

УДК 615.011:547.857.4

ДОСЛІДЖЕННЯ ДІУРЕТИЧНОЇ АКТИВНОСТІ ПОХІДНИХ 3-МЕТИЛ-7-АЛКІЛ-8- МОРФОЛІНОКСАНТИНІВ

Бакуменко М.Г.

Національний фармацевтичний університет,
Харків, Україна

Проведено експериментальне дослідження впливу на функцію нирок 14 вперше синтезованих сполук у ряду 3-метил-7-алкіл-8-морфоліноксантинів.

В експериментах на щурах встановлено, що досліджувані сполуки збільшували діурез за 4 години спостереження на 23,8-118,9% ($p < 0,05$). Найбільшу активність виявила сполука №8 - 3-метил-7-(γ -хлорбензтеніл-2)-8-морфоліноксантину, яка за діуретичним ефектом перевищувала у 1,8 рази препарат порівняння гіпотіазид. Механізм діуретичного ефекту сполуки №8 обумовлений зниженням реабсорбції і збільшенням екскреції іонів натрію.

Важливою проблемою клінічної медицини фармакологічна корекція регуляції балансу натрію і води, яка є однією з найважливіших гомеостатичних функцій. Корекція балансу внутрішньоклітинної і позаклітинної рідин організму спрямована на вирівнювання змін водно-електролітного балансу організму і супроводжується утворенням набряків. При серцевій недостатності накопичення рідини частіше відбувається в інтерстиційному просторі нижніх кінцівок. У хворих артеріальною гіпертензією застосовується комбінована фармакотерапія з використанням блокаторів ангіотензину II і тіазидних діуретиків [1]. При хронічній нирковій недостатності з порушеним метаболізмом і зниженою функцією ряду органів і систем застосовують діуретичні препарати: гідрохлортіазид, фуросемід, буфенекс, клопамід, етакринову кислоту та ін. [2, 3].

Поряд з вираженою сечогінною дією діуретичні препарати викликають ряд небажаних побічних ефектів: гіпокаліємія, гіпохлоремічний алкалоз, метаболічний ацидоз, гіперкальціємію, гіперліпідемію, гіперглікемію, азотемію, порушення білкового обміну та ін. [4, 5, 6], які обмежують їх застосування.

Ксантини відіграють важливу роль у регуляторних процесах життєдіяльності організму людини.

Метою цього дослідження було вивчення діуретичної активності похідних 3-метил-7-алкіл-8-морфоліноксантинів у досліді на білих щурах і з'ясування механізму діуретичної активності найбільш активної речовини.

Матеріали і методи

Об'єктом дослідження були обрані 14 синтезованих сполук у ряду 3-метил-7-алкіл-8-морфоліноксантинів. Структура речовин підтверджена

за допомогою сучасних фізико-хімічних методів елементного аналізу, УФ-, ІК-, ПМР- і мас-спектрометричних методів дослідження, зустрічним синтезом, а чистота контролювалася методом тонкошарової хроматографії.

Гостру токсичність 14 сполук у ряду 3-метил-7-алкіл-8-морфоліноксантинів вивчили в досвідах на інтактних білих мишах масою 18-24 г. LD_{50} обчислювали по методу Кербера [7]. Дослідження діуретичної активності даних сполук проводили на білих щурах масою 145-180 г за методом Є.Б.Берхіна [8]. При вивченні водного діурезу щурів витримували на постійному раціоні при вільному доступі до води. Перед водним навантаженням тварин витримували протягом 2 годин без їжі та води. Потім щурам вводили внутрішньошлунково за допомогою спеціального металевго зонду досліджувані речовини в дозі 0,01 LD_{50} у виді 3-5% тонкодисперсної водної суспензії, стабілізованої твіном-80, що являє собою продукт оксетилювання моноолеата сорбітану (ВФС-42-167-72), одночасно з водним навантаженням у кількості 3% від маси тіла. Сечу збирали щогодини протягом 4 годин. Для вивчення механізму діуретичного ефекту сполуки №8 був досліджений її вплив на водний діурез, екскрецію електролітів у плазмі крові щурів з експериментальними водним і сольовим навантаженнями. Кількість електролітів у сечі визначали за допомогою методу полум'яної фотометрії з використанням полум'яного фотометра ПАЖ-2 [9].

Результати обробляли прийнятими методами варіаційної статистики за критеріями t Стьюдента з використанням програмного забезпечення "Windows-95", електронних таблиць Excel і пакета математичної обробки Mathcad-5.0.

Результати та їх обговорення

Результати вивчення гострої токсичності 3-метил-7-алкіл-8-морфоліноксантинів (сполуки №1-14) представлені в табл. 1. Аналіз отриманих результатів показує, що гостра токсичність зазначених сполук знаходилася в інтервалі від 77 до 1140,5 мг/кг. Найбільш токсичною була сполука №8, які містить у молекулі 3-метил-7-алкіл-8-морфоліноксантину γ -хлорбензтенільний радикал. Заміна γ -хлорбензтенільного радикала (спол. №8) на гептильний (спол. №6), гексильний (спол. №5), нонільний (спол. №7), β -гідроксигетил (спол. №9), бензильний (спол. №2), β -гідрокси- γ -п-нітрофеноксипропільний (спол. №14) призводить до зниження гострої токсичності. Гостра токсичність цих сполук знаходилася в інтервалі від 77 до 412,5 мг/кг. Відповідно до класифікації К.К. Сидорова [10], з вивчених 14 замінених 3-метил-7-алкіл-8-морфоліноксантинів 1 сполука відноситься до малотоксичних і 11 є практично нетоксичними речовинами.

Аналіз даних дослідження діуретичної активності (табл. 2) показує, що більшість 3-метил-7-алкіл-8-морфоліноксантинів (спол. №1-14) збільшують кількість виділеної сечі в інтервалі від 23,8 до 118,9% ($p < 0,05$).

Таблиця 1. Гостра токсичність похідних 3-метил-7-алкіл-8-морфоліноксантинів

Сое д №	R	LD ₅₀ , (M±m) мг/кг
1	етил	415,0±16,4
2	бензил	370,5±14,5
3	β-феноксietил	672,0±24,6
4	пентил	435,0±27,9
5	гексил	118,5±16,4
6	гептил	82,5±4,9
7	ноніл	200,0±10,8
8	γ-хлорбензтеніл-2	77,0±3,9
9	β-гидроксиетил	335,0±21,0
10	β,γ-диоксипропіл	1140,5±39,8
11	β-гидроксиетилфеніл	854,6±26,7
12	β-гидрокси-γ-п-нітрофеноксietил	448,0±17,9
13	β-гидрокси-γ-феноксипропіл	715,0±31,4
14	β-гидрокси-γ-п-нітрофеноксипропіл	412,5±19,5

Таблиця 2. Вплив похідних 3-метил-7-алкіл-8-морфоліноксантинів на діурез у щурів лінії Вістар (n = 7)

Соед №	Доза, мг/кг	Діурез через ...			
		2 часа		4 часа	
		(M ± m) мл	в % к контролю	(M ± m) в мл	в % к контролю
1	20,8	1,8 ± 0,11	115,7	3,16 ± 0,19*	132,8
2	18,5	2,10 ± 0,08*	132,1	3,49 ± 0,24*	146,6
3	33,6	1,36 ± 0,06	85,5	2,01 ± 0,12	84,5
Контроль	—	1,59 ± 0,09	100	2,67 ± 0,14	100
4	21,8	1,71 ± 0,07	104,3	2,68 ± 0,09	109,8
5	5,9	1,82 ± 0,05	110,0	2,86 ± 0,11	117,2
6	4,1	1,95 ± 0,09	118,9	3,11 ± 0,13*	127,5
7	10,0	1,51 ± 0,13	92,1	2,27 ± 0,08	93,0
8	3,9	2,87 ± 0,16	175,0**	5,34 ± 0,24**	218,9
9	16,8	2,45 ± 0,18*	149,4	4,16 ± 0,17*	170,5
10	57,0	2,61 ± 0,15*	159,1	4,48 ± 0,21*	183,6
Контроль	—	1,64 ± 0,14	100	2,44 ± 0,28	100
11	42,7	1,87 ± 0,09	119,9	3,12 ± 0,11*	123,8
12	22,4	1,94 ± 0,12*	124,4	3,42 ± 0,13*	135,7
13	35,8	2,11 ± 0,14*	135,3	3,56 ± 0,16*	141,3
14	20,6	2,32 ± 0,18*	148,7	3,87 ± 0,19*	153,6
Гіпотіазид	50,0	2,38 ± 0,08*	126,9	4,12 ± 0,17*	165,5
Контроль	—	1,56 ± 0,16	100	2,49 ± 0,21	100

Примітка: *, ** - вірогідність результатів при $p < 0,05$ і $p < 0,01$, відповідно, у порівнянні з групою контролю.

Виражену діуретичну активність справляє сполука №8, яка містить у 7 положенні молекули 3-метил-8-морфоліноксантину γ-хлорбензтенільний радикал і у дозі 3,9 мг/кг збільшує діурез на 118,9% ($p < 0,01$). Заміна γ-хлорбензтенільного радикалу (спол. №8) на β,γ-диоксипропільний (спол. №10), β-гидроксиетильний (спол.

№9), β-гідрокси-γ-п-нітрофеноксипропільний (спол. №14), бензильний (спол. №2), β-гідроксиетилфенільний (спол. №11), призводить до зниження діуретичної активності даних речовин.

Таким чином, найбільш виражену діуретичну дію виявила сполука №8, яка перевищує дію гіпотіазиду на 53,4% (p < 0,05).

Таблиця 3. Вплив 3-метил-7-γ-хлорбензтеніл-8-морфоліноксантин, гіпотіазиду на екскрецію сечі, електролітів у щурів після водної та сольової навантаження

Умови експерименту	Доза мг/кг	Кількість тварин у групі	Діурез за 4 часа		Екскреція Na ⁺		Екскреція K ⁺	
			(M ± m), мл	в % к контролю	(M ± m), мкмоль/хв	в % к контролю	(M ± m), мкмоль/хв	в % к контролю
Водне навантаження								
Контроль	-	10	2,8±0,16	100	99,8±3,4	100	21,9±0,12	100
Сполука № 8	6,5	10	6,4±0,12**	228,6	124,7±4,3	124,9	25,1±0,08	114,6
Гіпотіазид	25,0	10	4,9±0,11*	175,0	116,5±3,7*	116,7	28,4±0,11	129,7
Сольове навантаження								
Контроль	-	10	2,4±0,13	100	108,4±3,7	100	25,6±0,15	100
Сполука №8	6,5	10	5,9±0,16**	245,8	139,8±4,8*	128,9	28,2±0,11*	110,1
Гіпотіазид	25,0	10	4,3±0,13**	172,3	131,3±4,1*	121,1	31,7±0,09*	123,8

Примітка: * та ** - достовірність результатів при p < 0,05 та p < 0,01 відповідно, порівняно з контролем.

Введення у молекулу 3-метилксантину β-феноксиетильного (спол. №3) і нонільного (спол. №7) радикалів сприяє прояву антидіуретичної активності.

Для подальшого вивчення механізмів діуретичної активності сполуки №8 був досліджений її вплив на екскрецію натрію і калію.

У дослідах з водним навантаженням сполука №8 збільшувала сечовиділення у білих щурів на 128,6% (p < 0,01) і за діуретичною дією перевищувала гіпотіазид на 53,6% (p < 0,05). Екскреція натрію під впливом сполуки №8 збільшилася на 24,9% (p < 0,05), а екскреція калію мала тенденцію до збільшення на 14,6% (p > 0,05). Гіпотіазид збільшував екскрецію натрію на 16,7% (p < 0,05) і калію на 29,7% (p < 0,05).

Таким чином, у дослідах з водним навантаженням сполука №8 за діуретичною активністю перевищувала гіпотіазид у 1,7 рази. Перевагою сполуки №8 є здатність у 2 рази менше виводити калій у порівнянні з гіпотіазидом. Під дією сполуки №8 у дозі 6,5 мг/кг (табл. 3) після сольового навантаження діурез у щурів збільшився на 145,8% (p < 0,01). Під впливом гіпотіазиду у дозі 25 мг/кг після сольового навантаження діурез збільшився на 72,3% (p < 0,05).

Екскреція натрію під впливом сполуки №8 збільшилася на 28,9% (p < 0,05), гіпотіазиду – на 21,1% (p < 0,05). Рівень екскреції калію збільшився під дією сполуки №8 на 10,1% (p > 0,05) і гіпотіазиду – на 23,8% (p < 0,05). Отже із сольовим навантаженням сполука №8 збільшує виведення натрію на 7,8% більше, чим гіпотіазид, а калію – на 13,8% менше у порівнянні з гіпотіазидом.

Більш виражений діуретичний ефект сполуки №8, у порівнянні з гіпотіазидом, очевидно, пов'язаний із пригніченням активного транспорту натрію у каналцях нефрону та збільшенням його екскреції із сечею.

Висновки

1. Сполука №8 – 3-метил-7-γ-хлорбензтеніл-8-морфоліноксантин, яка проявила діуретичні властивості перевищувала дію гіпотіазиду на 53,4%.
2. Діуретична активність сполуки №8 пов'язана зі зменшенням реабсорбції натрію і збільшенням його екскреції із сечею у каналцях нирок.

References

1. Glaser G.A. Diuretics. A guide for doctors. - Moscow: Interbuk Business, 1993. – 352 p.
2. Mashkovskii M.D. Drugs. - Ed. 15th, rev., Rev. and add. - Moscow: "Publishing New Wave", 2005. – 1200 p.
3. Ofili E.O., Cable G., Neutel J.M. Efficacy and safety of fixed combinations of irbesartan/hydrochlorothiazide in hypertensive women: the inclusive trial.// J. Womens Health. – 2008. – Vol. 17, № 6. – P. 931-938.
4. Shimosawa T., Gohchi K., Yatomi Y. Effectiveness of add-on low-dose diuretics in combination therapy for hypertension: losartan/hydrochlorothiazide vs. candesartan/amlodipine.// J. Hypertens. Res. – 2007. – Vol. 30, №9. – P. 831-837.
5. Fujisava T., Kato Y., Terada A. et al. Chemokines and their receptors as potential targets for the treatment of asthma. // J. Asthma. – 2002. – Vol. 39, №1. – P. 21-27.
6. Wong S.G., Card J.W., Racz W.J. The role of mitochondrial injury in bromobenzene and furosemide induced hepatotoxicity. //Toxicol. Lett. – 2000. – Vol. 116, № 3. – P. 171-181.
7. Bailey N. Statistical Methods in Biology. Moscow: Mir, 1964. - 271 p.
8. Berkhin E.B. Substrate stimulation of renal tubular secretion of penicillin and diodone in dogs // Chem. pharm. Journal. - 1977. - V. 11, № 5. - P. 3-11.

9. Stefanov O.V. Preclinical studies of drugs - K.: Avicenna, 2001. - 528 p.

10. Sidorov K.K. // Toxicology new prom. Chem. substances. - M.: 1973. , Vol. 13. - P. 47-60.

EXPERIMENTAL STUDY OF THE DIURETIC ACTIVITY AMONG 7-SUBSTITUTED-3-METHYL-8-MORPHOLINOXANTHINES

Bakumenko M.G.

The experimental study of influence on functional activity of kidney of 14 compounds among 7-substituted-3-methyl-8-morpholinoxanthines synthesized for the first time and also some mechanisms of this action were studied. The introduction of studied substances resulted in an increase of diuresis by 23,8-118,9% ($p < 0,05$) for 8 hours of observation in albino rats. The most marked diuretic action was manifested by compound №8 - 3-methyl-7-(γ -chlorbenzstenil-2) 8- morpholinoxanthines which excelled reference agents hydrochlorthiazide by 1,8 times. The mechanism of the diuretic effect of compound 1 is connected not only with a decrease of reabsorption and increase of excretion of sodium in realization of its pharmacodynamic effects.

УДК 615.011:547.857.4 ИССЛЕДОВАНИЕ ДИУРЕТИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ ПРОИЗВОДНЫХ 3-МЕТИЛ-7-АЛКИЛ-8-МОРФОЛИНОКСАНТИНОВ

Бакуменко М.Г.

Проведено экспериментальное исследование влияния на функцию почек 14 впервые синтезированных со-

единений в ряду 3-метил-7-алкил-8-морфолиноксантинов. В экспериментах на крысах установлено, что исследуемые соединения увеличивали диурез за 4 часа наблюдения на 23,8-118,9% ($p < 0,05$). Наибольшую активность проявило соединение №8 - 3-метил-7-(γ -хлорбензтенил-2)-8-морфолиноксантину, которое по диуретическому эффекту превышало в 1,8 раза препарат сравнения гипотиазид. Механизм диуретического эффекта соединения №8 обусловлен снижением реабсорбции и увеличением экскреции ионов натрия.

ДОСЛІДЖЕННЯ ДІУРЕТИЧНОЇ АКТИВНОСТІ ПОХІДНИХ 3-МЕТИЛ-7-АЛКІЛ-8-МОРФОЛІНОКСАНТИНІВ

Бакуменко М.Г.

Проведено експериментальне дослідження впливу на функцію нирок 14 вперше синтезованих сполук у ряду 3-метил-7-алкіл-8-морфоліноксантинів. В експериментах на щурах встановлено, що досліджувані сполуки збільшували діурез за 4 години спостереження на 23,8-118,9% ($p < 0,05$). Найбільшу активність виявила сполука №8 - 3-метил-7-(γ -хлорбензтеніл-2)-8-морфоліноксантину, яка за діуретичним ефектом перевищувала у 1,8 рази препарат порівняння гіпотіазид. Механізм діуретичного ефекту сполуки №8 обумовлений зниженням реабсорбції і збільшенням екскреції іонів натрію.