

DOI: 10.26693/jmbs03.01.031

УДК 615.31'857.4.099:615.254.1.015.14

*Григор'єва Л. В.¹, Самура І. Б.², Романенко М. І.²,
Литвин О. І.¹, Тихоновський О. В.²*

ВИВЧЕННЯ ЗАЛЕЖНОСТІ ГОСТРОЇ ТОКСИЧНОСТІ ТА ДІУРЕТИЧНОЇ АКТИВНОСТІ ВІД ХІМІЧНОЇ СТРУКТУРИ В РЯДУ 8-АМІНОЗАМІЩЕНИХ 7-(3-П-МЕТОКСИФЕНОКСИ-)ПРОПІЛ-3- МЕТИЛКСАНТИНУ

¹Харківський національний університет імені В.Н. Каразіна²Запорізький державний медичний університет

grigorieva.l.v.main.mail@gmail.com

Актуальною проблемою експериментальної фармакології та сучасної медицини є пошук та створення нових ефективних лікарських препаратів для покращення функціональної активності нирок, збільшення сечовиділення при патологічних станах.

Проведено експериментальне дослідження гострої токсичності та впливу на функцію нирок лабораторних тварин 10 вперше синтезованих сполук в ряду 8-амінозаміщених 7-(3-*п*-метоксифенокси-)пропіл-3-метилксантину. Відповідно до класифікації К. К. Сидорова, всі досліджувані сполуки при внутрішньоочеревинному введенні відносяться до четвертого класу – малотоксичних речовин ($LD_{50} = 340,0-985,0$). Встановлено, що найбільшу діуретичну активність виявила сполука 3-метил-7-(3-*п*-метоксифенокси-)пропіл-8-(фурил-2)-метиламіноксантин (спол. 5), яка збільшує діурез на 215,2% у порівнянні з контролем і перевищує діуретичний ефект препарату порівняння гідрохлортиазиду в 1,7 рази. Таким чином, похідні 8-амінозаміщених 7-(3-*п*-метоксифенокси-)пропіл-3-метилксантину є перспективною групою малотоксичних органічних речовин для проведення подальшого синтезу і дослідження діуретичної активності з метою створення на їх основі високоефективних засобів для поліпшення видільної функції нирок.

Ключові слова: метилксантини, гостра токсичність, простагландини, діуретична активність, гідрохлортиазид.

Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами. Дана робота є фрагментом НДР ЗДМУ «Синтез, фізико-хімічні і біологічні властивості ксантинових ксенобіотиків», № державної реєстрації 1Н15.00.02.01.

Вступ. Важливою проблемою сучасної фармакології є лікарська корекція механізмів, регулюючих загальну гемодинаміку і водно-натрієвий баланс при фізіологічних та патологічних станах. Регуля-

ція балансу натрію і води є важливою стратегією для розробки методів раціональної фармакотерапії порушень екскреторної функції нирок [2, 11]. Нирковий транспорт електролітів та води реалізується під контролем багаточисленних регуляторних факторів. Порушення балансу складу внутріклітинної і позаклітинної рідин має важливу роль при захворюваннях людини [12]. Патологічні процеси в нирках розвиваються при артеріальній гіпертензії, хронічній серцевій недостатності, нефротичному синдромі, хронічній нирковій недостатності, нецукровому діабеті та інших хворобах [4, 13, 14]. При лікуванні артеріальної гіпертензії, порушень водно-електролітного балансу проводиться фармакологічна корекція екскреторної функції нирок діуретичними препаратами. Незважаючи на досягнуті успіхи у профілактиці та лікуванні діуретичними препаратами, багато питань цієї проблеми залишаються актуальними і потребують активних досліджень. Поряд з вираженим діуретичним ефектом, для сечогінних засобів типовими є такі побічні явища, як гіпо- або гіперкаліємія, гіперліпідемія, гіперглікемія, гіпохлоремічний алкалоз, метаболічний ацидоз, азотемія, порушення білкового обміну та ін. [8], які обмежують їх застосування в клінічній практиці [6, 13].

У зв'язку з цим важливим завданням експериментальної фармакології є пошук та створення нових ефективних лікарських препаратів для покращення діяльності нирок та збільшення сечовиділення при патологічних станах.

Нашу увагу привернули вперше синтезовані гетероциклічні органічні речовини в ряду 8-амінозаміщених 7-(3-*п*-метоксифенокси-)пропіл-3-метилксантину [15]. Прогнозування фармакологічної активності 8-амінозаміщених 7-(3-*п*-метоксифенокси-)пропіл-3-метилксантину проведено з використанням єдиного опису хімічної структури і універсального математичного алгоритму встановлення залежності «структура-активність» за програмою

PASS (Prediction of Activity Spectra for Substances). Хімічні структури сполук вводились за допомогою комп'ютерної програми Chem Office 2006 (утиліта ChemDraw Ultra 10.0) та визначали спектр біологічної активності. Біологічна активність представлена в програмі та виражається якісно «активне»-«неактивне» (Pa/Pi) ($P_a \geq 0,300$) [7].

Комп'ютерний прогноз фармакологічної активності за програмою PASS нових вперше синтезованих похідних 8-амінозаміщених 7-(3-*п*-метоксифенокси-)пропіл-3-метилксантину, свідчить про широкий біологічний спектр їх дії, а вірогідна наявність діуретичної активності послужила основою для проведення експериментальних досліджень на лабораторних тваринах.

Мета дослідження. Метою роботи було дослідження залежності гострої токсичності та діуретичної активності від хімічної структури серед вперше синтезованих 8-амінозаміщених 7-(3-*п*-метоксифенокси-)пропіл-3-метилксантину у дослідах на щурах.

Об'єкт і методи дослідження. Об'єктом дослідження були вперше синтезовані на кафедрі біохімії Запорізького державного медичного університету професором Романенко М.І. (зав. кафедри професор Александрова К.В.) похідні 8-амінозаміщених 7-(3-*п*-метоксифенокси-)пропіл-3-метилксантину (сполуки 1-10).

Структура синтезованих сполук підтверджена за допомогою сучасних фізико-хімічних методів елементного аналізу, УФ-, ІК-, ПМР- и мас-спектрометрії, зустрічним синтезом, а чистота синтезованих речовин контролювалася методом тонкошарової хроматографії. Дані речовини є білими кристалічними порошками, без запаху, з гірким смаком. Дані сполуки не розчинні у воді, легко розчинні у диметилфоаміді, диметилсульфоксиді, практично не розчинні в ефірі, етанолі, хлороформі [15].

Дослідження гострої токсичності 7-(3-*п*-метоксифенокси-)пропіл-8-аміно-3-метилксантинів проведено на інтактних білих нелінійних мишах вагою 20–24 г. LD_{50} вираховували за методом Кьорбера [9, 10]. Вивчення діуретичної активності цих сполук проведено на білих щурах лінії Вістар вагою 180–195 г за методом Є. Б. Берхіна [1, 3]. Досліджувані речовини в дозі 0,05 LD_{50} та препарат порівняння гідрохлортіазид вводили внутрішньошлунково за допомогою металевого зонду. При проведенні експериментальних досліджень тварини знаходились в стандартних умовах, згідно з нормами і принципами Директиви Ради ЄС по питанням захисту хребетних тварин, яких використовували для експериментальних та інших наукових досліджень [3].

Одержані результати обраховані методами варіаційної статистики. Дані представлені у вигляді середнього арифметичного та стандартної помил-

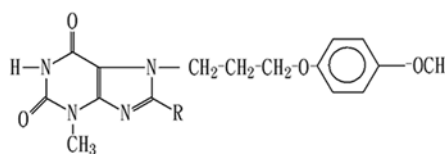
ки. Вірогідність різниць між середніми значеннями визначали за *t*-критерієм Стьюдента при нормальному розподіленні. Порівняння груп за якісною ознакою проводили за допомогою критерію χ^2 . Результати дослідження оброблені із застосуванням статистичних пакетів програм «Microsoft Office Excel 2003», «IBM SPSS Statistics v. 20», «STATISTICA for Windows 6.0». Статистично значущими вважали відмінності при рівні значущості не менше 0,05 [5, 8].

Результати досліджень та їх обговорення.

Одержані результати дослідження гострої токсичності 8-амінозаміщених 7-(3-*п*-метоксифенокси-)пропіл-3-метилксантину (сполуки № 1-10) наведені в табл. 1.

Аналіз даних свідчить, що LD_{50} синтезованих сполук знаходиться в інтервалі від 340 до 985 мг/кг. Найбільш токсичною ($LD_{50}=340$ мг/кг) була сполука 6-3-метил-7-(3-*п*-метоксифенокси-)пропіл-8-*н*-бутиламіноксантина. Заміна у 8-му положенні молекули 7-(3-*п*-метоксифенокси-)пропіл-8-аміно-3-метилксантинів *н*-бутиламіно (сполука 6) радикала на 4-бензилпіперазин-1-ільний (сполука 11), *п*-етоксифеніламіновий (сполука 10), *N,N*-диетиламіноетиламіновий (сполука № 4), 4-метилпіперазин-1-ільний (сполука 1), *N,N*-диметиламіноетиламіновий (сполука 3), *N*-метил-*N*-бензиламіновий (сполука 2), (піролідін-1-ільний (сполука 7), *м*-толіламіновий (сполука 9), β -гідроксиетилпіперазин-1-ільний (сполука 8), (фуріл-2)метиламіновий (сполука 5) приводить до зменшення гострої токсичності цих речовин. Відповідно до класифікації К.К. Сидорова [10] токсичності синтетичних речовин при внутрішньоочеревинному введенні всі досліджені 8-аміно-

Таблиця 1 – Гостра токсичність (LD_{50}) 8-амінозаміщених 7-(3-*п*-метоксифенокси-)пропіл-3-метилксантину



№	R	LD_{50} , мг/кг
1	4-метилпіперазин-1-іл)	465,0 ± 28,4
2	<i>N</i> -метил- <i>N</i> -бензиламіно	580,0 ± 29,9
3	<i>N,N</i> -диметиламіноетиламіно	470,0 ± 25,8
4	<i>N,N</i> -диетиламіноетиламіно	395,0 ± 39,8
5	(фуріл-2)метиламіно	890,0 ± 35,9
6	<i>н</i> -бутиламіно	340,0 ± 18,4
7	(піролідін-1-іл)	720,0 ± 21,3
8	(β -гідроксиетилпіперазин-1-іл-)	760,0 ± 21,2
9	<i>м</i> -толіламіно	535,0 ± 38,5
10	<i>п</i> -етоксифеніламіно	985,0 ± 34,6

Таблиця 2 – Діуретична активність 8-амінозаміщених 7-(3-*п*-метоксифенокси-)пропіл-3-метилксантину

Сполука №	Доза, мг/кг	Діурез через			
		2 години		4 години	
		М±m, мл	% до контролю	М±m, мл	% до контролю
1	20,3	2,43±0,14*	167,6	4,68±0,17*	165,4
2	25,8	3,78±0,13*	260,7	5,39±0,19 *	189,1
3	21,4	3,10±0,21*	213,8	4,74±0,21*	166,3
4	18,3	2,86 ±0,11*	197,2	5,96±0,32**	209,1
5	41,8	4,57±0,17**	315,2	9,75±0,21**	342,1
6	14,8	3,36±0,24*	231,7	7,47±0,26*	262,1
7	27,3	2,72±0,16*	187,6	3,84±0,34	134,7
8	34,8	2,56±0,27*	176,6	4,56 ±0,27	160,0
9	31,0	3,21±0,23	221,4	7,26±0,36**	254,7
10	17,2	3,16±0,19*	217,9	6,97±0,15*	244,6
Гідрохлортіазид	25,0	2,76±0,11*	190,3	5,47±0,18*	191,9
Контроль	–	1,45±0,15	100	2,85±0,27	100

Примітки: * $p < 0,05$ та ** $p < 0,01$ відносно контролю.

заміщених 7-(3-*п*-метоксифенокси-)пропіл-3-метилксантину (сполуки 1-10) відносяться до малотоксичних речовин ($LD_{50} = 340,0-985,0$).

Аналіз результатів вивчення діуретичної активності (табл. 2) свідчить, що похідні 8-амінозаміщених 7-(3-*п*-метоксифенокси-)пропіл-3-метилксантину (сполуки 1-10) за 2 години збільшують у дослідних тварин екскрецію сечі в межах від 67,6% до 215,2% ($p < 0,05$).

Найбільш виражену діуретичну активність виявила сполука 5 – 3-метил-7-(3-*п*-метоксифенокси-)пропіл-8-(фурил-2)метиламіноксантин, яка збільшувала водний діурез на 215,2% у порівнянні з контролем ($p < 0,01$) та перевищувала в 1,7 рази (на 125,1%) діуретичну активність препарату порівняння гідрохлортіазиду ($p < 0,05$).

Уведення у 8-ме положення молекули 7-(3-*п*-метоксифенокси-)пропіл-8-аміно-3-метилксантинів замість фурил-2-метиламінового (сполука 5) радикала *N*-метил-*N*-бензиламінового (сполука 2), *n*-бутиламінового (сполука 6), *m*-толіламінового (сполука 9), *p*-етоксифеніламінового (сполука 10) та *N,N*-диметиламіноетиламінового (сполука 3) фрагментів призводить до зменшення видільної функції нирок від 215,2% до 113,8%. По зменшенню впливу на діяльність нирок інших 8-амінозаміщених 7-(3-*п*-метоксифенокси-)пропіл-3-метилксантину залежно від різних заступників, що знаходяться в 8-му положенні молекули цього ряду, вперше синтезовані речовини можна розташувати в наступній

послідовності: *N,N*-диетиламіноетиламіновий (сполука 4), піролідин-1-ільний (сполука 7), β -гідроксипіперазин-1-ільний-(сполука 8) та 4-метилпіперазин-1-ільний (сполука 1), які викликають у щурів збільшення водного діурезу в інтервалі від 97,2% до 67,6%. Препарат порівняння гідрохлортіазид в дозі 25 мг/кг збільшує водний діурез на 90,3%.

Таким чином можна припустити, що діуретичний ефект вперше синтезованих похідних 8-амінозаміщених 7-(3-*п*-метоксифенокси-)пропіл-3-метилксантину залежить від екскреції іонів натрію, підвищення синтезу простагландинів ПГЕ₂ та активності калікреїн-кінінової системи у дослідних щурів.

Висновки

1. Всі досліджені речовини в ряду 8-амінозаміщених 7-(3-*п*-метоксифенокси-)пропіл-3-метилксантину відносяться до малотоксичних речовин.
2. Найбільш виражену діуретичну активність виявила сполука 5 – 3-метил-7-(3-*п*-метоксифенокси-)пропіл-8-(фурил-2)метиламіноксантин, яка збільшувала водний діурез на 215,2% у порівнянні з контролем та перевищувала в 1,7 разів діуретичну активність препарату порівняння гідрохлортіазиду.

Перспективи подальших досліджень. Похідні 8-амінозаміщених 7-(3-*п*-метоксифенокси-)пропіл-3-метилксантину є перспективною групою гетероциклічних речовин для створення на їх основі ефективних та безпечних діуретичних препаратів.

References

1. Berkhin EB. Metody izucheniya deystviya novykh khimicheskikh soedineniy na funktsiyu pochek. *Khim farm zhurnal*. 1977; 11 (5): 3-11. [Russian].
2. Glezer GA. *Diuretika: rukovodstvo dlya vrachev*. M: Interbuk-biznes, 1993. 352 s. [Russian].

3. *Doklinichni doslidzhennya likarskikh zasobiv*. Za red OV Stefanova. Kyiv: Avitsena, 2001. 528 s. [Ukrainian].
4. Zagorodny MI, Dovgan RS, Nagorna OO, ta inshi. *Eksperimentalna arterialna gipertenziya: vpliv likarskikh zasobiv*. Kiyiv: PVP «Zadruga», 2014. 280 s. [Ukrainian].
5. Lapach SN, Chubenko AV, Babich PN. *Statisticheskie metody v mediko-biologicheskikh issledovaniyakh s ispolzovaniem Excel*. K: Morion, 2000. 320 s. [Russian].
6. Mashkovskiy MD. *Lekarstvennye sredstva*. Izdanie 16-e, pererab, ispr i dop. M: Novaya Volna, 2012. 1216 s. [Russian].
7. Samura BA, Korniyenko VI, Romanenko MI. *Metodologichne obgruntuvannya optimizatsiyi komp'yuternogo prognozu biologichnoyi aktivnosti vpershe sintezovanih spoluk dlya provedennya skringu fiziologichno aktivnikh rechovin*. Metodichni rekomendatsiyi. K, 2015. 16 s. [Ukrainian].
8. Drogovoz SM, Gudzenko AP, Butko YaA, i dr. *Pobochnoe deystvie lekarstv*. Kh: «SIM», 2010. 480 s. [Russian].
9. Sernov LN, Gatsura VV. *Elementy eksperimentalnoy farmakologii*. M, 2000. 352 s. [Russian].
10. Sidorov KK. O klassifikatsii toksichnosti yadov pri parenteralnykh sposobakh vvedeniya. *Toksikologiya novykh promyshlennykh khimicheskikh veshchestv*. M. 1973; 13: 47-60. [Russian].
11. Sheyman Dzheymys A. *Patofiziologiya pochki*: per. s angl. 2-e izd. M-SPb: Binom; Nevskiy Dialekt, 1999. 206 s. [Russian].
12. Djaladat H, Tajik P, Fard SA, Alehashemi S. The effect of aminophylline on renal colic: a randomized double blind controlled trial. *South Med J*. 2007; 100 (Mssl): 1081-4.
13. Nadai M, Kato M, Yoshizumi H, Kimura M, _Kurono Sh, _Abe F, _Saito H, Hasegawa T. Possible involvement of organic anion and cation transporters in renal excretion of xanthine derivatives, 3- methylxanthine and eufylline. *J Life Sci*. 2007; 22 (15): 1175-82. <https://doi.org/10.1016/j.lfs.2007.07.032>.
14. Ng GY, Baker EH. Aminophylline as an adjunct diuretic for neonates case series. *Int J Cardiol*. 2006; 110 (1): 122-4.
15. Romanenko NI, Kornienko VI, Pakhomova OA, et al. Synthesis, physicalchemical and biological properties of 8-aminosubstituted 7- β -hydroxy (oxo)alkyl (aryl)-xanthenes. *Xth International Symposium on the Chemistry of Natural Compounds Nov. Tashkent-Bukhara, Republic of Uzbekistan*. 2013. P. 269.

УДК 615.31'857.4.099:615.254.1.015.14

ИЗУЧЕНИЕ ЗАВИСИМОСТИ ОСТРОЙ ТОКСИЧНОСТИ И ДИУРЕТИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ ОТ ХИМИЧЕСКОЙ СТРУКТУРЫ В РЯДУ 8-АМИНОЗАМЕЩЕННЫХ 7-(3-П-МЕТОКСИФЕНОКСИ-)ПРОПИЛ-3-МЕТИЛКСАНТИНА

Григорьева Л. В., Самура И. Б., Романенко Н. И., Литвин Е. И., Тихоновский А. В.

Резюме. Актуальной проблемой экспериментальной фармакологии и современной медицины является поиск и создание новых эффективных лекарственных препаратов для улучшения функциональной активности функции почек, увеличения мочеиспускания при патологических состояниях.

Проведено экспериментальное исследование острой токсичности и влияния на функцию почек лабораторных животных 10 впервые синтезированных соединений в ряду 8-аминозамещенных 7-(3-п-метоксифенокси-)пропил-3-метилксантина. В соответствии с общепринятой классификацией К.К. Сидорова, все изучаемые соединения при внутрибрюшинном введении относятся к четвертому классу – малотоксичным веществам ($LD_{50} = 340,0-985,0$). Установлено, что наибольшую диуретическую активность проявил 3-метил-7-(3-п-метоксифенокси-)пропил-8-(фурил-2)-метиламиноксантин (соединение 5), который увеличивает диурез на 215,2% по сравнению с контролем и превышает диуретический эффект препарата сравнения гидрохлоротиазида в 1,7 раза.

Таким образом, производные 8-аминозамещенных 7-(3-п-метоксифенокси-)пропил-3-метилксантина являются перспективной группой органических малотоксичных веществ для проведения дальнейшего синтеза и исследования диуретической активности с целью создания на их основе высокоэффективных средств для улучшения выделительной функции почек.

Ключевые слова: метилксантины, острая токсичность, простагландины, диуретическое активностью, гидрохлортиазид.

UDC 615.31'857.4.099:615.254.1.015.14

Research of Dependence of Acute Toxicity and Diuretic Activity on Chemical Structure in the Row of 8-amino substituted of 7-(3-p-metoxypheoxy)-propyl-3-methylxantines

Hrygorieva L. V., Samura I. B., Romanenko N. I., Lytvyn O. I., Tihonovsky O. V.

Abstract. A topical issue of the contemporary pharmacology and modern medicine remains the creation of new safer and more efficient medicines regulating the general haemodynamics and water and sodium balance in physiological and pathological conditions. Regulation of sodium and water balance being one of the important homeostatic functions is crucial for developing the new strategies for rational pharmacotherapy of excretory kidney function.

Pathological processes in the kidneys develop in arterial hypertension, chronic heart failure, nephrotic syndrome, acute and chronic renal failure, diabetes, all type of shock and other diseases. Although progress in the prevention and treatment of many pathological conditions by diuretics is evident, many questions on this issue are topical and demand further active research. Along with a strong diuretic action, administration of diuretics may lead to the development of serious adverse effects such as hypokalemia, hypochloremic alkalosis, metabolic acidosis, hyperlipidemia, hyperglycemia, azotemia, disturbances of protein metabolism and others that limit their application in clinical practice.

The purpose of this research was to study dependence of acute toxicity and diuretic activity on chemical structure of the newly synthesized compounds in the row of 8-amino substituted of 7-(3-p-methoxyphenoxy)-propyl-3-methylxantines in experiments on rats. The structure of the synthesized compounds has been confirmed by using modern physico-chemical methods of elemental analysis, UV-, IR-, PMR- and mass-spectrometry; counter synthesis. The purity of the synthesized substances was controlled by the method of thin-layer chromatography. Prediction of pharmacological activity of 8-amino substituted of 7-(3-p-methoxyphenoxy)-propyl-3-methylxantines was conducted with application of the universal description of the chemical structure and universal mathematical algorithm to predict pharmacological effects and biochemical mechanisms based on the structural formula of a substance by software product PASS (Prediction of Activity Spectra for Substances). The studies were carried out in accordance with EC Directive 86/609 EEC. The obtained results of acute toxicity of 8-amino substituted of 7-(3-p-methoxyphenoxy)-propyl-3-methylxantines (compounds 1-10) has shown that LD₅₀ of the synthesized compounds is in the range from 340.0 to 985.0 mg/kg. According to the generally accepted classification of K.K. Sidorov, all the investigated compounds belong to the fourth class and they are low-toxic substances.

Analysis of the diuretic activity research results showed that derivatives of 7-(3-p-methoxy-phenoxy)-propyl-8-amino-3-methylxantine (compounds 1–10) increased urine excretion in the range from 67.6% to 215.2% ($p < 0.01$). It was found that the strongest diuretic activity among investigated compounds had the compound 5 – 3-methyl-7- (2-hydroxy-3-p- methoxyphenoxy-) propyl-8- (furyl-2) methylaminoxanthine which at a dose of 41.8 mg/kg enhanced the water diuresis by 215.2% ($p < 0.01$).

Therefore, the derivatives of 7-(2-hydroxy-3-p-methoxyphenoxy)propyl-8-amino-3-methylxanthines are a promising group of low-toxic organic substances for further synthesis and research with the purpose of creation on their basis of highly effective agents that improve renal excretory function. The strongest diuretic effect has been shown by the compound 5, which exceeded the effect of the reference agent hydrochlorothiazide by 125.1% ($p < 0.05$) and it may be selected for further study of the specific activity.

Keywords: methylxanthines, acute toxicity, prostaglandins, diuretic activity, hydrochlorothiazide.

Стаття надійшла 04.11.2017 р.

Рекомендована до друку на засіданні редакційної колегії після рецензування