0,05) порівняно з контролем.

Аналогічний вплив на діурез фуроксан чинить і за умов водного навантаження: через 4 години сполука за однократного введення посилює сечовидідення на 221,4 % (р<0,05), у той час як гідрохлортіазид – лише на 94,8 % (р<0,05), що свідчить про виразнішу діуретичну дію фуроксану. Крім того, фуроксан приводить до вірогідного збільшення концентрація іонів натрію в сечі щурів у 3,85 разу (р<0,05) та екскреції іонів натрію у 2,38 разу (р<0,05), тимчасом як на тлі гідрохлортіазиду вміст іонів натрію у сечі зростає у 2,78 разу (р<0,05), а натрійурез посилюється у 1,86 разу (р<0,05). Цей ефект фуроксану вірогідно свідчить про зменшення реабсорбції натрію в проксимальних і дистальних канальцях нефронів (А. А. Лєбєдєв, 2002).

*Механізми діуретичної дії фуроксану.* Альдостерон разом із реніном та ангіотензином утворюють ренін-ангіотензин-альдостеронову систему, що є регулятором водно-електролітного обміну та артеріального тиску. Крім того, модуляторами функції нирок є кініни та простагландини, вплив яких реалізується через дилатацію ниркових артеріол та, як наслідок, збільшення клубочкової фільтрації. Механізми дії діуретиків можуть бути опосередковані їх впливом на мінералокортикоїдну активність, ренін-ангіотензинову систему, синтез кінінів та простагландинів. Саме тому для дослідження механізмів дії фуроксану нашу увагу було зосереджено на цих ключових ланках регуляції функції нирок (Е. А. Дученко, 2016).

*Вплив фуроксану на водно-сольовий обмін на тлі модуляції мінералокортикоїдної активності.* На моделі блокади мінералокортикоїдної активності (табл. 2) фуроксан сприє посиленню сечовиділення в 3,26 разу (р<0,05), збільшує концентрацію іонів натрію у сечі у 2,44 разу (р<0,05) та натрійурез у 2,34 разу (р<0,05) порівняно із аналогічними показниками щурів контрольної групи (К.А.Дученко, 2016).

Спіронолактон збільшує концентрацію у сечі та екскрецію іонів натрію у 1,72 разу (р<0,05) та 2,02 разу (р<0,05) відповідно, причому концентрація іонів калію зменшується на 17,9 %, а калійурез – на 10,2 %. На тлі спіронолактону фуроксан збільшує концентрацію іонів калію в сечі у 1,38 разу (р<0,05), а калійурез – у 1,24 разу (р<0,05). Сумісне застосування фуроксану та спіронолактону не впливає на екскрецію креатиніну, однак приводить до суттєвого посилення гідроурезу та збільшення натрійурезу, а також зниження концентрації в сечі іонів калію порівняно з кожним застосованим окремо засобом.

Сумісне застосування фуроксану з ДОКСА (табл. 2) також не призводить до зміни вмісту креатиніну в сечі, крім того, сприяє збільшенню концентрації іонів натрію та калію в сечі, а також посиленню натрійурезу у 2,27 разу та калійурезу у 2 рази (р<0,05). Варто відмітити двократне збільшення гідро- та натрійурезу за дії фуроксану навіть на тлі активації мінералокортикоїдної системи.

Отримані результати є експериментальним підґрунтям можливості застосування фуроксану як коректора водно-сольового обміну за патологічних станів, що супроводжуються як зниженням мінералокортикоїдної активності, так і гіперпродукцією альдостерону (К. А. Дученко та ін., 2016).

*Таблиця 2*

**Вплив фуроксану на показники водно-сольового обміну**

**на тлі модуляції активності альдостерону (M±m, n=7)**

|  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| Показник | Контроль | Фуроксан | Спіронолактон | Фуроксан + Спіроно-лактон | ДОКСА | Фуроксан+ ДОКСА |
| Діурез, мл | 2,43±0,17 | 7,86±0,24\* | 4,67±0,21\* | 8,52±0,29\*/# | 1,84±0,13\* | 4,56±0,19\*/# |
| Споживання води, мл  | 16,8±0,52 | 19,4±0,6 | 17,2±1,12 | 21,2±0,76\* | 15,86±0,6 | 19,2±0,76\*/# |
| Концентрація Na+ у сечі, ммоль/л | 0,54±0,03 | 1,32±0,06\* | 0,93±0,07\* | 1,07±0,08\* | 1,32±0,06\* | 1,07±0,08\* |
| Eкскреція Na+ із сечею,мкмоль/2 год/100 г маси | 1,76±0,21 | 4,21±0,37\* | 3,56±0,16\* | 5,28±0,27\*/# | 1,15±0,17\* | 3,61±0,26\*/# |
| Концентра-ція K+ у сечі, ммоль/л | 4,51±0,23 | 6,22±0,34\* | 7,74±0,21 | 5,83±0,26\* | 6,22±0,34\* | 5,83±0,26\* |
| Eкскреція К+ із сечею, мкмоль/2 год/100 г маси | 16,27±0,68 | 20,18±0,73 | 14,62±0,56 | 21,36±0,84\*/# | 39,18±0,7\* | 29,32±0,8**\*/#** |
| Eкскреція креатиніну,мкмоль/2 год/100 г маси | 2,85±0,14 | 3,38±0,12 | 3,14±0,12 | 3,35±0,23 | 2,13±0,09 | 3,31±0,23 |

Примітка. Статистично значущі відмінності: \* – порівняно з контролем, р<0,05; # – порівняно зі спіронолактоном (або з ДОКСА), р <0,05.

 *Вплив фуроксану на тлі інгібування ренін-ангіотензинової системи.* Із урахуванням провідної ролі ренін-ангіотензинової системи в регуляції ниркового кровообігу, клубочкової фільтрації, проксимальної реабсорбції іонів натрію, її вплив на проникність клубочкового фільтра для білкових молекул доцільним було визначити додатковий спектр показників, зокрема, ШКФ, реабсорбцію води, концентрацію креатиніну в плазмі, проксимальний та дистальний транспорт іонів натрію.

Уведення інгібітору АПФ еналаприлу на тлі водного навантаження приводить до виразного збільшення гідроурезу в 1,72 разу (табл. 3). Фуроксан на тлі пригнічення АПФ вірогідно збільшує гідроурез (у 2,2 разу; р<0,05) та ШКФ (у 2 рази). Однак порівняно із тваринами, яким вводили лише фуроксан, показник ШКФ дещо знижується (у 1,15 разу), що може свідчити про опосередкування діуретичного ефекту фуроксану через вплив на ренальні структури (В. М. Брюханов, 2009). Крім того, сумісне застосування фуроксану з еналаприлом приводить до суттєвого зниження концентрації креатиніну в плазмі та збільшення його екскреції з сечею, а також покращує іонорегулюючу функцію нирок, що верифіковано за зростанням концентрації іонів натрію у сечі (у 2,33 разу), збільшенні натрійурезу (у 2,86 разу) та зниженням реабсорбції цих іонів через посилення як проксимального, так і дистального транспорту порівняно з контролем. Тимчасом як еналаприл посилює транспорт іонів натрію здебільшого у проксимальному відділі нефронів (К. А. Дученко та ін., 2016).

Отже, отримані результати дозволяють рекомендувати сумісне застосування фуроксану з інгібіторами АПФ у комплексній терапії патологій нирок, зокрема, нефрогенної гіпертензії, адже фуроксан не перешкоджає реалізації ренальних ефектів еналаприлу.

*Таблиця 3*

**Вплив фуроксану на водно-сольовий обмін та іонно-регулювальну функцію нирок за умов інгібування ренін-ангіотензинової системи у щурів (M±m, n=7)**

|  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- |
| Показники | Контроль | Фуроксан | Еналаприл | Фуроксан + еналаприл |
| Діурез, мл/2 год/100 г маси | 2,84±0,05 | 8,34±0,18\*/∆ | 4,90±0,11\* | 6,17±0,16\*/# |
| Концентрація креатиніну плазми, ммоль/л | 78,4±1,14 | 40,13±3,14\* | 52,45±1,24\* | 63,2±1,47\*/# |
| Екскреція креатиніну з сечею, мкмоль/2 год/100 г маси | 2,84±0,12 | 3,56±0,14\* | 3,18±0,09\* | 3,28±0,09\* |
| Концентрація Na+ в сечі, ммоль/л | 0,52±0,07 | 0,79±0,05\* | 0,91±0,07\* | 0,98±0,13\* |
| Екскреція Na+, мкмоль/2 год/100 г маси | 1,39±0,14 | 4,87±0,18\*/∆ | 3,28±0,17\* | 3,85±0,18\* |
| Концентрація К+ в сечі, ммоль/л | 3,94±0,16 | 5,56±0,27\* | 5,87±0,24\* | 6,42±0,25\* |
| Екскреція К+, мкмоль/2 год/100 г маси | 14,3±0,12 | 25,61±0,32\* | 21,32±0,14\* | 19,14±0,18\* |
| ШКФ, мкл/хв | 329,1±5,3 | 758,1±62,7\* | 538,8±31,5\* | 659,3±26,8\*/# |
| Реабсорбція води, % | 94,7±0,4 | 96,51±0,58 | 98,25±0,13 | 95,12±0,41 |
| Відносна реабсорбція Na+, % | 99,9±0,01 | 95,74±0,02\* | 91,08±0,02\* | 94,92±0,07\* |
| Проксимальний транспорт Na+, ммоль/2 год/100 г маси | 4,34±0,21 | 11,18±1,21\* | 12,21±0,24\* | 11,36±0,74\* |
| Дистальний транспорт Na+, ммоль/2 год/100 г маси | 384,2±6,56 | 542,19±6,24\* | 410,14±4,47\*\* | 427,18±7,32∆ |

Примітка. Статистично значущі відмінності: \* – порівняно з контролем, р<0,05; # – порівняно з еналаприлом, р <0,05; ∆ –вірогідно порівняно з фуроксаном, р<0,05.

*Вплив фуроксану на водно-сольовий обмін на тлі стимуляції волюморецепторів.* За умов стимуляції волюморецепторів фуроксан збільшує екскрецію іонів натрію з сечею в 1,60 разу (р<0,05), тимчасом як в контрольній групі натрійурез після водного навантаження суттєвих змін не зазнає (табл. 4).

*Таблиця 4*

**Вплив фуроксану на екскрецію іонів натрію нирками щурів**

**за умов стимуляції волюморецепторів (M±m, n=10)**

|  |  |
| --- | --- |
| Умови досліду | Екскреція іонів натрію, мкмоль/год |
| Контроль | Фуроксан |
| До стимуляції | 4,37±0,12 | 7,75±0,16 # |
| Після стимуляції | 5,88±0,22 | 12,41±0,34\*/# |

Примітка. Статистично значущі відмінності: \* – порівняно з даними до стимуляції волюморецепторів, р<0,05; # – порівняно з контролем.

Визначено, що фуроксан посилює натрійуретичну активність плазми (НУАП) на 77,3 % до сольового навантаження і на 111 % (р<0,05) за умов збільшення об’єму позаклітинниї рідини (рис. 4). Отримані результати дозволяють припустити, що збільшення гідроурезу та натрійурезу за дії фуроксану є результатом активації НУП.

\*

\*

Рис. 4. Вплив фуроксану на натрійуретичну активність плазми (НУАП).

Примітки:

1. По осі ординат – зміна НУАП (відносно контролю), %;
2. \* – статистично значущі відмінності (р<0,05) порівняно з контролем (100 %).

*Вплив фуроксану на вміст простагландинів.* Фуроксан та гідрохлортіазид збільшують уміст простагландину Е2 (ПГЕ2)в плазмі крові інтактних тварин відповідно на 17,7 % і 12 % відносно контролю. За сольового навантаження на тлі фуроксану рівень ПГЕ2 плазми зростає на 14,4 %, а за водного навантаження – на 18,5 % порівняно з аналогічним показником у щурів без відповідного навантаження, які отримували фуроксан. Препарат порівняння гідрохлортіазид за сольового та водного навантажень щурів сприє значно менш виразному збільшенню вмісту ПГЕ2 – лише на 3,9 та 8,9 % відповідно (рис. 5). Отримані результати свідчать про суттєвий стимулювальний вплив фуроксану на вміст ПГЕ2, що за своєю виразністю перевершує аналогічний ефект гідрохлортіазиду. Вочевидь, одним із механізмів реалізації діуретичної активності фуроксану є активація синтезу простагландинів (А. Є. Боголєпова, 2001), які чинять позитивний вплив на нирковий кровообіг та посилюють ШКФ.

Рис. 5. Вплив фуроксану і гідрохлортіазиду на вміст ПГЕ2 в плазмі крові щурів після водного і сольового навантаження.

Примітки:

1. По осі ординат – зміна вмісту ПГЕ2 у плазмі крові (відносно інтактного контролю), %;
2. \* – статистично значущі відмінності (р<0,05) порівняно з інтактним контролем (100 %).

*Вплив фуроксану на калікреїн-кінінову систему.* Встановлено, що в інтактних щурів за водного навантаження кількість калікреїногену невірогідно збільшується на 5,7%, а калікреїну – на 8,1% (р>0,05). Сольове навантаження не призводить до змін у рівні калікреїногену та калікреїну плазми крові щурів. Фуроксан збільшує вміст калікреїногену на 10,6 % (на тлі водного навантаження) та на 17,11 % (на тлі сольового навантаження), а калікреїну – на 15,5 % (на тлі водного навантаження) та на 17,39 % (на тлі сольового навантаження) порівняно з відповідним контролем (табл. 5). Аналогічний вплив на вміст калікреїногену і калікреїну чинить гідрохлортіазид.

Отже, активація калікреїн-кінінової системи, вочевидь, є ще однією ланкою у реалізації діуретичної дії фуроксану.

*Таблиця 5*

**Вплив фуроксану і гідрохлортіазиду на вміст калікреїногену і калікреїну**

**у плазмі крові щурів за водного та сольового навантаження**

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| Група тварин | Калікреїноген, мед/мл | Калікреїн, мед/мл |
| Водне навантаження |
| Інтактні тварини | 272,3±4,6 | 94,8±2,23 |
| Контроль (водне навантаження) | 287,9±2,6 | 102,5±2,62 |
| Фуроксан + водне навантаження | 318,5±3,4\* | 118,4±3,41\* |
| Гідрохлортіазид + водне навантаження | 294,7±3,3\* | 104,5±4,11 |
| Сольове навантаження |
| Інтактні тварини | 274,6±5,4 | 94,9±2,34 |
| Контроль (сольове навантаження) | 263,7±4,6 | 92,5±3,45 |
| Фуроксан +сольове навантаження | 308,2±4,14\* | 108,9±4,32\* |
| Гідрохлортіазид +сольове навантаження | 292,5±3,3\* | 104,5±4,46\* |

Примітка. \* – статистично значущі відмінності (р<0,05) порівняно з контролем.

*Нефропротекторна дія* *фуроксану.* На моделі нефропатії, індукованої калію хроматом (пошкодження проксимального відділу нефрону), вивчали профілактичний вплив фуроксану в дозі 25 мг/кг за триденного його введення та лікувальну дію за введення через 12 год після калію хромату. У тварин групи контрольної патології через 24 год після введення токсиканту спостерігали зниження діурезу в 2,13 разу (р<0,05).

Профілактичне введення фуроксану приводить до збільшення діурезу в 1,73 разу (р<0,05), а лікувальне – у 1,87 разу порівняно з аналогічним показником групи контрольної патології. Фуроксан за профілактичного та лікувального застосування знижує концентрацію креатиніну в плазмі крові в 1,26 та 1,5 рази, зменшує хромат-індуковану протеїнурію, значною мірою нормалізує ШКФ, усуває порушення екскреції креатиніну, активного проксимального транспорту та дистальної реабсорбції іонів натрію (табл. 6).

*Таблиця 6*

**Вплив фуроксану на показники функціонування нирок на тлі нефропатії, індукованої калію хроматом (M±m, n=10)**

|  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- |
| Показники | Інтактні тварини | Нефропатія, індукована калію хроматом | Профілакти-чне введення фуроксану | Лікувальне введення фуроксану |
| 1 | 2 | 3 | 4 | 5 |
| Концентрація Na+в плазмі, ммоль/л | 136,25±2,18 | 124,32±2,51 \* | 157,42±2,24 \* | 142,35±2,12 \* |
| Концентрація Na+ у сечі, ммоль/л | 0,52±0,03 | 0,73±0,03 \* | 0,64±0,04 \* | 0,69±0,02 \* |
| Концентрація К+в плазмі, ммоль/л | 5,34±0,17 | 9,16±0,54 \* | 8,46±0,48\* | 7,12±0,62 \* |

*Продовження табл. 6*

|  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- |
| 1 | 2 | 3 | 4 | 5 |
| Екскреція Na+, мкмоль/2 год/100 г | 2,12± 0,24 | 3,41±0,17 \* | 1,68±0,26 # | 1,64±0,17 # |
| Eкскреція К+ з сечею,мкмоль/2 год/100 г | 15,56±2,91 | 21,32±0,14 \* | 17,24±0,21 # | 18,57±0,17 # |
| Концентрація білка в сечі, г/л | 0,005±0,001 | 0,016±0,002 \* | 0,004±0,001 # | 0,004±0,001 # |
| Екскреція білказ сечею, мг/2 год | 0,01±0,01 | 0,012±0,01\* | 0,009±0,01 \*# | 0,009±0,01 \*# |
| Реабсорбована фракція Na+, мкмоль/хв | 55,28±2,32 | 14,14±1,42\* | 25,54±1,46\*# | 27,46±2,14 \*# |
| Eкскреція креатиніну,мкмоль/2 год/100 г | 2,32±0,05 | 1,13±0,14 \* | 1,48±0,11 \* | 1,26±0,13 \* |
| Проксимальнареабсорбція Na+,ммоль/2 год/100 г | 5,96±0,21 | 1,48±0,17\* | 2,79±0,16 \*# | 3,14±0,24 \*# |
| Дистальнареабсорбція Na+,мкмоль/2 год/100 г | 430,24±21,57 | 232,34±10,22 \* | 221,18±11,37 \* | 284,28±21,12 \*# |

Примітка. Статистично значущі відмінності: \* – порівняно з контролем, р<0,05; # – порівняно з нефропатією, індукованою калію хроматом, р< 0,05.

Нефропротекторна дія фуроксану на моделі нефропатії, індукованої калію хроматом, підтверджена даними морфологічних досліджень (рис. 6): на тлі застосування фуроксану спостерігається зменшення некрозу епітеліальних клітин, вакуолізації епітеліоцитів звивистих канальців та відсутність білкових циліндрів у звивистих канальцях і вивідних трубочках.



|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| 1 | 2 | 3 | 4 |

Рис. 6. Препарати нирок щурів: 1 – контроль (гістоструктура без істотних патологічних змін); 2 – модель хроматокалієвої нефропатії (некроз епітеліальних клітин канальців, білкові циліндри в звивистих канальцях); 3 – профілактичне введення фуроксану (некроз епітеліальних клітин); 4 – лікувальне введення фуроксану (еітеліальні клітини звивистих канальців з ознаками набухання). Забарвлення гематоксилін-еозином. ×100.

За доксорубіцинової нефропатії (табл. 7) спостерігаються суттєві зменшення діурезу та зниження екскреції іонів натрію і калію, креатиніну, підвищення екскреції білка з сечею через порушення структури і функцій базальних мембран, зниження ШКФ (І. А. Зупанець, 2004). Уведення фуроксану сприє нормалізації діурезу, підвищенню екскреції іонів натрію в 1,54 разу і калію в 1,19 разу, а також посиленню ШКФ на 12,8 % (р<0,05) відносно контрольної патології.

*Таблиця 7*

**Вплив фуроксану на функціональний стан нирок щурів**

**за умов доксорубіцинової нефропатії (28 доба; M±m, n=10)**

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| Показники | Контроль | Доксорубіцин | Доксорубіцин + фуроксан |
| Діурез, мл/2 год/100 г маси | 3,5±0,12 | 2,6±0,13 | 3,8±0,11 |
| Екскреція іонів натрію з сечею, мкмоль/2 год/100 г маси | 1,72±0,04 | 1,49±0,07\* | 2,65±0,06\*# |
| Концентрація Na+ в плазмі, ммоль/л | 131,14±1,17 | 12,32±1,14\* | 126,7±1,32 |
| Eкскреція іонів калію з сечею, мкмоль/2 год/100 г маси | 16,23±0,14 | 12,41±0,19\* | 19,31±0,14\* |
| Концентрація К+ в плазмі, ммоль/л | 5,27±0,08 | 4,12±0,12\* | 5,12±0,13\* |
| ШКФ, мкл/хв | 442,32 ±27,4 | 314,17±9,11\* | 354,35±24,17\* |
| Концентрація креатиніну в сечі, ммоль/л | 0,98±0,01 | 1,22±0,02\* | 0,92±0,01# |
| Концентрація креатиніну в плазмі, ммоль/л | 65,46±1,34 | 93,12±1,21\* | 78,6±1,16\* |
| Екскреція креатиніну із сечею, мкмоль/2 год/100 г маси | 3,42± 0,11 | 2,74±0,14\* | 3,68±0,16\* |
| Екскреція білка з сечею, мг/2 год/100 г маси | 0,014±0,001 | 0,18±0,007\* | 0,016±0,002 |
| рН сечі | 6,78±0,08 | 6,54±0,04\* | 6,84±0,01 |

Примітка. Статистично значущі відмінності: \* – порівняно з контролем, р<0,05; # – порівняно з нефропатією, індукованою доксорубіцином, р< 0,05.

Впродовж моделювання доксорубіцинової нефропатії зафіксовано загибель 40 % щурів, а після завершення формування патологічного процесу летальність зросла до 60 %.

Фуроксан не попереджає загибелі тварин, що, вочевидь, пов’язано з токсичним впливом доксорубіцину не лише на нирки (за результатами морфологічного дослідження – спазм і тромбоз приносних артеріол, у клубочках малокрів’я, мікротромби, набряк та розщеплення базальних мембран, набряк та ознаки зернистої дистрофії епітелію канальців), але й, зокрема, на міокард. Проте фуроксан дещо нормалізує морфологічну картину нирок, що свідчить про його помірні нефропротекторні властивості за доксорубіцинової нефропатії.

На моделі «оцтовокислих корчів» встановлено, що фуроксан чинить виразну аналгезуючу дію, однак не досягає рівня препарату порівняння диклофенаку натрію (табл. 8).

*Таблиця 8*

 **Аналгезуюча дія** **фуроксану на моделі «оцтовокислих корчів» (M±m, n=7)**

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| Група тварин, доза | Кількість корчів | Аналгетична активність, % |
| Контроль (модель болю) | 32,43±1,14 | – |
| Диклофенак натрію, ЕД50 за аналгезуючою дією (8 мг/кг) | 17,76±1,23\* | 45,24 |
| Фуроксан, ЕД50 за діуретичною дією (25 мг/кг) | 22,15±1,41\* | 31,7 |

Примітка. \* – статистично значущі відмінності (р<0,05) порівняно з контролем.

На моделі карагенінового набряку (табл. 8) верифіковано виразну протизапальну (антиексудативну) дію фуроксану майже на рівні диклофенаку натрію (К. А. Дученко, Д. Г. Іваненко, М. І. Романенко, 2016, Е. А. Дученко, В. И. Корниенко, 2016).

*Таблиця 9*

**Протизапальна (антиексудативна) дія фуроксану (M±m, n=7)**

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| Група тварин, доза | Об’єм лапки, ум.од | Антиексудативна активність, % |
| Контроль (модель запалення) | 2,26±0,05 | – |
| Диклофенак натрію, ЕД50 за протизапальною дією (8 мг/кг) | 1,19±0,03\* | 47,35 |
| Фуроксан, ЕД50 за діуретичною дією (25 мг/кг) | 1,34±0,02\* | 40,71 |

Примітка. \* – статистично значущі відмінності (р<0,05) порівняно з контролем.

Встановлено, що фуроксан чинить сприятливий вплив на фізичну витривалість, що визначено за вірогідним подовженням часу примусового плавання тварин у 1,45-2,10 разу відносно контролю (Е. А. Дученко и др., 2016).

Результати проведених досліджень дозволили виявити серед нових синтезованих 1,8‑дизаміщених 7-алкіл-3-метилксантинів сполуку-лідера за діуретичною дією – фуроксан, визначити механізми реалізації її ефектів, встановити наявність у цієї сполуки сприятливих супутніх видів фармакологічної активності, зокрема, аналгезуючої та протизапальної дії, а також встановити ефективність сполуки за нефропатій різного ґенезу, а також її нешкідливість. Поєднання діуретичної, аналгезуючої та протизапальної дії у фуроксану експериментально обґрунтовує можливість його застосування за нефропатій, що супроводжуються больовим синдромом і запальним процесом (Е. А. Дученко та ін., 2015).

**ВИСНОВКИ**

Результати дисертаційного дослідження дозволили виявити серед нових синтезованих похідних 1,8-дизаміщених 7-алкіл-3-метилксантинів сполуку-лідера за діуретичною дією – 3-метил-7-(2-гідрокси-3-*n*-метоксифенокси)-пропіл-8-(фурил-2)метиламіноксантин (фуроксан), якій притаманні аналгезуючий та протизапальний ефекти, а також вивчити основні механізми реалізації її фармакологічної активності.

1. За результатами комп’ютерного прогнозу PASS із 90 новосинтезованих сполук у ряді похідних 1,8-дизаміщених 7-алкіл-3-метилксантинів відібрано 30 перспективних речовин із високою вірогідністю впливу на видільну функцію нирок.

2. Для 30 похідних 1,8-дизаміщених 7-алкіл-3-метилксантинів досліджено гостру токсичність, визначено середньолетальні дози. Встановлено сприятливий профіль нешкідливості сполук – ЛД50 за внутрішньоочеревинного введеня знаходиться в інтервалі 225-1095 мг/кг; 28 сполук відносяться до ІV класу (малотоксичні речовини) і 2 сполуки до V класу (практично нетоксичні речовини) відповідно до класифікації К. К. Сидорова. ЛД50 фуроксану за внутрішньоочеревинного введеня знаходиться становить 835 мг/кг для мишей і 1320 мг/кг для щурів.

3. За результатами фармакологічного скринінгу 30 похідних 1,8-дизаміщених-7-алкіл-3-метилксантинів визначено, що наявність і ступінь прояву діуретичної активності залежить від функціональних замісників за C8 положенням ядра 3-метилксантинів. Посилення діуретичних властивостей для 1,8-дизаміщених 7-алкіл-3-метилксантинів зумовлена положенням замісників в ароматичному аміновому фрагменті. Введення фурильного радикалу до аміногрупи у 8-е положення молекули 3-метилксантинів сприяє посиленню діурезу. За показником діуретичної активності серед похідних 1,8-дизаміщених 7-алкіл-3-метилксантинів відібрано сполуку-лідера – 3-метил-7-(2-гідрокси-3-*n*-метоксифенокси)пропіл-8-(фурил-2)метиламіноксантин з робочою назвою фуроксан, що за показником добового діурезу у 2,3 разу перевищує сечогінну дію гідрохлортіазиду (p<0,05).

4. Встановлено, що діуретичний ефект фуроксану при одноразовому та курсовому внутрішньошлунковому введенні в дозі 25 мг/кг (ЕД50) переважає дію гідрохлортіазиду і характеризується збільшенням добового діурезу у 2,1-2,3 разу (р<0,05), натрійурезу в 1,7 разу та в 2,3 разу відповідно (р<0,05), концентрації іонів натрію в сечі щурів (р<0,05), зростанням вмісту ендогенного креатиніну в сечі в 1,49 разу (р<0,05) та 2 рази (р<0,05) відповідно, що свідчить про посилення ШКФ. Калійзберігаючий ефект більше виражений у фуроксану, аніж у гідрохлортіазиду.

5. Визначено діуретичну та калійзберігаючу дії одноразового введення фуроксану за водного навантаження (збільшення діурезу на 221,4 % (р<0,05) за 4 год, концентрації іонів натрію в сечі у 3,85 разу (р<0,05), натрійурезу у 2 рази (р<0,05), що може вказувати на зменшення реабсорбції натрію в проксимальних і дистальних канальцях нефронів), та за сольового навантаження (збільшення діурезу на 196,1 %, натрійурезу на 60,6%; p<0,05). Аналогічний ефект отримано за курсового (7 діб) застосування фуроксану. Про посилення фільтраційної функції нирок під впливом фуроксану свідчить збільшення екскреції креатиніну на 7,3- 24,0 %.

6. При сумісному застосуванні зі спіронолактоном фуроксан сприяє збільшенню сечовиділення в 3,26 разу (р<0,05), концентрації натрію у сечі в 2,44 разу (р<0,05) та зростанню натрійурезу в 2,34 разу (р<0,05). За сумісного застосування з ДОКСА фуроксан сприяє збільшенню концентрації іонів натрію й калію в сечі, а також зростанню натрійурезу у 2,27 разу та калійурезу у 2,17 разу (р<0,05). Діуретична дія фуроксану опосередкована впливом на ренін-ангіотензинову систему, що підтверджено вірогідним збільшенням гідроурезу у 2,2 разу та ШКФ у 2 рази (р<0,05), зниженням рівня креатиніну в плазмі та зростанням його екскреції із сечею при сумісному застосуванні з еналаприлом, а також нормалізацією іонорегулюючої функції нирок, що виражається у зростанні концентрації іонів натрію у сечі (у 2,33 разу), посиленні натрійурезу (у 2,86 разу) та зниженні реабсорбції цих іонів через активацію як проксимального, так і дистального транспорту. Механізм діуретичної та натрійуретичної дії фуроксану реалізується також шляхом активації натрійуретичного пептиду, стимулюючого впливу на синтез простагландинів, що характеризується збільшенням їх умісту за дії фуроксану на тлі сольового (на 14,4 %, p<0,05) та водного (18,5 %, p<0,05) навантаження, а також активацією калікреїн-кінінової системи.

7. Досліджено, що фуроксан чинить нефропротекторну дію, що верифікована за нормалізацією водно-сольового обміну та зменшенням патологічних змін у морфоструктурі нирок за умов експериментальних нефропатій, індукованих калію хроматом та доксорубіцином.

8. Виявлено, що фуроксан окрім діуретичної активності має аналгезуючу та протизапальну дії, збільшує фізичну витривалість, що розширює спектр показань до застосування 3-метил-7-(2-гідрокси-3-*n*-метоксифенокси)пропіл-8-(фурил-2)метил-аміноксантину.

9. Комплекс отриманих результатів дає підставу вважати вперше синтезовані похідні 1,8-дизаміщених 7-алкіл-3-метилксантинів перспективною групою гетероциклічних сполук для подальшого цілеспрямованого пошуку та вивчення фармакологічної активності з метою створення на їх основі ефективних та безпечних лікарських препаратів із нефропротекторною дією.

**СПИСОК ПРАЦЬ, ОПУБЛІКОВАНИХ ЗА ТЕМОЮ ДИСЕРТАЦІЇ**

**ДУЧЕНКО К. А.**

1. Дученко К. А. Дослідження гострої токсичності та діуретичної активності 7-(2-гідрокси-3-*п*-метоксифенокси)пропіл-8-заміщених теофіліну / К. А. Дученко, В. І. Корнієнко, Б. А.Самура, О. В. Ладогубець, М. І. Романенко, Д. Г. Іванченко // Експериментальна і клінічна медицина. – 2015. – № 4 (69). – С. 21-24. *(Особистий внесок: проведення досліджень, обробка отриманих результатів та їх аналіз, підготовка матеріалів до друку)*.

2. Дученко Е. А. Зависимость антиноцицептивной активности от химической структуры в ряду 7-(2-гидрокси-3-*п*-метоксифенокси)пропил-8-замещенных теофиллина / Е. А. Дученко, В. И. Корниенко, Б. А. Самура, Е. В. Ладогубец, Н. И. Романенко, Д. Г. Иванченко // Медицина сьогодні і завтра. – 2015. – № 3 (68). –С. 5-9. *(Особистий внесок: проведення досліджень, обробка отриманих результатів та їх аналіз, підготовка матеріалів до друку)*.

3. Дученко Е. А. Зависимость антиэкссудативной активности от химической структуры в ряду производных 7-(2-гидрокси-3-*п*-метоксифенокси)пропил-8-замещенных теофиллина / Е. А. Дученко, В. И. Корниенко, Б. А. Самура, Е. В. Ладогубец, Н. И. Романенко, Д. Г. Иванченко // Медицина сьогодні і завтра. –2015. – № 4 (69). – С. 11-15. *(Особистий внесок: проведення досліджень, обробка отриманих результатів та їх аналіз, підготовка матеріалів до друку).*

4. Дученко Е. А. Исследование антигипоксической активности 7-гидрокси-пропил-8-аминозамещенных теофиллина / Е. А. Дученко, В. И.  Корниенко, Б. А. Самура, Д. Г. Иванченко, Е. В. Ладогубец, Н. И. Романенко // Актуальні проблеми сучасної медицини. – 2016. – Т. 1, № 1 (53). – С. 207-210. *(Особистий внесок: проведення досліджень, обробка отриманих результатів та їх аналіз, підготовка матеріалів до друку).*

5. Дученко К. А. Вплив фуроксану на водно-сольовий обмін у щурів / К. А. Дученко // Молодий вчений. – 2016. – № 5 (32). – С. 287-290.

6. Дученко К. А. Корекція порушень екскреторної функції нирок у щурів при курсовому застосуванні фуроксану / К. А. Дученко, В. І. Корнієнко, О. В. Ладогубець // Актуальні проблеми сучасної медицини. – 2016. – Т. 16, № 4 (56), Ч. 1. – С. 244-248. *(Особистий внесок: проведення досліджень, обробка отриманих результатів та їх аналіз, підготовка матеріалів до друку).*

7.Дученко К. А. Вплив фуроксану на функціональний стан нирок у щурів за умов спонтанного діурезу / К. А. Дученко, В. І. Корнієнко // Експериментальна і клінічна медицина. – 2016. – № 3 (72). – С. 30-33. *(Особистий внесок: проведення досліджень, обробка отриманих результатів та їх аналіз, підготовка матеріалів до друку).*

8. Дученко Е. А. Действие фуроксана на водно-солевой обмен при внеклеточной гипергидратации организма / Е. А. Дученко // Молодий вчений. – 2016. – № 6 (33). – С. 284-288.

9. Дученко Е. А. Влияние фуроксана на активность ангиотензиновой системы у крыс / Е. А. Дученко // Актуальні проблеми сучасної медицини. – 2016. – Т. 16, № 3 (55). – С. 147-150.

10. Дученко Е. А. Влияние фуроксана на работоспособность животных при физических нагрузках / Е. А. Дученко, В. И. Корниенко, Е. В. Ладогубец // Вестник Таджикского национального университета. Серия естественных наук. – 2016. – № 1/3 (200). – С. 296-298. *(Особистий внесок: проведення досліджень, обробка отриманих результатів та їх аналіз, підготовка матеріалів до друку).*

11. Дученко Е. А. Влияние фуроксана на функцию почек при экспериментальном нефрите / Е. А. Дученко // Ліки – людині. Сучасні проблеми фармакотерапії і призначення лікарських засобів: матеріали ХХХІІІ Всеукраїнської науково-практичної конференції з участю міжнародних спеціалістів (Харків, 8 квітня 2016). – Х.: НФаУ, 2016. – С. 71.

12. Дученко К. А. Синтез та вивчення біологічних властивостей 8-амінопохідних 7-алкіл-3-метилксантинів / Д. Г. Иванченко, М. І. Романенко, Ю. О. Псурцева, Б. А. Самура, К. А.Дученко // Ліки – людині. Сучасні проблеми фармакотерапії і призначення лікарських засобів: матеріали ХХХІІІ Всеукраїнської науково-практичної конференції з участю міжнародних спеціалістів (Харків, 8 квітня 2016). – Х.: НФаУ, 2016. – С. 79.

13. Дученко Е. А. Зависимость антиэкссудативной активности от химической структуры в ряду 8-амино-7-(2-гидрокси-3-*n*-метоксифенокси-)пропилксантина / Е. А. Дученко, В. И. Корниенко // Ліки – людині. Сучасні проблеми фармакотерапії і призначення лікарських засобів: матеріали ХХХІІІ Всеукраїнської науково-практичної конференції з участю міжнародних спеціалістів (Харків, 8 квітня 2016). – Х.: НФаУ, 2016. – С. 311-315.

14.Дученко К. А. Вплив фуроксану на перебіг гліцеролової нефропатії / Б. А. Самура, В. І. Корнієнко, К. А. Дученко, Н. И. Романенко// Topical Problem of Modern Science and Possible Solution: proceedings of III International Scientific and Practical Conf. (Dubai, UAE, 28-29 September 2016). – Dubai, 2016. – Vol. 3, № 10 (14). – P. 45-48.

15. Duchenko E. A. Effect of Furoxane on Parameters of Renal Functions with Rats upon Sublimate Nephropathy / E. A. Duchenko, V. I. Kornienko, E. L.Tarasiavecius, B. А. Samura // Science and practice 2016: Abstracts of the 7 international pharmaceutical conference (Kaunas, Lithuania, 20-21 October 2016). – Kaunas, 2016. – P.29-30.

16. Дученко К. А. Залежність гострої токсичності та діуретичної активності від хімічної структури в ряду 7-заміщених 8-аміно-3-метилксантинів / К. А. Дученко, В. І. Корнієнко, Б. А. Самура, М. І. Романенко, О. В. Ладогубець // Modern Scientific Achievemants and Their Practical Application: proceedings of III International Scientific and Practical Conference (Dubai, UAE, 27-28 October 2016). – Dubai, 2016. – Vol. 4, № 11 (15). – P. 20-24.

17. Дученко К. А. Пошук спазмолітичних та протизапальних засобів серед 8-аміно-7-(2-гідрокси-2-фенілетил-)3-метилксантинів / Д. Г. Іваненко, М. І. Романенко, К. А. Дученко // Збірник наукових тез учасників міжнародної науково-практичної конференції «Нове у медицині сучасного світу» (Львів, 25-26 листопада 2016). – Львів, 2016. – С. 92-97.

18. Дученко К. А. Фармакологічна корекція похідними 3-метилксантину порушень водно-сольового обміну у щурів при позаклітинній гіпергідратації організму (експериментальне дослідження): Інформаційний лист про нововведення в системі охорони здоров'я / Б. А. Самура, К. А. Дученко, В. І. Корнієнко, О. В. Ладогубець, М. І. Романенко, Д. Г. Іванченко. – Київ: Укрмедпатентінформ, 2016. – 5 с.

19. Дученко К. А. Корекція похідними 3-метилксантину діяльності нирок при пригніченій функції ренін-ангіотензін-альдостеронової системи (експериментальне дослідження): Інформційний лист про нововведення в системі охорони здоров'я / Б. А. Самура, К. А. Дученко, В. І. Корнієнко, О. В. Ладогубець, М. І. Романенко, Д. Г. Іванченко. – Київ: Укрмедпатентінформ, 2016. – 4 с.

**АНОТАЦІЯ**

**Дученко К. А. Діуретична, аналгезуюча та протизапальна активність нового похідного 1,8-дизаміщених 7-алкіл-3-метилксантинів. –** Рукопис.

Дисертація на здобуття наукового ступеня кандидата медичних наук за спеціальністю 14.03.05 – фармакологія. – Державна установа «Інститут фармакології та токсикології НАМН України». – Київ, 2017.

Дисертацію присвячено скринінгу і встановленню залежності діуретичної активності від хімічної структури похідних 1,8-дизаміщених 7-алкіл-3-метилксантинів. Визначено сполуку-лідер за діуретичною дією – фуроксан, досліджено її гостру токсичність та встановлено, що ЛД50 фуроксану за внутрішньоочеревинного введення мишам і щурам становить 835 мг/кг і 1320 мг/кг відповідно, а ЕД50 при внутрішньошлунковому введені щурам становить 25 мг/кг. Доведено, що механізм діуретичної дії фуроксану пов’язаний із модулювальним впливом на мінералокортикоїдну активність, ренін-ангіотензинову, калікреїн-кінінову системи, синтез простагландинів. Встановлено роль активації натрійуретичного пептиду в механізмі діуретичного ефекту фуроксану. Визначено, що місцем реалізації сечогінної дії фуроксану є капіляри клубочків, а також проксимальний і дистальний відділи канальців нефрону.

Встановлено позитивний вплив фуроксану на перебіг нефропатій, індукованої калію хроматом та доксорубіцином.

Фуроксану притаманні аналгезуюча та протизапальна дії, що обґрунтовує можливість його застосування за нефропатій, які супроводжуються больовим та запальним процесами.

*Ключові слова:* 1,8-дизаміщені 7-алкіл-3-метилксантину, діуретична активність, нефропатія, водно-сольовий обмін, анальгезуюча дія, протизапальна дія, простагландин Е2, калікреїн-кінінова система.

**АННОТАЦИЯ**

**Дученко Е. А. Диуретическая, анальгезирующая и противовоспалительная активность нового производного 1,8-дизамещенных 7-алкил-3-метилксантинов.** –Рукопись.

Диссертация на соискание научной степени кандидата медицинских наук по специальности 14.03.05 – фармакология. – Государственное учреждение «Институт фармакологии и токсикологии НАМН Украины». – Киев, 2017.

Диссертация посвящена скринингу и установлению зависимости диуретического действия от химической структуры производных 1,8-дизамещенных 7-алкил-3-метилксантинов. По результатам компьютерного прогноза PASS из 90 впервые синтезированных соединений – 1,8-дизамещенных 7-алкил-3-метилксантинов – отобраны 30 перспективных веществ для дальнейшего фармакологического скрининга на диуретическую активность.

По результатам скрининга определено соединение-лидер по диуретическому действию – 3-метил-7-(2-гидрокси-3-*n*-метоксифенокси)пропил-8-(фурил-2) метиламиноксантин (фуроксан), изучено его острую токсичность и установлено, что ЛД50 фуроксана при внутрибрюшинном введении мышам и крысам составляет 835 мг/кг и 1320 мг/кг соответственно, а ЕД50 при внутрижелудочном введении крысам составляет 25 мг/кг.

Установлено, что диуретический эффект фуроксана как при однократном, так и при курсовом (7 дней) введении превышает по выраженности аналогичный эффект гидрохлортиазида, что верифицировано по увеличению суточного диуреза, натрийуреза, а также содержанию креатинина в моче, что свидетельствует об усилении скорости клубочковой фильтрации. Определено, что калийсберегающий эффект в большей степени присущ фуроксану, чем гидрохлортиазиду.

Выраженный диуретический эффект фуроксана установлен также в условиях водной и солевой нагрузки. При водной нагрузке фуроксан усиливает диурез и натрийурез, превосходя мочегонный и натрийуретический эффекты гидрохлортиазида. При солевой нагрузке фуроксан значительно повышает мочевыделение и экскрецию ионов натрия (но не калия), что выгодно отличает его от гидрохлортиазида, оказывающего выраженный калийуретический эффект.

Определена роль модуляции минералокортикоидной активности в реализации диуретического действия фуроксана. Совместное применение фуроксана с антагонистом альдостерона спиронолактоном приводит усилению диуреза и натрийуреза, а при введении фуроксана на фоне стимуляции альдостероновых рецепторов дезоксикортикостерона ацетатом наблюдается увеличение экскреции не только ионов натрия, но и калия.

Диуретическая активность фуроксана опосредована также через влияние на ренин-ангиотензиновую систему, что определено выраженным усилением гидроуреза и скорости клубочковой фильтрации, снижением уровня креатинина плазмы и увеличением его экскреции с мочой при совместном применении исследуемого соединения с ингибитором ангиотензинпревращающего фермента эналаприлом. Установлено, что диуретическое действие фуроксана реализуется не только путем усиления клубочковой фильтрации, но и снижением реабсорбции натрия в проксимальных и дистальных канальцах нефрона.

Механизм диуретического и натрийуретического действия фуроксана реализуется также через активацию натрийуретического пептида, калликреин-кининовой системы и стимуляцию синтеза простагландтинов (в частности, ПГЕ2), что определено в условиях водной и солевой нагрузок.

Верифицировано нефропротекторное действие фуроксана по нормализации водно-солевого обмена и снижению патологических изменений в морфоструктуре почек при экспериментальных нефропатиях (токсических поражениях почек, индуцированных калия хроматом и доксорубицином).

Установлено, что кроме выраженного диуретического и нефропротекторного действия фуроксану присущи анальгезирующая и противовоспалительная активность, что указывает на перспективность применения 3-метил-7-(2-гидрокси-3-*n*-метоксифенокси)пропил-8-(фурил-2)метиламиноксантина как перспективного корректора нефропатий разного генеза, сопровождающихся болевым синдромом и воспалительным процессом.

Результаты диссертационного исследования являются экспериментальным обоснованием перспективности дальнейшей разработки новых диуретических и нефропротекторных средств среди производных 1,8-дизамещенных 7-алкил-3-метилксантинов.

*Ключевые слова:* 1,8-дизамещенные 7-алкил-3-метилксантина, диуретическая активность, нефропатия, водно-солевой обмен, анальгезирующее действие, противовоспалительное действие, простагландин Е2, калликреин-кининовая система.

**SUMMARY**

**Duchenko E. A. Diuretic, analgesic and anti-inflammatory activity of new 1,8- disubstituted 7-alkyl-3-methylxanthine derivative.** –Manuscript.

The thesis for a Candidate of Medical Sciences Degree by the specialty 14.03.05 – Pharmacology. – State Institution “Institute of Pharmacology and Toxicology of NAMS of Ukraine”. – Kyiv, 2017.

The thesis is devoted to the screening and pharmacological activity upon the chemical structure establishment among 1,8-disubstituted 7-alkyl-3-methylxanthine derivatives. The compound-leader in diuretic effect – furoxan was found out; its acute toxicity was investigated. Its LD50 by intraperitoneal injection to mice and rats is 835 mg/kg and 1320 mg/kg respectively, and the ED50 with intragastric administration to rats is 25 mg/kg.

It was established that the mechanism of diuretic action of furoxan is associated with moderation of mineralocorticoid activity, renin-angiotensin and kallikrein-kinin systems and prostaglandin synthesis. The role of activation of natriuretic peptide in the mechanism of diuretic effect of furoxan was devoted. It was determined that the capillaries of the glomeruli and proximal and distal tubules of the nephron are the place of supply of furoxan diuretic action.

The positive influence of furoxan on the course of the nephropathies induced by potassium chromate and doxorubicin was established.

Furoxan is inherent the analgesic and anti-inflammatory action, which proves the possibility of its administration in nephropathies, accompanied by pain and inflammation.

*Key words:* 1,8-disubstituted 7-alkyl-3-methylxanthines, diuretic activity, water-salt metabolism, analgesic action, anti-inflammatory action, prostaglandin E2, kallikrein-kinin system.

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| АПФ | – | ангіотензинперетворювальний фермент; |
| ГНН | – | гостра ниркова недостатність; |
| ДОКСА | – | дезоксикортикостерону ацетат; |
| ЕД50 | – | середньоефективна доза (викликає ефект у 50 % тварин); |
| ЛД50 | – | середньолетальна доза (викликає загибель 50 % тварин); |
| НПЗП | – | нестероїдні протизапальні препарати; |
| НУАП | – | натрійуретична активність плазми; |
| НУП | – | натрійуретичний пептид; |
| ПГЕ2 | – | простагландин Е2; |
| ШКФ | – | швидкість клубочкової фільтрації; |
| PASS | – | Prediction of Activity Spectra for Substances. |