

**МІНІСТЕРСТВО ОХОРОНИ ЗДОРОВ'Я УКРАЇНИ
ОДЕСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ**

МАТВІЙЧУК Олена Петрівна

УДК: 615.272.2:615.225.2:616.63:547.551.4

**ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНЕ ОБҐРУНТУВАННЯ ДОЦІЛЬНОСТІ
ВИКОРИСТАННЯ 7,8-ДИЗАМІЩЕНИХ ТЕОФІЛІНУ ЯК ДІУРЕТИЧНИХ ТА
НЕФРОПРОТЕКТОРНИХ ЗАСОБІВ**

14.03.05 – фармакологія

Автореферат
дисертації на здобуття наукового ступеня
кандидата біологічних наук

Одеса – 2018

Дисертацією є рукопис.

Робота виконана на кафедрі фармакології Національного фармацевтичного університету МОЗ України, м. Харків.

Науковий керівник: кандидат фармацевтичних наук, доцент
ТАРАН Андрій Вікторович,
Національний фармацевтичний університет МОЗ України,
м. Харків, доцент кафедри фармакології

Офіційні опоненти: доктор біологічних наук, професор
МАСЛОВА Наталія Федорівна,
Державне підприємство «Державний науковий центр
лікарських засобів та медичної продукції» Державної
служби України з лікарських засобів і контролю за
наркотиками,
м. Харків, вчений секретар

доктор медичних наук, професор
РОЖКОВСЬКИЙ Ярослав Володимирович,
Одеський національний медичний університет МОЗ
України, м. Одеса, завідувач кафедри фармакогнозії

Захист дисертації відбудеться «6» грудня 2018 р. о 11.00 годині на засіданні спеціалізованої вченої ради Д 41.600.01 при Одеському національному медичному університеті МОЗ України (65082, м. Одеса, пров. Валіховський, 2).

З дисертацією можна ознайомитись у науковій бібліотеці Одеського національного медичного університету МОЗ України (65082, м. Одеса, Валіховський пров., 3).

Автореферат розісланий «30» жовтня 2018 р.

Вчений секретар
спеціалізованої вченої ради Д 41.600.01,
з.д.н.т. України, д.мед.н., професор

В.В. Годован

ЗАГАЛЬНА ХАРАКТЕРИСТИКА РОБОТИ

Обґрунтування вибору теми дослідження. Поширеність і невинне зростання частоти захворювань нирок є важливою медико-соціальною проблемою в Україні та в усьому світі. За статистичними даними МОЗ України 2015 року [ДУ «Український інститут стратегічних досліджень МОЗ України», 2016] на захворювання нирок та органів сечовидільної системи страждають понад 10% дорослого населення світу, і цей показник постійно зростає. У результаті прогресування гострої ниркової недостатності порушується екскреція продуктів білкового обміну, водно-електролітний баланс, осмотична рівновага, втрачається роль нирок у підтримці стабільного артеріального тиску, еритропоезу тощо.

Висока смертність при гострій нирковій недостатності, часте її поєднання з поліорганною патологією [Darmon M. et al., 2015; Смірнов А. В., 2016] та недостатньо ефективного лікування порушує питання щодо удосконалення фармакотерапії та пошуку нових підходів до вирішення цієї проблеми з включенням нозологічного, етіологічного, патогенетичного та симптоматичного компонентів. Для фармакологічної корекції ниркової патології поряд з іншими препаратами застосовуються діуретики. Окрім вираженої сечогінної активності, діуретики викликають низку небажаних побічних ефектів [Баула О. П. та співавт., 2017]. З огляду на вищезазначене, пошук нових ефективних та безпечних діуретичних засобів з нефропротекторною активністю залишається однією з актуальних проблем сучасної експериментальної фармакології [Ніколаєв А. Ю., 2014; Маслова Н. Ф. та співавт., 2017].

Відомо, що похідні ксантину, інгібують фермент фосфодіестеразу, збільшують вміст внутрішньоклітинного цАМФ, є антагоністами аденозинових рецепторів мембран клітин, беруть участь у регуляції багатьох процесів і виявляють різноманітну фармакологічну дію [Самура Б. А. та співавт., 2015; Кишкан І. Г. та співавт., 2017]. Протизапальна дія похідних ксантину, відновлення реологічних властивостей крові та вплив на тонус судин є важливими ланками профілактики ускладнень при нирковій патології. Результати досліджень низки похідних 7,8-дизаміщених теофіліну [Камілов Ф. Х. та співавт., 2012; Корнієнко В. І., 2016; Дученко К. А., 2017] свідчать, що серед них є перспективні нефропротектори. Враховуючи це, у Запорізькому державному медичному університеті МОЗ України під керівництвом професора Романенка М. І. синтезовані нові 7-п-метилбензил,8-гідразинозаміщені похідні теофіліну. На підставі результатів попередніх досліджень та PASS прогнозу слід вважати доцільним вивчення зазначених властивостей, які є складовими нефропротекторного ефекту, а також з'ясування їх здатності коригувати перебіг експериментальної ниркової недостатності. При цьому особливого значення набуває дослідження впливу на азотовидільну функцію нирок, оскільки асортимент ефективних гіпоазотемічних препаратів на сучасному фармацевтичному ринку обмежений і представлений в основному лікарськими засобами рослинного походження, які також не позбавлені недоліків [Sahoo N. et al., 2010; Сметаніна К. І., 2011].

Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами. Дисертація виконана в межах науково-дослідної програми Національного фармацевтичного університету (НФаУ) МОЗ України «Фармакологічне вивчення біологічно активних речовин та лікарських засобів» (№ держреєстрації 0114U000956). Дисертант є співвиконавцем вказаної науково-дослідної роботи.

Мета і завдання дослідження. *Мета* дослідження – експериментальне обґрунтування доцільності пошуку нових діуретичних засобів, які здатні нормалізувати функціональний стан нирок за умов їх гострого пошкодження серед вперше синтезованих 7,8-дизаміщених похідних теофіліну шляхом застосування нової сполуки – 7-*n*-метилбензил-8-*n*-бромобензиліденгідразинотеофіліну (субстанція γ -2806).

Для досягнення поставленої мети були сформульовані такі *завдання*:

1. Провести комп'ютерний прогноз ймовірних видів біологічної активності 7,8-дизаміщених теофіліну.

2. Визначити гостру токсичність нових дизаміщених похідних теофіліну.

3. Провести фармакологічний скринінг похідних теофіліну з урахуванням результатів комп'ютерного прогнозування (діуретичної, анальгетичної, протизапальної антигіпоксичної, спазмолітичної) та встановити залежність «структура-активність».

4. З'ясувати можливі механізми діуретичної дії сполуки-лідера, виявленої за результатами скринінгу в умовах спонтанного діурезу, водного та сольового навантаження в гострому експерименті та за умов курсового застосування.

5. Встановити вплив сполуки-лідера на функціональний стан нирок на двох експериментальних моделях гострого пошкодження нирок; дослідити вплив сполуки-лідера на морфологічний стан нирок в умовах їх токсичного ураження гліцеролом.

6. Вивчити нешкідливість сполуки-лідера за умов тривалого введення на двох видах тварин та її вплив на слизову оболонку шлунку у дослідках на щурах.

Об'єкт дослідження – фармакологічна корекція гострої ниркової недостатності.

Предмет дослідження – діуретична та нефропротекторна активності 7,8-дизаміщених похідних теофіліну за умов експериментальної гострої ниркової недостатності.

Методи дослідження – фармакологічні (моделювання больового синдрому, запалення, гіпоксії; гострого токсичного пошкодження нирок за допомогою етиленгліколю та гліцеролу), токсикологічні (вивчення гострої токсичності та нешкідливості), біохімічні (визначення концентрацій іонів Na, K, вмісту сечовини, креатиніну і білку в сечі та плазмі крові, вмісту продуктів, що реагують з тіобарбітуровою кислотою, відновленого глутатіону та активності каталази в крові та гомогенатах нирок, вмісту γ -глутамілтранспептидази в крові), гістологічні (дослідження структури нирок методом світлової мікроскопії), статистичні (пакет програм Statistica 8.0, *t*-критерій Стьюдента або однофакторний дисперсійний аналіз ANOVA, непараметричний *U*-критерій Манна-Уїтні або ранговий критерій Краскела-Уолліса, внутрішньогрупові відмінності оцінювали за парним *T*-критерієм Вілкоксона).

Наукова новизна одержаних результатів. Вперше теоретично обґрунтовано доцільність пошуку потенційних препаратів з діуретичною та нефропротекторною дією серед вперше синтезованих 7,8-дизаміщених похідних теофіліну, які виявляють виразний діуретичний, анальгетичний, протизапальний та спазмолітичний ефекти. Вперше встановлена залежність структура-активність нових похідних теофіліну: характер і виразність біологічної активності сполук зумовлені природою радикалів у 8 положенні молекули. Вперше для сполук даного класу досліджено спазмолітичну дію. За результатами скринінгу визначено сполуку-лідера № 14 – 7-п-метилбензил-8-п-бромобензиліденгідразинотеофілін (умовна назва бенофілін), яка чинить виразні діуретичний та спазмолітичний ефекти, що на 134 та 23 % ($p \leq 0,05$), відповідно перевищують ефекти гіпотіазиду та спазмалгону і виявляє низьку токсичність ($LD_{50} = 2180$ мг/кг) порівняно зі сполуками даного класу [Корнієнко В. І., 2016; Дученко К. А., 2017].

Вперше встановлено, що бенофілін за умов токсичного ураження нирок збільшує виживаність тварин (на 67,0 %), нормалізує показники азотовидільної функції нирок та їх морфологічний стан, що обумовлено впливом на процеси фільтрації та реабсорбції за рахунок комплексного впливу: покращання кровопостачання, оксигенації та метаболічних процесів у нирках, усунення проявів запалення та констрикції. Застосування бенофіліну зменшує процеси перекисного окислення ліпідів (вміст ТБК-реактивів) на 27,0 %, підвищує антиоксидантний захист (активність каталази та вміст відновленого глутатіону на 22,0 та 26,0 % відповідно) у гомогенатах нирок відносно контрольної патології та сприяє збереженню активності γ -глутамілтранспептидази у крові на рівні інтактних тварин. Дані ефекти бенофіліну перевищують відомі комплексні рослинні препарати з гіпоазотемічною активністю – канефрон та хофітол.

Новизна результатів проведеного дослідження захищена патентом України №116958 від 12.06.2017 р. «8-(4-бромобензиліден)гідразино-7-(4-метилбензил)-1,3-диметилксантин, який виявляє спазмолітичну та протизапальну дію».

Практичне значення одержаних результатів. Експериментально обґрунтована можливість використання бенофіліну як діуретика з нефропротекторною активністю для відновлення функціонального стану нирок в умовах гострої патології. Отримані результати доводять доцільність розробки лікарських засобів на основі 7,8-дизаміщених похідних теофіліну для проведення нефропротекторної терапії.

За матеріалами дисертації видано інформаційний лист МОЗ України «Дослідження нефропротекторної дії нової субстанції серед похідних 7,8-дизаміщених теофіліну», який затверджено Укрмедпатентінформом (№183-2017 від 19.04.2017 р.).

Теоретичні узагальнення щодо фармакологічної активності досліджень похідних 7,8-дизаміщених теофіліну впроваджені у навчальний процес на кафедрах: фармакології Національного фармацевтичного університету; експериментальної та клінічної фармакології з клінічною імунологією та алергологією ВДНЗУ «Українська медична стоматологічна академія»; біохімії Запорізького державного медичного університету.

Особистий внесок дисертанта. Дисертація є самостійною завершеною науковою працею. Автором самостійно був здійснений патентно-інформаційний пошук з використанням пошукових серверів Yandex, Rambler, Alta Vista, а також медичної бази даних «Medline» мережі Internet, проведений аналіз даних літератури за темою дисертації, відпрацьовані адекватні дослідні моделі і методики проведення експериментальних досліджень. Самостійно проведені аналіз, систематизація і статистична обробка отриманих даних і оформлення їх у вигляді таблиць і рисунків, сформульовані основні положення дисертаційної роботи і висновки. В опублікованих у співавторстві наукових працях наведені результати особистих експериментальних досліджень. Гістологічні дослідження виконані за консультативної допомоги с.н.с. Центральної науково-дослідної лабораторії НФаУ, к.б.н. Лар'яновської Ю. Б.

Апробація результатів дисертації. Основні матеріали і положення дисертаційної роботи представлені на: Всеукраїнській науково-практичній конференції студентів та молодих вчених «Актуальні питання створення нових лікарських засобів», присвяченій пам'яті проф. М. О. Валяшко (до 140-річчя від дня народження) (Харків, 2011 р.); XXIX та XXX науково-практичних конференціях з міжнародною участю «Ліки – людині. Сучасні проблеми створення, дослідження та апробації лікарських засобів» (Харків, 2012; 2013 рр.); Національному конгресі «Клінічна фармація: 20 років в Україні» (Харків, 2013 р.); Всеукраїнській науково-практичній конференції студентів та молодих вчених «Актуальні питання створення нових лікарських засобів» (Харків, 2013 р.); XXXI та XXXII Міжнародних науково-практичних конференціях з міжнародною участю «Ліки – людині. Сучасні проблеми фармакотерапії і призначення лікарських засобів» (Харків, 2014; 2015 рр.); Науково-практичній конференції з міжнародною участю і школою молодих вчених «Фармакологія, фізіологія і патологія нирок, сечовивідних шляхів і водно-сольового обміну» (Харків, 2014 р.); VII Національному конгресі патофізіологів України з міжнародною участю «Патофізіологія і фармація: шляхи інтеграції», присвяченого пам'яті академіка НАНУ О. О. Мойбенка (Харків, 2016 р.).

Публікації. За матеріалами дисертації надруковано 18 робіт: 4 статті у фахових журналах, рекомендованих МОН України, 2 статті у закордонних наукових журналах, 1 стаття у періодичному науковому виданні України, 1 патент України на корисну модель, 1 інформаційний лист, 9 тез доповідей.

Обсяг і структура дисертації. Дисертаційна робота викладена на 213 сторінках комп'ютерного тексту і складається з анотацій, вступу, огляду літератури, матеріалів і методів досліджень, 4 розділів власних досліджень, аналізу й узагальнення результатів, висновків, списку використаної літератури, додатків. Роботу ілюстровано 28 таблицями і 19 рисунками. Бібліографічний список містить 251 джерело, з них 69 – латиницею.

ОСНОВНИЙ ЗМІСТ РОБОТИ

Матеріали і методи дослідження. Досліджено 20 похідних 7,8-дизаміщених теофіліну, вперше синтезованих на кафедрі біологічної хімії Запорізького

державного медичного університету під керівництвом проф. М. І. Романенка. На основі хімічної структури і універсального математичного алгоритму програми PASS проведений комп'ютерний прогноз ймовірних видів біологічної активності сполук [Карпенко Ю. В. та співавт., 2015].

Експерименти виконано на 1477 тваринах: 671 білому нелінійному щурі масою 170-200 г, 806 білих нелінійних мишах масою 18-24 г різної статі, вирощених у розпліднику віварію Центральної науково-дослідної лабораторії НФаУ, сертифікованої Державним експертним центром МОЗ України (посвідчення № 008/11 від 18.10.2011 р.). Тварини утримувалися в стандартних умовах віварію. При роботі з ними дотримувалися закону України «Про захист тварин від жорстокого поводження» №3477-IV від 21.02.2006 р. Евтаназію проводили шляхом цервікальної дислокації під ефірним наркозом. Комісією з біоетики НФаУ порушень морально-етичних норм при проведенні роботи не виявлено (протокол № 3 від 15.03.2017 р.).

Фармакологічний скринінг 7,8-дизаміщених теофіліну здійснено згідно методичних рекомендацій [Сернов Л. Н., Гацура В. В., 2000; Стефанов О. В., 2001; Посохова К. А., 2010]. Фармакологічну активність речовин досліджували дозою 1/100 ЛД₅₀ при внутрішньошлунковому (в/ш) введенні у вигляді водної суспензії, стабілізованої твіном-80 в об'ємі розчинника 1 мл мишам і 2 – щурам. Для скринінгових досліджень сполуки вводили за 30 хв до моделювання патології. Вивчення загальної дії і гострої токсичності похідних теофіліну проведено на нелінійних білих мишах обох статей при одноразовому внутрішньоочеревинному (в/о) введенні дозами 1000-5000 мг/кг за методом Т. В. Пастушенко [Остапєць М. О. та співавт., 2015]. ЛД₅₀ розраховували за методом Кьорбера [Архіпов І. А., 2013]. Ступінь токсичності визначали за класифікацією К. К. Сидорова (1973).

Як препарати порівняння в скринінгових дослідженнях використовували гіпотіазид («Sanofi Aventis», Франція) в/ш дозою 25 мг/кг [Григор'єва Л. В. та співавт. 2010; Слесарчук В. Ю., 2014]; диклофенак натрію («Nemofarm», Югославія) в/ш дозою 8 мг/кг; мексидол (ФАРМАСОФТ, Росія) в/ш дозою 25мг/кг; спазмалгон («Balkanpharma-Dupnitza AD», Болгарія) в/ш дозою 42 мг/кг. При вивченні специфічної активності сполуки її ефекти порівнювали з ефектом хофітолу («Laboratoires Rosa-Phytopharma», Франція) в/ш дозою 70 мг/кг та канефрону («Bionorika» Німеччина) в/ш дозою 20 мг/кг. Дози розраховані, виходячи з терапевтичної дози для людини з урахуванням коефіцієнта видової чутливості за Ю. П. Риболовлевим (1979) [Ежнед М. А. та співавт., 2015]. Можливий ульцерогенний вплив порівнювали з дією ацетилсаліцилової кислоти (ЗАТ «Дарниця», Україна) в/ш у дозах 10, 40 та 100 мг/кг [Рибак В. А., 2015].

Дослідження діуретичної дії субстанцій за 2 год проводили за Є. Б. Берхіним (1977) в умовах 3% водного навантаження. Оцінку анальгетичної активності сполук проводили на моделі «оцтовокислих корчів» у щурів [Мохорт М. А., Яковлева Л. В., 2001, Головатюк В. М. та співавт., 2016]. Антиексудативну дію вивчали на моделі карагенінового набряку у мишей, викликаного субплантарним введенням 1 % розчину карагеніну (Sigma, США) дозою 0,02 мл [Каврайський Д. П., Штриголь С. Ю. та співавт., 2016]. Антигіпоксичну дію речовин вивчали на щурах в умовах нормобаричної гіпоксії з

гіперкапнією [Дученко К. А. та співавт., 2016]. Дослідження впливу похідних 7,8 дизаміщених теофіліну на рухову активність шлунка проводили за методикою J. S. Stickney та співавт. [Сенюк І. В. та співавт., 2017].

При вивченні діуретичної активності сполуки-лідера з умовною назвою бенофілін у широкому діапазоні доз було розраховано середню ефективну дозу (ЕД₅₀) за методом Б. М. Штабського та співавт. [Вороніна Ю. В., 2012].

Оцінку впливу бенофіліну дозою 35 мг/кг (ЕД₅₀) на видільну функцію нирок (ВФН) інтактних щурів при одноразовому в/ш введенні проводили за умов спонтанного сечовиділення, водного та сольового навантаження (3%), а також тривалого застосування протягом 14 діб в умовах водного навантаження [Макаренко Н. В. та співавт., 2015]. ВФН оцінювали за показниками екскреції іонів натрію, калію та креатиніну, швидкості клубочкової фільтрації (ШКФ), показниками реабсорбції натрію та води, вмістом у плазмі ендogenous креатиніну [Камышников В. С., 2016]. У сечі визначали вміст креатиніну за реакцією Яффе, сечовини – з діацетилмонооксимом, вміст загального білка – за реакцією з сульфосаліциловою кислотою, рівень натрію і калію – методом фотометрії полум'я [Камышников В. С., 2016]. Концентрацію іонів натрію і калію у плазмі крові – методом полум'яної фотометрії, вміст сечовини і креатиніну – за допомогою наборів хімреактивів фірми «Філісіт», Україна [Карпищенко А. І., 2014]. Об'єм внутрішньосудинної рідини – за синім Еванса (Т-1824) на 15 добу експерименту [Кишкан І. Г., 2014].

Вивчення нефропротекторної дії бенофіліну проводили на моделях гострого пошкодження нирок (ГПН) згідно методичним рекомендаціям [Штриголь С. Ю. та співавт., 2009].

Етиленгліколеву інтоксикацію викликали підшкірним введенням щурам етиленгліколю дозою 0,6 мл/100 г [Штриголь С. Ю. та співавт., 2009]. Бенофілін дозою 35 мг/кг та хофітол дозою 70 мг/кг вводили в/ш у профілактично-лікувальному режимі (протягом 3 діб до моделювання патології та 5 – на тлі ГПН). Ефективність бенофіліну визначали за показниками виживаності тварин та функціонального стану нирок на 1-у добу ГПН за біохімічними показниками сечі і сироватки крові (вмістом сечовини, креатиніну, сечової кислоти, загального білка, іонів натрію, калію).

Міоглобінуричне ГПН моделювали одноразовим введенням щурам 50 % водного розчину гліцеролу (1 мл на 100 г маси тіла) у м'язи задніх кінцівок [Штриголь С. Ю. та співавт., 2009]. Бенофілін дозою 35 мг/кг та канефрон дозою 20 мг/кг вводили в/ш у профілактично-лікувальному режимі 8 діб поспіль (3 доби до моделювання патології та 5 – після). Оцінку ВФН проводили за показниками діурезу, ШКФ, концентрації креатиніну в плазмі крові, відносної реабсорбції води, екскреції іонів калію та натрію, вмісту білка в сечі та його екскреції, фільтраційного заряду та реабсорбції іонів натрію (проксимальна та дистальна). Показники функціонування нирок розраховували за формулами, описаними в роботах Ю. В. Наточина (1974) та О. Т. Шюк (1981) [Слесарчук В. Ю., 2014].

Стан процесів ПОЛ оцінювали за вмістом продуктів, що реагують з тіобарбітуровою кислотою (ТБК-Р) у сироватці крові та гомогенаті нирок [Черняшова В. В., 2015]. Стан АОС – за рівнем відновленого глутатіону (ВГ) та

активністю каталази (КТ) [Бондарев Є. В., 2018] у сироватці крові та гомогенаті нирок дослідних щурів.

Вплив бенофіліну на морфоструктуру нирок досліджували на моделі міоглобінового ураження нирок. Зразки тканин фіксували у 10 % розчині формаліну, зневоднювали у спиртах зростаючої міцності, заливали у парафін. Зрізи фарбували гематоксиліном та еозином [Семченко В. В., 2006; Кузнецов С. Л. та співавт., 2008]. Мікроскопічне вивчення гістопрепаратів проводили під мікроскопом Granum (Granum, Україна), мікрофотографування зображень – цифровою відеокамерою Granum ДСМ 310 (Granum, Україна). Фотознімки обробляли на комп'ютері Pentium 2,4 GHz (Україна) за допомогою програми TourView.

Вивчення нешкідливості бенофіліну проводили у дозах 35, 70 та 105 мг/кг при в/ш введенні мишам та щурам протягом 30 діб. Ульцерогенну дію бенофіліну у дозах 35, 70 та 105 мг/кг досліджували при в/ш введенні інтактним щурам та щурам з експериментальними етаноловими виразками шлунка за методом Marazzi-Uberti (1961) [Рибак В. А. та співавт., 2015]. Макроскопічне дослідження шлунка і кишечника проводили на 15-у добу. Ступінь ушкодження ШКТ оцінювали в балах від 1 до 5.

Результати обчислювали з використанням комп'ютерної обробки даних за програмою «Microsoft Excel 2010» та методів варіаційної статистики, $p \leq 0,05$ приймали в якості критерію вірогідності [Козлов А. П., 2006; Лучкевич В. С. та співавт., 2014].

Результати та їх обговорення. Комп'ютерне прогнозування демонструє, що нові 7,8-дизаміщені похідні теофіліну можуть виявляти діуретичну, анальгетичну, протизапальну, антигіпоксичну та спазмолітичну дію.

Встановлено, що гостра токсичність нових похідних теофіліну при в/о введенні мишам знаходиться в діапазоні 1255-2180 мг/кг. Найбезпечніша субстанція ($LD_{50}=2180$ мг/кг) сполука № 14 – 7-*n*-метилбензил-8-*n*-бромобензиліденгідразино-теофілін. Згідно класифікації Сидорова К. К. субстанції відносяться до V класу практично нетоксичних речовин.

В результаті скринінгу діуретичної активності встановлено, що субстанція-лідер № 14 дозою 22 мг/кг перевищує ефект гіпотіазиду дозою 25 мг/кг у 1,7 рази ($p \leq 0,05$). Найактивніша за анальгетичною активністю сполука № 4 дозою 20 мг/кг зменшує кількість оцтовокислих корчів у щурів в 1,8 рази порівняно з контролем. Найбільший протинабряковий ефект виявила сполука № 15, яка дозою 13 мг/кг пригнічує розвиток ексудації на 50,4 % відносно контролю. Найвищу антигіпоксичну дію чинить речовина № 8 дозою 17 мг/кг, яка продовжує тривалість життя щурів у герметичній камері на 109,0 %, що на 38,0 % вище ефекту мексидолу ($p \leq 0,05$). Спазмолітичну дію досліджено для 8 найактивніших сполук, виявлених за результатами попереднього скринінгу. Найвищий спазмолітичний ефект виявляє сполука № 14, яка дозою 22 мг/кг збільшує шлях контрастної маси кишечником на фоні спазму в 2,6 рази ($p \leq 0,05$), що відповідає ефекту спазмалгону.

На підставі результатів фармакологічного скринінгу для доклінічного вивчення обрано сполуку № 14 (умовна назва бенофілін), яка виявила виразну діуретичну, протизапальну та спазмолітичну активності.

Аналіз результатів дослідження діуретичної дії бенофіліну на щурах при одноразовому в/ш введенні у широкому діапазоні доз демонструє, що у дозах 5,5- 55 мг/кг він збільшує виділення сечі від 66,2 до 171,4 % за 2 год. Гіпотіазид викликає збільшення діурезу на 76,6 % за 2 год. Середня ефективна доза бенофіліну за діуретичною активністю становить 35 мг/кг.

На наступному етапі досліджено вплив одноразового в/ш введення бенофіліну на питну активність, добову екскрецію сечі та парціальні функції нирок (табл.1). Контролем виступали показники інтактних тварин.

Таблиця 1

Вплив бенофіліну (35 мг/кг) і гіпотіазиду (25 мг/кг) на споживання води, спонтанний діурез, екскрецію креатиніну і електролітів у щурів (n=7; M±m)

Показники	Контроль	Бенофілін	Гіпотіазид
Випито води, мл	6,60±1,1	6,20±1,2	6,70±1,3*
Виділено сечі, мл	4,80±0,21	12,40±1,1 ^{**}	8,64±1,6*
Екскреція креатиніну, мг	2,80±0,12	3,30±0,11*	3,00±0,13
Екскреція натрію, мкмоль	91,20±0,17	138,40±1,7 ^{**}	127,80±1,8*
Екскреція калію, мкмоль	28,10±1,14	30,20±0,9*	35,10±0,8*
ШКФ, мл/добу	370,50±25,3	404,50±28,4 ^{**}	392,30±32,5
Реабсорбція води, %	99,50±0,06	91,60±0,10*	94,30±0,08*
Реабсорбція натрію, %	99,43±6,32	69,30±5,5*	71,40±4,8*
Фільтр. заряд натрію мкмоль/хв	99,46±6,33	69,6±3,5*	71,70±2,7*

Примітки: 1. * – $p \leq 0,05$ порівняно з інтактним контролем;

2. ** – $p \leq 0,05$ порівняно з гіпотіазидом;

3. n – кількість тварин у групі

Встановлено, що бенофілін дозою 35 мг/кг не впливає на споживання води у щурів, тоді як спонтанний діурез збільшується у 2,6 рази, екскреція креатиніну зростає на 17,9 % відносно контролю ($p \leq 0,05$), спостерігається тенденція до збільшення ШКФ (9,2 %), що свідчить про покращання фільтраційної функції нирок. У порівнянні з гіпотіазидом об'єм сечовиділення при застосуванні бенофіліну збільшується на 78,3 %, тоді як екскреція іонів калію зменшується на 14,0 % ($p \leq 0,05$).

На наступному етапі вивчено вплив бенофіліну на екскрецію сечі та електролітів у щурів на тлі водного та сольового навантаження. Аналіз результатів свідчить, що при водному навантаженні бенофілін викликає збільшення діурезу та екскреції креатиніну на 164,3 та 15,6 %, відповідно, порівняно з контролем та на 89,3 % перевищує сечогінний ефект гіпотіазиду ($p \leq 0,05$). Натрійуретичний ефект бенофіліну також на 14,4 % вищий відносно гіпотіазиду ($p \leq 0,05$). Позитивним є те, що бенофілін на 11,7 % менше виводить іонів калію порівняно з гіпотіазидом ($p \leq 0,05$). При застосуванні бенофіліну в умовах сольового навантаження у щурів зареєстроване збільшення діурезу, екскреції креатиніну та іонів натрію у 2,9 рази, на 18,0 та 63,0 %, відповідно, відносно контролю ($p \leq 0,05$). На тлі застосування гіпотіазиду об'єм сечовиділення збільшується на 88,9 %, екскреція іонів натрію та калію – на 51,9 та 26,2 %, відповідно (рис. 1). Отже, бенофілін на інтактних щурах

виявляє сечогінний і натрійуретичний ефекти та перевищує активність гіпотіазиду. Перевагою бенофіліну є менший калійуретичний ефект.

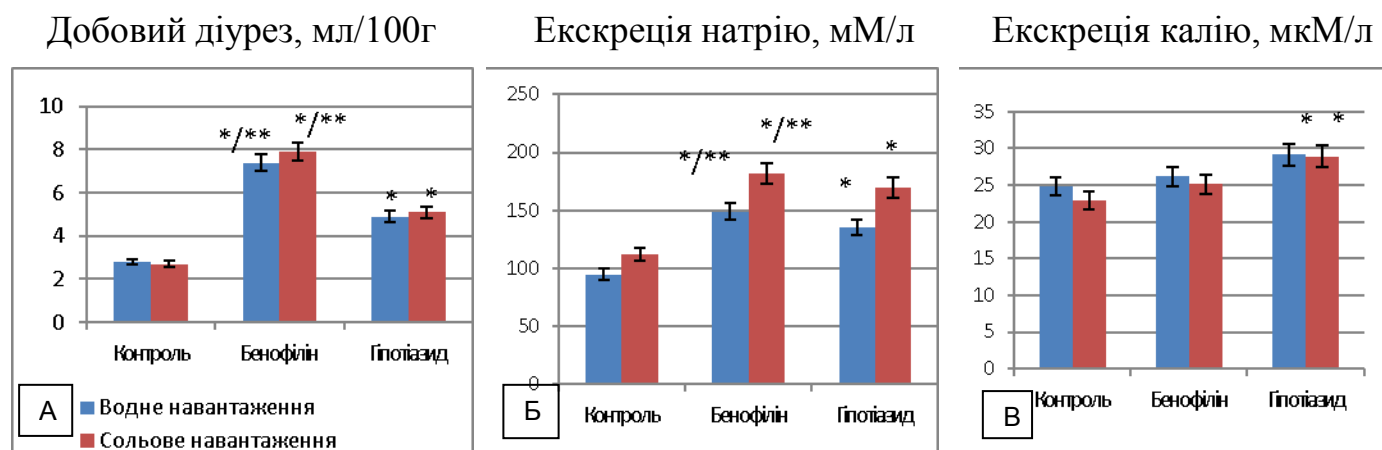


Рис. 1 Вплив бенофіліну (35 мг/кг) і гіпотіазиду (25 мг/кг) на діурез (А), екскрецію натрію (Б) і калію (В) у щурів за умов водного і сольового навантаження (n=7)

У рис. 1-2

* – $p \leq 0,05$ порівняно з контролем;

** – $p \leq 0,05$ порівняно з препаратом порівняння;

n – кількість тварин у групі

Результати вивчення впливу бенофіліну на діяльність нирок при в/ш введенні протягом 14 діб демонструють його здатність збільшувати діурез у щурів від 121,1 до 148,1 % ($p \leq 0,05$) та виведення ендogenous креатиніну з сечею від 3,8 до 23,5 % ($p \leq 0,05$), що свідчить про покращання ниркової фільтрації (рис. 2). Салуретичний ефект бенофіліну виявляється збільшенням екскреції натрію від 10,8 до 51,8 % ($p \leq 0,05$) внаслідок збільшення фільтрації та зменшення реабсорбції в каналцях нефронів.

У результаті дослідження діуретичної активності бенофіліну за умов водного навантаження встановлено, що ВФН максимально посилилась на 9-у добу експерименту. Об'єм сечовиділення збільшився у 2,6 рази відносно контролю ($p \leq 0,05$). Вміст натрію плазми вже на 5-у добу експерименту знизився на 14 % порівняно з контролем ($p \leq 0,05$), що свідчить про зменшення реабсорбції електроліту і посилення його виведення нирками. Калій плазми залишався на рівні контролю. При застосуванні бенофіліну зареєстроване збільшення ШКФ в межах від 74,8 до 101,8 %, що свідчить про покращання ВФН у щурів протягом тривалого експерименту. При курсовому введенні бенофіліну спостерігали зменшення реабсорбції води з 95 до 93 % та натрію з 95,5 до 90,7 % відповідно порівняно з контролем. Рівень екскреції креатиніну збільшився у 2,6 рази відносно контролю ($p \leq 0,05$) (рис. 2).

У подальшому досліджено вплив бенофіліну на об'єм внутрішньосудинної рідини і вміст електролітів у плазмі щурів на 15 добу експерименту. З'ясовано, що бенофілін при курсовому введенні не викликає зменшення об'єму внутрішньосудинної рідини та змін іонного складу плазми крові порівняно з інтактним контролем.

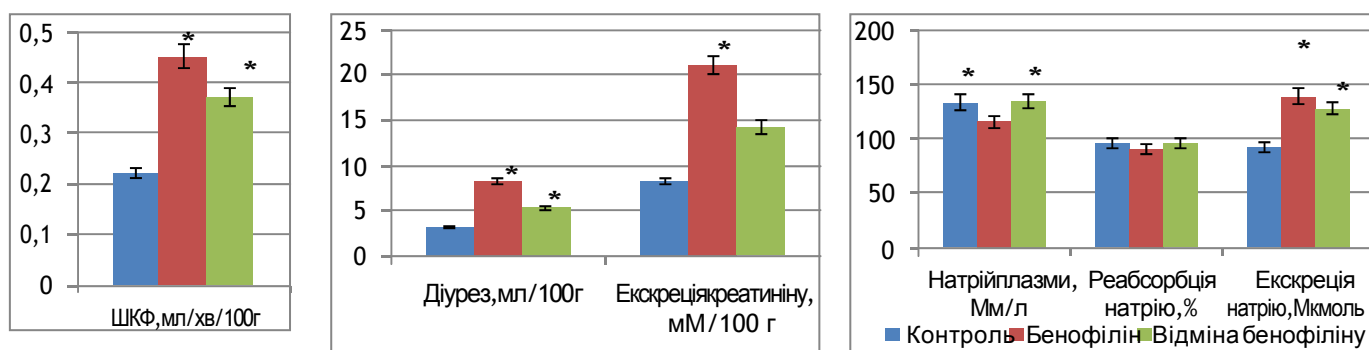


Рис.2 Вплив курсового введення бенофіліну (35 мг/кг) на видільну функцію нирок у щурів в умовах водного навантаження (n=7)

Проведені дослідження свідчать, що бенофілін достовірно збільшує клубочкову фільтрацію і сечовиділення (рис. 2) та не викликає при цьому дегідратації. При дослідженні нефропротекторної дії бенофіліну встановлено, що вже через 30 хв після внутрішньом'язового введення етиленгліколю у групі контрольної патології спостерігали макрогематурію, а через 1 год реєстрували олігурію, гіперазотемію та уремію (рис. 3).

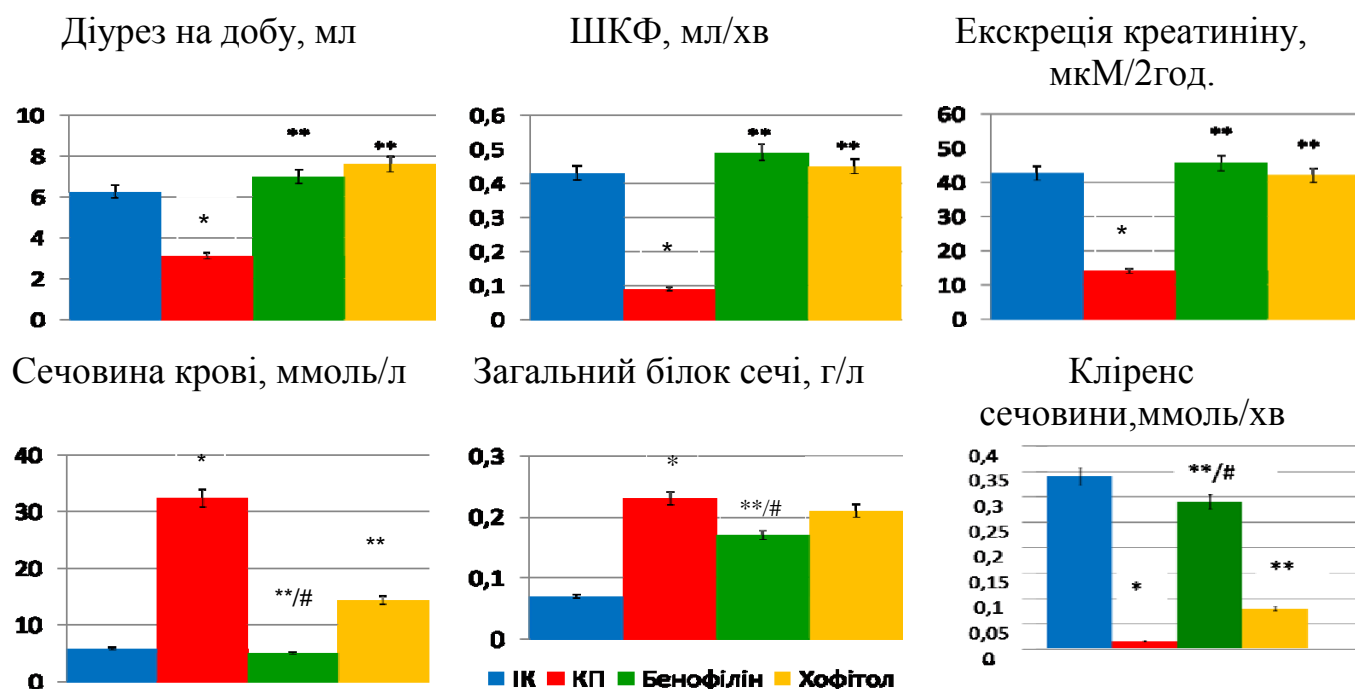


Рис. 3 Вплив бенофіліну (35 мг/кг) та хофітолу (70 мг/кг) на функціональний стан нирок у щурів з етиленгліколевою нефропатією (n=7)

*– $p \leq 0,05$ порівняно з інтактним контролем;

**– $p \leq 0,05$ порівняно з контрольною патологією;

#– $p \leq 0,05$ порівняно з хофітолом

Рівні креатиніну і сечовини в сироватці крові щурів зросли у 1,3 та 5,5 рази ($p \leq 0,05$), а екскреція креатиніну і кліренс сечовини зменшилися у 3,0 та 21,5 рази ($p \leq 0,05$), відповідно, відносно інтактних тварин. Втрата загального білка із сечею у групі нелікованих тварин зросла майже вдвічі порівняно з інтактними. Під впливом

бенофіліну зареєстроване збільшення діурезу та ШКФ у 2,3 та 5,4 рази ($p \leq 0,05$), відповідно, відносно контрольної патології (рис. 3). Гіпоазотемічна дія бенофіліну характеризується зниженням вмісту креатиніну та сечовини в сироватці крові в 1,2 та 6,5 рази, відповідно, відносно контрольної патології. Інформативний показник в умовах експерименту є кліренс сечовини, який на тлі бенофіліну підвищився у 18,0 разів порівняно з етиленгліколевою нефропатією та підвищення рівня екскреції креатиніну у 3,2 рази ($p \leq 0,05$). Загальна гіпоазотемічна активність бенофіліну перевищила аналогічний ефект хофітолу: за збільшенням рівня креатиніну та сечовини у сечі в 1,2 та 1,5 рази, відповідно, за кліренсом сечовини – у 4,0 рази (рис. 3). Протягом перших 12 год спостереження всі тварини з групи контрольної патології загинули. На 5-у добу експерименту в групі щурів, які отримували бенофілін, спостерігали найвищу виживаність – 50,0 %. На тлі застосування хофітолу летальність склала 67,0 %.

На тлі міоглобінового ураження нирок у групі контрольної патології спостерігається порушення екскреторної функції нирок: олігурія, підвищення рівнів сечовини та креатиніну в сироватці крові у 1,5 та 1,8 рази ($p \leq 0,05$) відповідно та зменшення екскреції цих речовин (рис. 4).

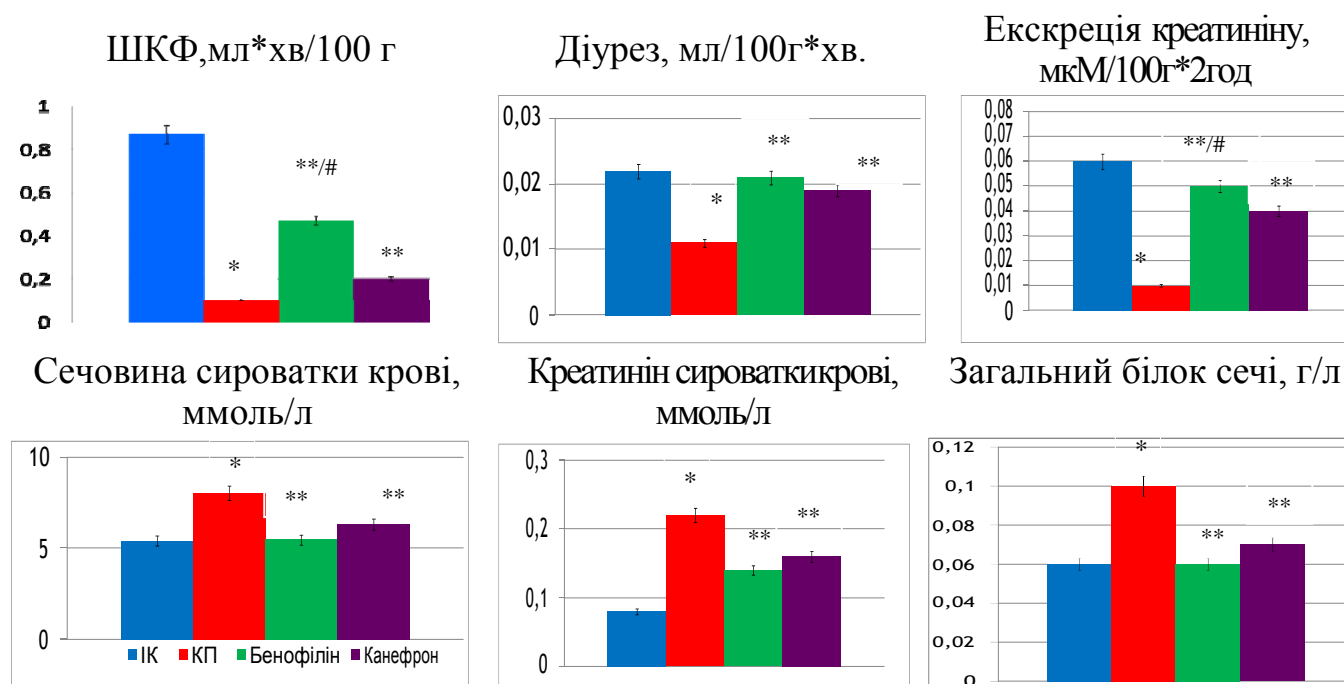


Рис. 4 Вплив курсового введення бенофіліну (35 мг/кг) та канефрону (20 мг/кг) на видільну функцію нирок щурів умови ГПН гліцеролом у щурів (n=7)

У рис. 4-5

* – $p \leq 0,05$ порівняно з інтактним контролем;

** – $p \leq 0,05$ порівняно з контрольною патологією;

– $p \leq 0,05$ порівняно з канефроном

Поряд зі зниженням екскреторної функції у тварин з групи контрольної патології відбувається зниження ШКФ у 8,7 рази ($p \leq 0,05$), фільтраційного заряду до 0,01 ммоль/хв, накопичення натрію до 20,54 ммоль/л та підвищення вмісту білка в сечі в 1,7 рази ($p \leq 0,05$), відносно інтактного контролю (рис. 4).

При застосуванні бенофіліну спостерігається відновлення ШКФ та канальцевої реабсорбції, зниження вмісту натрію та білка в сечі до рівня інтактного

контролю та збільшення фільтраційного заряду у 7,0 разів ($p \leq 0,05$) відносно нелікованих тварин. Бенофілін нормалізує вміст загального білка в сечі з 0,23 г/л при патології до рівня інтактного контролю (0,06 г/л), усуваючи прояви протеїнурії, що є важливим критерієм нефропротекторного ефекту (рис. 4).

У щурів з ГПН відбувається активація процесів ПОЛ та пригнічення АОС у крові та гомогенатах нирок тварин. У гомогенатах нирок щурів з групи контрольної патології зареєстровано зростання вмісту ТБК-Р на 29,7 % ($p \leq 0,05$), зменшення вмісту ВГ на 14,0 % ($p \leq 0,05$), відносно інтактного контролю. Під впливом бенофіліну зареєстровано зменшення вмісту ТБК-Р на 26,8 % ($p \leq 0,05$) та підвищення рівня ВГ на 26,0 % ($p \leq 0,05$) відповідно, порівняно з контрольною патологією (рис. 5). Підтвердженням позитивного впливу бенофіліну на вміст ензимів АОС та рівень кінцевих продуктів ПОЛ, є збереження активності ГГТП у крові на рівні 0,21 мккат/л ($p \leq 0,05$), що відповідає інтактному контролю і свідчить про збереження функціонального стану мембран нефроцитів (рис. 5).



Рис. 5 Вплив курсового введення бенофіліну (35 мг/кг) та канефрону (20 мг/кг) на стан процесів ПОЛ і АОС в гомогенатах нирок щурів за умови ГПН гліцеролом (n=7)

Через тиждень після ін'єкції гліцеролу у щурів групи контрольної патології виявлені зміни у структурі нирок, які можна охарактеризувати як дистрофічні зміни паренхіми і строми, помірні дисциркуляторні порушення (рис. 6).

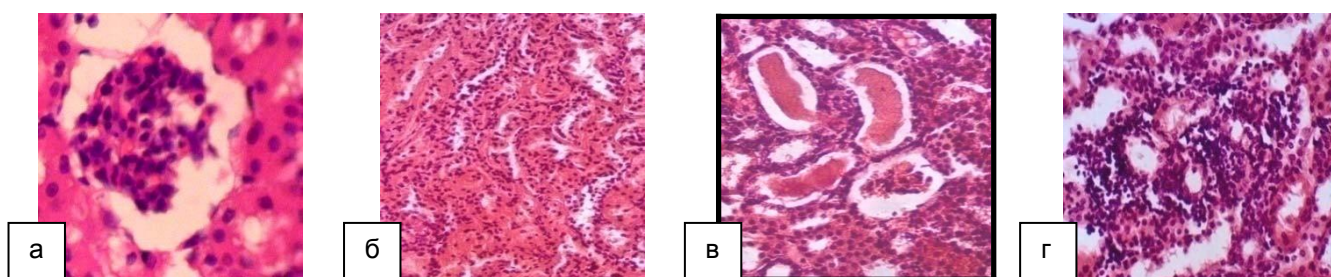


Рис. 6 Нирка щура через тиждень після введення гліцеролу: зморщений нирковий клубочок з розпадом капілярних сегментів (а), відсутність просвіту, деструкція канальців (б), розширення просвіту канальців, оклюзія білковими масами (в), часткова деструкція канальців клітинами інфільтрату (г). Гематоксилін-еозин. а – х400; б – х200; в, г – х250.

На тлі профілактично-лікувального введення бенофіліну зареєстровано зменшення дистрофічних порушень в паренхімі нирок 62,5 % щурів ($p \leq 0,05$), що на 18 % більше, ніж у групі застосування канефрону. Домінують ниркові клубочки з виразним рисунком капілярних петель, еритроцити у капілярах розташовані центрально, видно просвіт капілярів, що свідчить про відновлення кровотоку (рис. 7а). Зберігається підвищена розпушеність апікальних відділів нефроцитів, наявність циліндрів у просвіті каналців юкстамедулярних нефронів (рис. 7 б,в). Практично незмінні прямі каналці мозкового шару та збиральні трубочки (рис. 7 г).

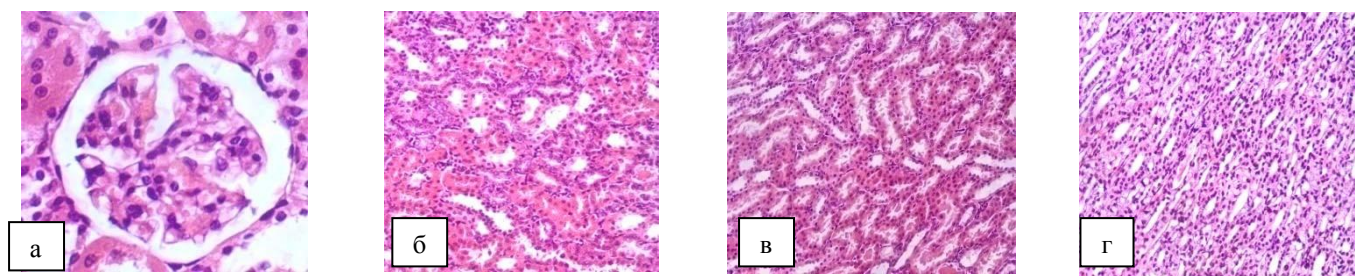


Рис. 7 Нирка щура з гліцероловою ГПН на тлі бенофіліну. Відновлення структури клубочка (а), незмінні звивисті каналці (б), циліндри у просвіті каналців юкстамедулярних нефронів (в), прямих каналців мозкового шару (г). Гематоксилін-еозин. а – х400, б-г – х200.

При щоденному в/ш введенні бенофіліну протягом 30 діб у дозах 35, 70 та 105 мг/кг негативного впливу на функції життєво важливих органів та систем організму щурів та мишей не виявлено. Дозою 35 мг/кг при в/ш застосуванні протягом 14 діб бенофілін не чинить ульцерогенної дії на слизову оболонку шлунку інтактних щурів та погіршення стану слизової оболонки шлунку тварин з етаноловими виразками.

ВИСНОВКИ

У дисертації наведене нове теоретичне та експериментальне вирішення актуальної задачі фармакології – оптимізація фармакологічної корекції ниркової патології. Результати досліджень експериментально обґрунтовують перспективність подальшого вивчення бенофіліну – сполуки з групи похідних 7,8-дизаміщених теофіліну з метою створення нового вітчизняного діуретика з нефропротекторною активністю.

1. За результатами комп'ютерного прогнозування встановлено, що 20 нових 7,8-дизаміщених похідних теофіліну можуть виявляти діуретичну, анальгетичну, протизапальну, антигіпоксичну та спазмолітичну активності ($0,5 < P_a < 0,7$).

2. При одноразовому внутрішньоочеревинному введенні мишам за класифікацією К. К. Сидорова (1973) сполуки належать до V класу практично нетоксичних речовин ($1001 > LD_{50} > 3000$ мг/кг).

3. У результаті фармакологічного скринінгу виявлено найактивнішу за діуретичним та спазмолітичним ефектом сполуку – 7-*n*-метилбензил-8-*n*-бромобензиліденгідразинотеофілін (умовна назва бенофілін), яка дозою 22 мг/кг

перевищувала ефекти гіпотіазиду та спазмалгону на 134,0 та 23,0 %, відповідно ($p \leq 0,05$).

4. Бенофілін дозою 35 мг/кг (ED_{50}) при одноразовому введенні перевищує дію гіпотіазиду: за здатністю збільшувати об'єм сечовиділення та екскрецію іонів натрію у щурів – на 78,3 та 12,0 %, відповідно ($p \leq 0,05$). При курсовому застосуванні протягом 14 діб на тлі водного навантаження виявлено здатність бенофіліну до стимуляції видільної функції нирок, яка виявляється в посиленні діурезу, швидкості клубочкової фільтрації та екскреції креатиніну на 64,0; 44,0 та 34,0 %, відповідно та зменшенні реабсорбції іонів натрію на 25,0 %, відносно контролю ($p < 0,05$). Бенофілін у інтактних тварин не викликає змін об'єму внутрішньосудинної рідини та іонного складу плазми крові. Перевагою бенофіліну над гіпотіазидом є його менш виражена калійуретична активність.

5. При застосуванні бенофіліну на моделі пошкодження нирок етиленгліколом, встановлена на 17,0 % більша виживаність тварин порівняно з хофітолом ($p \leq 0,05$). Бенофілін виявив здатність до покращання азотовидільної функції нирок, яка за рядом показників перевищувала хофітол: за підвищенням кліренсу сечовини та зменшенням протеїнурії у 4,0 та 1,2 рази, відповідно ($p \leq 0,05$). На моделі міоглобінового пошкодження нирок у щурів встановлено кращу здатність бенофіліну, порівняно з канефроном, збільшувати екскрецію креатиніну та сечовинина 24,0 %, пригнічувати процеси вільнорадикального окислення: зменшувати вміст ТБК-реактивних на 13,0 % та підвищувати антиоксидантний захист: вміст відновленого глутатіону у нирках на 14,0 %, та активність γ -глутамілтранспептидази у крові на 33,0 % ($p \leq 0,05$). Мікроскопічне дослідження гістоструктури нирок свідчить, що за профілактично-лікувального уведення бенофіліну у 62,5 % тварин стан ниркової паренхіми морфологічно наближався до інтактного контролю, що на 18,0 % краще за показник референс-препарату канефрону.

6. Результати дослідження нешкідливості бенофіліну у дозах 35, 70 та 105 мг/кг за умов в/ш застосування протягом 30 діб свідчать, що у дослідах на мишах і щурах він не має токсичного впливу на організм тварин. Встановлено, що бенофілін дозою 35 мг/кг при в/ш застосуванні протягом 14 діб не чинить ульцерогенної дії на слизову оболонку шлунка щурів.

СПИСОК ПРАЦЬ, ОПУБЛІКОВАНИХ ЗА ТЕМОЮ ДИСЕРТАЦІЇ

1. Матвійчук О. П., Григор'єва Л. В., Самура Б. А. Острая токсичность и диуретическая активность замещенных 7-алкил-8-морфолино-3-метилксантинов. *Проблеми екологічної та медичної генетики і клінічної імунології*. 2011. Вип. 1(103). С.300–306. (Особистий внесок дисертанта: проведення експерименту, узагальнення результатів та оформлення статті).

2. Дослідження залежності гострої токсичності та діуретичної активності від хімічної структури серед похідних 7-п-метилбензил-8-заміщених теофіліну / О. П. Матвійчук, А. В. Таран, Б. А. Самура, М. І. Романенко, Л. В. Євсєва. *Український біофармацевтичний журнал*. 2011. №3 (14). С. 13–17. (Особистий внесок дисертанта: проведення експерименту, обробка результатів, оформлення статті).

3. Дослідження залежності антигіпоксичної активності від хімічної структури в ряду похідних 7-п- метилбензил-8-заміщених теофіліну / О. П. Матвійчук, А. В. Таран, Б. А. Самура, М. І. Романенко, Л. В. Євсєєва. *Український біофармацевтичний журнал*. 2011. №5(16). С. 26–29. (Особистий внесок дисертанта: проведення експерименту, обробка результатів, підготовка статті до друку).

4. Матвійчук О. П., Таран А. В. Комп'ютерний пошук потенційних діуретичних сполук серед похідних 7-п-метилбензил-8-заміщених теофіліну. *Український біофармацевтичний журнал*. 2012. №3 (20). С. 4–9. (Особистий внесок дисертанта: планування та проведення експерименту, обчислення та узагальнення результатів, оформлення статті до друку).

5. Матвійчук Е. П., Самура Б. А. Влияние бенофиллина на функцию почек при водной нагрузке в длительном эксперименте. *Вестник фармации*. Витебск, 2014. №3(65). С. 95–100. (Особистий внесок дисертанта: планування та проведення експерименту, обчислення, систематизація та узагальнення результатів, оформлення статті до друку).

6. Дослідження нефропротекторної дії бенофіліну на моделі гліцеролової гострої ниркової недостатності в дослідах на щурах / О. П. Матвійчук, А. В. Матвійчук, О. М. Гладченко, А. В. Таран. *Journal of Education, Health and Sport*. 2017. № 7(4). С. 774–786. (Особистий внесок дисертанта: планування та проведення експерименту, обчислення та систематизація результатів, підготовка статті до друку).

7. Матвійчук О. П., Гладченко О. М., Іванченко Д. Г. Експериментальне дослідження діуретичних властивостей нових 7-п-метилбензил-8-заміщених теофіліну. *Фармацевтичний часопис*. 2016. Вип. №2(38). С. 64–69. (Особистий внесок дисертанта: проведення експерименту, обчислення та систематизація результатів, оформлення статті до друку).

8. Романенко М. І., Іванченко Д. Г., Матвійчук О. П., Самура Б. А., Таран А. В. 8-(4-бромобензиліден) гідразино-7-(4-метилбензил)-1,3-диметилксантин, який виявляє спазмолітичну та протизапальну дію: пат. 116958. (51) України: МПК (2006) С07D 473/00; заявл. 26.12.2016; опубл. 12.06.2017, Бюл. № 11. 6 с. (Особистий внесок дисертанта: проведення патентного пошуку, експериментальних фармакологічних досліджень, обчислення, систематизація та узагальнення результатів).

9. Матвійчук О. П., Таран А. В. Дослідження нефропротекторної дії нової субстанції серед похідних 7,8-дизаміщених теофіліну. *Інформаційний лист Укрмедпатентінформу МОЗ України № 183-2017*. К., 2017. 3 с. (Особистий внесок дисертанта: планування, проведення експерименту, узагальнення результатів та підготовка заявки).

10. Матвійчук Е. П., Носулич М. С., Матвійчук А. В. Анальгетическая и антиэкссудативная активность замещенных 3-метилксантинов. *Актуальні питання створення нових лікарських засобів: матеріали всеукр. наук.–практ. конф. студ. та мол. вч., присвяч. пам'яті проф. М. О. Валяшко (до 140-річчя від дня народження), м. Харків. 21-22 квіт. 2011 р. X., 2011. С.313–314. (Внесок дисертанта: у співавторстві проведення експериментальних досліджень, статистична обробка*

результатів, оформлення тез до друку).

11. Матвійчук О. П., Романенко М. І. Комп'ютерний прогноз ймовірних видів фармакологічної активності похідних 3-метилксантину. *Ліки-людині. Сучасні проблеми створення і клінічної апробації лікарських засобів*: матеріали XXIX наук.-практ. конф. з міжнар. уч., м. Харків, 15 берез. 2012 р. X., 2012. С. 111. (Внесок дисертанта: проведення досліджень, статистична обробка результатів, оформлення тез до друку).

12. Матвійчук Е. П., Матвійчук А. В. Дослідження залежності діуретичної активності від хімічної структури 7-п-метилбензил-8-заміщених теофіліну. *Клінічна фармація: 20 років в Україні*: матеріали Національного конгресу, м. Харків, 21-22 берез. 2013 р. X., 2013. С.157–158. (Внесок дисертанта: проведення біохімічних досліджень, статистична обробка результатів, оформлення тез до друку).

13. Матвійчук Е. П. Research of antihypoxic activity of 7-chlorbenzyl-8-substituted theophyllinum. *Актуальні питання створення нових лікарських засобів*: матеріали XX Всеукр. наук.-практ. конф. студ. та мол. вч., м. Харків, 25-26 квітня 2013 р. X., 2013. С.168. (Внесок дисертанта: проведення експериментальних досліджень, систематизація результатів, оформлення тез до друку).

14. Матвійчук О. П., Самура Б. А. Дослідження анальгетичної активності 7-п-метилбензил-8-заміщених теофіліну. *Ліки-людині. Сучасні проблеми фармакотерапії і призначення лікарських засобів*: матеріали XXX Всеукр. наук.-практ. конф. з міжнар. уч., м. Харків, 23 травня 2013 р. X., 2013. С. 239–243. (Внесок дисертанта: проведення експериментальних досліджень, статистична обробка результатів, оформлення тез до друку).

15. Матвійчук О. П., Євсєєва Л. В., Романенко М. І. Пошук антиоксидантних сполук серед похідних 8-аміно-7-бензил-3-метилксантинів. *Ліки – людині. Сучасні проблеми фармакотерапії і призначення лікарських засобів*: матеріали XXXI Всеукр. наук.-практ. конф. з міжнар. уч., м. Харків, 22 травня 2014 р. X., 2014. С. 31. (Внесок дисертанта: проведення біохімічних досліджень, узагальнення, систематизація та статистична обробка результатів, оформлення тез до друку).

16. Матвійчук О. П. Вплив бенофіліну на спонтанний діурез та екскрецію електролітів після водного та сольового навантаження. *Фармакологія, фізіологія и патологія почек, мочевыводящих путей и водно-солевого обмена*: матеріали науч.-практ. конф. с междунар. уч. и шк. мол. уч., г. Харьков, 1-3 октября 2014 г. X., 2014. С. 154. (Внесок дисертанта: проведення експериментальних досліджень, статистична обробка результатів, оформлення тез до друку, підготовка доповіді та участь у постерній сесії).

17. Іванченко Д. Г., Романенко М. І., Матвійчук О. П. Синтез та діуретична активність естерів теобромініл-8-тіоцтової кислоти. *Ліки – людині. Сучасні проблеми фармакотерапії і призначення лікарських засобів*: матеріали XXXII Всеукр. наук.-практ. конф. за уч. міжнар. спец., м. Харків, 21 травня 2015 р. X., 2015. С. 59. (Внесок дисертанта: проведення експериментальних досліджень, статистична обробка результатів, оформлення тез до друку).

18. Матвійчук О. П., Таран А. В., Гладченко О. М. Вплив бенофіліну на функцію нирок на тлі водного навантаження. *Патофізіологія і фармація: шляхи*

інтеграції: матеріали VII Нац. конгр. патофіз. України з міжнар. уч., присвяченого пам'яті академіка НАНУ О. О. Мойбенка, м. Харків, 5-7 жовтня 2016 р. X., 2016. С. 154. (Внесок дисертанта: проведення експериментальних досліджень, статистична обробка результатів, оформлення тез до друку).

АНОТАЦІЯ

Матвійчук О. П. Експериментальне обґрунтування доцільності використання 7,8-дизаміщених теофіліну як діуретичних та нефропротекторних засобів. - Кваліфікаційна наукова праця на правах рукопису.

Дисертація на здобуття наукового ступеня кандидата біологічних наук(доктора філософії) за спеціальністю 14.03.05 «Фармакологія» (09 – Біологія). - Одеський національний медичний університет МОЗ України, Одеса, 2018.

Дисертація присвячена скринінгу 20 нових 7,8-дизаміщених похідних теофіліну. Встановлено, що більшість досліджуваних сполук виявляють виразну діуретичну, анальгетичну, протизапальну, антигіпоксичну і спазмолітичну активності, не поступаючись дії відомих препаратів порівняння, чи навіть переважаючи їх.

Вперше виявлено субстанцію - лідера – 7-п-метилбензил-8-п-бромобензил-іденгідразинотеофілін (умовна назва бенофілін). На двох моделях гострого пошкодження нирок етиленгліколом та гліцеролом встановлено здатність бенофіліну усувати порушення водно-електролітного обміну, покращувати азотовидільну функцію нирок, пригнічувати процеси вільнорадикального окислення у нирках та відновлювати їх морфоструктуру ефективніше за хофітол і канефрон.

Встановлена ефективність, низька токсичність і відсутність ульцерогенної дії, обґрунтовують перспективність створення на основі даної сполуки нового діуретика з нефропротекторною активністю.

Ключові слова: бенофілін, гостре пошкодження нирок, діуретична, нефропротекторна активність, миші, щури.

АННОТАЦІЯ

Матвійчук Е. П. Экспериментальное обоснование целесообразности использования 7,8-дизамещённых теofilлина как диуретических и нефропротекторных средств. - Квалификационная научная работа на правах рукописи.

Диссертация на соискание научной степени кандидата биологических наук (доктора философии) по специальности 14.03.05 «Фармакология» (09 – Биология). - Одесский национальный медицинский университет МЗ Украины, Одесса, 2018.

Диссертация посвящена скринингу 20 новых 7,8-дизамещённых производных теofilлина. Установлено, что большинство исследуемых соединений проявляют высокую диуретическую, анальгетическую, противовоспалительную, антигипоксическую и спазмолитическую активности, не уступая действию известных препаратов сравнения, или даже превосходя их.

Впервые выявлена субстанция-лидер – 7-п-метилбензил-8-п-бромобензил-

идентгидразинотеофиллин (условное название бенофиллин). На двух моделях острого повреждения почек этиленгликолем и глицеролом установлена способность бенофиллина устранять нарушения водно-электролитного обмена, улучшать азотовыделительную функцию почек, подавлять процессы свободнорадикального окисления в почках и восстанавливать их морфоструктуру эффективнее хофитола и канефрона.

Установленная эффективность, низкая токсичность и отсутствие ulcerогенного действия обосновывают перспективность создания на основе данного соединения нового диуретика с нефропротекторной активностью.

Ключевые слова: бенофиллин, острое повреждение почек, диуретическая, нефропротекторная активность, мыши, крысы.

SUMMARY

Matviychuk O. P. The Experimental substantiation of the expediency of using 7,8-disubstituted theophyllines as diuretic and nephroprotective agents. - Qualification scientific work on the rights of manuscript.

Thesis for a scientific degree of Candidate of biological sciences (Doctor of philosophy) in speciality 14.03.05 «Pharmacology» (09 – Biology). - Odessa National Medical University Ministry of Public Health of Ukraine, Odessa, 2018.

The thesis is devoted to the complex pharmacological study of the firstly synthesized 7,8-disubstituted derivatives of theophylline. In the dissertation, the feasibility of the development of new nephroprotective agents based on 7,8-disubstituted derivatives of theophylline has been substantiated. Their more distinct pharmacological activity is demonstrated in comparison with known diuretic and nephroprotective drugs, in particular hydrochlorothiazide, canephron and chophytol. The screening studies made it possible to draw compelling conclusions that most compounds among theophylline derivatives possess pronounced diuretic, analgesic, anti-inflammatory, antihypoxic activity, and for some of these substances there are data supporting the types of activity widely used in clinical practice. It has been experimentally established that the action depends on the nature of the substituent in the 8 position of the molecule: the substitution of one radical to another leads to an increase or decrease in the pharmacological effect until it is completely eliminated.

The results of this research demonstrate the nephroprotective activity of the different doses of the newly synthesized 7,8-substituted of theophylline, namely 7-n-methylbenzyl-8-nbromobenzylidenhydrazinotheophylline (code name benofillin). According to the results of screening studies, benofillin was selected for further in-depth study. It has been experimentally proved that the dose of 35 mg/kg of benofillin significantly increases diuresis and glomerular filtration in rat kidneys, reduces the volume of intravascular fluid, and normalizes the concentration of electrolytes in plasma.

In experimental models of acute renal failure induced by ethylene glycol and in glycerol nephropathy in rats, it was found that benofillin counteracts the disturbance of water-electrolyte metabolism, exhibits a restorative effect on the morphology of renal tissues being not inferior to the known drugs with nephroprotective action, such as canephron and chophytol, surpassing them by the certain values. The mechanisms of water-electrolyte exchange disturbances in rats are found out. The results of the studies of

chronic toxicity and ulcerogenic action of benofillin have confirmed its safety and the absence of ulcerogenic effect on the mucous membrane of the stomach. The results of the research experimentally substantiate the expediency of the development of diuretic and nephroprotective drugs based on 7,8-disubstituted derivatives of theophylline.

Nephroprotective activity was also demonstrated on the model of acute renal failure, which was induced by the single intramuscular administration to the thigh of 50% water solution of glycerol. The influence of benofillin on the function of kidneys in rats was studied under conditions of water loading. Evaluation of the excretory renal function was done using the values of diuresis, glomerular filtration rate, creatinine concentrations, relative reabsorption of water, excretion of potassium and calcium ions, protein content in urine and its excretion, filtration charge and After the therapeutic and preventive administration of benofillin diuresis increased on 1.9 times in comparison with the untreated control. Under the action of benofillin a decrease in the level of urea in blood serum in 1.5 times was seen. Creatinine content in blood serum was slightly increased (1.1 times compared with the untreated control). Urea and creatinine concentrations in urine increased in 2.3 and 2.2 times respectively, excretion of these substances by the kidneys was grown 4.6 times that 5 times respectively, which indicates about improvement of the excretory function of the kidneys. The analysis of changes in biochemical values in blood and urine in rats demonstrates that the treatment and prophylactic use of benofillin allows normalizing the basic parameters of the function of kidneys.

The conducted studies has confirmed benofillin nephroprotective activity, which is evident in the decrease in proteinuria, renal excretion of sodium and retention hyperazotemia, increased glomerular filtration rate and diuresis, normalization of acid-base regulatory function of the kidneys.

Key words: benofillin, acute renal failure, diuretic, nephroprotective activity, mice, rats.

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ

АОЗ	– антиоксидантний захист;
АОС	– антиоксидантна система;
ВГ	– відновлений глутатіон;
в/о	– внутрішньоочеревинний;
в/ш	– внутрішньошлунковий;
ВФН	– видільна функція нирок;
ГГТП	– γ -глутамілтранспептидаза;
ГПН	– гостре пошкодження нирок;
КТ	– каталаза;
ПОЛ	– перекисне окислення ліпідів;
ТБК-Р	– ТБК-реакційні продукти;
ШКТ	– шлунково-кишковий тракт;
ШКФ	– швидкість клубочкової фільтрації.

