

ДОСЛІДЖЕННЯ ГОСТРОЇ ТОКСИЧНОСТІ ТА ДІУРЕТИЧНОЇ АКТИВНОСТІ 1.8-ДИЗАМІЩЕНИХ 7-ЕТИЛ-3-МЕТИКСАНТИНУ

Самура І.Б., Романенко М.І., Тихоновський О.В.

Запорізький державний медичний університет, м. Запоріжжя, Україна

Діуретичні засоби як фармакологічний клас лікарських засобів можна схарактеризувати як такі (різні за хімічною, що сприяють діурезу (збільшенню об'єму сечі, що виділяється нирками), зменшуючи фактичну кількість рідини у тканинах і серозних порожнинах організму (але терапевтичний ефект діуретиків не обов'язково пов'язаний тільки зі збільшенням діурезу). Сечогінні препарати призначають в комплексній терапії хворих з артеріальною гіпертензією, хронічною серцевою недостатністю, нефротичним синдромом, хронічною нирковою недостатністю, нецукровим діабетом, глаукомою, епілепсією; як засіб дегідратаційної термінової терапії при набряку легенів, головного мозку, а також для індукції форсованого діурезу при отруєнні або інтоксикації [5, 8]. Регуляція балансу Na^+ і води, однієї із важливих гомеостатичних функцій, займає провідне місце в сучасній раціональній терапії діуретичними препаратами. Нирковий транспорт електrolітів та води реалізується під контролем багаточисленних регуляторних факторів. Підвищення Na^+ в крові та міжклітинному просторі призводить до підвищення осмотичного тиску, затримання води в міжтканинному просторі і утворенню набряків [3, 10]. Симптоми відображають порушення тих або інших функцій нирок внаслідок патологічних процесів в нирках. Основними антигіпертензивними препаратами є діуретики, β -адреноблокатори, інгібітори АПФ, антагоністи кальцію, α_1 -адреноблокатори та блокатори рецепторів ангіотензину [5]. Історія становлення антигіпертензивної терапії стартує з діуретиків, які й досі відносять до препаратів першої лінії лікування артеріальної гіпертензії. Сьогодні можна з упевненістю казати про гіпотензивну ефективність діуретиків, що проявляється тією чи іншою мірою в усіх представників класу. Поряд з вираженим діуретичним ефектом, діуретики можуть викликати небажані побічні ефекти, такі як гіпо- або гіперкаліємія, гіперурикемія, гіперліпідемія, гіперглікемія, гіпохлоремічний алкалоз, метаболічний ацидоз, порушення білкового обміну [3, 5, 11], що обмежують їх застосування в клінічній практиці. Тому пошук біологічно активних речовин, що покращують видільну функцію нирок, для подальшого створення ефективних, безпечних і високоякісних діуретиків є актуальним.

Похідні метилксантину як природні метаболіти, що приймають активну участь у координації фізіологічних функцій організму, не припиняють привертати увагу як речовини з помірною діуретичною активністю і розглядаються сьогодні як перспективний клас діуретиків [2, 6, 7, 9, 10]. Останніми дослідженнями продемонстровано позитивний вплив амінофіліну на показники ниркового запалення при ішемічно-реперфузійному пошкодженні нирок, що свідчить про його нефро-протективну дію. Так, амінофілін не тільки

знижував рівень креатініну у порівнянні з контролем, але й поменшував ступінь гістологічного пошкодження нирок. Понад те, амінофілін інгібував експресію прозапальних цитокінів, таких як транскрипційний нуклеарний фактор карра В (NF- κ B), фактор некрозу пухлини- α (TNF- α), моноцитарний хемоаттрактантний білок-1 (MCP-1), макрофагальний запальний білок-2 (MIP-2) та міжклітинна молекула адгезії-1 (ICAM-1) мРНК ($p < 0,01$). [7].

У зв'язку з особливою цінністю похідних метилксантину незаперечний інтерес становить пошук біологічно активних сполук в ряді похідних 3-метилксантину, оскільки вони можуть бути потенційними діуретичними лікарськими засобами.

Метою даної роботи було дослідження залежності гострої токсичності та діуретичної активності від хімічної структури у ряду вперше синтезованих 1,8-дизаміщених 7-етил-3-метилксантину в дослідах на лабораторних тваринах.

Матеріали і методи. Об'єктом дослідження були 12 вперше синтезованих сполук в ряді 1,8-дизаміщених 7-етил-3-метилксантину.

Дані сполуки були синтезовані в лабораторії органічного синтезу кафедри біологічної хімії Запорізького державного медичного університету професором М.І. Романенко (зав. кафедри професор К.В. Александрова). Структура синтезованих речовин підтверджена за допомогою сучасних фізико-хімічних методів елементного аналізу, УФ-, ІК-, ПМР- і мас-спектрометричних методів, а чистота контролювалась методом тонкошарової хроматографії.

Дані речовини є білими кристалічними порошками, без запаху, з гірким смаком. Дані сполуки не розчинні у воді, легко розчинні у диметилформаміді, диметилсульфоксиді, практично не розчинні в ефірі, етанолі, хлороформі.

Дослідження гострої токсичності 1,8-дизаміщених 7-етил-3-метилксантину проведено на інтактних білих нелінійних мишах вагою 20-24г. ЛД₅₀ вираховували по методу Кьорбера [1, 4]. Вивчення діуретичної активності даних сполук проводили на білих щурах лінії Вістар вагою 180-195 г за методом Є.Б. Берхіна [1, 4]. Досліджувані речовини в дозі 0,05ЛД₅₀ та препарат порівняння гідрохлортіазид вводили внутрішньошлунково за допомогою металевого зонду.

Всі експериментальні процедури здійснювали відповідно до вимог GLP, методичних рекомендацій ДФЦ МОЗ України, а також «Положення про використання тварин в біомедичних дослідженнях» і Статуту Української асоціації з біоетики та норм GLP [1, 4].

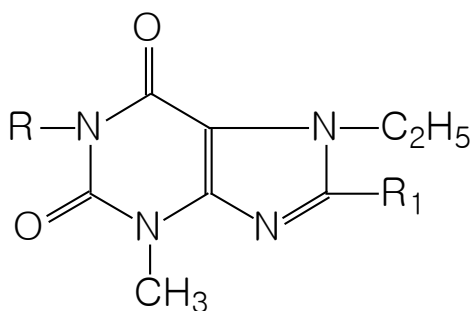
Одержані результати обраховані методами варіаційної статистики. Вірогідність різниць між середніми значеннями визначали за t-критерієм Ст'юдента при нормальному розподіленні. Порівняння груп за якісною ознакою проводили за допомогою критерію χ^2 . Статистичну обробку даних проводили з використанням стандартного пакету аналізу програми статистичної обробки результатів, версії «Microsoft Office Excel 2003», «STATISTICA® for Windows 6.0» (StatSoft Inc., № AXXR712D833214FAN5). Для кожної вивчаємої величини визначали показники середнього арифметичного (M) і стандартної помилки репрезентативності середнього арифметичного (m). Взаємозв'язок між

досліджуваними змінними проводили з використанням процедури бінарного регресійного аналізу. Для всіх видів аналізу статистично значущими вважали відмінності при рівні значущості менше 0,05.

Результати та їх обговорення. Аналіз отриманих результатів (табл. 1) показав, що ЛД₅₀ 1,8-дизаміщених-3-метилксантину знаходиться в інтервалі від 184,5 мг/кг до 343,4 мг/кг. В ряду досліджуваних похідних 3-метилксантину сполуки 1, 6-8, були менш токсичними: їх ЛД₅₀ знаходилась в інтервалі від 234,7 до 318,4 мг/кг. Серед досліджених речовин найбільш токсичною була сполука 12 – 1-бензил-8-бромо-7-етил-3-метилксантин (ЛД₅₀=184,5 мг/кг). Заміна у 8-му положенні атомів бром (спол. 12, 1, 2), на гексаметиленіміновий (спол. 11; ЛД₅₀=190,5 мг/кг), піролідиновий (спол. 10; ЛД₅₀=210,8 мг/кг), піперідиновий (спол. 6; ЛД₅₀=234,7 мг/кг), морфоліновий (спол. 7; ЛД₅₀=318,4 мг/кг), (тетрагідрофуріл-2-метил)аміновий (спол. 5; ЛД₅₀=247,5 мг/кг) призводило до зменшення токсичності. Найменш токсичною (ЛД₅₀= 343,4 мг/кг) була сполука 2 – 8-бромо-7-етил-3-метилксантиніл-1-етанамід.

Таблиця 1.

Гостра токсичність 1,8-дизаміщених 7-етил-3-метилксантину



№	Шифр	R	R ₁	ЛД ₅₀ , мг/кг
1	γ-9242	етил	бром	285,2 ±24,7
2	γ-9248	етанамід	бром	343,4 ±18,5
3	γ-9243	бензил	циклопентіламіно	250,8±17,3
4	γ-9245	бензил	(фуріл-2-метил)аміно	268,5±31,7
5	γ-9246	бензил	(тетрагідрофуріл-2-метил) аміно	247,5±29,5
6	γ-9254	етил	піперідино	234,7±33,1
7	γ-9255	етил	морфоліно	318,4±29,4
8	γ-9256	етил	піролідино	280,4±32,4
9	γ-9265	етанамід	морфоліно	235,7±24,8
10	γ-9266	етанамід	піролідино	210,8±34,3
11	γ-9267	етанамід	гексаметиленіміно	190,5 ±18,7
12	γ-9073	бензил	бром	184,5 ±19,0

Результати дослідження впливу 1,8-дизаміщених 7-етил-3-метилксантину на видільну функцію нирок у щурів (табл. 2) свідчать, що сполуки 4-11 стимулювали видільну функцію нирок у щурів, підвищували діурез за 4 години спостереження у межах від 94,5 % до 310,5 %. Найбільшу діуретичну активність проявила сполука 4 (1-бензил-7-етил-3-метил-8-(фуріл-2-

метил)аміноксантин), яка сприяла збільшенню екскреції сечі у щурів на 310,5 % ($p < 0,01$). Заміна у 8-му положенні молекули 1,8-дизаміщених 7-етил-3-метилксантину фурил-2-метиламінового радикалу (спол. 4) на гексаметиленіміновий (спол. 11), морфоліновий (спол. 7) та тетрагідрофурил-2-метиловий (спол. 5) призводило до зменшення діуретичної активності синтезованих речовин з 310,6 % до 252,5 %.

Таблиця 2.

Діуретична активність 1,8-дизаміщених 7-етил-3-метилксантину

Сполука №	Шифр	Доза, мг/кг	Діурез через			
			2 год		4 год	
			М±m, мл	% до контролю	М±m, мл	% до контролю
1	γ-9242	14,3	2,44±0,13 *	178,1	4,54±0,22*	165,7
2	γ-9248	17,2	1,11±0,07	81,0	5,06±0,13 *	184,6
3	γ-9243	12,5	2,14±0,14 *	156,2	6,04±0,22 **	220,4
4	γ-9245	13,5	2,54 ±0,16 *	185,4	13,29±0,12**	410,5
5	γ-9246	12,4	3,17±0,19 **	231,4	9,66±0,27**	352,5
6	γ-9254	11,7	2,47±0,09 *	180,3	8,51±0,23 **	310,6
7	γ-9255	15,9	1,40 ±0,12	102,2	9,87±0,15 **	360,2
8	γ-9256	14,0	2,09±0,16 *	152,6	6,63 ±0,19 **	242,0
9	γ-9265	11,8	2,82±0,15 **	205,8	9,06±0,24 **	330,6
10	γ-9266	10,6	2,39±0,14 *	174,4	5,33±0,14**	194,5
11	γ-9267	9,6	2,71±0,24 *	197,8	108,68 ± 0,18**	390,0
12	γ-9073	9,3	2,36±0,19	172,3	3,99±0,18*	144,5
Гідрохлортіазид		25,0	2,57±0,11	186,6	5,09±0,10 *	184,4
Контроль		–	1,37±0,05	100	2,76±0,18	100

Примітка: * і ** - достовірність відміни з контролем ($p < 0,05$ і $p < 0,01$), відповідно.

В реалізації діуретичного ефекту метилксантинів значну роль в останні роки приділяють не тільки їх здатності блокувати фосфодіестеразу і підвищувати рівень цАМФ, але й блокувати аденозинові A_1 -рецептори в ниркових судинах, Активація аденозинових A_1 -рецепторів за допомогою G-білка інгібує аденілатциклазу і зменшує рівень цАМФ. В ниркових судинах стимуляція аденозинових A_1 -рецепторів призводить до звуження цих судин, підвищення судинного опору та зменшенню ниркового кровообігу.

Таким чином, діуретичний ефект вперше синтезованих 1,8-дизаміщених 7-етил-3-метилксантину можна пояснити їх антагонізмом з аденозиновими A_1 -рецепторами і здатністю блокувати фосфодіестеразу, що призводить до значного підвищення вмісту цАМФ в ниркових судинах і зменшення концентрації Ca^{2+} в цитоплазмі, подальшого зменшення опору ниркових судин, дилатації аферентних артеріол в нирках, що сприяє збільшенню кровообігу і фільтраційної здатності нирок, підвищує швидкість гломерулярної фільтрації і діурез.

Таким чином, проведенні дослідження показали, що 1-бензил-7-етил-3-метил-8-(фуріл-2-метил)аміноксантин (спол. 5) перевершує діуретичну дію гідрохлортіазиду на 226,1 % і може бути рекомендована для подальшого доклінічного дослідження.

Висновки

1. Найбільшу діуретичну активність проявив 1-бензил-7-етил-3-метил-8-(фуріл-2-метил)аміноксантин (спол. 5), що збільшував фільтраційну функцію нирок у щурів на 252,5% та перевищувала діуретичний ефект гідрохлортіазиду в 1,91 рази.

2. Похідні 1,8-дизаміщених 7-етил-3-метилксантинує перспективною групою в хімічному та фармакологічному відношенні для пошуку і створення на їх основі активних фармакологічних речовин.

Література

1. Доклінічні дослідження лікарських засобів / за ред. О.В. Стефанова. – Київ: Авіцена, 2001. – 528 с.
2. Вивчення залежності гострої токсичності та діуретичної активності від хімічної структури в ряду 8-амінозаміщених 7-(3-п-метокси-фенокси-) пропіл-3-метилксантину / Л.В. Григор'єва, І.Б. Самура, М.І. Романенко та ін. *Український журнал медицини, біології та спорту*. 2018. № 1 (10). С. 31–35.
3. Експериментальна артеріальна гіпертензія: вплив лікарських засобів / М.І.Загородний, Р.С. Довгань, О.О. Нагорна [та інші]. Київ: ПВП «Радуга», 2014. 280с.
4. Лікарська токсикологія. Доклінічні дослідження. Беленічев І.Ф., Трахтенберг І.М., Брухно Р.П., Чекман І.С. Київ : Аііцена, 2019. 544с.
5. Матюха Л.Ф. Застосування діуретиків у пацієнтів із артеріальною гіпертензією: перспективи й обмеження. *Український медичний часопис*. 2016. №2 (112). С. 33-38.
6. Самура Б.А. Методологічне обґрунтування оптимізації комп'ютерного прогнозу біологічної активності вперше синтезованих сполук для проведення скринінгу фізіологічно активних речовин / Б.А. Самура, В.І. Корнієнко, М.І. Романенко. Методичні рекомендації. – К. – 2015. – 16 с.
7. Aminophylline effect on renal ischemia-reperfusion injury in mice / Seo K., Choi J.W., Kim D.W. *Transplantation Proceedings*. 2017. No 2 (49). P. 358-365. doi.org/10.1016/j.transproceed.2016.11.043
8. Mokra D., Mokry Ju., Matasova K. Phosphodiesterase inhibitors: Potential role in the respiratory distress of neonates. *Pediatric Pulmonology*. 2018. N9 (53). P. 1318-1325. https://doi.org/10.1002/ppul.24082
9. Synthesis, physical-chemical and biological properties of 8-aminosubstituted 7- β -hydroxy (oxo)alkyl (aryl)-xanthenes / N.I. Romanenko, V.I. Kornienko, O.A. Pakhomova, [et al.] // X International Symposium on the Chemistry of Natural Compounds Nov. – 2013. Tashkent-Bukhara, Republic of Uzbekistan. P. 269.
10. No requirement for targeted theophylline levels for diuretic effect of aminophylline in critically ill children. *Pediatr. Crit. Care Med*. 2018. No 19 (8). P.435-432. doi: 10.1097/PCC.0000000000001608
11. Inflammation and Muscle Weakness in COPD: Considering a Renewed Role for Theophylline? / S. Allen, A Khattab, M Vassallo, J. Kwan // *Current Respiratory Medicine Reviews*. 2018. No 1 (14). P. 35-41.