

**ВПЛИВ КОМБІНАЦІЇ N-АЦЕТИЛГЛЮКОЗАМІНУ ТА КВЕРЦЕТИНУ
В ІН'ЄКЦІЙНІЙ ФОРМІ НА ПЕРЕБІГ ІШЕМІЧНОЇ ГОСТРОЇ НИРКОВОЇ
НЕДОСТАТНОСТІ В ЩУРІВ**

Вступ. Оптимізація лікування гострої ниркової недостатності (ГНН) – важлива медико-фармацевтична проблема. Гостра ниркова недостатність є поширеним ускладненням не тільки захворювань нирок, а й різних паліативних та оперативних методів лікування. В окремих групах хворих смертність від неї сягає 80 %. Тому пошук ефективних засобів корекції ГНН є актуальним завданням сучасної експериментальної фармакології. Перспективним підходом у вирішенні даної проблеми може стати впровадження фармацевтичної комбінації на основі флавоноїду кверцетину та аміноцукру N-ацетилглюкозаміну в ін'єкційній формі.

Мета дослідження – провести експериментальне вивчення ефективності комбінації N-ацетилглюкозаміну та кверцетину в ін'єкційній формі за умов розвитку ішемічної гострої ниркової недостатності.

Методи дослідження. Дослідження виконували на моделі ішемічної ГНН у щурів, яку відтворювали шляхом тотальної оклюзії ниркових судин протягом 75 хв. Досліджувану комбінацію вивчали в дозі 30 мг/кг при щоденному внутрішньовенному введенні протягом 3-х діб порівняно з кверцетином (препарат "Корвітин"), який вводили внутрішньовенно у дозі 34 мг/кг. Ефективність препаратів оцінювали за загальним фізичним станом тварин, видільною функцією нирок та показниками азотистого обміну.

Результати й обговорення. Під впливом досліджуваної комбінації в щурів з ГНН вірогідно ($p < 0,05$) відносно нелікованих тварин знижувалася летальність, спостерігали зменшення діурезу в 1,5 раза, протеїнурії у 2,4 раза, посилення клубочкової фільтрації у 3,0 раза та канальцевої реабсорбції на 9,9 %, підвищення сечової екскреції креатиніну в 1,4 раза і сечовини в 1,9 раза, що в цілому свідчило про нормалізацію функціонального стану нирок й азотистого обміну. Що стосується ефективності, то комбінація при цьому вірогідно ($p < 0,05$) перевершувала дію корвітину за всіма дослідженими показниками.

Висновки. Комбінація N-ацетилглюкозаміну та кверцетину – ефективний засіб корекції гострої ниркової недостатності, який можна вводити внутрішньовенно. Доцільним є подальше вивчення цього препарату як засобу лікування ниркової патології.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: N-ацетилглюкозамін; кверцетин; ін'єкційна форма; гостра ниркова недостатність.

ВСТУП. Ефективне лікування гострої ниркової недостатності (ГНН) – важлива проблема медико-фармацевтичної практики сьогодення. Гостра ниркова недостатність є поширеним ускладненням не тільки нефропатій, а й інших захворювань, а також може бути результатом проведеної лікарської терапії і використання паліативних або оперативних методів лікування. Згідно зі статистичними даними, її поширеність становить 5–10 % від усіх госпіталізованих пацієнтів [1]. Набагато частіше вона виникає у критичних хворих, досягаючи поширеності 67 %, при цьому в 5 % розвивається тяжка ГНН, що потребує замісної ниркової терапії [2]. Протягом останніх 25 років відбулось майже 20-кратне збільшення захворюваності на ГНН, тому ця

© С. К. Шебеко, І. А. Зупанець, Т. С. Сахарова, 2019.

патологія набуває невинного поширення [1]. Найбільшою небезпекою при ГНН є смертність, що знаходиться в межах до 15 % у загальній популяції хворих і сягає 80 % у пацієнтів, які перебувають у критичному стані [2]. Тому оптимізація лікування хворих та пошук ефективних нефропротекторних засобів є актуальним завданням сучасної експериментальної фармакології.

Перспективним підходом у вирішенні даної проблеми може стати впровадження комбінованих препаратів на основі мембранопротекторів та антиоксидантів природного походження, серед властивостей яких є нефропротекторний вплив за різними механізмами дії. З огляду на це, науковий інтерес становить дослідження фармацевтичної комбінації на основі флавоноїду

кверцетину та аміноцукру N-ацетилглюкозаміну (НАГ) в ін'єкційній формі.

Кверцетин є відомим флавоноїдом рослинного походження, що володіє широким спектром фармакологічних ефектів. Найбільш значимими серед них є антиоксидантний, антигіпоксичний, мембраностабілізуючий та протизапальний [3]. Завдяки цьому кверцетин має ангіопротекторні властивості й знижує проникність гломерулярних капілярів. Даний комплекс ефектів є корисним у лікуванні ниркової патології. Ефективність кверцетину було підтверджено під час експериментальних досліджень на різних моделях нефропатій, у тому числі при ін'єкційному введенні [4].

N-ацетилглюкозамін є активним метаболітом глюкозаміну (ГА), нефропротекторну дію якого було доведено раніше [5, 6]. Глюкозамін входить у складі глікозаміногліканів і глікопротеїнів до структур біологічних мембран, у тому числі до базальної мембрани нефронів, саме в ацетильованому вигляді, що й зумовлює його нефропротекторні властивості [7]. Тому потенційно НАГ у результаті прямого механізму дії має більш виражений нефропротекторний ефект, ніж ГА.

З огляду на особливості фармакологічних властивостей кверцетину та НАГ, комбінований препарат на їх основі є перспективним для лікування ниркової патології, оскільки обидва компоненти взаємно доповнюють фармакодинаміку один одного ефектами, необхідними для лікування захворювань нирок. У попередніх дослідженнях ми довели високу ефективність комбінацій кверцетину з похідними ГА при внутрішньошлунковому застосуванні в щурів на різних моделях нефропатій [4]. У зв'язку з цим, науковий інтерес становить дослідження комбінованого препарату в ін'єкційній формі, що може виявитись більш ефективним і бути корисним не тільки при латентному перебігу захворювань нирок, а й при ГНН та загостреннях хронічних нефропатій.

Мета дослідження – провести експериментальне вивчення ефективності комбінації N-ацетилглюкозаміну та кверцетину в ін'єкційній формі за умов розвитку ішемічної гострої ниркової недостатності.

МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ. Експериментальне дослідження виконано на 38 білих нелінійних щурах масою 170–190 г, яких утримували на стандартному харчовому раціоні при вільному доступі до води, постійних вологості та температурному режимі [8]. Усі дослідження проводили відповідно до Директиви Ради ЄС 2010/63/EU про дотримання законів, постанов та адміністративних положень держав ЄС з питань захисту

тварин, які використовуються для наукової мети [9].

Як об'єкт дослідження використовували комбінацію НАГ та кверцетину в ін'єкційній формі у співвідношенні 1:1. Для приготування комбінації застосовували НАГ у вигляді 6 % розчину для ін'єкцій, який було розроблено та виготовлено як дослідну серію на ПАТ НВЦ “Борщагівський ХФЗ” (Україна). Кверцетин використовували у вигляді препарату “Корвітин” (ПАТ НВЦ “Борщагівський ХФЗ”, Україна), що є ліофілізованим порошком для ін'єкцій, який також окремо застосовували як референтний засіб.

У ході дослідження всіх тварин було поділено на такі групи: псевдооперований контроль (n=8); контрольна патологія (n=10); тварини з ГНН, які отримували внутрішньовенно комбінацію НАГ/корвітин у дозі 30 мг/кг (ED_{50} за нефропротекторною дією) (n=10); тварини з ГНН, які одержували внутрішньовенно корвітин у дозі 34 мг/кг (ED_{50} за нефропротекторною дією) [4] (n=10).

Для відтворення ішемічної ГНН у щурів під загальним наркозом (етамінал-натрій, 40 мг/кг, внутрішньочеревно) виконували серединну лапаротомію та викликали тотальну ішемію обох нирок протягом 75 хв за допомогою накладання мініатюрних судинних затискачів на ниркові ніжки [10]. Після видалення затискачів черевну порожнину пошарово ушивали. У тварин групи псевдооперованого контролю затискачів на ниркові ніжки не накладали. Усі маніпуляції проводили з дотриманням вимог асептики.

Починаючи з 1-го дня експерименту (за 1 год до відтворення ГНН) та протягом 3-х діб щури щоденно внутрішньовенно одержували відповідні тест-зразки у вигляді ін'єкційних розчинів. Тварини контрольних груп отримували внутрішньовенно еквівалентну дозу фізіологічного розчину.

Через 48 год після початку реперфузії в щурів оцінювали функціональний стан нирок. У тварин визначали спонтанний добовий діурез за допомогою індивідуальних обмінних кліток. Далі їх виводили з дослідження під загальною анестезією з метою отримання крові для біохімічних досліджень. У зібраній сечі визначали вміст протеїну пірогалоловим методом. У крові та сечі визначали вміст креатиніну за реакцією Яффе і сечовини за допомогою уреазного глутаматдегідрогеназного методу [11]. При цьому розраховували сечову екскрецію протеїну, креатиніну і сечовини. Швидкість клубочкової фільтрації (ШКФ), каналцеву реабсорбцію (КР) та кліренс сечовини розраховували загальноприйнятими методами [1, 2, 11]. Усі біохімічні дослідження проводили за допомогою комерційних наборів “DiaSys”

("DiaSys Diagnostic Systems GmbH", Німеччина) з використанням автоматичного біохімічного аналізатора "Express Plus" ("Bayer Diagnostics", Німеччина).

Результати обробляли методами описової статистики та представляли як середнє арифметичне ± стандартна помилка середнього (M ± m). Статистичний аналіз проводили методом однофакторного дисперсійного аналізу (ANOVA) з використанням критерію Тьюкі для апостеріорних порівнянь, а також за допомогою кутового перетворення Фішера при аналізі виживаності [12]. Обчислення виконували за допомогою програм IBM SPSS Statistics v. 22 (IBM Corp., США) та MS Excel 2016 (Microsoft Corp., США). Міжгрупові відмінності показників вважали статистично значущими при рівні вірогідності $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ. Результати дослідження показали, що після 75-хвилинної ішемії та наступної реперфузії нирок у тварин групи контрольної патології на 3-тю добу експерименту формувалася виражена ГНН. Виживаність щурів при цьому становила 70 % (табл. 1). У тварин спостерігали вірогідне відносно групи псевдооперованого контролю ($p < 0,05$) збільшення діурезу у 2,1 раза, зменшення ШКФ у 4,1 раза, а КР – на 10,2 % (табл. 1). Окрім того, з'являлась протеїнурія, яка досягала 20,5 мг/добу (рис. 1).

Усе це свідчило про порушення видільної функції нирок та розвиток поліурічної фази ішемічної ГНН.

Внаслідок цього у тварин різко знижувалося виділення азотистих сполук та розгорталась азотемія. Вміст креатиніну та сечовини у крові, порівняно зі щурами групи псевдооперованого контролю, вірогідно ($p < 0,05$) збільшився у 3,7 і 4,4 раза відповідно, а кліренс сечовини зменшився в 5,0 разів (табл. 2). Сечова екскреція при цьому також була вірогідно зниженою: креатиніну – на 12,0 %, а сечовини – на 13,1 % (рис. 2).

На відміну від цього, при застосуванні для лікування тварин дослідної комбінації НАГ/корвітин спостерігали виражену позитивну дію на перебіг ГНН. Під її впливом нормалізувався фізичний стан щурів та зникала летальність. Відзначали вірогідне ($p < 0,05$) відносно нелікованих тварин покращення видільної функції нирок. При цьому діурез зменшувався в 1,5 раза, ШКФ збільшувалася у 3,0 рази, а показник КР зростав на 9,9 % (табл. 1). Окрім того, комбінація сприяла вірогідному ($p < 0,05$) зниженню протеїнурії у 2,4 раза (рис. 1).

Під впливом комбінації НАГ/корвітин відбувались позитивні зміни і показників азотистого обміну. Комбінація вірогідно ($p < 0,05$) відносно групи контрольної патології посилювала сечову екскрецію креатиніну (в 1,4 раза) та сечовини (в

Таблиця 1 – Вплив комбінації N-ацетилглюкозаміну та корвітину на перебіг гострої ниркової недостатності в щурів (M ± m, n=38)

Дослідна група	Виживаність, %	Діурез, мл/добу	ШКФ, мл/добу	КР, %
Псевдооперований контроль	100	5,4 ± 0,2	425,5 ± 15,4	98,73 ± 0,04
Контрольна патологія	70*	11,6 ± 0,4*	103,0 ± 5,2*	88,68 ± 0,38*
НАГ/корвітин, 30 мг/кг	100**/#	7,7 ± 0,2**/#	307,0 ± 11,3**/#	97,46 ± 0,11**/#
Корвітин, 34 мг/кг	80*	8,7 ± 0,3**	194,8 ± 8,8**	95,51 ± 0,18**

Примітки. Тут, у таблиці 2, на рисунках 1 і 2:

- * – вірогідно відносно групи псевдооперованого контролю ($p < 0,05$).
- ** – вірогідно відносно групи контрольної патології ($p < 0,05$).
- # – вірогідно відносно тварин, які отримували корвітин ($p < 0,05$).

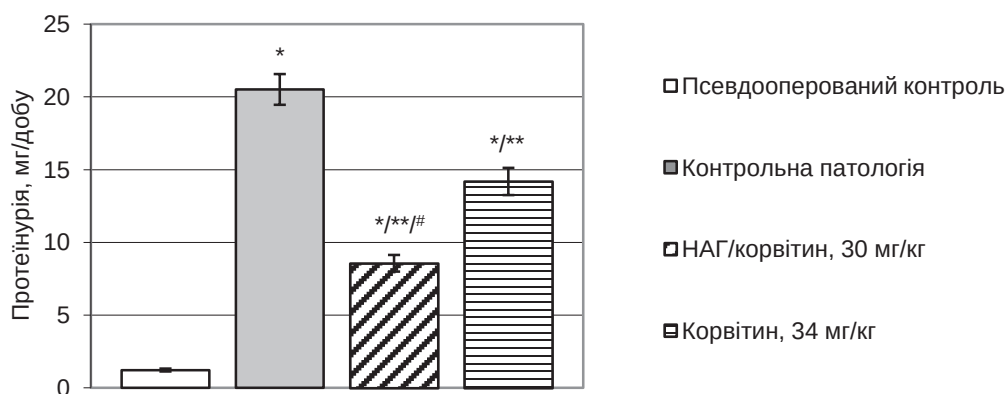


Рис. 1. Вплив комбінації N-ацетилглюкозаміну та корвітину на протеїнурію в щурів з гострою нирковою недостатністю (M ± m, n=38).

Таблиця 2 – Показники азотистого обміну в щурів з гострою нирковою недостатністю під впливом комбінації N-ацетилглюкозаміну та корвітину ($M \pm m$, $n=38$)

Дослідна група	Креатинін крові, мкмоль/л	Сечовина крові, ммоль/л	Кліренс сечовини, мл/добу
Псевдооперований контроль	57,3±1,8	5,31±0,22	201,5±6,2
Контрольна патологія	209,4±11,6*	23,29±1,30*	40,2±2,3*
НАГ/корвітин, 30 мг/кг	97,1±4,9 ^{*/**/#}	13,71±0,45 ^{*/**/#}	133,2±5,0 ^{*/**/#}
Корвітин, 34 мг/кг	135,4±6,2 ^{*/**}	16,82±0,65 ^{*/**}	85,7±3,8 ^{*/**}

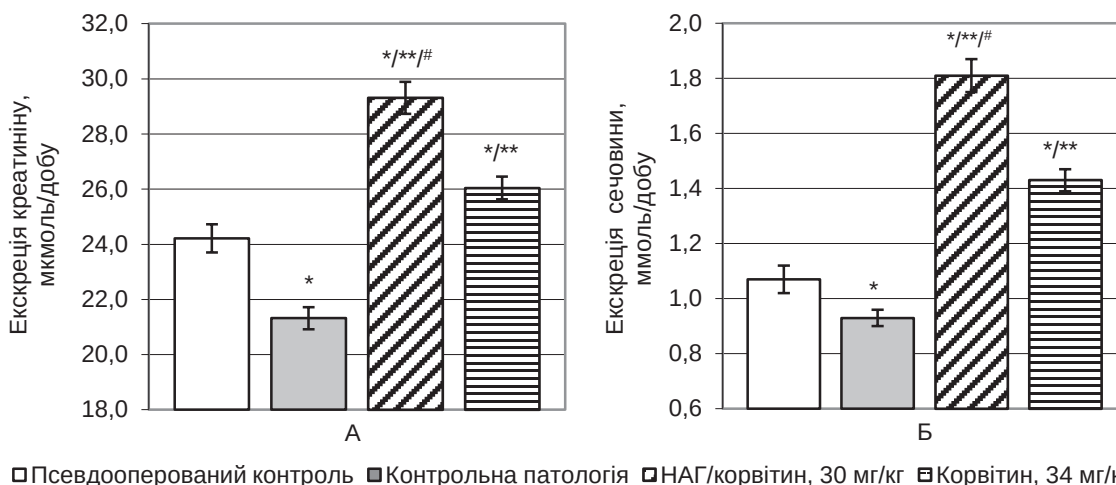


Рис. 2. Сечова екскреція креатиніну (А) та сечовини (Б) під впливом комбінації N-ацетилглюкозаміну і корвітину в щурів з гострою нирковою недостатністю ($M \pm m$, $n=38$).

1,9 раза) (рис. 2). Внаслідок цього вміст креатиніну в крові вірогідно ($p < 0,05$) знижувався у 2,2 раза, а сечовини – в 1,7 раза. Також збільшувався кліренс сечовини – у 3,3 раза (табл. 2). Описана картина свідчить про покращення функціонального стану нирок та нормалізацію азотистого обміну в щурів з ішемічною ГНН.

Препарат порівняння “Корвітин” проявив дещо меншу ефективність. Під його впливом рівень виживаності щурів становив 80 %, що не мало вірогідних розбіжностей з нелікованими тваринами (табл. 1). Діурез вірогідно ($p < 0,05$) зменшувався в 1,3 раза, показник ШКФ підвищувався в 1,9 раза, а КР – на 7,7 % (табл. 1). Також вірогідно ($p < 0,05$) знижувалася протеїнурія – в 1,5 раза порівняно з групою контрольної патології (рис. 2).

Додатково корвітин сприяв посиленню екскреції креатиніну в 1,2 раза, а сечовини – в 1,5 раза, а також знижував їх вміст у крові в 1,6 та 1,4 раза відповідно (табл. 2). При цьому посилювалось очищення крові від сечовини, що підтверджувалося вірогідним збільшенням її кліренсу в 2,1 раза порівняно з нелікованою групою (рис. 3). Усе це свідчило про покращення функціонального стану нирок щурів з ішемічною ГНН під впливом корвітину, але що стосується ефективності, то він вірогідно ($p < 0,05$) поступався комбінації НАГ/корвітин за всіма дослідженими показниками.

Високу ефективність комбінації можна пояснити тим, що обидва її компоненти при окремому застосуванні позитивно впливають на перебіг ниркової патології. Так, ефективність кверцетину було підтверджено в багатьох дослідженнях у різних лікарських формах, у тому числі при ін’єкційному використанні [4, 13–15]. Похідні глюкозаміну також проявили виражені нефропротекторні властивості в експерименті [5, 6]. При цьому було доведено, що він долучається до ушкоджених структур ниркової тканини і підвищує в ній вміст ендогенних гексозамінів [5]. Дані результати корелюють з іншими дослідженнями, в яких показано ефективність глюкозаміну при лікуванні фіброзу нирок у мишей [16] та контрастіндукованої ГНН у щурів [17], а також ефективність його кон’югатів у щурів з ішемічною ГНН [18, 19].

Важливо також, що НАГ та кверцетин чинять нефропротекторний вплив за різними механізмами дії. N-ацетилглюкозамін є активним метаболітом ГА і проявляє пряму захисну дію, долучаючись до глікозаміногліканів і протеогліканів, які вкривають поверхню гломерулярних базальних мембран та утворюють міжклітинну речовину [7, 20]. Його безумовна перевага – виражений посилювальний вплив на гломерулярну фільтрацію, про що свідчать результати вивчення ефективності дослідної комбінації. Разом із тим, нефропротекторна дія кверцетину реалізується

через антиоксидантний, антигіпоксичний, протизапальний та інші ефекти [3]. Ін'єкційний спосіб введення додає переваг обом компонентам, оскільки дозволяє нівелювати вплив ефекту первинного проходження і забезпечити надходження всієї введеної дози активних речовин до системи кровообігу та ниркової тканини в незміненому вигляді.

Таким чином, отримані дані свідчать про те, що в щурів з ішемічною ГНН комбінація НАГ/корвітин в ін'єкційній лікарській формі чинить виражену нефропротекторну і гіпоазотемічну дію та є перспективним засобом для корекції ГНН, а також загострень хронічної ниркової патології. Ці результати мають вагомe значення для клінічної нефрології, оскільки відкривають великі перспективи застосування нового препарату нефропротекторної дії для лікування гострих уражень нирок – комбінації НАГ та кверцетину (1:1) в ін'єкційній формі.

ВИСНОВКИ. 1. При комбінуванні N-ацетилглюкозаміну і кверцетину в ін'єкційній лікарській формі у співвідношенні 1:1 значно посилюється нефропротекторна та гіпоазотемічна дія, що зумовлює виражений позитивний вплив препарату на перебіг ішемічної гострої ниркової недостатності в щурів.

2. Що стосується ефективності при гострій нирковій недостатності у тварин, то дослідна комбінація вірогідно перевершує дію препарату порівняння "Корвітин", що є парентеральною формою кверцетину, за всіма дослідженими показниками.

3. Комбінація N-ацетилглюкозаміну та кверцетину в ін'єкційній лікарській формі є перспективним засобом для корекції гострої ниркової недостатності, а також загострень хронічної ниркової патології.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Lerma E. *Nephrology Secrets* / E. Lerma, M. Sparks, J. Topf. – 4th ed. – Philadelphia : Elsevier, 2019. – 654 p.
2. *Comprehensive Clinical Nephrology* / J. Feehally, J. Floege, R. J. Johnson, M. Tonelli. – 6th ed. – Philadelphia : Elsevier, 2019. – 1570 p.
3. Anand D. A. V. Overviews of biological importance of quercetin: a bioactive flavonoid / D. A. V. Anand, R. Arulmoli, S. Parasuraman // *Pharmacognosy Review*. – 2016. – **10** (20). – P. 84–89.
4. Effects of quercetin and its combinations on health / S. K. Shebeko, I. A. Zupanets, O. S. Popov [et al.] // *Polyphenols: Mechanisms of Action in Human Health and Disease*. – 2nd ed. – London : Academic Press, 2018. – P. 373–394.
5. Зупанец І. А. Динамика содержания эндогенного глюкозамина у лабораторных животных с нефропатией под воздействием экспериментальной терапии / И. А. Зупанец, С. К. Шебеко // *Эксперим. и клинич. фармакология*. – 2006. – **69**, № 6. – С. 40–42.
6. Шебеко С. К. Дослідження фармакологічних властивостей деяких похідних глюкозаміну в умовах розвитку експериментального аутоімунного гломерулонефриту / С. К. Шебеко, І. А. Зупанец // *Клініч. фармація*. – 2006. – **10**, № 2. – С. 31–35.
7. Baynes J. W. *Medical Biochemistry* / J. W. Baynes, M. H. Dominiczak. – 5th ed. – Philadelphia : Elsevier, 2019. – 712 p.
8. *Guide for the care and use of laboratory animals*. – 8th ed. – Washington : The National Academies Press, 2011. – 246 p.
9. Directive 2010/63/EU of the European Parliament and of the Council of 22 September 2010 on the protection of animals used for scientific purposes // *Official Journal of the European Union*. – 2010. – **L276**. – P. 33–79.
10. Методи експериментального моделювання ураження нирок для фармакологічних досліджень : метод. рек. / [С. Ю. Штриголь, В. М. Лісовий, І. А. Зупанець та ін.]. – Х. : Вид-во НФаУ, 2009. – 48 с.
11. Камышников В. С. Методы клинических лабораторных исследований / В. С. Камышников. – 8-е изд. – М. : МЕДпресс-информ, 2016. – 736 с.
12. Islam M. A. *Foundations of Biostatistics* / M. A. Islam, A. Al-Shiha. – Singapore : Springer, 2018. – 474 p.
13. Quercetin treatment improves renal function and protects the kidney in a rat model of adenine-induced chronic kidney disease / H. Yang, Y. Song, Y. N. Liang, R. Li // *Med. Sci. Monit*. – 2018. – **24**. – P. 4760–4766.
14. The effects of quercetin on oxidative stress and fibrosis markers in chronic kidney disease rat model / K. Layal, I. S. Perdhana, M. Louisa [et al.] // *Med. J. Indones*. – 2017. – **26**. – P. 169–77.
15. Flavonoids in kidney health and disease [Electronic resource] / F. Vargas, P. Romecín, A. I. García-Guillén [et al.] // *Front. Physiol*. – 2018. – **9**. – Article ID 394. – Access mode : <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5928447>.
16. Glucosamine hydrochloride exerts a protective effect against unilateral ureteral obstruction-induced renal fibrosis by attenuating TGF- β signaling / J. Park, S. Y. Lee, A. Ooshima [et al.] // *J. Mol. Med*. – 2013. – **91** (11). – P. 1273–1284.
17. Augmented O-GlcNAc signaling via glucosamine attenuates oxidative stress and apoptosis following contrast-induced acute kidney injury in rats / J. Hu, R. Chen, P. Jia [et al.] // *Free Radic. Biol. Med*. – 2017. – **103**. – P. 121–132.
18. Mechanistic studies of a novel mycophenolic acid-glucosamine conjugate that attenuates renal ischemia/reperfusion injury in rat / X. Wang, M. Xiong, Y. Zeng [et al.] // *Mol. Pharm*. – 2014. – **11**. – P. 3503–3514.

19. Renal-targeting triptolide-glucosamine conjugate exhibits lower toxicity and superior efficacy in attenuation of ischemia/reperfusion renal injury in rats / Y. Fu, Q. Lin, T. Gong [et al.] // *Acta Pharmacol. Sin.* – 2016. – **37**. – P. 1467–1480.

20. Morita H. The role of heparan sulfate in the glomerular basement membrane / H. Morita, A. Yoshimura, K. Kimata // *Kidney International*. – 2008. – **73**. – P. 247–248.

REFERENCES

1. Lerma, E., Sparks, M., & Topf, J. (2019). *Nephrology Secrets* (4th ed.). Philadelphia: Elsevier.

2. Feehally, J., Floege, J., Johnson, R. J., & Tonelli, M. (2019). *Comprehensive Clinical Nephrology* (6th ed.). Philadelphia: Elsevier.

3. Anand, D.A.V., Arulmol, R., & Parasuraman, S. (2016). Overviews of biological importance of quercetin: a bioactive flavonoid. *Pharmacognosy Review*, *10* (20), 84-89.

4. Shebeko, S.K., Zupanets, I.A., Popov, O.S., Tarasenko, O.O., & Shalamay, A.S. (2018). Effects of Quercetin and Its Combinations on Health. Watson, R.R., Preedy, R.V., Zibadi, S. (Eds.). *Polyphenols: Mechanisms of Action in Human Health and Disease* (2nd ed., pp. 373-394). London: Academic Press.

5. Zupanets, I.A., & Shebeko, S.K. (2006). Dinamika soderzhaniya endogennogo glyukozamina u laboratornykh zhivotnykh s nefropatyy pod vozdeystviyem eksperimentalnoy terapii [The influence of experimental therapy on the dynamics of endogenous glucosamine content in laboratory animals with nephropathy]. *Eksperymentalnaya i klinicheskaya farmakologiya – Experimental and Clinical Pharmacology*, *69* (6), 40-42 [in Russian].

6. Shebeko, S.K., & Zupanets, I.A. (2006). Doslidzhennia farmakolohichnykh vlastyvoستي deiakykh pokhidnykh hliukozaminu v umovakh rozvytku eksperymentalnoho autoimmunnoho hlomerulonefrytu [Study of the pharmacological properties of some glucosamine derivatives under conditions of development of experimental autoimmune glomerulonephritis]. *Klinichna farmatsiia – Clinical Pharmacy*, *10* (2), 31-35 [in Ukrainian].

7. Baynes, J.W., & Dominiczak, M.H. (2019). *Medical Biochemistry* (5th ed.). Philadelphia: Elsevier.

8. Guide for the care and use of laboratory animals (8th ed.). (2011). Washington: The National Academies Press.

9. Directive 2010/63/EU of the European Parliament and of the Council of 22 September 2010 on the protection of animals used for scientific purposes (2010). *Official Journal of the European Union*, *L276*, 33-79.

10. Shtryhol, S.Yu., Lisovyi, V.M., Zupanets, I.A., Shebeko, S.K., Maslova, N.F., Hozhenko, A.I., ... Harchenko, D.S. (2009). *Metody eksperymentalnoho modeliuвання urazhennia nyrok dlia farmakolohichnykh*

doslidzhen: metodychni rekomendatsii [Methods of experimental modeling of kidney injury for pharmacological researches: methodical recommendations]. Kharkiv: Vydavnytstvo NFaU [in Ukrainian].

11. Kamyshnikov, V.S. (2016). *Metody klinicheskikh laboratornykh issledovaniy [Methods of clinical laboratory tests]*. Moscow: MEDpress-inform [in Russian].

12. Islam, M.A., & Al-Shiha, A. (2018). *Foundations of Biostatistics*. Singapore: Springer.

13. Yang, H., Song, Y., Liang, Y.N., & Li, R. (2018). Quercetin treatment improves renal function and protects the kidney in a rat model of adenine-induced chronic kidney disease. *Med. Sci. Monit.*, *24*, 4760-4766.

14. Loyal, K., Perdhana, I.S., Louisa, M., Estuningtyas, A., & Soetikno, V. (2017). The effects of quercetin on oxidative stress and fibrosis markers in chronic kidney disease rat model. *Med. J. Indones.*, *26*, 169-177.

15. Vargas, F., Romecín, P., García-Guillén, A.I., Wangesteen, R., Vargas-Tendero, P., Paredes, M.D., ... García-Estañ, J. (2018). Flavonoids in kidney health and disease. *Front. Physiol.*, *9*, 394.

16. Park, J., Lee, S.Y., Ooshima, A., Yang, K.M., Kang, J.M., Kim, Y.W., & Kim, S.J. (2013). Glucosamine hydrochloride exerts a protective effect against unilateral ureteral obstruction-induced renal fibrosis by attenuating TGF- β signaling. *Journal of Molecular Medicine*, *91* (11), 1273-1284.

17. Hu, J., Chen, R., Jia, P., Fang, Y., Liu, T., Song, N., ... Ding, X. (2017). Augmented O-GlcNAc signaling via glucosamine attenuates oxidative stress and apoptosis following contrast-induced acute kidney injury in rats. *Free Radic. Biol. Med.*, *103*, 121-132.

18. Wang, X., Xiong, M., Zeng, Y., Sun, X., Gong, T., Zhang, Z. (2014). Mechanistic studies of a novel mycophenolic acid-glucosamine conjugate that attenuates renal ischemia/reperfusion injury in rat. *Mol. Pharm.*, *11*, 3503-3514.

19. Fu, Y., Lin, Q., Gong, T., Sun, X., & Zhang, Z.R. (2016). Renal-targeting triptolide-glucosamine conjugate exhibits lower toxicity and superior efficacy in attenuation of ischemia/reperfusion renal injury in rats. *Acta Pharmacol. Sin.*, *37* (11), 1467-1480.

20. Morita, H., Yoshimura, A., Kimata, K. (2008). The role of heparan sulfate in the glomerular basement membrane. *Kidney International*, *73*, 247-248.

ВЛИЯНИЕ КОМБИНАЦИИ N-АЦЕТИЛГЛЮКОЗАМИНА И КВЕРЦЕТИНА В ИНЪЕКЦИОННОЙ ФОРМЕ НА ТЕЧЕНИЕ ИШЕМИЧЕСКОЙ ОСТРОЙ ПОЧЕЧНОЙ НЕДОСТАТОЧНОСТИ У КРЫС

Резюме

Вступление. Оптимизация лечения острой почечной недостаточности (ОПН) – важная медико-фармацевтическая проблема. Острая почечная недостаточность является распространенным осложнением не только заболеваний почек, но и различных паллиативных и оперативных методов лечения. В отдельных группах больных смертность от нее достигает 80 %. Поэтому поиск эффективных средств коррекции ОПН является актуальной задачей современной экспериментальной фармакологии. Перспективным подходом в решении данной проблемы может стать внедрение фармацевтической комбинации на основе флавоноида кверцетина и аминоксахара N-ацетилглюкозамина в инъекционной форме.

Цель исследования – провести экспериментальное изучение эффективности комбинации N-ацетилглюкозамина и кверцетина в инъекционной форме в условиях развития ишемической острой почечной недостаточности.

Методы исследования. Исследования выполняли на модели ишемической ОПН у крыс, которую воспроизводили путем тотальной окклюзии почечных сосудов в течение 75 мин. Исследуемую комбинацию изучали в дозе 30 мг/кг при ежедневном внутривенном введении в течение 3-х суток в сравнении с кверцетином (препарат “Корвитин”), который вводили внутривенно в дозе 34 мг/кг. Эффективность препаратов оценивали по общему физическому состоянию животных, выделительной функции почек и показателям азотистого обмена.

Результаты и обсуждение. Под влиянием исследуемой комбинации у крыс с ОПН достоверно ($p < 0,05$) относительно нелеченных животных снижалась летальность, наблюдали уменьшение диуреза в 1,5 раза, протеинурии в 2,4 раза, усиление клубочковой фильтрации в 3,0 раза и канальцевой реабсорбции на 9,9 %, повышение мочевого экскреции креатинина в 1,4 раза и мочевины в 1,9 раза, что в целом свидетельствовало о нормализации функционального состояния почек и азотистого обмена. Что касается эффективности, то комбинация при этом достоверно ($p < 0,05$) превосходила действие корвитина по всем исследованным показателям.

Выводы. Комбинация N-ацетилглюкозамина и кверцетина – эффективное средство коррекции острой почечной недостаточности, которое можно вводить внутривенно. Целесообразно дальнейшее изучение этого препарата как средства лечения почечной патологии.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: N-ацетилглюкозамин; кверцетин; инъекционная форма; острая почечная недостаточность.

S. K. Shebeko, I. A. Zupanets, T. S. Sakharova
NATIONAL UNIVERSITY OF PHARMACY, KHARKIV

INFLUENCE OF THE N-ACETYLGLUCOSAMINE AND QUERCETIN COMBINATION IN THE INJECTABLE DOSAGE FORM ON THE COURSE OF ISCHEMIC ACUTE KIDNEY INJURY IN RATS

Summary

Introduction. Optimization of the treatment of acute kidney injury (AKI) is an important medical and pharmaceutical problem. AKI is a common complication not only of kidney diseases, but also of various treatment methods. Mortality caused by AKI reaches 80 % in some groups of patients. Therefore, the search for effective agents for AKI treatment is an important task of modern experimental pharmacology. A promising approach in the solution of this problem may be the implementation of pharmaceutical combination of flavonoid quercetin and amino sugar N-acetylglucosamine in injectable dosage form.

The aim of the study – experimental study of the efficacy of N-acetylglucosamine and quercetin combination in injectable dosage form under the condition of ischemic AKI.

Research Methods. Studies were performed on a model of ischemic AKI in rats, which was induced by total occlusion of the renal blood vessels for 75 minutes. The test combination was studied at a dose of 30 mg/kg with

daily intravenous (i.v.) administration for 3 days in comparison with quercetin ("Corvitin" medication), which was injected i.v. at a dose of 34 mg/kg. The efficacy of test drugs was assessed by the animal functional state, excretory renal function and nitrogen metabolism indicators.

Results and Discussion. Under the influence of test combination, there was a significant decrease ($p < 0.05$) in mortality rate in rats with AKI compared to untreated animals, a decrease in diuresis by 1.5 times and proteinuria by 2.4 times, an increase in glomerular filtration by 3.0 times and tubular reabsorption by 9.9 %, creatinine and urea excretion were increased by 1.4 and 1.9 times, respectively, which indicates the normalization of kidney functional state and nitrogen metabolism. Moreover, the combination was significantly ($p < 0.05$) superior to the Corvitin effect in efficacy level by all studied parameters.

Conclusions. Thus, the N-acetylglucosamine and quercetin combination is an effective agent for AKI treatment, which can be used at i.v. administration. It is advisable to further study of this drug as a therapy for renal pathology.

KEY WORDS: N-acetylglucosamine; quercetin; injectable dosage form; acute kidney injury.

Отримано 18.07.19

Адреса для листування: С. К. Шебеко, Національний фармацевтичний університет, вул. Пушкінська, 27, Харків, 61057, Україна, e-mail: shebeko.sk@gmail.com.