

**ЗАЛЕЖНІСТЬ ГОСТРОЇ ТОКСИЧНОСТІ ТА ДІУРЕТИЧНОЇ АКТИВНОСТІ ВІД ХІМІЧНОЇ СТРУКТУРИ ПОХІДНИХ 7-БЕНЗОІЛМЕТИЛ-8-ЗАМІЩЕНИХ ТЕОФІЛІНУ**

**В.І.Корнієнко, Б.А.Самура, М.І.Романенко,  
О.В.Ладогубець, М.В.Назаренко**

*Харківська державна зооветеринарна академія  
Національний фармацевтичний університет (Харків)  
Запорізький державний медичний університет*

**Вступ**

На теперішній час в усьому світі спостерігається тенденція до зростання кількості захворювань серцево-судинної системи [2, 8]. За останні 10 років в Україні зросла кількість захворювань на гіпертонічну хворобу, ішемічну хворобу серця, інфаркт міокарду, порушення серцевого ритму [2, 14]. Останніми роками для лікування легкої і середнє тяжкої артеріальної гіпертензії використовують тіазидні діуретики в низьких дозах. Свідченнями до призначення петлевих діуретиків можуть служити важка артеріальна гіпертонія, а також наявність серцевої або ниркової недостатності.

Основною метою застосування діуретиків є посилення електrolітно- і водовидільної функцій нирок [3]. Механізм дії діуретичних засобів складний і багатогранний і пов'язаний з гальмуванням реабсорбції іонів натрію в каналцях нефрону, збільшенням вмісту простагландинів ПГЕ<sub>2</sub> та активності калікреїн-кінінової системи, які покращують нирковий кровообіг та збільшують екскрецію натрію і води [4, 13].

Сечогінний ефект діуретиків супроводжується побічною дією (гіпокаліємією, гіперурикемією, метаболічним алкалозом, тромбоцитопенією, алергічними реакціями тощо) [4, 9, 11, 16].

Враховуючи наведене вище, пошук нових лікарських засобів, що покращують функціональну діяльність нирок, та їх використання для лікування серцево-судинних захворювань, є однією з актуальних проблем сучасної експериментальної фармакології.

Відомо, що ксантини впливають на аденозинові рецептори мембран клітин, збільшують діурез і натрійурез у абсолютних показниках і в кореляції з екскрецією креатиніну. Ослаблення діуретичного і натрійуретичного ефектів теофіліну з вимкненими рецепторами  $A_1$  не супроводжується змінами артеріального тиску і швидкості клубочкової фільтрації [12]. Проти-запальна дія похідних теофіліну, нормалізація реологічних властивостей крові є важливими ланками профілактики ускладнень при нирковій патології [3, 13].

Наведені факти зумовили необхідність подальшого синтезу і дослідження діуретичної активності нових заміщених похідних теофіліну [15] з метою пошуку більш ефективних і безпечних біологічно активних речовин (БАР). Синтез модифікованих аналогів БАР природного походження є пріоритетним напрямком наукових досліджень для вирішення цього питання.

**Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами.** Стаття виконана відповідно до основного плану науководослідних робіт (НДР) Харківської державної зооветеринарної академії, Національного фармацевтичного університету та Запорізького державного медичного університету і є фрагментом НДР з проблеми "Отримання, фізико-хімічні властивості біологічна дія та вивчення впливу ксенобіотиків на метаболічні процеси" (№ держреєстрації 0105U002815, шифр ІН 15.00.02.01).

**Метою** дослідження було вивчення гострої токсичності та діуретичної активності 7-бензоілметил-8-заміщених теофіліну в експериментах та з'ясування залежності фармакологічної дії від хімічної структури та деяких сторін механізму діуретичної дії найбільш активної сполуки.

#### **Матеріали та методи дослідження**

Об'єктом дослідження були 10 сполук серед 7-бензоілметил-8-заміщених теофіліну, синтез яких здійснено на кафедрі біологічної хімії Запорізького державного медичного університету під керівництвом доктора фармацевтичних наук, професора Романенко М.І. Структура синтезованих сполук підтверджена за допомогою сучасних фізико-хімічних методів елементного аналізу, УФ-, ІК-, ПМР-і мас-спектрометрії, зустрічним синтезом, а чистота синтезованих речовин контролювалася методом тонкошарової хроматографії. Дані

речовини є білими кристалічними порошками, без запаху, з гірким смаком, не розчинні у воді, легко розчинні у диметилфоамаміді та диметилсульфоксиді. Практично не розчинні в спирті, ефірі, хлороформі, льодяній оцтовій кислоті.

Гостру токсичність 7-заміщених 8-піперидинотеофіліну вивчили на інтактних білих нелінійних мишах масою 19-23 г [6, 9], а ЛД<sub>50</sub> вираховували за методом Кербера [9]. Вивчення діуретичної активності 7-заміщених 8-піперидинотеофіліну проводили за методом Є.Б. Берхіна, який дозволяє досліджувати їх вплив на функцію нирок. Дослідження діуретичної активності даних синтезованих сполук проведено на білих нелінійних щурах масою 170-190 г [1, 5]. Експериментальних тварин утримували у стандартних умовах віварію згідно з санітарно-гігієнічними нормами на стандартному раціоні та стандартизованих по фізіологічних та біохімічних показниках.

Для вивчення деяких сторін діуретичного ефекту відібраної сполуки № 3, були проведені дослідження її впливу на діурез, екскрецію електролітів з водним і сольовим навантаженням. Вміст електролітів визначали за допомогою методу полум'яної фотометрії, кількість виділеного креатиніну - методом Фоліна [1, 5]. Для вивчення деяких аспектів діуретичної дії було проведено дослідження впливу сполуки № 3 на добове споживання води, діурез, екскрецію електролітів (натрію і калію) та креатиніну у білих щурів в умовах спонтанного діурезу. Досліджувані речовини в дозі 0,05 ЛД<sub>50</sub> вводили внутрішньошлунково за допомогою металевого зонду у вигляді 3-5%-ної тонкодисперсної водної суспензії, стабілізованої твіном-80, що являє собою продукт оксиетилювання моноолеата сорбітана (ВФС-42-167-72) разом з водяним розчином у кількості 3% від маси тіла. Сечу збирали щогодини протягом 4 годин. Препарат гіпотіазид також вводили внутрішньошлунково в дозі 25 мг/кг. При проведенні експериментальних досліджень тварини знаходилися у звичайних умовах згідно з нормами і принципами Директиви Ради ЄС з питань захисту хребетних тварин, яких використовують для експериментальних та інших наукових досліджень [5].

Одержані результати обчислювали за допомогою комп'ютерних програм "Microsoft Excel 2003" та опрацьовували згідно з ме-

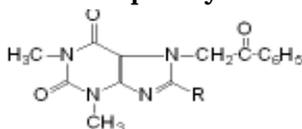
тодами непараметричної статистики з використанням  $t$  критерію Стьюдента [3]. Достовірною вважалась різниця показників при  $p < 0,05$  [7, 9].

### Отримані результати та їх обговорення

Гостра токсичність 7-бензоілметил-8-заміщених теофіліну знаходиться в інтервалі від 167,5 до 825,0 мг/кг (табл.1).

Таблиця 1

### Гостра токсичність 7-бензоілметил-8-заміщених теофіліну



| Сполука № | Шифр     | R                                  | ЛД <sub>50</sub> , мг/кг |
|-----------|----------|------------------------------------|--------------------------|
| 1         | γ-4238   | (4'-етилпіперазин-1'-іл)           | 455,0±18,0               |
| 2         | γ-3952   | (4'-β-гідроксиетилпіперазин-1'-іл) | 542,5±21,9               |
| 3         | γ-4250   | (фурил-2)-метиламіно               | 710,0±30,2               |
| 4         | γ-4237 А | β-гідроксиетиламіно                | 825,0±18,6               |
| 5         | γ-4249 А | N-(3'-гідроксипропіл-1'-іл)-аміно  | 550,0±33,6               |
| 6         | γ-3842   | N-піролідино                       | 565,0±16,0               |
| 7         | γ-6237   | (4'-метилпіперидин-1'-іл)          | 205,0±10,6               |
| 8         | γ-6236   | (3'-метилпіперидиніл-1'-іл)        | 282,5±8,3                |
| 9         | γ-5132   | (піридин-3'-іл)метиламіно          | 930,0±39,2               |
| 10        | γ-4543   | (4'-бензилпіперидиніл-1'-)         | 167,5±14,3               |

Найбільш токсичною (ЛД<sub>50</sub> = 167,5 мг/кг) була сполука № 10, яка має (4'-бензилпіперидиніл-1'-ільний) радикал в 8 положенні молекули 7-бензоілметил-8-заміщених теофіліну. Заміна в молекулі 7-бензоілметил-8-заміщених теофіліну 4'-бензилпіперидинілового радикалу (сполука № 10) на 3'-метилпіперидиніл-1'-ільний (сполука № 7), піридин-3'-ільний (сполука № 8), 4'-етилпіперазин-1'-ільний (сполука № 1), 4'-β-гідроксиетилпіперазин-1'-ільний (сполука № 2), N-(3'-гідроксипропіл-1'-ільний) (сполука № 5), N-піролідиновий (сполука № 6), фурил-2-метиламіновий (сполука № 3) призводить до зменшення токсичності. Наведені дані свідчать про поступове зростання гострої токсичності в залежності від хімічної структури досліджуваних 7-бензоілметил-8-заміщених теофіліну. За класифікацією К.К. Сидорова всі 10 сполук можна віднести до малотоксичних органічних речовин [10].

Результати дослідження діуретичної активності 7-бензоілметил-8-заміщених теофіліну (табл. 2) свідчать, що сполуки № 1, № 2, № 3, № 4, № 5, № 7, №8 та № 9 стимулюють видільну функцію нирок у щурів. За 4 години вони підвищують виділення сечі у межах від 41,2% ( $p < 0,05$ ) до 153,9% ( $p < 0,01$ ).

Таблиця 2

### Вплив 7-бензоілметил-8-заміщених теофіліну на діурез у щурів (n=7)

| Сполука №  | Доза, мг/кг | Діурез через ... |                 |               |                 |
|------------|-------------|------------------|-----------------|---------------|-----------------|
|            |             | 2 години         |                 | 4 години      |                 |
|            |             | (M±m), мл        | в % до контролю | (M±m), мл     | в % до контролю |
| 1          | 22,8        | 2,44±0,13        | 156,4           | 5,07 ± 0,18*  | 158,5           |
| 2          | 27,2        | 2,21±0,12        | 139,7           | 4,06 ± 0,31*  | 142,9           |
| 3          | 35,5        | 3,77 ± 0,06      | 241,7           | 7,21 ± 0,12   | 253,9           |
| 4          | 41,3        | 2,88±0,07        | 184,6           | 5,71±0,09     | 201,1           |
| 5          | 27,5        | 2,54±0,05        | 162,8           | 5,31±0,11     | 186,9           |
| 6          | 28,3        | 2,48±0,09        | 158,9           | 3,71±0,13*    | 130,6           |
| 7          | 10,3        | 2,17±0,13        | 139,1           | 4,23±0,08     | 148,2           |
| 8          | 14,2        | 2,08±0,16        | 133,3           | 4,01 ± 0,22** | 141,2           |
| 9          | 46,5        | 2,30±0,18*       | 147,4           | 4,72±0,17*    | 166,2           |
| 10         | 8,4         | 3,01±0,15*       | 192,9           | 3,74±0,21*    | 131,7           |
| Гіпотіазид | 25,0        | 2,41 ± 0,08*     | 154,5           | 4,93 ± 0,17*  | 173,6           |
| Контроль   | —           | 1,56 ± 0,16      | 100             | 2,84 ± 0,21   | 100             |

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

Аналізуючи динаміку показників діурезу серед досліджених сполук встановлено, що найбільшу діуретичну активність проявила сполука № 3 - 7-бензоілметил-8-(фурил-2)-метиламінотеофілін, яка за 4 години посилювала сечовиділення у щурів на 153,9% ( $p < 0,01$ ). Заміна в молекулі 7-бензоілметил-8-заміщених теофіліну (фурил-2)-метиламінового радикалу (сполука № 3) на  $\beta$ -N-(3'-гідроксипропіл-1'-іл)-аміновий (сполука № 4), N-(3'-гідроксипропіл-1'-іл)-аміновий (сполука № 5), (піридин-3'-іл)метиламіновий (сполука № 9), 4'-етилпіперазин-1'-ільний (сполука № 1) і 4'-метилпіперидин-1'-ільний (сполука № 7) і 4'- $\beta$ -гідроксиетилпіперазин-1'-ільний (сполука № 2) за 4 години викликало зниження виділення кількості сечі до 42,9% ( $p < 0,05$ ). Меншу діуретичну активність проявили сполуки № 6 і № 10, які за 4 години посилювали сечовиділення на 30,6% та 31,7%, відповідно. Препарат порівняння гіпотіазид підви-

щив видільну функцію нирок у щурів на 73,6% ( $p < 0,05$ ). Таким чином, сполука № 3 проявила в 2,1 рази ( $p < 0,05$ ) більшу діуретичну активність в порівнянні з гіпотіазидом.

Для подальшого дослідження механізмів діуретичного ефекту була відібрана сполука № 3. Вплив цієї сполуки на діурез і екскрецію електролітів вивчено в дослідях на щурах після водного та сольового навантажень (табл. 3). Порівняльний аналіз даних, отриманих в дослідях з водним навантаженням показав, що сполука № 3 призводила до вірогідного зростання діурезу у щурів на 151,4 % ( $p < 0,01$ ) і за діуретичною дією перевищувала діуретичну активність гіпотіазиду на 78,5 % ( $p < 0,05$ ). Проаналізовано також динаміку змін виділення нирками іонів натрію та калію. Результати дослідження виявили підсилення екскреції іонів натрію під впливом сполуки № 3 на 41,4 % ( $p < 0,05$ ), при цьому екскреція іонів калію мала лише тенденцію до підвищення на 8,4 %. Гіпотіазид збільшував екскрецію іонів натрію на 28,2 %, іонів калію - на 22,9 %. Отримані результати свідчать про більш виразний натрійуретичний ефект сполуки № 3 порівняно з калійуретичним. Одержані дані указують, що ксантини стимулюють інтактні рецептори  $A_1$ , які інгібують ниркову реабсорбцію іонів натрію, що приводить до збільшення натрійурезу і діурезу. Це узгоджується припущенням, що  $A_1$  рецептори опосередкують ці ефекти [12]. Таким чином, в експерименті з водним навантаженням сполука № 3 перевищувала діуретичну активність гіпотіазиду в 2,1 рази та на 15 % зменшувала екскрецію калію у порівнянні з гіпотіазидом.

Вивчення впливу сполуки № 3 на діурез і екскрецію електролітів після сольового навантаження (див. табл. 3) показало, що під дією сполуки № 3 діурез підвищувався на 188,5 % ( $p < 0,01$ ), а під впливом гіпотіазиду - на 74,4 % ( $p < 0,05$ ). Екскреція натрію підвищувалась під впливом сполуки № 3 на 47,2 %, гіпотіазиду - на 24,9 %. Рівень виведення калію мав тенденцію до підвищення під впливом сполуки № 3 на 9,9 %, а гіпотіазид підвищував екскрецію на 24,9 %.

Таким чином, проведені дослідження показали перспективність подальшого цілеспрямованого синтезу нових сполук серед похідних 7-бензоілметил-8-заміщених теофіліну з метою створення нових біологічно активних речовин.

Таблиця 3  
**Вплив сполуки № 3 і гіпотіазиду на екскрецію сечі і електролітів у щурів після водного і сольового навантажень (n=7)**

| Умови експерименту   | Доза, мг/кг | Діурез за 4 години |                 | Екскреція Na <sup>+</sup> |                 | Екскреція K <sup>+</sup> |                 |
|----------------------|-------------|--------------------|-----------------|---------------------------|-----------------|--------------------------|-----------------|
|                      |             | (M ± m), мл        | в % до контролю | (M ± m), мкмоль/мл        | в % до контролю | (M ± m), мкмоль/мл       | в % до контролю |
| Водне навантаження   |             |                    |                 |                           |                 |                          |                 |
| Контроль             | -           | 2,88±0,11          | 100             | 97,3±2,1                  | 100             | 27,1±0,11                | 100             |
| Сполука № 3          | 35,5        | 7,24±0,16**        | 251,4           | 137,6±1,4*                | 141,4           | 29,4±0,45                | 108,4           |
| Гіпотіазид           | 25          | 4,98±0,14*         | 172,9           | 124,7±1,9*                | 128,2           | 33,2±0,13*               | 122,9           |
| Сольове навантаження |             |                    |                 |                           |                 |                          |                 |
| Контроль             | -           | 2,62±0,13          | 100             | 118,4±2,2                 | 100             | 25,3±0,14                | 100             |
| Сполука № 1          | 35,5        | 7,56±0,12**        | 288,5           | 174,3±2,87*               | 147,2           | 27,8±0,17                | 109,9           |
| Гіпотіазид           | 25,0        | 4,57±0,15*         | 174,4           | 156,5± 2,121*             | 132,2           | 31,6±0,09*               | 124,9           |

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

## Висновки

1. В експериментах на щурах встановлено, що всі 10 досліджених сполук можна віднести до малотоксичних органічних речовин, деякі 7-бензоілметил-8-заміщених теофіліну проявляють діуретичний ефект. Найбільшу активність проявила сполука № 3 - 7-бензоілметил-8-(фурил-2)-метиламінотеофілін, яка перевершувала діуретичний ефект препарату порівняння гіпотіазиду в 2,1 рази.

2. Механізм діуретичного ефекту сполуки № 3 пов'язаний із зниженням реабсорбції та підвищенням екскреції іонів натрію.

3. Проведені дослідження показали перспективність подальшого цілеспрямованого синтезу нових сполук серед 7-бензоілметил-8-(фурил-2)-метиламінотеофіліну з метою створення нових біологічно активних речовин.

### Література

1. Берхин Е.Б. Методы изучения действия новых химических соединений на функцию почек / Е.Б.Берхин // Хим. фарм. журн. - 1977. - Т. 11, № 5. - С. 3-11.

2. Глезер М.Г. Справочник по фармакотерапии сердечно-сосудистых заболеваний / М.Г.Глезер, Г.А.Глезер. ? М.: Авиценна; ЮНИТИ, 1996. - 584 с.

3. Глезер Г.А. Диуретики. Руководство для врачей / Г.А.-Глезер. - М.: Интербук-бизнес, 1993. - 352 с.

4. Джеймс А. Шейман. Патологическая физиология почки / Джеймс А. Шейман ; пер. с англ. - [2-е изд., испр.]. - М.; СПб.: БИНОМ; Невский Диалект, 1999. - 206 с.

5. Доклінічні дослідження лікарських засобів / За ред. О.В. Стефанова. - Київ: Авіцена, 2001. - 528 с.

6. Експериментальне вивчення токсичної дії потенційних лікарських засобів / В.М. Коваленко, О.В. Стефанов, Ю.М. Максимов [и др.] // Доклінічні дослідження лікарських засобів: метод. рек. / За ред. член-кор. АМН України О.В. Стефанова. - Київ: Авіцена, 2001. - С. 74-97.

7. Лапач С.Н. Статистические методы в медико-биологических исследованиях с использованием EXCEL / С.Н. Лапач, А.В. Чубенко, П.Н. Бабич - Киев: Морион, 2000. - 320 с.

8. Машковский М.Д. *Лекарственные средства* / М.Д. Машковский. - [15-е изд., перераб., испр. и доп.]. - М.: РИИ "Новая волна", 2008. - 1206 с.

9. Сернов Л.Н. *Элементы экспериментальной фармакологии* / Л.Н.Сернов, В.В.Гацура. - М.: Медицина, 2000. - С. 308-328.

10. Сидоров К.К. *О классификации токсичности ядов при парентеральных способах введения* / К.К.Сидоров // *Токсикология новых пром. хим. в-в.* - М., 1973. - Вып. 13. - С. 47-60.

11. Штрыголь С.Ю. *Побочное действие диуретиков* / С.Ю.Штрыголь // *Провизор.* - 2003. - № 19. - С. 30-33.

12. Castrop H. *Modulation of adenosine receptor expression in the proximal tubule: a novel adaptive mechanism to regulate renal salt and water metabolism* / H.Castrop // *Am. J. Physiol. Renal. Physiol.* - 2008. - Vol.295, № 1. - P. 35-36.

13. Muniz P. *Effects of loop diuretics on angiotensin II-stimulated vascular smooth muscle cell growth* / P.Muniz, A. Fortuno, G.Zalba // *Nephrol. Dial. Transplant.* - 2001. - Vol. 16, № 1. - P. 14-17.

14. *Pentoxifylline improves circulatory and metabolic recovery after cardiopulmonary resuscitation* / L.Bahlmann, H.Pagel, S.Klaus[e.a.] // *Resuscitation.* - 2000. - Vol. 47, № 1. - P.191-194.

15. *Synergistic effect of theophylline and procaterol on interleukin-5-induced degranulation from human eosinophils* / Fujisava Takao, Kato Yoshiko, Terada Akihiko [e.a.] // *J. Asthma.* - 2002. - Vol.39, №1. - P. 21-27.

16. *Wong S.G. The role of mitochondrial injury in bromobenzene and furosemide induced hepatotoxicity* / S.G.Wong, J.W.Card, W.J.Racz // *Toxicol. Lett.* - 2000. - Vol.116, № 3. - P. 171-181.

#### Резюме

**Корнієнко В.І., Самура Б.А., Романенко М.І., Ладгубець О.В., Назаренко М.В.** *Залежність гострої токсичності та діуретично-іактивності від хімічної структури похідних 7-бензоілметил-8-заміщених теофіліну.*

Проведено дослідження діуретичної активності 10-ти вперше синтезованих сполук серед 7-бензоілметил-8-заміщених теофіліну. Всі спо-

луки відносяться до малотоксичних органічних речовин, які збільшували діурез за 4 години спостереження на 30,6%-153,9%. Найбільшу сечогінну активність проявила сполука № 3 - 7-бензоілметил-8-(фурил-2)-метиламінотеофіліну, яка перевершувала діуретичний ефект препарату порівняння гіпотіазиду в 2,1 рази. Механізм діуретичного ефекту сполуки № 3 обумовлений зменшенням реабсорбції і збільшенням екскреції іонів натрію в нефронових канальцях нирок.

**Ключові слова:** 7-бензоілметил-8-заміщених теофіліну, гостра токсичність, діуретична активність, екскреція натрію і калію.

#### Резюме

**Корниенко В.И., Самура Б.А., Романенко Н.И., Ладогубец Е.В., Назаренко М.В.** *Зависимость острой токсичности и диуретической активности от химической структуры производных 7-бензоилметил-8-замещенных теофиллина.*

Проведено исследование диуретической активности 10-ти впервые синтезированных соединений среди 7-бензоілметил-8-заміщених теофіліна. Все соединения относятся к малотоксичным органическим веществам, которые увеличивали диурез за 4 часа наблюдения на 30,6% - 153,9%. Наибольшую мочегонную активность проявило соединение № 3 - 7-бензоілметил-8-(фурил-2)-метиламінотеофілін, которое превосходило диуретический эффект препарата сравнения гипотиазида в 2,1 раза. Механизм диуретического эффекта соединения № 3 обусловлен уменьшением реабсорбции и увеличением экскреции ионов натрия в нефронових канальцях почек.

**Ключевые слова:** 7-бензоілметил-8-замещенные теофиллина, острая токсичность, диуретическая активность, экскреция натрия и калия.

#### Summary

**Kornienko V.I., Samura B.A., Romanenko N.I., Ladogubets E.V. Nazarenko M.V.** *Dependence of acute toxicity and diuretic activity on the chemical structure of derivatives of 7-benzoilmethyl-8- substituted of Theophylline.*

Research of diuretic activity of the 10 first synthesized compounds is conducted among 7-benzoilmethyl-8- substituted of theophylline. All of compounds behave to the low-toxic organic matters which increased a diuresis for a 4 o'clock of supervision on 30,6% - 153,9%. Most diuretic activity was shown by compound № 3 - 7-benzoilmethyl-8-(furyl-2)-methylaminotheophyllin, which excelled the diuretic effect of hypothyazide at 2,1 times. Diuretic effect mechanism of compound № 3 is conditioned diminishing of reabsorption and increasing of sodium ions excretion in the kidney tubulis.

**Key words:** 7-benzoilmethyl-8- substituted of theophylline, acute toxicity, diuretic activity, excretion of sodium and potassium.

**Рецензент: д.фарм.н., проф. О.П.Гудзенко**