

Міністерство охорони здоров'я України
Національний фармацевтичний університет

Міністерство охорони здоров'я України
Одеський національний медичний університет

Кваліфікаційна наукова
праця на правах рукопису

Матвійчук Олена Петрівна

УДК: 615.272.2:615.225.2:616.63:547.551.4

ДИСЕРТАЦІЯ

**Експериментальне обґрунтування доцільності використання 7,8-
дизаміщених теофіліну як діуретичних та нефропротекторних засобів**

14.03.05 – фармакологія

09 – Біологія

Подається на здобуття наукового ступеня кандидата біологічних наук

Дисертація містить результати власних досліджень. Використання ідей,
результатів і текстів інших авторів мають посилання на відповідне джерело

О.П. Матвійчук

Науковий керівник: Таран Андрій Вікторович, кандидат фармацевтичних наук,
доцент

Харків – 2018

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). Національний фармацевтичний університет МОЗ України, Харків, 2018; Одеський національний медичний університет МОЗ України, Одеса, 2018.

Дисертаційна робота присвячена комплексному фармакологічному вивченню вперше синтезованих 7,8-дизаміщених похідних теофіліну. Перед початком досліджень було проведено аналітичний огляд вітчизняної та зарубіжної літератури за останні 10 років стосовно попередніх досліджень науковців з вивчення даного класу сполук. Проаналізовано номенклатуру лікарських препаратів з групи похідних ксантину, які вже існують на сучасному світовому фармацевтичному ринку, їх фармакологічні ефекти, механізми дії, завдяки яким ці ефекти реалізуються та сучасні підходи щодо фармакологічної регуляції екскреторної функції нирок, а також характеристика лікарських препаратів, які використовуються для корекції їх функціонального стану. На підставі літературних даних зроблено висновок щодо перспективності та актуальності подальших досліджень похідних теофіліну з метою використання їх для корекції ниркової патології.

На першому етапі проведено дослідження гострої токсичності речовин у дослідах на мишах. За результатами дослідження встановлено, що сполуки, які вивчаються при одноразовому внутрішньоочеревинному введенні мишам належать до V класу практично не токсичних речовин ($1001 > LD_{50} > 3000$ мг/кг).

В результаті проведеного комп'ютерного PASS прогнозу імовірних видів фармакологічної активності 7,8-дизаміщених похідних теофіліну встановлено, що більшість сполук здатні виявляти діуретичну, салуретичну, спазмолітичну, анальгетичну, протизапальну, антигіпоксичну та інші види активностей.

Враховуючи отримані результати, проведено скринінгові дослідження з вивчення зазначених видів активностей.

Скринінгові дослідження фармакологічної активності сполук проведено згідно з методиками, описаними у працях Є. Б. Берхіна, методичними рекомендаціями з доклінічного дослідження лікарських засобів за ред. О. В. Стефанова та посібника з експериментального (доклінічного) вивчення нових фармакологічних речовин під ред. чл.-кор. РАМН, професора Р. У. Хабрієва.

В результаті вивчення діуретичної активності в умовах 3% водного навантаження встановлено, що об'єм сечовиділення тварин за 2 год. експерименту під впливом більшості субстанцій достовірно збільшувався. Найактивніша за діуретичною активністю субстанція № 14 (7-п-метилбензил-8-п-бромобензиліденгідразинотеофілін) перевищувала ефект гіпотіазиду в дозі 25 мг/кг у 1,7 рази ($p < 0,05$).

Дослідження анальгетичної дії речовин на моделі оцтовокислих корчів демонструє, що більшість сполук виявляють знеболювальну активність в інтервалі від 10,4% до 43,1%. Найактивнішою виявилась сполука №4 (7-п-метилбензил-8-о-гідроксибензиліденгідразинотеофілін), яка у дозі 20 мг/кг зменшувала кількість оцтовокислих корчів у щурів в 1,8 рази у порівнянні з контролем та була майже на рівні препарату порівняння диклофенаку натрію.

При вивченні протизапальної активності речовин на моделі модифікації карагенінового набряку у мишей встановлено, що похідні 7,8-дизаміщених теофіліну виявляють антиексудативну активність в інтервалі 1,5% – 50,4%. Найвиразнішу дію виявила сполука №15 (7-п-метилбензил-8-(α -метил)-п-нітробензиліденгідразинотеофілін), яка у дозі 13 мг/кг пригнічувала розвиток ексудативного набряку на 50,4% ($p < 0,05$) у порівнянні з нелікованою патологією і майже не поступалася за ефективністю диклофенаку натрію.

В результаті дослідження антигіпоксичної дії 7,8-дизаміщених теофіліну у щурів на моделі нормобаричної гіпоксії з гіперкапнією (в замкнутому просторі) встановлено, що застосування 7,8-дизаміщених похідних теофіліну збільшує тривалість життя щурів в закритій камері. Найбільшу антигіпоксичну активність

виявила сполука № 8 (7-*n*-метилбензил-8-(*a*-метил)-*n*-метоксибензиліденгідразинотеофілін), яка збільшила виживаність тварин на 109%, та на 38% перевищила дію препарату порівняння мексидолу ($p < 0,05$).

Дослідження спазмолітичної дії проведене для 8 сполук-лідерів, виявлених за результатами попереднього скринінгу. Вивчення впливу речовин на рухову активність шлунково-кишкового тракту проводили за методикою Stickney J. S. на фоні спазму, викликаного введенням розчину барію сульфату. В результаті дослідження встановлено, що сполуки чинять виразний спазмолітичний ефект. Найактивнішою за спазмолітичним ефектом виявилась речовина № 14 (7-*n*-метилбензил-8-*n*-бромобензиліденгідразинотеофілін). Шлях контрастної маси кишечником за 20 хв. під впливом вказаної субстанції збільшився у 2,6 рази у порівнянні з контрольною патологією та на 48,9% у порівнянні з інтактним контролем, у той час, як під впливом спазмалгону – лише у 2,4 рази та на 35,9% відповідно ($p < 0,05$). Отже, у даному досліді вона виявилася майже на 6% активнішою за спазмалгон.

Враховуючи результати скринінгових досліджень для подальшого дослідження було обрано речовину-лідера № 14 – 7-*n*-метилбензил-8-*n*-бромобензиліденгідразинотеофілін (умовна назва бенофілін). В ході дослідження діуретичної активності бенофіліну в широкому діапазоні доз було розраховано його середню ефективну дозу, яка становить 35 мг/кг. Для оцінки впливу бенофіліну на функціональний стан нирок було досліджено дію субстанції при спонтанному діурезі, за умов водного та сольового навантаження у щурів. Дослідження проводили за одноразового введення сполуки та за умов курсового застосування протягом 14 діб. Результати проведених досліджень свідчать, що бенофілін достовірно збільшує клубочкову фільтрацію в нирках, об'єм сечовиділення та виявляє салуретичний ефект як при одноразовому уведенні, так і в умовах курсового застосування. У той же час доведено, що під впливом бенофіліну не відбувається дегідратації (зневоднення) організму, про що свідчить збереження об'єму внутрішньосудинної рідини практично на рівні контролю. В результаті досліджень встановлено, що зміни функціонального стану нирок під

впливом бенофіліну залежать від його дози, тривалості застосування та ступеня гідратації організму.

Вивчення захисного впливу бенофіліну на функціональний стан нирок досліджували на 2 експериментальних моделях гострого пошкодження нирок етиленгліколем та гліцеролом (міоглобінова нефропатія) у щурів, описаних у методичних рекомендаціях С. Ю. Штриголя, В. М. Лісового, І. А. Зупанця та ін. «Методи експериментального моделювання ураження нирок для фармакологічних досліджень». Вплив бенофіліну на морфологічний стан паренхіми нирок оцінювали на моделі міоглобінової гострої ниркової недостатності.

На моделі етиленгліколевого пошкодження нирок за профілактично-лікувального застосування бенофіліну встановлено достовірне зниження показника летальності на 1 добу експерименту. На момент закінчення експерименту вижило 50% тварин, тоді як у групі хофітолу – 33%. Значне відновлення діурезу при застосуванні бенофіліну характеризується підвищенням у 2,3 рази порівняно з контрольною патологією та на 10,7% щодо рівня інтактного контролю. Проте за цим показником бенофілін дещо поступається референс-препарату хофітолу. Така динаміка діурезу на фоні бенофіліну пов'язана із збільшенням швидкості клубочкової фільтрації у 5,4 рази та достовірною нормалізацією каналцевої реабсорбції, яка лише на 0,14 % не досягає інтактного контролю. Гіпоазотемічна активність бенофіліну характеризується достовірним зниженням концентрації креатиніну та сечовини в сироватці крові у 1,2 та 6,5 відповідно та підвищенням екскреції креатиніну та кліренсу сечовини у 3,2 та 18 разів відповідно порівняно з контрольною патологією. Інформативним показником за умов експерименту було достовірне зниження протеїнурії у порівнянні з контрольною патологією. Загальна гіпоазотемічна активність бенофіліну за всіма вивченими показниками перевищує аналогічний ефект хофітолу: за вмістом креатиніну в середньому на 4–12 %, за динамікою змін рівня сечовини – у 1,5–2,6 рази, а за кліренсом сечовини – у 4 рази. Бенофілін повністю нормалізує вміст загального білка в сечі та сироватці крові, усуваючи прояви

протеїнурії. За цими показниками бенофілін також впливає краще, ніж препарат порівняння хофітол – на 19 та 13 % відповідно.

На моделі гострого пошкодження нирок гліцеролом встановлені виразні нефропротекторні властивості бенофіліну. За застосування бенофіліну спостерігали відновлення швидкості клубочкової фільтрації, каналцевої реабсорбції, збільшення фільтраційного заряду, абсолютної та відносної реабсорбції, зниження вмісту натрію в сечі до рівня інтактних тварин. Вміст креатиніну в крові значно знизився в порівнянні з показником у тварин з групи контрольної патології. Під впливом бенофіліну нормалізувалися процеси перекисного окислення ліпідів та антиоксидантної системи, знижувалась виразність деструкції нефроцитів, покращувалась мікроскопічна картина нирок у всіх щурів. При цьому у 62,5% щурів морфологічно стан нирок був наближений до стану інтактного контролю, а у 37,5% тварин відмічали помітне зниження дистрофічних та дисциркуляторних порушень, проявів запалення, виявлені ознаки регенерації нефроцитів. За ефективністю досліджувана речовина не поступалася препарату порівняння канефрону, а за окремими показниками дещо переважала його.

В ході дослідження встановлено, що бенофілін нормалізує порушення водно-електролітного обміну, чинить відновлювальний вплив на морфологію тканин нирок та за діуретичною та гіпоазотемічною активністю не поступається відомим препаратам нефропротекторної дії – канефрону і хофітолу, а за деякими показниками навіть випереджає їх. З'ясовані механізми порушень водно-електролітного обміну у щурів.

На наступному етапі проведено вивчення нешкідливості бенофіліну за курсового застосування протягом 30 діб за експрес-методом, рекомендованим І. В. Саноцьким у дослідках на мишах та щурах. В результаті проведених досліджень не встановлено проявів токсичного впливу бенофіліну на трофічні процеси в організмі тварин.

Дослідження можливої пошкоджувальної дії бенофіліну на слизову оболонку шлунка та дванадцятипалої кишки проведено білих нелінійних щурах

лінії Вістар обох статей за методом J. Marazzi-Uberti. В результаті дослідження встановлено, що бенофілін в дозах 35 і 70 мг/кг не викликає пошкодження слизової оболонки шлунку. У дозі 105 мг/кг виявив незначну ульцерогенну дію: викликав незначний ступінь пошкодження слизової оболонки шлунку у 10 % тварин, що в 10,6 разів менше, ніж при застосуванні ацетилсаліцилової кислоти. В результаті дослідження впливу бенофіліну встановлено, що бенофілін, на відміну від ацетилсаліцилової кислоти, не підсилює ульцерогенну дію етилового спирту.

В дисертаційній роботі обґрунтовано доцільність створення нових нефропротекторних засобів на основі 7,8-дизаміщених похідних теофіліну. Продемонстровано їх вищу фармакологічну активність за таку у деяких відомих діуретичних та нефропротекторних засобів (зокрема гіпотіазиду, канефрону, хофітолу).

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». За матеріалами досліджень 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.

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

Список публікацій дисертанта:

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. Євсєєва. *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 дії: пат. 116958. (51) України: МПК (2006) C07D 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. Х., 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., Євсєва 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 і 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).

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). - National University of Pharmacy Ministry of Public Health of Ukraine, Kharkiv, 2018; Odessa National Medical University Ministry of Public Health of Ukraine, Odessa, 2018.

The thesis is devoted to the complex of pharmacological study of the first synthesized 7,8-disubstituted derivatives of theophylline. Before the beginning of the research, an analytical review of domestic and foreign literature over the past 10 years has been carried out on previous studies of scientists in the study of this class of compounds. The nomenclature of medicinal products from the group of derivatives of xanthine has been analyzed which are already existing in the modern world of pharmaceutical market, their pharmacological effects and mechanisms of action through which these effects are substantiated. The modern approaches as for the pharmacological regulation of the excretory function of the kidneys has been analyzed, as well as the characterization of medicinal preparations which are used for correction of their functional state. Based on the literature data, a conclusion regarding the perspectivity and relevance of the further studies of derivatives of theophylline has been made in order to use them for correction of renal pathology.

At the first stage, the study of acute toxicity of substances in experiments on mice was carried out in accordance with the method described in the methodical recommendations for the clinical study of medicinal means under the editorship of O. V. Stefanov. According to the results of the study, it was found that the specified group of substances at one off of intraperitoneal injection for mice belonged to the V class of practically non-toxic substances (1001 to 3000 mg/kg).

As a result of the conducted PASS analysis of probable types of pharmacological activity of 7,8-disubstituted derivatives of theophylline, it has been established that larger cells can detect diuretic, analgesic, anti-inflammatory, antihypoxic and other types of activity. Taking into account the results which were obtained, screening studies were conducted for the study of these types of activities.

Screening studies of the pharmacological activity of the compounds were carried out in accordance with the methods described in the works of E. B. Berchin, the methodical recommendations for the preclinical dyeing of licorice drugs, under the editorship of O. V. Stefanov and the manual at experimental (pre-clinical studies) study of new pharmacological substances under the editorship of the member of staff, Prof. R. U. Habriyev.

The studies of the effect of the 7,8-disulfaned theophylline on the function of renal in terms of contractive diuresis demonstrated that the highest activity of substances was detected in a dose of 1/100 specified LD₅₀. Significant diuretic effect was revealed by the compound № 14 – 7-*n*-methylbenzyl-8-*n*-bromobenzylidenehydrazinotheophyllin, which stimulates the rats excretory function of the kidneys and increases the volume of allocation of the drug for 2 days of cure in 3.2 times and exceeds activate the drug comparisons of hydrochlorothiazide in 1.7 times ($p < 0.05$). The remaining compounds also showed a sufficiently pronounced diuretic effect, increasing the diuresis of animals in 1,3 - 3,1 times. The introduction of a 8-fold increase in the molecule of 7-*n*-methylbenzyl-8-substituted theophylline (2',3'-dihydroindolon-2'-yliden-3') hydrazine (№ 11) and (5'-bromo-2',3' dihydroindoleone-2'-iodine-3') - hydrazine (№ 12) radicals leads to the disappearance of diuretic activity.

The study of the analgesic action of substances on the model of medical preparations showed that most compounds found analgesic activity, which significantly exceeds the interval from 10.4% to 43.1%. The compound № 4 has revealed he largest analgesic effect.

Modification of carrageenan edema in mice were applied for the screening of anti-inflammatory activity of the. An analysis of the results of the aforementioned studies suggested that the addition of the 7-*p*-methylbenzyl-8-substituted theophylline contribute to the reduction of inflammation in the experiment. Their activity in the interval ranged from 1.5% to 50.4%. The most anti-inflammatory effect was revealed by a compound № 15, which showed an anti-inflammatory effect at 50.4% and almost no effect on the efficacy of diclofenac sodium.

The study of antihypoxic action of 7,8-disubstituted theophylline at rats has been tested on the hypoglycemic site. As a result of the performed researches, it is found that the application of 7-*n*-methylbenzyl-8-substituted polyphosphonates increases the life of rats in the conditions of a non-morphic hypoxia with gipercapnea. The most anti-hyperactive activity was revealed the compound № 8, which increased animal survival by 109.2%, and by 38% exceeded the effect of the mexidol ($p < 0.05$).

The study of the influence of 7,8-disintegrating derivatives of theophylline on the motor activity of the gastrointestinal tract was carried out by the method of Stickney J. S. As an integral point that characterizes the intensity of intestinal peristalsis, we used the percentage of the intestines of mice, which is suppressed by the onset of the pharynx, induced by the introduction of the barium sulfate, as compared to the abducting intestine.

As a result of research, it was found that the substances that are studied have a pronounced cerebrospinal effect on the foci of the muscles of the intestine caused by intraperitoneal administration to mice by the fermentation of barium sulfate.

The most active substance of the antibiotic effect was a substance called benofillin, which showed a weakening effect on the muscles of the intestine. The way passed by the contrasting mass on the intestine for 20 min. under the influence of benofillin increased by 48.9% compared with the intact control, while under the influence of the drug comparison of spasmalgon – 35.9%. Thus, in this experiment, benofillin was almost 6% more active than spasmalgon. Other research of the substances from the group of 7,8-disubstituted derivatives of theophylline also showed an expressive cumulative effect and proliferated the peristalsis of the intestines of animals in the research.

Screening studies of pharmacological activity of substances have made it possible to conclude that most of the compounds are sufficiently active and some of them even exhibited activity at the level of known comparator drugs that have been successfully applied in clinical practice. It has been experimentally established that the expressiveness of the action depends on the nature of the substituent at the 8 position of the molecule: substituting one radical for another leads to an increase or decrease in the pharmacological effect until it is completely extinct.

Taking into account the results of screening studies for further study, the leading substance was chosen - 7-n-methylbenzyl-8-p-bromobenzylidenehydrazine-ethophyllene (conventionally called benofillin). During the study of diuretic activity of the benofillin over a wide range of doses, its mean effective dose of 35 mg / kg was determined. To evaluate its effect on the functional state of the kidneys, a study was carried out on its effect in spontaneous diuresis and in conditions of rats water and salt loading in. The

results of the performed studies indicate that benofillin significantly increases glomerular filtration in the kidneys and the volume of urination, reduces the volume of intravascular fluid and the concentration of electrolytes in plasma and reveals a saluretic effect. It has been proved that changes in the functional state of the kidneys under the influence of the benofillin depend on its dose, duration of application and degree of hydration of the organism.

The study of the protective effect of benofillin on the functional state of the kidneys was investigated on two experimental models of acute kidney damage by ethylenglycol and glycerol (myoglobin nephropathy) in rats described in the methodological recommendations of C. Yu. Shtrygol, V. M. Lykovi, I. A. Zupanetz and others. «Methods of experimental modeling of kidney damage for pharmacological research». The influence of the benofillin on the morphological state of the renal parenchyma was assessed on the model of myoglobin nephropathy.

With the application of benofillin in rats from ethylenglycolic intoxication, from the first 12 hours of acute pathology, the mortality rate has declined significantly. At the end of the experiment, 50% of the animals survived, while in the hophitol group – 33%. Significant recovery of diuresis with the use of benofillin is characterized by an increase of 2.3 times compared with control group and by 10.7% relative to the level of inflammation. However, this index is slightly lower than that of the reference medicine hofitol. This dynamics of diuresis against the background of the benofillin is associated with a 5.4-fold increase in glomerular filtration rate and a significant normalization of tubal reabsorption, which only 0.14% does not reach the IR. Hypoazothemic activity of benofillin is characterized by a significant decrease in the concentration of creatinine and urea (in 1,2 and 6,5 times – in serum, in 1,4 and 1,9 times – in urine, respectively) compared with control group. The informative parameter in the experimental conditions was the clearance of urea, which against the background of benofillin significantly increased 18 times compared with the control pathology. The total hypoazothemic activity of the benofillin in all studied parameters also exceeds the similar effect of chophtol: content - wise of creatinine by 4-12%, in the dynamics of changes in the level of urea – in 1,5-2,6 times, and in urea clearance – 4 times. An

important criterion for the nephroprotective effect of benfillin can also be considered its ability to reliably prevent the loss of protein with urine as one of the principal signs of renal insufficiency. Benfillin completely normalizes the content of total protein in urine and blood serum, eliminating the manifestations of proteinuria. According to these indices, the benophillin also has a better effect than the drug of the comparison of hophytol – 19 and 13%, respectively.

Thus, according to the results of an experimental analysis of the influence of benofillin on indicators of the functional state of kidneys in rats in the experiment, it has been proved that the test substance on the background of acute toxic damage to the kidneys with ethylene glycol verifocatively normalizes all investigated kidney parameters and exhibits a higher nephroprotective effect than the reference medicine chophytol.

The effect of the benofillin on the renal function in the rats with myoglobin acute kidney damage caused was determined according to the loading with water, which was measured by the intravenous injection method of drinking water at a room temperature of 5% of the mass of the body, so that the amount of urine was collected within 2 hours. The given model characterizes by violations of the functional level of renal function, by reducing the ability of the kidneys to eliminate the normal loading, the incidence of glomerular filtration rate, increasing the amount of creatinine in the plasma, the proteinuria, the acidification of the cells, the increased sodium nitrogen and hypercalemia. In the mocelaginous case, nicer glycerylomas exhibited distinct nephroprotective intravenous antibiotics. For the treatment of benofillin, glomerular filtration rate has observed, tubular reabsorption, increased filtration charge, abduction and internal reabsorbtion, and decreased sodium intake to the level of contact animals. The content of creatinine in the blood has significantly decreased compared to the indicator in animals from the control group. Under the influence of benofillin, the processes of peroxide oxidation of lipids and antioxidant system normalized, the expressiveness of degradation of the nephrocytes decreased, the microscopic picture of renal excretion in all rats was normalized. At the same time, 62.5% of the morphological condition of the rats were found close to the intact control, and 37.5% of the animals have been noticed a

significant decrease in the circulatory abnormalities, inflammation appeared, and signs of regurgitation of nephrocytes were detected. As for effect, the dictated substances does not hold the preparation of its own but compare with canephron medicine, but its particular predominance is dominated over it.

During the study, it was found that the benofillin normalizes the disturbance of the acid-base balance and the water-electrolyte exchange, has a restorative effect on the morphology of the renal tissues and, by activity, it is not inferior to the known drugs of nephroprotective action - canephron and chophytol, and even some of them even outstrips them. Mechanisms of violations of water-electrolyte exchange in rats are found out. At the next stage, a study was conducted on the harmlessness of the benofillin in mice and rats by the rapid method recommended by I. V. Sanotsky in 5 animals in a series with each dose. During the experiment, the death of animals was not observed. Positive dynamics of changes in body weight of rats in the groups of application of the benofillin indicates absence of its toxic influence on the trophic processes of the animal's organism.

The research of eventual of the damage activity of benifilin, on the lobe of the stomach and duodenum gut is carried out by the large nonlinear rats of the line of the citations by the method of J. Marazzi-Uberti. Consequently, benofilline, in difference from the acetyl-calcium carbonate, did not eliminate the ultrasonic action of ethyl alcohol.

In the dissertation, the feasibility of the creation of new nephroprotective agents based on 7,8-disubstituted derivatives of theophylline has been substantiated. Their higher pharmacological activity is demonstrated for some of these known diuretic and nephroprotective agents (in particular, hypothiazide, canephron, and chophytol).

The novelty of the results of the study is protected by the Ukrainian patent №116958 dated 12/06/2017 "8-(4-bromobenzyliden) hydrazino-7- (4-methylbenzyl) - 1,3-dimethylxanthine, which exhibits antispasmodic and anti-inflammatory effects". According to the research materials, the information letter of the Ministry of Health of Ukraine "Research of nephroprotective action of a new substance among the derivatives

of 7,8-disubstituted theophylline" was issued, which was approved by Ukrmedpatentinform (No. 183-2017 of April 19, 2017).

The results are implemented in the scientific and pedagogical process of pharmacology National University of Pharmacy; experimental and clinical pharmacology with clinical immunology and allergology HSEE of Ukraine «Ukrainian Medical Dentistry Academy»; biochemistry of Zaporizhzhya State Medical University.

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

ЗМІСТ

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ	22
ВСТУП	24
РОЗДІЛ 1 ФАРМАКОЛОГІЧНА АКТИВНІСТЬ ПОХІДНИХ МЕТИЛКСАНТИНУ ТА ПРОДУКТІВ ЇХ ЦИКЛІЗАЦІЇ (огляд літератури)	30
1.1 Сучасні уявлення про фармакодинаміку лікарських препаратів ксантинового ряду	30
1.2 Індуковане екстраренальне пошкодження нирок і його модуляція аденозиновими рецепторами	38
1.3 Фармакологічна корекція аденозинергічної сигнальної системи в нирках	43
1.4 Перспективи пошуку біологічно активних речовин середпохідних ксантину для використання при захворюваннях нирок	46
Висновки до розділу 1	51
РОЗДІЛ 2 МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕНЬ	52
2.1 Характеристика використаних матеріалів	52
2.2 Методи фармакологічних досліджень	54
РОЗДІЛ 3 КОМП'ЮТЕРНИЙ ПРОГНОЗ ЗА ПРОГРАМОЮ PASS ЙМОВІРНИХ ВИДІВ БІОЛОГІЧНОЇ АКТИВНОСТІ 7,8- ДИЗАМІЩЕНИХ ПОХІДНИХ ТЕОФІЛІНУ	69
Висновки до розділу 3	74
РОЗДІЛ 4 СКРИНІНГОВЕ ДОСЛІДЖЕННЯ ПОХІДНИХ 7,8- ДИЗАМІЩЕНИХ ПОХІДНИХ ТЕОФІЛІНУ НА ДІУРЕТИЧНУ, СПАЗМОЛІТИЧНУ І СУПУТНІ ВИДИ АКТИВНОСТЕЙ	76
4.1 Дослідження гострої токсичності 7,8-дизаміщених похідних теофіліну	76

4.2	Діуретична активність 7,8-дизаміщених похідних теофіліну	79
4.3	Анальгетична активність 7,8-дизаміщених похідних теофіліну	80
4.4	Протизапальна активність 7,8-дизаміщених похідних теофіліну	82
4.5	Антигіпоксична активність 7,8-дизаміщених похідних теофіліну	84
4.6	Спазмолітична активність 7,8-дизаміщених похідних теофіліну	86
	Висновки до розділу 4	88
	РОЗДІЛ 5 ДОСЛІДЖЕННЯ ДІУРЕТИЧНОЇ АКТИВНОСТІ БЕНОФІЛІНУ ТА ВИЗНАЧЕННЯ МЕХАНІЗМІВ ДІУРЕТИЧНОЇ ДІЇ	92
5.1	Вплив бенофіліну на спонтанний діурез	93
5.2	Вплив бенофіліну на діурез у щурів за умов водного та сольового навантаження	95
5.3	Вплив бенофіліну на діяльність нирок при тривалому введенні	95
5.4	Вплив бенофіліну на об'єм внутрішньосудинної рідини і вміст електролітів у плазмі	98
	Висновки до розділу 5	99
	РОЗДІЛ 6 ДОСЛІДЖЕННЯ НЕФРОПРОТЕКТОРНОЇ ДІЇ БЕНОФІЛІНУ	101
6.1	Визначення нефропротекторної дії бенофіліну на моделі гострого токсичного ураження нирок етиленгліколом	101
6.2	Вплив бенофіліну на перебіг модельного міоглобінового пошкодження нирок у щурів	104
6.3	Дослідження впливу бенофіліну на гістоструктуру нирок при їх токсичному ураженні	109
6.4	Визначення нешкідливості бенофіліну при	113

внутрішньошлунковому введенні за умов тривалого експерименту

6.5 Вплив бенофіліну на стан слизової оболонки шлунка	115
Висновки до розділу 6	116
АНАЛІЗ ТА УЗАГАЛЬНЕННЯ РЕЗУЛЬТАТІВ	119
ВИСНОВКИ	131
СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ	133
ДОДАТКИ	160

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ

- АГ – артеріальна гіпертензія;
АТ – артеріальний тиск;
АМФ – аденозину монофосфат;
АДФ – аденозину дифосфат;
цАМФ – циклічний аденозімонофосфат;
АР – аденозинові рецептори;
АТФ – аденозину трифосфат;
БАР – біологічно активні речовини;
в/м – внутрішньом'язевий;
в/ш – внутрішньошлунковий;
в/о – внутрішньоочеревинний;
ВГ – відновлений глутатіон;
ВІ – виразковий індекс;
ВРО – вільнорадикальне окислення;
ВФН – видільна функція нирок;
ВХШ – виразкова хвороба шлунка;
ГГТП – γ -глутамілтранспептидаза;
ГНН – гостра ниркова недостатність;
ГПН – гостре пошкодження нирок;
ДНК – дезоксирибонуклеїнова кислота;
ІХС – ішемічна хвороба серця;
ІМ – інфаркт міокарда;
ККЗЗ – каналцево-клубочковий зворотний зв'язок;
КТ – каталаза;
МК – метилксантини;
НПЗЗ – нестероїдні протизапальні засоби;
ПНУЧ – передсердний натрійуретичний чинник;
РААС – ренін-ангіотензин-альдостеронова система;

РНК – рибонуклеїнова кислота;
САС – симпатико-адреналова система;
ССС – серцево-судинна система;
ТБК – тіобарбітурова кислота;
ТБК-Р – ТБК-реакційні продукти;
ФДЕ – фосфодіестераза;
ХОЗЛ – хронічне захворювання легень;
ХСН – хронічна серцева недостатність;
ХХН – хронічна хвороба нирок;
ЦНС – центральна нервова система;
ШКТ – шлунково-кишковий тракт;
ШКФ — швидкість клубочкової фільтрації.

ВСТУП

Обґрунтування вибору теми дослідження. Поширеність і невпинне зростання частоти захворювань нирок є важливою медико-соціальною проблемою в Україні та в усьому світі. За статистичними даними МОЗ України 2015 року [179] 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 [156, 200] 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 [28, 33]. З огляду на вищезазначене, пошук нових ефективних та безпечних діуретичних засобів з нефропротекторною активністю залишається однією з актуальних проблем сучасної експериментальної фармакології [71, 73, 101, 110, 125].

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 [72, 73]. 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 [65, 71-73] 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 [82, 85, 86].

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-п-метилбензил-8-п-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 дослідях 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 обгрунтовано 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 [42, 71, 72].

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-сольовогообміну» (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 212 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.

РОЗДІЛ 1

ФАРМАКОЛОГІЧНА АКТИВНІСТЬ ПОХІДНИХ МЕТИЛКСАНТИНУ ТА ПРОДУКТІВ ЇХ ЦИКЛІЗАЦІЇ

(Огляд літератури)

1.1 Сучасні уявлення про фармакодинаміку лікарських препаратів ксантинового ряду

Вплив рослинних алкалоїдів кофеїну і теофіліну на функцію нирок відомий з 1864 р., коли було продемонстровано, що кофеїн здатний збільшувати утворення сечі у пацієнтів із застійною серцевою недостатністю й набряками. На сьогодні інтерес до вивчення ниркових ефектів метилксантинів (МК) не знижується [3, 35, 38, 40, 41, 42, 46].

Зацікавленість науковців та клініцистів до МК зумовлена значною численністю їх фармакодинамічних та фармакотерапевтичних ефектів: бронхорозширювальний [1, 10, 22, 249], кардіотонічний [112, 165, 191], сечогінний [143, 144, 154], антиагрегантний [21, 131, 132], антиоксидантний, протипухлинний [95, 99, 182, 195] та ін. ефекти [13, 29, 31, 39, 54, 61]. Різноманітність та інтенсивність зазначених фармакологічних впливів МК ЛЗ значною мірою залежать від індивідуальних особливостей організму людини, активності ферменту фосфодіестерази, кількості та чутливості підтипів аденозинових рецепторів, а також від хімічної будови та положення радикалів, введених до структури синтетичних МК [39, 40, 46, 50, 51, 54, 98, 132]. Диметилксантини, збільшуючи вміст цАМФ у тромбоцитах і гладеньких м'язах судин, пригнічують агрегацію тромбоцитів, розширюють вінцеві судини, покращують постачання клітин серця киснем і зменшують частоту нападів стенокардії. Синтетичні диметилксантини – пентоксифілін і ксантинолу нікотинат найбільш виразно серед лікарських препаратів (ЛП) МК крім судинорозширювальної дії зменшують агрегацію тромбоцитів [57, 61, 66]. Нікотинова кислота у складі ксантинолу нікотинату теж пригнічує агрегацію

тромбоцитів і посилює його антиагрегантну дію. Зменшення агрегації тромбоцитів під дією пентоксифіліну і ксантинолу нікотинату зумовлено також їх здатністю блокувати тромбосансинтазу, внаслідок чого пригнічується утворення тромбоксану А₂ і зменшується схильність тромбоцитів до агрегації та спроможність препаратів активувати простагландинсинтазу і збільшувати вивільнення із стінки судин простагландину. Завдяки антиагрегантній дії пентоксифілін і ксантинолу нікотинат є препаратами вибору для лікування порушень мозкового та периферичного кровообігу [69]. Хоча пентоксифілін і ксантинолу нікотинат використовують у клінічній практиці і при нирковій патології, однак, механізми їх ренальної дії недостатньо з'ясовані. Відомо, що сечогінна та салуретична дія диметилксантинів (трентал, ксантинолу нікотинат) зумовлена покращанням гемодинаміки нирок і збільшенням ШКФ [63-66]. У дослідженнях науковців доведено, що трентал і ксантинолу нікотинат за умов повторних введень (3 мг/кг) при збільшенні об'єму позаклітинної рідини в організмі проявляють більш виразну салуретичну й діуретичну дію [63, 66]. Досліджувані ЛП МК викликають перерозподіл води в секторах організму, збільшують об'єм внутрішньосудинного русла за рахунок зменшення позаклітинної рідини і гідрофільності тканин, збільшення об'єму позаклітинної рідини сприяє стимуляції волюморорецепторів і збільшенню продукції (активації) натрійуретичного фактору гормону і, як наслідок, зростанню натрійуретичної активності (НУА) плазми крові [45, 63]. Виразніший порівняно з тренталом салуретичний ефект ксантинолу нікотинату на тлі об'ємної стимуляції зумовлений підвищенням НУА плазми крові та наявністю в його будові кислоти нікотинової, яка також здатна збільшувати екскрецію іонів натрію [63, 66]. Поєднане застосування диметилксантинів з індометацином (інгібітор синтезу простагландинів) та спіронолактоном (конкурентний антагоніст альдостерону) значно підвищує реальний ефект тренталу і ксантинолу нікотинату, що свідчить про можливу роль ниркових простагландинів і значення рівня мінералокортикоїдів в організмі в реалізації впливу на нирки досліджуваних ЛЗ. Не виключено причетність оксиду азоту в механізмах діуретичної і

натрійуретичної дії МК [66]. Порушення гемодинаміки та периферичного кровообігу нерідко можуть сприяти розвитку захворювань, при яких страждають нирки. Периферичні судинорозширювальні ЛЗ пентоксифілін і ксантинолу нікотинат ефективні при хронічних патологічних процесах у нирках, що супроводжуються порушенням гемокоагуляції та тромбоутворенням [62, 67, 68]. Клінічними спостереженнями підтверджено, що саме в нирках найбільшою мірою проявляється антиагрегантний ефект пентоксифіліну. Встановлено здатність ксантинолу нікотинату активувати сумарну фібринолітичну активність плазми крові, сечі, тканин нирок і печінки переважно за рахунок ферментативного фібринолізу [61, 62, 66]. Зростання ферментативного лізису фібрину в кортикальній тканині нирок зумовлюється активацією спеціалізованих клітин юстагломерулярного апарату, які синтезують урокіназу. Підвищена урокіназна активність у просвіті нефрону може сприяти діуретичній та натрійуретичній дії препарату. Дослідження впливу ксантинолу нікотинату на протеолітичну активність засвідчили активацію процесів необмеженого протеолізу [66]. Отримані результати досліджень ренальної та екстраренальної дії тренталу і ксантинолу нікотинату є експериментальним обґрунтуванням більш раціонального їх використання при порушеннях водно-сольової рівноваги. Значна кількість робіт свідчить про антигіпоксичні, антиоксидантні та цитопротекторні властивості цих препаратів [61-64, 66, 69].

Виходячи з механізму дії ЛП з групи МК, їх групова належність у різних фармакотерапевтичних класифікаціях представлена як «Інгібітори фосфодієстерази». Крім того, МК є конкурентними антагоністами аденозину.

Аденозин – один із ендогенних регуляторів, який ретельно вивчається. Він утворюється у цитоплазмі всіх клітин організму [185-189, 193, 201, 212, 225]. Початковими субстратами для утворення аденозину є аденіннуклеотиди та 5-аденозинметіонін. Вказані реакції є оборотними. Крім того, аденозин перетворюється на інозин. Позаклітинний аденозин транспортується у клітини, цей процес інгібують дипіридамомол, папаверин і бензодіазепіни [76].

Зіставляючи основні ефекти аденозину і МК встановлено, що МК блокують практично всі ефекти аденозину, а при ізольованому введенні МК вони викликають ефекти, протилежні аденозину. Зняття впливу аденозину виявляється як власна дія МК. Виключенням є те, що і аденозин, і МК викликають дезагрегацію тромбоцитів. Встановлено, що теофілін знижує агрегацію еритроцитів. Аденозин збільшує коронарний кровообіг, а дані для МК неоднозначні. У цілому ці дані є підставою для гіпотези про провідне значення блокади АР у механізмі терапевтичної дії МК [123, 192].

Кожен з підтипів АР (а1, а2а, а2b або а3) виявляє різний вплив на нирки при активації. Модуляція АР при лікуванні ГНН повинна ґрунтуватися на патофізіології ниркового пошкодження.

В умовах гіпоксії або ішемії активація АР типів а1, а2а або а2b чинить сприятливі дії, що зменшує метаболічні потреби й запалення та збільшує ниркову перфузію. При нефротоксиніндукованій ГНН антагонізм а1 рецепторів виявляється терапевтично ефективним.

Рецептори а1 і а2b захищають від ГНН завдяки прямому впливу на клітини ниркової паренхіми. Активація а2а рецепторів чинить імуномодулювальну дію на циркулюючі та інфільтруючі лейкоцити. Активація а3 рецепторів може підсилити апоптоз і пошкодження тканин при ішемічній ГНН.

Дія МК є комплексною, що суміщує багато не пов'язаних між собою механізмів: блокаду АР, перерозподіл іонів Ca^{2+} , збільшення звільнення катехоламінів, зниження звільнення гістаміну, поліпшення мукоциліарного кліренсу, посилення скорочень діафрагми [71, 73, 99, 100, 112, 123, 131].

Теофілін стійко пригнічує викликане аденозином зниження ШКФ і ниркового кровообігу [194, 238, 248].

Теофілін і його похідні покращують видільну функцію нирок як в експерименті, так і в умовах клініки. Важливе значення у механізмі діуретичної дії теофіліну має відновлення зниженого об'єму фільтрації. Диметилксантини інгібують фосфодіестеразу, яка збільшує час існування у клітинах цАМФ, у

результаті чого змінюють силу і тривалість ефекту медіаторів і гормонів, які беруть участь у регуляції функції нирок [188, 190, 192].

Теофілін покращує ШКФ, блокує каналцеву реабсорбцію натрію з підвищенням його концентрації в сечі, збільшує виділення сечовини, вираженість цих процесів залежить від вихідного стану функції нирок [224, 227, 236].

Похідні ксантину пригнічують фермент 3,5-нуклеотидфосфодіестеразу, який інактивує 3',5'-АМФ, що призводить до накопичення цАМФ у гладеньких м'язах судин і зниження внутрішньоклітинної концентрації кальцію. З утворенням цАМФ пов'язана реалізація біохімічних і фізіологічних ефектів, що виникають при збудженні АР й активації мембранного ферменту аденілатциклази, пригнічують агрегацію тромбоцитів, активують колатеральний кровообіг [229, 239, 241].

На даний час проводяться дослідження антиексудативної та протизапальної активності похідних МК [20, 42, 51, 65]. Отже, традиційні МК препарати залишаються популярними й широкоживаними дотепер. Проведений аналіз даних літератури щодо фармакодинаміки препаратів МК розкриває сучасні можливості та перспективи їх застосування в медичній практиці, обумовлює необхідність проведення подальших досліджень фармакологічної дії як відомих препаратів МК, так і сполук нового синтезу.

За даними авторів [35, 38, 40, 42, 46, 50, 71, 73] водне навантаження до застосування метилксантинів збільшує діуретичний ефект останніх, в той час як негативний водний баланс призводить до зниження діурезу.

Збільшення діурезу, викликане МК, супроводжується підвищенням екскреції натрію, хлору, кальцію, фосфору, магнію та інших розчинених у сечі речовин. Діурез, викликаний МК, є переважно результатом пригнічення каналцевого сольового транспорту [89, 91, 96, 97]. Введення теофіліну індукує збільшення натрійурезу, діурезу, екскреції з сечею ПГЕ₂ і цАМФ [63, 168, 199]. Деякі ефекти МК на видільну функцію нирок можуть бути непрямими, що свідчить про підвищення активності передсердного натрійуретичного чинника

(ПНУЧ) у плазмі й нирках після тривалого застосування кофеїну [45, 56, 196, 197].

Авторами [35, 38, 42, 62, 64] показано, що МК не впливають на всмоктування солей в проксимальних прямих каналцях і товстій ділянці висхідної частини петлі Генле. За межами проксимальних каналців і петлі Генле передбачається пригнічувальний вплив на кінцеву частину дистальних каналців [64, 69, 71, 76].

Механізм, завдяки якому МК інгібують проксимальну реабсорбцію іонів Na^+ та Cl^- , пов'язують з їх властивостями як антагоністів АР.

Фармакологічна блокада α_1 рецепторів індукує діурез і натрійурез завдяки інгібіції проксимальної каналцевої реабсорбції натрію [212, 217, 243]. Кофеїн і теофілін збільшували діурез і натрійурез (в абсолютних показниках і в кореляції з екскрецією креатиніну) [196, 197].

Діуретичний і салуретичний ефекти ксантинів тісно пов'язані з підвищенням ниркового кровообігу та клубочкової фільтрації [192]. У досліджах на собаках теофілін посилює загальний нирковий кровообіг [200].

Одним із численних ефектів ксантинів є їх вплив на агрегацію тромбоцитів, які забезпечують покращання фізіологічних процесів мікроциркуляції [57, 71, 107, 123].

Існує низка гіпотез про механізми агрегації тромбоцитів. Якщо за першопричину порушення функції тромбоцитів прийняти зміну концентрації Ca^{2+} , то попереднім вузловим елементом механізму агрегації є концентрація цАМФ, від якої залежить інтенсивність процесу фосфорилування рецепторних білків, що зв'язують Ca^{2+} [123, 131, 132]. Вміст цАМФ регулюється аденілатциклазою, яка каталізує утворення цАМФ з АТФ фосфодіестеразою, що здійснює перетворення цАМФ в АМФ. Концентрацію цАМФ можна змінювати багатьма способами, активуючи або інгібуючи активність вказаних ензимів окремо або одночасно [148, 152].

Серед ендогенних регуляторів цих ферментів провідне місце посідають простагландини, які синтезуються як у тромбоцитах, так і в стінках судин. Через

30 років після їх відкриття була встановлена антиагрегаційна активність простагландинів груп E і D [147].

За існуючими уявленнями, індуктори агрегації активують фосфоліпазу A_2 , яка вивільнює з фосфоліпідів клітинних мембран арахідонову кислоту. Остання під дією циклооксигенази та інших простагландинсинтаз мембран перетворюється на лабільні простагландини різних груп, що здатні як активувати, так і інгібувати агрегацію тромбоцитів. Локальність дії простагландинів обмежується місцем їх синтезу і забезпечується часом напіврозпаду [147].

Найбільш активним індуктором агрегації є тромбоксан A_2 – головний продукт метаболізму простагландинів у тромбоцитах. Ймовірно, тромбоксан A_2 та інші речовини, що активують агрегацію простагландинів, інгібують аденілатциклазу, або сприяють транспорту іонів Ca^{2+} із щільних гранул в цитоплазму [63, 147]. Як найбільш активний інгібітор агрегації тромбоцитів виявив себе простациклін, що синтезується в стінках судин. Механізм дії простацикліну полягає в індукції аденілатциклази та відповідно у підвищенні концентрації внутрішньоклітинної цАМФ і зниженні рівня Ca^{2+} .

Серед інших відомих ендогенних регуляторів переважають перераховані вище індуктори агрегації – АДФ, катехоламіни, колаген, тромбін, арахідонова кислота, які активують тромбоцити. Найбільша група ендогенних інгібіторів – це антагоністи індукторів агрегації, зокрема антагоністи АДФ: аденозин, АТФ, АМФ, цАМФ та їх аналоги, що конкурують з індукторами за взаємодію з рецепторами [57, 59, 233].

Сьогодні на фармацевтичному ринку України представлено 5 МНН препаратів МК: доксофілін (аерофілін, пуроксан), кофеїн (кофеїн бензоат натрію), теофілін (еуфілін, неофілін), пентоксифілін (агапурин, вазоніт, латрен, пентилін, трентал) і ксантинолу нікотинат (компламін) під різними торговельними назвами. Останніми роками вітчизняна фармацевтична промисловість («ЮріяФарм», Київ) виробляє препарат пентоксифіліну під назвою «Латрен» для в/в краплинних вливань у вигляді рінгерлактатного розчину з лужними властивостями, який є більш безпечним. ФФ «Дарниця», «Фармак» розробили нову технологію

ін'екційного 2 % розчину еуфіліну без стабілізатора етилендіаміну, що зменшує побічну дію препарату. Усі ЛЗ МК внесено до Державного формуляра ЛЗ України, що підтверджує їх терапевтичну ефективність і доцільність включення у схеми лікування хворих [33]. Пентоксифілін внесено до Національного переліку життєво необхідних ЛЗ. Вітчизняна фармацевтична промисловість випускає також і комплексні препарати, до складу яких входять похідні ксантину («цитрамон С», що містить кофеїн, папаверину гідрохлорид, метамізол натрію та ін. Усі вони є вазодилатуючими і ангіопротекторними засобами. Пентоксифілін виявляє ще й антиагрегатну і антитромбічну дію. Його призначають при порушеннях периферичного кровообігу, цереброваскулярній патології, застосовують в офтальмології та отоларингології. Основні фармакологічні ефекти сучасних препаратів ксантинового ряду, наявних на фармацевтичному ринку України, представлені в таблиці 1 додатку А.

До Державного формуляра в розділі «12.3. Нефрологія. Лікарські засоби», окрім антигіпертензивних та гіполіпідемічних препаратів, внесено ЛП, що нормалізують реологічні властивості крові та метаболічні процеси у стінці судин. У тому числі і ЛП з групи ксантинів — пентоксифілін, який не лише підвищує нирковий кровообіг, але й, за експериментальними даними, протидіє розвитку тубулоінтерстиційного фіброзу (у т.ч. у разі діабетичної нефропатії), оскільки пригнічує експресію трансформуючого фактора росту та відновлює експресію фактора росту ендотелію судин. Опосередковану нефропротекторну дію можуть проявляти ЛЗ, що покращують нирковий кровообіг — вазодилататори (ксантинолу нікотинат, амінофілін). Раціональним є застосування антиоксидантів, оскільки антиоксидантний ефект є одним із механізмів захисної активності щодо нирки у мексидолу, тіотріазоліну, тіоцетаму, мельдонію. Ці ЛП політропної метаболічної дії протидіють фундаментальним механізмам ушкодження клітини — гіпоксії та її наслідкам, порушенням мембранного транспорту, апоптозу та пероксидному окисненню ліпідів. Нефропротекторна активність логічно доповнює фармакодинаміку інтегрального цитопротектора — гормонального регулятора циркадіанних ритмів мелатоніну. Важливим компонентом

нефропротекції у разі ГНН відносять застосування ЛП, що протидіють ішемічно-реперфузійному ушкодженню (адекватна інфузійна терапія, сечогінні препарати (петльові діуретики, манітол) та препарати, що відновлюють об'єм внутрішньосудинної рідини та нормалізують нирковий кровообіг, є, оскільки збереження руху рідини каналцями сприяє підтриманню їхніх функцій та протидіє колапсу — важливій складовій патогенезу ГНН.

1.2 Індуковане екстраренальне пошкодження нирок і його модуляція аденозиновими рецепторами

Чинники, які регулюють виділення натрію і води, умовно поділяють на дві фізіологічні групи: діуретичні (натрійуретичні пептиди, дофамін, опіоїдні пептиди, глюкокортикоїдні гормони тощо) та антидіуретичні (ренін-ангіотензін-альдостеронова система (РААС), симпато-адреналова система (САС) — вазопресин, естрогени тощо [52, 53, 56, 59]. Основні ефекти РААС пов'язані з дією ангіотензину II, який звужує артеріоли, затримує в нирках іони натрію, стимулює синтез альдостерону, який сприяє реабсорбції останніх [59].

Основним гормоном, який контролює інтенсивність реабсорбції води, є антидіуретичний гормон (вазопресин), він регулює водозатримувальну систему організму, що співпрацює з натрійзатримувальною системою, регульованою альдостероном [84, 59]. Цей гормон задньої частки гіпофізу посилює реабсорбцію води в нирках, викликає констрикцію артеріол, зниження частоти серцевих скорочень та зменшення серцевого викиду та зв'язується з V_1 -рецепторами судин. Вазопресин збуджує ниркові V_2 -рецептори, розташовані на базальній мембрані головних клітин збиральних трубок нирки, підвищує внутрішньоклітинний рівень цАМФ, який активує протеїнкіназу-А, і як наслідок, збільшується проникність для води в клітинах збиральних трубок.

Гостре пошкодження нирок (ГПН) є частою проблемою у шпиталізованих хворих і різко збільшує смертність [60, 74, 114]. ГПН визначається як швидка втрата ниркової функції внаслідок пошкодження нирок, що призводить до

затримки продуктів життєдіяльності й уремічних токсинів, які зазвичай виділяються нирками [115, 135]. Ішемія нирок внаслідок зменшення кровопостачання є однією з головних причин виникнення ГНН, що прогресує, до хронічної ниркової патології (ХНП) [141, 147, 150, 156]. Нажаль, на сьогодні існує дефіцит лікарських засобів для лікування або попередження ХНП (NOVOE).

У теперішній час інтенсивно розробляються нові підходи до профілактики і лікування ХНП [116, 125, 126, 127, 164, 166, 173]. Дослідження аденозинової сигнальної системи в нирках є однією з областей із значним клінічним терапевтичним потенціалом. Аденозин має широкий спектр біологічної активності: регулює вивільнення реніну, ШКФ і тонус судин нирок [185-187, 189, 249].

Аденозин не є класичним нейромедіатором. Більшість тканин в організмі вивільняють аденозин у позаклітинний простір, звідки він може викликати зворотний зв'язок і діяти локально на АР. Позаклітинний аденозин діє на поверхневі рецептори як цитопротективний модулятор у фізіологічних і патофізіологічних умовах, у відповідь на стрес [225, 232].

Аденозин вивільнюється у відповідь на підвищене навантаження на орган або пошкодження тканин і чинить цитопротективні ефекти як в головному мозку, так і на периферії. Коли в органі відбувається його надмірна активність, він діє як ендогенна заспокійлива речовина, що приводить до зменшення потреби в енергії, або збільшення енергопостачання у цьому органі [244, 250, 251].

Рівень аденозину підвищується у стані негативного енергетичного балансу, коли швидкість гідролізу АТФ збільшується по відношенню до швидкості її синтезу. Отже, збільшене споживання АТФ нирками, зниження ШКФ і розвиток гіпоксії призводять до збільшення утворення аденозину в нирках, який накопичується при патологічному процесі.

Позаклітинний аденозин є результатом ферментативного гідролізу АТФ у позаклітинному просторі. При накопиченні високого рівня внутрішньоклітинного АТФ (>5ммоль/л) він може вивільнятися у позаклітинний простір в умовах

гіпоксії, при запаленні або гострому пошкодженні клітинних мембран [203, 220, 223].

АТФ і АДФ піддаються ферментативному гідролізу за участю ектонуклеозид-трифосфат-дифосфогідролази-1 (відомий як ектопіраза, Cd39), що приводить до утворення АМФ [207]. Потім АМФ перетворюється на аденозин під впливом поверхневого ферменту екто-5'-нуклеотидази (Cd73) [213]. Перетворення АМФ на аденозин унаслідок активації Cd73 зменшує кількість позаклітинного АТФ, що сприяє тканинному пошкодженню і загибелі клітин [207, 213]. У позаклітинному просторі АТФ привертає лейкоцити до місця пошкодження тканин і є потужним прозапальним чинником [220].

Для захисту органів при стресі, здійснюється гіперекспресія Cd73 з утворенням цитопротективного аденозину [207, 213].

При нирковій гіпоксії [246] та ішемії [244] ферменти Cd39 і Cd73, як ендогенні медіатори захисту нирок від ішемії підвищують приблизно в п'ять разів рівень аденозину в позаклітинному просторі. Інгібіція цих ферментів призводить до зниження рівня позаклітинного аденозину [207, 213, 235]. При фармакологічній блокаді Cd73, скасовується захист нирок від ішемічного пошкодження. Стимуляція Cd73 може відігравати подвійну захисну роль у видаленні цитотоксичного позаклітинного АТФ з утворенням цитопротективного аденозину.

Позаклітинний аденозин долучається до регуляції ниркового кровообігу, особливо при канальцево-клубочковому зворотному зв'язку (ККЗЗ) [17, 18, 24, 26]. ККЗЗ включає здатність окремого нефрону модулювати його ШКФ, грунтуючись на кількості розчинених речовин, які доставляються у відділ товстої висхідної петлі Генле. ККЗЗ служить для внутрішньої перевірки ШКФ і контролю робочого діапазону нирок [23, 25].

Всередині клітини аденозин не дифундує вільно через клітинну мембрану, а в позаклітинний простір його переносить рівноважний нуклеозидний транспортер [14].

Майже всі агоністи АР є похідними аденозину. Зв'язок «структура-активність» похідних аденозину, як агоністів АР, був ретельно досліджений [188, 243, 244].

Специфічні агоністи АР проходять в даний час клінічні випробування, і буде цікаво побачити, чи демонструють такі дослідження захисний ефект на нирки у хворих з ГНН. Пряма активація АР селективними агоністами, або їх блокада селективними антагоністами, інгібіція метаболічних або транспортних шляхів, пов'язаних з аденозином, вивчаються для терапевтичної практики [225, 243].

Багато синтетичних агоністів АР знаходять клінічне застосування. Перший сильнодіючий синтетичний аденозиновий агоніст, регаденозон, агоніст а_{2а} рецепторів, використовується з діагностичною метою [188].

Синтетичні аденозинові агоністи знайшли терапевтичне застосування як протизапальні (а_{2а} і а₃) [216, 225], кардіопротекторні (активацією АР типів а₁ і а₃ і активацією а_{2b}) [193, 216, 243], церебропротективним (а₁ і а₃) [250] і антиноцицептивним ефектам (а₁) [233].

Метилксантини кофеїн і теофілін є прототипними антагоністами АР, та їх стимулювальні ефекти здійснюються шляхом блокування пригнічувальної дії аденозину на рецептори а₁ і а_{2а} [10, 214].

Відомо, що кофеїн інгібує фосфодіестеразу, стимулює вивільнення кальцію, але ці ефекти вимагають більших доз, ніж містяться в раціоні людини [199, 241].

Неселективний антагоніст АР теофілін застосовують як протиастматичний засіб [1, 245, 249], але його застосування в даний час обмежене через побічні ефекти на ЦНС і нирки [32, 70, 80, 81].

Заміщення в N₆ позиції аденозину деякими алкільними, циклоалкільними або арилалкільними групами збільшує вибірковість для впливу на АР типу а₁. Заміщення в N₆ бензильною групою підвищує вибірковість дії на АР типу а₃. Заміна в 2 позиції, особливо ефірами, вторинними амінами та алкінами, часто приводить до високої селективності для рецепторів а_{2а}. Нові антагоністи АР

хімічно різноманітніші, ніж класичні 1,3-діалкілксантини, які використовувалися як фармакологічні антагоністи рецепторів α_1 і α_2 [188, 189, 193, 212].

Високоселективні ксантинові антагоністи AP типу A1 (наприклад, епоксидне похідне Bg9719 (1,3-дипропіл-8-(2-(5,6-епокси)-норборніл ксантину) і більш водорозчинні Bg9928 (3-[4-(2,6-диоксо-1,3-дипропіл-2,3,6,7-тетрагідро-1H-пурин-8-іл)-біциклоокт-1-yl]-пропіонова кислота, а також Kw3902 (8-(норадамантан-3-іл)-1,3-дипропілксантин, які у даний час проходять клінічні випробування для лікування гострої декомпенсованої серцевої недостатності з ураженням нирок [193, 212].

Модифікація ксантинів у 8 позиції деякими арильними групами призвела до появи селективних сполук, для рецепторів α_2b (наприклад, Cvt-124, 3-етіл-1-пропіл-8-[1-(3-трифторметилбензил)-1H-піразол-4-yl]-3,7-дигідропурин-2,6-діон [193].

Модифікація ксантинів у 8 позиції з алкенами привела до створення антагоніста рецепторів α_2a Kw6002 (*іспрадефілін*), який проходить клінічні випробування. Деякі похідні 8-стирилксантину, такі як CSC (8-(3-хлоростирил) кофеїну), блокують моноаміноксидазу B, а також рецептори α_2a [214].

Циклізовані похідні ксантину, такі як PSB-11 (8-етил-4-метил-2-феніл-(8r)-4,5,7,8-тетрагідро-1H-імідазо[2.1-i]пурин-5-один), є α_3 -селективними. Аналогічні сполуки були вивчені [216].

Активація рецепторів α_1 може викликати надходження іонів Ca^{2+} і вихід іонів K^+ . Аденозин пригнічує цитотоксичні процеси, такі як цитокін-індукований апоптоз. У головному мозку функції як нейронів, так і гліальних клітин регулюються аденозином [194, 220].

У периферичних тканинах аденозин зменшує надмірне запалення, сприяє ранозагоєнню і захищає тканини від ішемічного пошкодження [194]. У серцево-судинній системі аденозин сприяє вазодилатації, а також протидіє фатальним ефектам тривалої ішемії на серцеві та скелетні м'язи [188, 189].

Агоністи α_3 АР запропоновані для лікування автоімунних запальних процесів: ревматоїдний артрит, запальні захворювання кишечника [47, 49, 67, 185], серця й мозку [185, 107].

Селективні агоністи і антагоністи АР застосовуються для розробки нових терапевтичних концепцій. Це привело до появи нових експериментальних препаратів, дія яких заснована на протизапальних ($\alpha_2\alpha$ і α_3) [186, 188, 189, 221], кардіопротекторних (прекондиціювання α_1 і α_3) [188], церебропротективних (α_1 і α_3) і антиноцицептивних ефектах (α_1) АР [185, 186, 188].

Сильнодіючі і селективні антагоністи АР демонструють терапевтичний потенціал для стимуляції функції нирок (α_1) [204, 207, 211], як антифіброзні ($\alpha_2\alpha$) [252], нейропротекторні ($\alpha_2\alpha$) [198], протиастматичні ($\alpha_2\beta$) лікарські засоби [200].

Достовірні експериментальні дані вказують, що саме інгібіція АР підтипу α_1 приводить до посилення натрійурезу. У мишей з прицільно зруйнованими аденозиновими рецепторами підтипу α_1 діуретичний і натрійуретичний ефекти кофеїну (45 мг/кг) абсолютно відсутні [198].

Натрійурез, викликаний системним введенням ксантинових похідних, призначених вибірково інгібувати α_1 АР, таких як CVT-124, DPCPX, або Kw3902, супроводжується пригніченням реабсорбції рідини в проксимальних канальцях, що було показано дослідженнями кліренсу літію і мікропункцією ниркових канальців [244].

МК пригнічують активність транспортера $\text{Na}^+/\text{HCO}_3^-$ за рахунок збільшення концентрації внутрішньоклітинного цАМФ [242, 243].

Застосування МК дозволяє вивчити вплив зменшення аденозинопосередкованих ефектів і постійний стимулювальний ефект аденозину, передбачуваний цим втручанням, не суперечить вірогідності того, що високі концентрації аденозину можуть викликати пригнічення транспорту в проксимальних канальцях [193, 228].

1.3 Фармакологічна корекція аденозинергічної сигнальної системи в нирках

Тонус судин нирок в базальних умовах представляє стан збалансованої активації α_1 і α_2 АР. Судинні ефекти теофіліну можуть бути також результатом пригнічувального впливу аденозину на вивільнення катехоламінів нирковими симпатичними нервовими закінченнями [237].

На противагу незначному впливу МК на загальний тонус ниркових судин, теофілін повністю блокує місцевий ККЗЗ на зміну концентрації NaCl в окремих нефронах [206].

Таким чином, ефекти ксантинів, пов'язані з блокадою ФДЕ, можуть сприяти пригніченню ККЗЗ шляхом зменшення інтерстиціального рівня аденозину.

Пентоксифілін чинить нефропротекторну дію при ендотоксин-індукованій нирковій недостатності у мишей і знижує рівні інтерлейкіну-1 і оксиду азоту плазми крові [230].

Пентоксифілін зменшує протеїнурію та уповільнює зниження ШКФ у хворих на ХНН. Поряд з цим він редукує протеїнурію у пацієнтів з первинними гломерулярними захворюваннями. Мета-аналіз 10 рандомізованих контрольованих досліджень у дорослих пацієнтів з діабетичною нефропатією свідчить про ефективність пентоксифіліну в зниженні протеїнурії [199].

Оскільки ниркова недостатність, що розвинулася унаслідок введення рентгеноконтрастних речовин, супроводжується зниженням ниркового кровообігу і ШКФ, МК були серед вазодилітаторних засобів, які оцінювалися щодо захисної дії.

Теофілін діє антагоністично на вазоконстрикцію, викликану активацією α_1 АР. Ця гіпотеза була підтверджена дослідженнями, в яких селективний α_1 антагоніст був ефективніший, ніж теофілін у покращанні ниркової функції у собак з нирковою недостатністю [233].

Два мета-аналізи, які включали 480 і 585 пацієнтів відповідно показали, що введення теофіліну, запобігає зниженню ниркової функції, що індукується введенням рентгеноконтрастних речовин [190].

Теофілін й інші МК покращували перебіг експериментальної ГНН, викликаной внутрішньом'язовою ін'єкцією гліцерину, якщо лікування починалося на момент травми [126, 129].

Захисний ефект МК є наслідком блокади α_1 АР, оскільки специфічні антагоністи цього підтипу діють аналогічно природним МК [193]. Їх ефекти реєструються в діапазоні доз, які мають непомітний вплив на активність ниркової фосфодіестерази (ФДЕ) [152].

Інтерес до потенціалу МК покращувати функцію нирок при ішемічній ГНН виник з того факту, що ішемія асоціюється із збільшенням тканинного вмісту аденозину в нирках [202].

Можливо, МК можуть чинити позитивні ефекти, запобігаючи нирковій вазоконстрикції, викликаній надмірним вмістом аденозину [6, 202].

Протективний механізм дії МК у початковій фазі пошкодження нирок після ішемії, імовірно, пов'язаний з блокадою судинозвужувальних АР.

Введення антагоніста α_1 АР після двобічної обструкції ниркової артерії дозволяло значно поліпшити кліренс креатиніну [203].

Ішемічне зниження ШКФ посилювалося дипіридамолом – інгібітором перенесення аденозину через рівноважні переносники нуклеозидів, і цей ефект усувався теофіліном [225].

У клінічних дослідженнях одноразове призначення теофіліну новонародженим з асфіксією, чинить позитивні дії завдяки зниженню залучення нирок у патологічний процес і запобігає погіршенню ШКФ протягом перших 5 днів.

Дослідження аденозинової сигнальної системи в нирках має важливе значення для розробки нових підходів до профілактики і лікування ГПН. Загальним для терапевтичного застосування агоністів АР є те, що аденозин діє як цитопротективний модулятор у відповідь на стрес для органа чи тканини.

Прогресування ГПН і його зв'язок з виникненням супутніх захворювань (ХПН, ГСН, ХСН тощо), збільшують ризик смертності та інвалідизації хворих і кількість госпіталізацій. Унаслідок ниркової ішемії ГПН продовжує залишатися

однією з головних причин захворюваності і смертності в реанімації. Отже, на теперішній час все ще потребують вивчення та уточнення механізми розвитку пошкоджень нирок з метою розробки підходів до їх фармакологічної корекції.

1.4 Перспективи пошуку біологічно активних речовин серед похідних ксантину для використання при захворюваннях нирок

Емпіричні правила, що склалися в ході пошуків БАР, регламентують значення природи і положення замісника у структурі ксантину. Зареєстровано, що введення замісників у положення 7 зменшує, а в положення 3 – збільшує фармакологічну активність. Заміщення у положенні 9 в молекулі імідазо(1,2-f)ксантину призводить до повної втрати ефективності, тоді як маніпуляція з природою замісника в положенні 8 може привести до підвищення багатьох видів активності, а також токсичності [50, 51]. Слід зазначити, що кофеїн, теобромін, теофілін, дипрофілін, пентоксифілін [11, 23, 30], ксантинолу нікотинат не мають замісників у положенні 8, і спроба отримати похідні теофіліну привела до появи сполук з гіпотензивним і антигістамінним ефектами [31,].

Розвиваючи зазначений підхід, проф. Б. О. Прийменко, М. І. Романенко і співавтори розробили новий спосіб синтезу 7,8-заміщених теофіліну, а фармакологами досліджено біологічну активність великої кількості сполук цієї групи [154, 161, 162]. При низькій токсичності отримані речовини мали широкий спектр виражених фармакологічних властивостей – діуретичних, салуретичних, гіпотензивних тощо [57, 97, 100, 101, 102].

Серед похідних 8-монозаміщених 3-метилксантину, 7-алкіл-8-алкіламіно-3-метилксантинів, 7-алкіл-8-піперазино-3-метилксантинів та 7,8-дизаміщених-3-метилксантинів виявлені сполуки, які стимулюють вісцеральні больові рецептори і мають анальгетичну й протизапальну дію [96, 143]. Введення у 8 положення молекули 7-[2'-окси-3'-(3,4-дихлор)-феноксипропіл] 8-бромтеофіліну замість

атома брому бензиліденгідразиного, (2',4'-диметокси)-бензиліденгідразиного і диметиламінобензиліденгідразиного радикалів, знижує антиноцицептивну активність [72].

Деякі автори відзначають гіпотензивну активність низки водорозчинних похідних ксантину [72, 73, 165].

Встановлено, що серед 7,8-дизаміщених похідних теофіліну виявлені речовини, що мають протизапальну, антигіпоксичну та актопротекторну активність [13, 20, 51, 143, 145].

Виразну діуретичну активність виявляють 7,8-дизаміщені 3-метил-ксантину та 7-заміщені 3-метил-8-піперидиноксантину. Найбільш активними виявилися сполуки, що містять (7-окси-8-*n*-нітрофеніл) етильний замісник у положенні 7 імідазольного кільця. Необхідно також відзначити, що введення аміногрупи в положення 5 фурилового ядра веде до різкого зниження діуретичного ефекту [42, 71]. Заміщені триазино(3,4-*f*)ксантину, що містять фенільний радикал біля атому азоту, виявили найбільш виражену діуретичну активність [42, 71].

Відомо, що мікроорганізми у процесі росту й розмноження споживають трансформовані пурини, тому різні похідні ксантину є перспективними в аспекті створення антимікробних засобів [137, 192]. У той же час дослідження антимікробної активності 3-метил-8-бромксантиніл-7-оцтової кислоти показали, що серед них виявлені сполуки, які мають слабку антибактеріальну і протигрибкову активність [138].

Незважаючи на те, що похідні ксантину вже достатньо давно вивчаються, багато з них сьогодні використовуються в медицині, вони все ще залишаються перспективними класом хімічних сполук для проведення подальших досліджень з вивчення їх фармакологічної активності. Аналіз даних літератури за останні 10 років свідчить про особливий інтерес хіміків-синтетиків і фармакологів до подальшого синтезу та дослідження заміщених та конденсованих похідних ксантину.

Зокрема, у 2013 році на базі Тернопільського державного медичного університету імені І. Я. Горбачевського досліджено терапевтичну ефективність

оригінальної сполуки з ряду 7,8-дизаміщених теофіліну – солі (8-бромо-1,3-диметил-2,6-діоксо-2,3-дигідр-1-Н-пурин (6Н)іл)пропаноату, синтезованої у ДВНЗ «Тернопільський державний медичний університет імені І. Я. Горбачевського» як антигіпоксанта й антиоксиданта при ГРДС в експерименті. Встановлено, що сполука проявляє вищу, ніж у відомих ЛП, антигіпоксичну й антиоксидантну дію в комплексній терапії гострого респіраторного дистрес синдрому і може бути використана як перспективний засіб його лікувальної корекції [130]. У цьому ж році опубліковане дослідження психотропної активності нових похідних серед 8-заміщених 3-метил-1-етилксантинів, що містять титановий цикл, синтезованих на кафедрі фармацевтичної хімії Башкірського державного медичного університету. Виявлені сполуки, що виявляють седативну, психостимулювальну та ноотропну активності в залежності від будови молекули: структури та положення радикалів.

У Запорізькому державному медичному університеті проведено дослідження нових похідних 3- (3-метил-2,6-діоксо-2,3,6,7-тетрагідро-3-пурин-8-іл) пропанової кислоти, 2- (5- (2- (3-метил-2,6-діоксо-2,3,6,7-тетрагідро-3-пурин-8-іл) етил) - 4Н-1, 2,4-триазол-3-ілтію) оцтової кислоти та їх водорозчинних амонієвих солей на наявність антиоксидантних та протитуберкульозних властивостей. Встановлено закономірності між досліджуваними біологічними властивостями і особливостями хімічної будови синтезованих сполук.

У 2017 році науковцями з ФГБОУ ВО «Іжевська Державна медична академія» та ФГБОУ ВО «Башкірський Державний медичний університет» МОЗ Росії було проведено скринінг вперше синтезованих похідних 7-тіетаніл-3-пропілксантину в умовах *in vitro* на донорській крові людини. Встановлено, що більшість сполук проявляють антиагрегаційну активність. Сполука-лідер проявляє антиагрегантну активність, що перевершує за рівнем препарат порівняння етамзілат, що свідчить про його потенційно високий гемостатичний ефект.

Отже, враховуючи вищесказане, зрозуміло, що похідні теофіліну виявляють низку фармакологічних ефектів та впливають на різні системи організму. В тому

числі покращують нирковий кровообіг та виведення електролітів, знижують артеріальний тиск, гальмують дегрануляцію опасистих клітин, виділення медіаторів запалення тощо. Це забезпечує прояв діуретичних, антипроліферативних, протизапальних, антиоксидантних ефектів, нормалізувальний вплив на функціональний стан ендотелію ниркових судин. Такий багатофакторний вплив на нирку дає змогу наблизитися до розробки сучасного безпечного та ефективного ЛП для відновлення функціонального стану нирок в умовах патології.

Широко розповсюджені в даний час гострі та хронічні захворювання нирок часто супроводжуються гіперазотемією, зумовленою зниженням виведенням з організму рідини й продуктів азотистого обміну. Однією з важливих складових комплексної нефропротекторної дії препарату є гіпоазотемічна активність. Лікувальна дія гіпоазотемічних препаратів обумовлена прямим і опосередкованими ефектами, такими як профілактика ендотоксикозу, зниження метаболічного навантаження на органи екскреції і детоксикації, що актуально при захворюваннях нирок, корекція процесів обміну речовин. У пацієнтів з ГНН нирки не здатні виводити продукти обміну (уремічні токсини). Тому доцільним і необхідним при ГНН є застосування гіпоазотемічних препаратів з метою зниження метаболічного навантаження, корекції процесів обміну речовин, запобігання подальшим ушкодженням нирок та інших внутрішніх органів азотовмісними метаболітами. Асортимент гіпоазотемічних лікарських засобів вітчизняного виробництва вкрай обмежений і представлений в основному комплексними рослинними препаратами (РП), такими, як канефрон, хофітол, леспенефрил, фітолізин, уролесан, леспенефрил тощо. Це зумовлює необхідність пошуку та розробки нових препаратів у тому числі і синтетичного походження [82, 87, 88].

Незважаючи на те, що ЛП рослинного походження (ЛПРП) вважаються більш безпечними для людського організму, існує ряд факторів, які свідчать про те, що препарати синтетичного походження з аналогічним спектром активності, можуть мати ряд суттєвих переваг.

Більшість ЛПРП відносять до групи безрецептурних препаратів і споживаються пацієнтами при самолікуванні. Проте деякі з них можуть мати серйозні побічні реакції чи малоефективними. Значні ризики РП пов'язані з вихідною сировиною, яка внаслідок особливостей отримання може бути контамінована мікроорганізмами, пестицидами, важкими металами. Так, у дослідженні виявлено, що 20 % ЛПРП, виготовлених в Індії та Пакистані та розповсюджуваних через Інтернет у США, містили елементи Рb, As та Hg у кількості, що значно перевищували вимоги, зазначені у Фармакопеї США [228]. Факти забруднення важкими металами досить часто фіксуються у ЛПРП китайської традиційної медицини [240]. До складу синтетичних препаратів входить активний фармацевтичний інгредієнт, якісні та кількісні характеристики якого чітко ідентифіковані та визначені. Разом з тим ЛПРП завжди містять велику кількість біологічно та хімічно активних сполук, сумарна дія яких визначає терапевтичну активність препарату. Деякі чинники, які не мають суттєвого впливу на якість ЛП синтетичного походження, дуже суттєво впливають на ЛПРП [8, 117] (таблиця 1.1).

Таблиця 1.1

Порівняння характеристик ЛЗ рослинного та синтетичного походження

Властивості препарату	РП	СП
Фармакологічно активна речовина	Часто невідома	Відома
Стабільність складу	Визначена недостатньо	Визначена
Якість сировини	Буває нестабільною	Контрольована
Наявність елементних домішок	Широкий спектр присутніх елементів	Кількість домішок мінімальна
Ідентифікація аналітичними методами	Ускладнена	Стандартизована
Механізм дії	Зазвичай невідомий	Зазвичай відомий

продовження таблиці 1.1

Токсикологічні тести	Не проведені на тваринах	Обов'язкові
Клінічні випробування	Зазвичай відсутні	Обов'язкові

Примітки:

1. РП – рослинні препарати; 2. СП – синтетичні препарати.

З даних таблиці видно, що забезпечення якості та ефективності ЛПРП за певними параметрами є більш складним, ніж СП, перш за все з причин природної варіативності складу ЛРС. Тільки приблизно 25% виробників ЛПРП наводять в реєстраційних документах дані стосовно вмісту активних фармакологічних інгредієнтів [4, 33, 83, 163].

Узагальнені дані ілюструють необхідність удосконалення та розширення асортименту нефротропних препаратів. Враховуючи вищезазначене, доцільними є дослідження щодо вивчення діуретичних та нефропротекторних властивостей як відомих МК препаратів, так і сполук нового синтезу.

Висновки до розділу I:

1. У літературному огляді за останні 10 років з даної тематики проаналізовано номенклатуру лікарських препаратів з групи похідних ксантину, які вже існують на сучасному світовому фармацевтичному ринку, їх фармакологічні ефекти та механізми дії, завдяки яким ці ефекти реалізуються. Проаналізовано сучасні підходи до фармакологічної регуляції екскреторної функції нирок, лікування та профілактики їх пошкодження, а також номенклатуру лікарських препаратів, які використовуються для корекції ниркової патології. На підставі літературних даних зроблено висновок щодо дефіциту асортименту синтетичних ЛП з комплексною діуретичною та нефропротекторною дією, здатних поліпшувати, у тому числі, азотовидільну функцію нирок та перспективності подальших досліджень нових похідних теофіліну з метою використання їх для усунення патології нирок.

2. Виходячи з вищезазначеного, цілеспрямований синтез та дослідження фармакологічної активності нових 7,8-дизаміщених похідних теofilіну можна вважати перспективним та актуальним напрямом сучасної фармації та експериментальної фармакології для пошуку біологічно активних сполук з метою створення на їх основі вискоефективних і безпечних лікарських препаратів діуретичної дії з нефропротекторною активністю для корекції ренальної патології.

РОЗДІЛ 2

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕНЬ

2.1 Характеристика використаних матеріалів

Для вирішення поставлених завдань як об'єкт дослідження обрано 20 вперше синтезованих сполук – 7,8-дизаміщених похідних теofilіну. Зазначені речовини синтезовані на кафедрі біологічної хімії та лабораторної діагностики Запорізького державного медичного університету під керівництвом д. ф. н., проф. Романенка М. І. Структура синтезованих сполук підтверджена за допомогою сучасних фізико-хімічних методів елементного аналізу, ІЧ-, УФ-спектроскопії (на приладі "Specord OR – 75" у таблетках калію броміду), хроматомаспектрами ПМР-спектрометрії (на приладі "Bruker AC 300") і зустрічним синтезом, а чистота синтезованих речовин контролювалась методом тонкошарової хроматографії. На пластинках Silufol UV – 254 у різних системах розчинників підтверджена індивідуальність цих речовин. Визначення температури плавлення проведено відповідно до вимог Державної фармакопеї України [162, 168].

Хімічна будова досліджуваних речовин та їх лабораторні шифри наведені в таблиці 2 додатку А.

Зазначені сполуки являють собою білі сипучі кристалічні порошки, без запаху, гіркомого смаку, розчинні у диметилформаміді, диметилсульфоксиді та важко розчинні у воді. Вони стабільні при зберіганні, не гігроскопічні.

Досліджувані речовини вводили внутрішньоочеревинно або внутрішньошлунково у вигляді тонкодисперсної водної суспензії, стабілізованої твіном-80, який є продуктом оксиетилювання моноолеату сорбітану (ФС-42-167-72). Дизайн дослідження фармакологічної активності похідних 7,8-дизаміщених теофіліну наведено на рисунку 2.1.

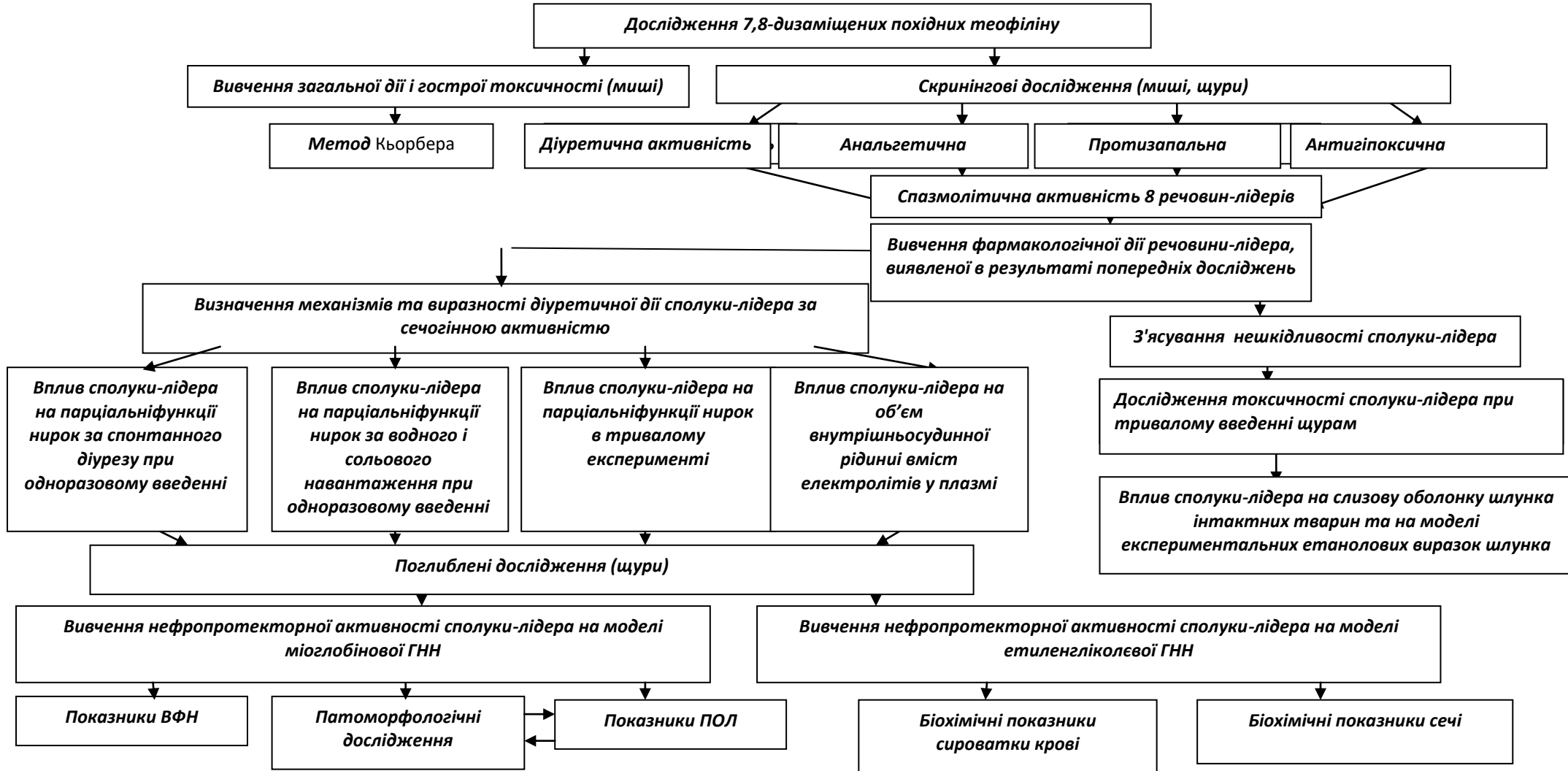


Рис. 2.1 Дизайн дослідження фармакологічної активності 7,8-дизаміщених похідних теофіліну

2.2 Методи фармакологічних досліджень

Вивчення гострої токсичності та скринінгові дослідження біологічної активності 20 похідних 7,8-дизаміщених теофіліну виконано на 782 білих рандомбредних мишах масою 18-25 г та 416 білих рандомбредних щурах обох статей масою 170-190 г. Вивчення специфічної активності та нешкідливості сполуки-лідера проведені на 24 білих мишах масою 18-25 г та 255 білих рандомбредних щурах масою 180-200 г. Під час проведення експериментів тварин утримували у віварії ЦНДЛ НФаУ, яка атестована МОЗ України на проведення вимірювань у сфері охорони здоров'я (Свідоцтво № 008/11 від 18.10.2011 р.). При роботі з тваринами дотримувалися «Загальних етичних принципів експериментів на тваринах» (Україна, 2001) у відповідності до «Європейської конвенції про захист хребетних тварин, які використовуються для експериментальних та інших наукових цілей» (Страсбург, 1985) [208]. Дотримання зазначених вимог засвідчено висновком комісії НФаУ з біоетики (протокол № 3 від 15.03.2017 р.). Під час проведення досліджень тварини перебували у віварії з контрольованим температурним режимом та відносною вологістю, на дванадцятигодинному циклі день/ніч, з вільним доступом до води та їжі [149].

Вивчення загальної дії і гострої токсичності 7,8-дизаміщених похідних теофіліну проведене на 125 білих нелінійних мишах обох статей масою 18-24 г по п'ять тварин у серії з кожною дозою. Досліджувані речовини об'ємом 1 мл вводили одноразово внутрішньоочеревинно (в/о). Режим дозування досліджуваних субстанцій обирався на підставі даних літератури і результатів попередніх досліджень залежності «доза-ефект». Мишам контрольної групи аналогічним шляхом у відповідному об'ємі рідини вводили ізотонічний розчин натрію хлориду на твіні-80. При спостереженні за дослідними тваринами звертали увагу на клінічну картину гострого отруєння, орієнтуючись при цьому на дані таблиці «Клінічні прояви та їх інтерпретація при вивченні гострої токсичності» методичних вказівок ДФЦ [37]. Крім того контролювали тривалість життя і кількість загиблих тварин. За тваринами спостерігали протягом 14 днів (загальний

вигляд, поведінка, нервово-м'язова збудливість, стан видимих слизових і шерсті, харчова і питна активність, характер виділень, тривалість життя), реєструючи на 3, 7 і 14 добу їх масу [43, 151]. Наприкінці досліду тварин забивали з обов'язковим дотриманням «Загальних етичних принципів експериментів на тваринах», які узгоджуються з положеннями «Европейской конвенции по защите позвоночных животных, используемых для экспериментальных и научных целей» [136, 208]. Середньосмертельну дозу нових субстанцій розраховували за методом Кьорбера [37, 55] з урахуванням доз, які не викликали токсичну дію і таких, що викликали 100% загибель тварин. Клас токсичності 7,8-дизаміщених похідних 3-метилксантину визначали за прийнятою класифікацією К. К. Сидорова [153].

Розрахунки LD_{50} проводили за формулою 2.1:

$$LD_{50} = LD_{100} - \Sigma(zd) / n \quad (2.1),$$

де LD_{100} – доза, яка викликала загибель усіх дослідних тварин

z – середня величина між кількістю загиблих тварин;

d – інтервал між дозами;

n – кількість груп тварин у досліді.

Стандартна похибка середньої величини LD_{50} розраховувалась за формулою Геддама 2.2 [37]:

$$S_{LD50} = \sqrt{K * S * d / n} \quad (2.2),$$

де K – константа, яка при розрахунках за методом Кьорбера дорівнює 0,564;

S – стандарт розподілу, який визначається за графіком;

d – інтервал між дозами;

n – кількість груп тварин у досліді.

Фармакологічну активність похідних 7,8-дизаміщених теофіліну досліджували за методиками спеціального фармакологічного скринінгу, рекомендованими ДФЦ МОЗ України [37]. Вибір методик для вивчення фармакологічної дії нових сполук проводили за такими критеріями: простота і доступність відтворення, адекватність перебігу експериментальної патології захворюванню у людини, що дозволяє адекватно екстраполювати результати, отримані в експерименті, в клінічну практику [11].

Фармакологічну активність синтезованих в ряду похідних 7,8-дизаміщених теофіліну порівнювали з активністю препаратів, які широко використовуються в медичній практиці: гіпотіазиду, диклофенаку натрію, мексидолу, спазмалгону, хофітолу, канефрону, ацетилсаліцилової кислоти (таблиця 2.1). Дози препаратів порівняння для тварин розраховували з урахуванням коефіцієнтів видової чутливості за Ю. Р. Риболовцевим [37] за формулами 2.3, 2.4 та 2.5:

$$K_{\text{люд.}} / K_{\text{тв.}} = D_{\text{люд.}} / D_{\text{тв.}} \quad (2.3);$$

$$D_{\text{люд.}} = 1 \text{ таб (мг)} / 70 \text{ (серед. маса люд.)} \quad (2.4);$$

$$D_{\text{тв.}} = K_{\text{тв.}} * D_{\text{люд.}} / K_{\text{люд.}} \quad (2.5);$$

де $K_{\text{люд.}}$ та $K_{\text{тв.}}$ – коефіцієнт перерахунку дози речовини для людини та тварин за Риболовцевим; $D_{\text{люд.}}$, $D_{\text{тв.}}$ – дози речовини для людини та тварин.

Таблиця 2.1

Характеристика препаратів порівняння

Вид активності	Препарат	МНН	Виробник	Доза, мг/кг
Діуретична	Гіпотіазид	Гідрохлоротіазид	«Sanofi Aventis», Франція	25
Антигіпоксична	Мексидол	Етилметилгідрокси- пірідину сукцинат	ФАРМАСОФТ, Росія	25

продовження таблиці 2.1

Вид активності	Препарат	МНН	Виробник	Доза, мг/кг
Протизапальна, Анальгетична	Диклофенак натрію	Диклофенак	«Nemofarm», Югославія	8
Спазмолітична	Спазмалгон	Метамізол натрію+пітофенон+ феніпверінію бромід	«Balkanpharma- Dupnitsa AD», Болгарія	42
Нефропротек- торна	Хофітол	Екстракт артишоку	«Laboratoires Rosa- Phytopharma», Франція	70
	Канефрон	—	«Bionorika», Німеччина	20
Ульцерогенна	Ацетилсаліцило ва кислота	Ацетилсаліцилова кислота	ЗАТ «Дарниця», Україна	10; 40; 100

Вивчення впливу досліджуваних речовин на функцію нирок проводили на білих нелінійних щурах масою 140-190 г за методом Є. Б. Берхіна [12]. За 4 дні до початку вивчення діуретичної активності речовин переводили на стандартний режим харчування, доступ до води не обмежували [12, 37]. Досліджувані похідні теофіліну вводили в об'ємі розчинника по 2 мл на тварину. Через 30 хв. щурам вводили водогінну воду з розрахунку 3 мл на 100 г маси тіла тварини. Контрольна група щурів в аналогічному об'ємі отримувала воду і твін-80. Після введення субстанцій та водного навантаження щурів уміщували в індивідуальні клітки, пристосовані для збору сечі. Кількість сечі реєстрували протягом 2 год. Для вивчення діуретичної активності сполук проведено 4 серії досліджень (по 5 речовин у серії). У кожній серії досліджень використано 7 груп щурів по 7 тварин (1 – ІК; 2 – ІІІ, 3 – 7 групи отримували досліджувані сполуки). Препаратом порівняння обрано гіпотіазид у дозі 25,0 мг/кг.

Анальгетичну активність досліджуваних речовин визначали на моделі «оцтовокислих корчів», яка є класичною скринінговою моделлю, та дозволяє визначити наявність впливу препарату відразу на всі медіатори периферичного компоненту больового синдрому [113]. Дослідження проведене на 110 щурах (22 групи по 5 тварин): 1 – ІК, 2 – ПП, 3 – 22 групи – досліджувані речовини. Корчі викликали в/о уведенням 0,75% водного розчину оцтової кислоти в дозі 1 мл на 100 г маси тіла. Досліджувані похідні теофіліну вводили в/ш за 30 хв. до введення оцтової кислоти. Підрахунок числа корчів починали через 20 хв. після введення оцтової кислоти і рахували протягом 30 хв. Зменшення кількості корчів у тварин, яким вводили досліджувані сполуки, в порівнянні з контрольною групою, виступало критерієм анальгетичної активності. Анальгетичну активність виражали у відсотках зниження числа оцтових корчів у дослідних групах тварин у порівнянні з контрольними [37, 85]. Препаратом порівняння був використаний диклофенак натрію в дозі 8,0 мг/кг.

Анальгетичну активність досліджуваних сполук вираховували за формулою 2.6 [37]:

$$AA = \frac{C_k - C_d}{C_d} \times 100\% \quad (2.6);$$

де: AA – анальгетична активність, %;

C_к – середня кількість корчів у контрольній групі;

C_д – середня кількість корчів у дослідній групі.

Для скринінгових досліджень протизапальної (антиексудативної) дії застосовували модифікацію карагенінового набряку у мишей [37]. У досліді задіяно 132 тварини. Мишей розділили на 22 групи по 6 тварин: 1 – ІК, 2 – ПП, 3– 22 групи отримували досліджувані речовини. Запалення викликали субплантарним (у м'язи задньої лівої лапки) введенням 1% розчину карагеніну виробництва Sigma (США) у дозі 0,02 мл/тварину. Контрлатеральна лапа служила

контролем. Досліджувані зразки вводили за 1 год. до введення флогогену. Через 1 год. після введення розчину карагеніну лапи відрізали на рівні надступаковогомілкового суглобу. Лапи зважували на електронних вагах. Визначали індекс реакції за формулою 2.7:

$$IP = \frac{M_d - M_k}{M_k} \times 100\% \quad (2.7);$$

де IP – індекс реакції,

M_d – маса дослідної (набряклої) лапи;

M_k – маса контрлатеральної (контрольної) лапи.

Ефективність тест-зразка оцінювали за пригніченням розвитку набряку лапи у порівнянні з тваринами групи позитивного контролю та дією референс-препарату диклофенаку натрію в дозі 8,0 мг/кг.

Антиексудативну активність (АЕА) розраховували за формулою 2.8 та виражали у відсотках:

$$AEA = \frac{IP_k - IP_d}{IP_k} \times 100\% \quad (2.8);$$

де АЕА – антиексудативна активність у %;

IP_k – середнє значення IP у групі ПК;

IP_d – середнє значення IP у дослідній групі.

Дослідження антигіпоксичної активності похідних теофіліну проведено в умовах нормобаричної гіпоксії з гіперкапнією (в замкнутому просторі). Дослідження проведено на 110 щурах лінії Вістар по 5 тварин у групі. Щурів було розділено на 22 групи: 1 – ІК, 2 – ПП, 3 – 22 групи отримували досліджувані

речовини. Сполуки, що вивчаються та ПП вводили в/ш за 30 хв. до початку експерименту. Контрольна група отримувала ізотонічний розчин натрію хлориду. Щурів розміщали у скляні банки однакового об'єму (1000 мл) та герметично закривали, перевертали догори дном і ставили у кювету з водою для запобігання надходженню повітря. Препаратом порівняння обрано мексидол у дозі 25 мг/кг. За допомогою секундоміру визначали тривалість життя тварин з моменту закриття контейнеру до агонального вдиху [37].

Одним з методів дослідження речовин, які мають потенційний вплив на тонус міометрію, є вивчення їх впливу на рухову активність ШКТ. Вивчення впливу похідних 7,8 дизамічених теофіліну та препарату порівняння «Спазмалгон[®]» (виробництва "Balkanpharma-Dupnitsa AD", Болгарія) на рухову активність ШКТ проводили за методикою Stickney J.S. зі співавт. [241]. Як інтегральний показник, що характеризує інтенсивність перистальтики кишечника, використовували % довжини кишечника, який проходить контрастна маса на фоні спазму, викликаного введенням розчину барію сульфату по відношенню до абсолютної довжини кишечника. Протягом 24 год. 50 (10 груп по 5) білих мишей обох статей масою 20-22 г витримували на голоді без обмеження доступу до води. Експериментальним тваринам вводили в/ш досліджувані речовини в дозі 1/100 ЛД₅₀, контрольній групі – еквівалентну кількість води. Спазмалгон вводили тваринам у дозі 42 мг/кг. Через 20 хв. після введення тест-зразків та референс-зразку тваринам вводили в/ш розчин барію сульфату («Істок-плюс», Україна), ще через 20 хв. вводили контраст у вигляді 20% суспензії вугілля на 1% крохмальному розчині по 0,6 мл на тварину. Через 20 хв. після введення контрасту проводили евтаназію за допомогою дислокації шийних хребців під хлороформним наркозом. Час між введенням досліджуваних речовин та забоєм тварин складав 1 год. Проводили розтин та виділяли увесь кишечник від шлунку до анального отвору, розгортали його у одну пряму лінію та вимірювали загальну довжину та шлях, який пройшов контраст, та виражали останній у відсотках.

Спазмолітичну дію розраховували у відносних величинах за формулою 2.9:

$$\frac{(B-V) \times 100}{B-K} \quad (2.9);$$

де:

К – відсоток заповнення кишечника в інтактних мишей;

Б – відсоток заповнення кишечника після введення барію хлориду;

В – відсоток заповнення кишечника після введення тест зразку

Вивчення впливу субстанції-лідера на спонтанний діурез щурів у широкому діапазоні доз та розрахунок середньої ефективної дози (ЕД₅₀) за діуретичною активністю проведене на 56 білих щурах (8 груп по 7 тварин). Досліджувану сполуку бенофілін вводили у вигляді водної суспензії з твіном-80 в об'ємі розчинника 2 мл на тварину у дозах 5,5; 11; 22; 33; 44 та 55 мг/кг. Контрольна група тварин отримувала еквівалентну кількість води. ПП обрано гіпотіазид у дозі 25 мг/кг.

Середню ефективну дозу бенофіліну за діуретичною активністю розраховували за методом Штабського Б. М. [37, 152], користуючись рівнянням прямої, яка проходить через 2 точки (2.10; 2.11; 2.12):

$$\frac{Y - Y_1}{Y_2 - Y_1} = \frac{X - X_1}{X_2 - X_1} \quad (2.10);$$

де X_1, X_2 – значення двох крайніх досліджуваних доз, які приводять до ефекту менше та більше 50% тварин відповідно; Y_1, Y_2 – відповідні відсотки ефекту.

При вирішенні рівняння відносно X підставляли у формулу значення Y , що дорівнюють 50%, 16% і 84% ефекту, що відповідають ЕД₅₀, ЕД₁₆, ЕД₈₄.

$$X = X_1 + \frac{(Y - Y_1)(X_2 - X_1)}{Y_2 - Y_1} \quad (2.11);$$

Стандартна похибка s значення ED_{50} була обчислена за формулою:

$$s = \frac{ED_{84} - ED_{16}}{2\sqrt{n}}, \quad (2.12);$$

де n – число спостережень;

ED_{84} – доза лікарського препарату, при якій спостерігається активність 84 %;

ED_{16} – доза лікарського препарату, при якій спостерігається активність 16 %.

Дослідження впливу сполуки-лідера на стан ВФН у щурів оцінювали за умов добового спонтанного діурезу, водного та сольового навантаження. Попередньо адаптованих до умов експерименту тварин розподіляли на 4 групи по 7 щурів. Досліджувану речовину вводили в/ш в дозі 35 мг/кг тваринам 1–3 груп. Першу групу вміщували до обмінних кліток на 24 год. та вимірювали діурез, тваринам другої групи у шлунок за допомогою зонду вводили відстояну воду кімнатної температури з розрахунку по 3 мл на 100 г маси тіла тварини, третя група отримувала гіпотонічний розчин натрію хлориду, підігрітого до 30°C з розрахунку 3 мл на 100 г маси тіла, четверта група отримувала ПП гіпотіазид у дозі 25 мг/кг. Кількість випитої води та виділеної сечі реєстрували через кожні 2 год.

Дослідження впливу субстанції-лідера у тривалому експерименті на діурез в умовах водного навантаження, зміну добового споживання води, екскрецію креатиніну, натрію і калію вивчено на 14 білих щурах лінії Вістар. Щурів було розподілено на 2 групи по 7 тварин: 1 група – дослідна, якій одноразово в/ш вводили бенофілін у дозі 35 мг/кг та воду (3% від маси тіла), 2 група – отримувала тільки воду (3% від маси тіла). Щурів поміщали в обмінні клітки, пристосовані для збору сечі, де утримували впродовж 14 діб на тлі уведення бенофіліну та 3 діб після його

відміни. Кожного дня в один і той же час реєстрували кількість виділеної сечі, випитої води, масу тварин. ВФН оцінювали за показниками екскреції іонів натрію, калію та креатиніну, ШКФ, показниками реабсорбції натрію та води, вмістом у плазмі ендogenous креатиніну. Під час дослідження щури знаходились в обмінних клітках, пристосованих для збору сечі з вільним доступом до їжі та води. Одержані результати порівнювали з контрольною групою тварин.

Об'єм внутрішньосудинної рідини і концентрації електролітів у плазмі крові було вивчено в дослідах на 21 білих нелінійних щурах масою 130-180 г (3 групи по 7 тварин). Перша група отримувала внутрішньошлунково бенофілін у дозі 35 мг/кг, другій групі вводили гіпотіазид у дозі 25 мг/кг, щури контрольної групи у аналогічному об'ємі рідини отримували твін-80. Досліджувану сполуку та гіпотіазид вводили в/ш щодня, протягом 14 діб. На 15 добу визначали об'єм внутрішньосудинної рідини за синім Еванса (Т-1824). Отримані результати виражали в мл і в % до маси тіла. У плазмі крові визначали концентрацію іонів натрію і калію.

Нефропротекторну дію досліджуваної речовини вивчали на двох експериментальних моделях ГПН: міоглобінової та етиленгліколевої, згідно з методичними рекомендаціями ДФУ України [110].

Для проведення дослідження нефропротекторної активності сполуки-лідера на моделі етиленгліколевого ГПН експериментальних тварин розподілили на чотири групи (по 6 щурів у кожній): I – ІК (n=6); II – КП (етиленгліколева ГНН) (n=6); III – патологія + бенофілін у дозі 35 мг /кг (ЕД₅₀); IV – патологія + ПП хофітол у дозі 70 мг/кг. Досліджувану сполуку та хофітол вводили в/ш у вигляді водних розчинів, стабілізованих твіном-80, в об'ємі 2 мл на тварину. Тварини з групи КП отримували еквівалентну кількість води. Хофітол обрано як референс-препарат, оскільки згідно з інструкцією до медичного застосування, комплекс біологічно активних речовин, що входять до його складу, чинить діуретичну, нефропротекторну, антиоксидантну дію, покращує обмінні процеси в організмі та знижує вміст сечовини в крові.

Етиленгліколеву інтоксикацію викликали підшкірним введенням етиленгліколю кваліфікації «х.ч.» в дозі 6 мл/кг. Досліджувану сполуку та референс-препарат вводили тваринам у шлунок у профілактично-лікувальному режимі протягом трьох діб до моделювання ГНН, востаннє за 40 хв. до моделювання патології, та 5 діб на тлі ГНН. Ефективність нової сполуки та хофітолу визначали за показниками ВФН на першу добу ГНН за біохімічними показниками сечі і сироватки крові (вмістом сечовини, креатиніну, сечової кислоти, загального білку, іонів натрію, калію тощо).

Міоглобінуричне ГПН викликали одноразовим в/м введенням щурам 50% водного розчину гліцеролу з розрахунку 1 мл на 100 г маси тіла у м'язи задніх лапок одноразово, розділяючи усю дозу порівну між кінцівками. Важливими чинниками змішаного патогенезу цієї моделі є ішемія нирок, зменшення ниркового кровообігу, активація вазоконстрикторних факторів, а також зростання внутрішньоканальцевого тиску, зумовлене преципітацією міоглобіну і спазмом аферентної артеріоли. При цьому велике значення мають порушення про-антиоксидантного балансу.

Вплив субстанції-лідера на функцію нирок у щурів досліджували за умов водного навантаження, яке створювали шляхом в/ш введення питної води кімнатної температури в об'ємі 5 % від маси тіла, після чого збирали сечу протягом 2 год. Тварин виводили з експерименту шляхом декапітації під тіопенталовим (80 мг/кг) наркозом, дотримуючись положень «Європейської конвенції із захисту хребетних тварин, яких використовують в експериментальних та інших наукових цілях» [208].

Щурів було розподілено на 4 групи по 7 тварин: I – ІК, II – МП (50% водного розчину гліцеролу в/м), III – тварини, які протягом 3 діб до введення токсиканта одержували досліджувану речовину та IV – тварини, які протягом 3 діб до введення токсиканта одержували канефрон. Досліджувану речовину та канефрон вводили в/ш у виглядів водних розчинів. Тварини групи МП отримували еквівалентну кількість води.

Канефрон обрано як референс-препарат, оскільки експериментально

доведено, що усі рослинні компоненти, що входять до його складу, містять речовини (фенолкарбонові кислоти, ефірні олії тощо), які зумовлюють нефропротекторну дію препарату. Дія препарату на канальцеву і клубочкову систему нирок призводить до зниження виділення білка при протеїнурії. При введенні щурам із дисплатиновою нефропатією останній значно знижував виразність ушкодження клубочків (виходячи з показників кліренсу креатиніну та концентрації сечовини у сироватці крові) та канальців (маркери – екскреція ферментів щіточкової облямівки та магнію) [224].

Матеріалами дослідження були сироватка крові, сеча, гомогенат та тканини нирки. У щурів після декапітації проводили забір крові, яку центрифугували при 3000 об/хв. Нирки вилучали одразу після евтаназії та заморожували при -24°C . Після розморожування проводили гомогенізацію тканин у скляному гомогенізаторі під візуальним контролем: 500 мг тканини в 4,5 мл 0,05 М Трис-НСІ буфера (рН-7,4).

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 [122] та О. Т. Шюк [178].

Визначення концентрації креатиніну в сечі здійснювали за Фоліним. Визначення концентрації креатиніну в плазмі крові виконували фотоколориметрично. Принципи методів базуються на здатності креатиніну реагувати з пікриною кислотою в лужному середовищі з утворенням забарвлених сполук (реакція Яффе) [58, 105, 106]. Вміст білка у сечі визначали сульфосаліциловим методом [109].

Вміст ТБК-Р визначали спектрофотометрично за реакцією з тіобарбітуровою кислотою (ТБК). Принцип методу полягає у здатності ТБК вступати в реакцію з ліпопероксидами, амінокислотами, вуглеводами, основним

продуктом цієї взаємодії є ТБК-Р. При цьому концентрацію ТБК-Р виражали в мкмоль/г або мкмоль/л [158].

Активність КТ визначали за методом М. А. Королюк та співавт. [106]. Принцип методу полягає в тому, що КТ руйнує субстрат – H_2O_2 ; кількість незруйнованого пероксиду водню вимірювали за допомогою молібдату амонію, який з пероксидом водню утворює стійкий забарвлений комплекс. Активність ферменту в гомогенатах тканин виражали в мкмоль H_2O_2 /(хв*100мг); у сироватці крові – в мкмоль/(хв*л).

Активність ВГ визначали спектрофотометрично у реакції з реактивом Елмана за методом Beutler E. D. et al [7].

При дослідженні гістоструктури нирок зразки тканин фіксували у 10 % розчині формаліну, зневоднювали у спиртах зростаючої міцності, заливали у парафін. Зрізи фарбували гематоксиліном та еозином [75, 105]. Мікроскопічне вивчення мікропрепаратів проводили під мікроскопом Granum. Мікрофотографування зображень здійснювали цифровою відеокамерою Granum ДСМ 310. Фотознімки обробляли на комп'ютері Pentium 2,4 GHz за допомогою програми TourView. Морфологічне дослідження структури нирок виконували на базі Центральної науково-дослідної лабораторії (ЦНДЛ) НФаУ за консультативної допомоги с.н.с. ЦНДЛ, к. б. н. Лар'яновської Ю. Б.

Вивчення можливого токсичного впливу субстанції-лідера за умов тривалого введення (30 діб) проводили експрес-методом, рекомендованим І. В. Саноцьким, що дозволяє провести дослідження на обмеженій кількості тварин [151]. Дослідження проведені на білих нелінійних щурах та мишах різної статі. Речовину вводили в трьох дозах: у тій, яка була встановлена як найбільш ефективна за діуретичною активністю – 35 мг/кг (ED_{50}), в дозі 70 мг/кг ($2ED_{50}$) та 105 мг/кг ($3ED_{50}$). Для проведення дослідження тварини були розподілені на 4 групи по 6 особин у кожній. Перша група – ІК, тварини другої – четвертої групи отримували досліджувану речовину у дозах 35; 70 та 105 мг/кг відповідно. Для оцінки негативного впливу досліджуваної субстанції на організм тварин проводили спостереження за їх загальним станом і поведінкою, виживаністю,

відношенням до їжі і розвитком можливої клінічної симптоматики токсичного отруєння. По закінченню періоду досліджень тварин декапітували, внутрішні органи піддавали макроскопічному дослідженню. Тривалість дослідження обумовлена вимогами ДФЦ України до вивчення нових лікарських препаратів і передбачуваних термінах застосування препарату в клініці [37, 55].

Дослідження можливої пошкоджувальної дії бенофіліну на слизову оболонку шлунка та 12-палої кишки проведено на 30 білих нелінійних щурах лінії Вістар обох статей, масою 150-180 г за методом J. Marazzi-Uberti [221]. Тварини були поділені на 6 груп по 5 особин у кожній: 1 група – тварини, які отримували досліджувану речовину в дозі 35 мг/кг; 2 група – у дозі 70 мг/кг; 3 група – у дозі 105 мг/кг; 4, 5, 6 групи – отримували ацетилсаліцилову кислоту в дозах – 10, 40 і 100 мг/кг відповідно. Через чотири години після в/ш введення досліджуваної речовини та ацетилсаліцилової кислоти проводили евтаназію тварин під ефірним наркозом методом миттєвої декапітації. Далі оглядали тварин і проводили патоморфологічні дослідження ШКТ [105]. Ступінь ушкодження ШКТ оцінювали в балах: 0 балів – відсутність ушкодження, 1 бал – від 1 до 3 невеликих виразок, 2 бали – більше 3 невеликих виразок, 3 бали – виразка значних розмірів і декілька невеликих виразок, 4 бали – декілька великих виразок, 5 балів – проривна виразка. Крім того, симптоми, що передують утворенню деструкції у шлунку та вказують на певні трофічні порушення слизової оболонки (набряк, гіперемія, ін'єкція судин, крововиливи), оцінювали у 0,5 бали. У кожній серії визначали % тварин з ушкодженнями слизової оболонки шлунка і кишечника.

Наступним етапом стало вивчення впливу бенофіліну порівняно з ацетилсаліциловою кислотою на шлунок і кишечник тварин з експериментальними виразками шлунка. Виникнення виразок в ШКТ викликали шляхом одноразового в/ш введення 96% етилового спирту в дозі 5 мл/кг. Дослідження проведене на 30 білих щурах лінії Вістар масою 170-190 г. Тварин було розподілено на 6 груп по 5 особин у кожній. 1 група – ІК (тварини в/ш отримували водопровідну воду в дозі 5 мл/кг); 2 група (КП) – в/ш введення 96% спирту після голодування протягом 24 год. в дозі 5 мл/кг [37]; 3 – 4 групи –

досліджувану речовину у дозах 70 і 105 мг/кг відповідно; 5 – 6 групи – ацетилсаліцилову кислоту в дозах 40 і 100 мг/кг. Сполуки вводили щурам в/ш один раз на день щоденно протягом 14 діб. Макроскопічне дослідження шлунка і кишечника проводили на 15 добу [103]. Індекс виразки розраховували за формулою [37]:

$$ІВ = \text{ступінь виразки} \times \% \text{ тварин з виразками} / 100$$

Статистичну обробку результатів виконано із використанням пакету програм STATISTICA 8.0 із розрахунком середнього значення, стандартної похибки середнього, довірчого інтервалу ($p \leq 0,05$). Для з'ясування міжгрупових відмінностей у випадку нормального розподілу вибірових даних використовували t-критерій Стьюдента (при попарних порівняннях) або однофакторний дисперсійний аналіз ANOVA. За відсутності нормального розподілу використовували U-критерій Манна-Уїтні або ранговий критерій Краскела-Уолліса. Внутрішньогрупові відмінності оцінювали за парним T-критерієм Вілкоксона. При обліку результатів в альтернативній формі (наявність/відсутність ознаки) використовували кутове перетворення Фішера (ϕ). Закономірності зв'язку між окремими показниками аналізували за коефіцієнтом кореляції Спірмена (ρ) [78, 146, 160].

В експериментах використано 6 методик скринінгових досліджень речовин, 2 моделі патологічних станів, 1 гістологічний та 27 біохімічних методів, а при обробці даних 5 методик статистичного аналізу.

РОЗДІЛ 3

КОМП'ЮТЕРНИЙ ПРОГНОЗ ЙМОВІРНИХ ВИДІВ БІОЛОГІЧНОЇ АКТИВНОСТІ ПОХІДНИХ 7,8-ДИЗАМІЩЕНИХ ТЕОФІЛІНУ

Біологічна активність вперше синтезованої органічної речовини залежить від особливостей хімічної будови та її фізико-хімічних властивостей. Весь накопичений досвід медичної хімії, експериментальної і клінічної фармакології свідчить про відсутність абсолютної специфічності дії відомих лікарських препаратів: усі вони здатні викликати різноманітні фармакологічні ефекти, частина яких використовується для лікування визначеної патології, інші можуть викликати побічну дію та небажані токсикологічні ефекти.

Прогнозування спектру біологічної активності на ранніх етапах дозволяє оптимізувати роботу, проводити дослідження більш цілеспрямовано, завчасно виявляти негативні ефекти. Враховуючи те, що інформованість стосовно фармакологічних ефектів низки БАР і аналітичні можливості для їх вивчення обмежені, допомога спеціальної комп'ютерної системи в одержанні такого роду оцінок є корисною. На підставі цього у роботі здійснені перші дослідження щодо прогнозування спектру можливих видів біологічної активності відповідно до структурної формули речовини [133, 134].

На основі хімічної структури і універсального математичного алгоритму програми PASS проведений комп'ютерний прогноз ймовірних видів біологічної активності. Як об'єкт дослідження взято 20 вперше синтезованих сполук похідних 7-*n*-метилбензил-8-заміщених теофіліну (таблиця 2 додатку А). Результати комп'ютерного прогнозу видані у вигляді списку ймовірних видів активностей з розрахунковими оцінками наявності (P_a) і відсутності активності (P_i), що мають значення від 0 до 1.

Результат прогнозу біологічної активності надано у вигляді впорядкованого переліку вірогідності “бути активним” (“to be active”) P_a , “бути неактивним” (“to be inactive”) P_i та назв відповідних видів активності. Упорядкування виконується

по зменшенню різниці $P_a - P_i$. Таким чином, найбільш вірогідні види активності знаходяться на початку прогнозованого спектру.

Результат прогнозування інтерпретується таким чином:

- якщо в прогнозі деяких видів біологічної активності було прогнозування з вірогідністю $P_a > 0,7$, то, скоріше за все, дана сполука виявляє цей вид біологічної активності в експерименті, однак шанс, що дана сполука є аналогом відомого лікарського засобу, є також значним;
- якщо $0,5 < P_a < 0,7$, то існує велика вірогідність, що дана сполука проявить той чи інший вид біологічної активності в експерименті та буде менш подібна до відомих лікарських засобів;
- якщо $P_a < 0,5$, то вірогідність, що дана сполука проявить той чи інший вид біологічної активності в експерименті невелика.

Аналіз результатів комп'ютерного прогнозу демонструє, що досліджувані 7,8-дизаміщені похідні теофіліну можуть виявити широкий спектр біологічної активності $P_a > 0,7$ і P_i в більшості випадків $< 0,5$, що свідчить про широкі прогностичні можливості прояву фармакологічної активності при відсутності близьких хімічних аналогів. У той же час різноманітний прояв ймовірних видів фармакологічної активності свідчить про значну ймовірність виникнення небажаних побічних ефектів на організм людини.

Для всіх досліджуваних похідних 7,8-дизаміщених теофіліну з різним ступенем імовірності спрогнозовано діуретичний вплив. Для 8 з 20 речовин вірогідність прояву діуретичного ефекту спрогнозовано з імовірністю $P_a > 0,7$. Це субстанції № 6, № 9, № 12, № 13, № 14, № 17, № 19 та № 20, які містять п-хлоробензиліденгідразиновий, п-амінодиметилбензиліденгідразиновий, (5-бром-2'-3'-дигідроіндолон-2'-іліден-3') гідразиновий, (3',5'-диметилпіразоліл-1'), п-бромобензиліденгідразиновий, п-фторобензиліденгідразиновий, (піридин-3'-іл)метиліденгідразиновий та (піридин-4'-іл)метиліденгідразиновий радикали. Для решти сполук також імовірна наявність сечогінної активності, але імовірність її прояву менша і знаходиться в діапазоні $0,5 < P_a < 0,7$.

Салуретичний ефект з вірогідністю $0,5 < P_a < 0,7$ передбачений для сполук № 1, № 3, № 4, № 5, № 6, № 7, № 8, № 9, № 12, № 13, № 14, № 17, № 18, № 19 та № 20. Зазначені субстанції містять у своїй будові гідразиновий, метоксибензиліденгідразиновий, гідроксибензиліденгідразиновий, (α -метил)-бензиліденгідразиновий, n -хлоробензиліденгідразиновий, o -хлоробензиліденгідразиновий, метоксибензиліденгідразиновий, амінодиметилбензиліденгідразиновий, (5'-бром-2' 3'-дигідроіндолон-2'-іліден-3') гідразиновий, (3',5'-диметилпіразоліл-1'), бромобензиліденгідразиновий, фторобензиліденгідразиновий, етоксибензиліденгідразиновий, піридин-3'-іл)метиліденгідразиновий та (піридин-4'-іл)метиліденгідразиновий замісники.

Речовини № 1, № 2, № 6, № 7, № 14, № 17 та № 19 з імовірністю ($P_a > 0,7$) здатні виявляти спазмолітичну, периферійну вазодилататорну, бронхорозширювальну дію. В будові цих сполук наявні гідразиновий, бензиліденгідразиновий, хлоробензиліденгідразиновий, o -хлоробензиліденгідразиновий, n -бромобензиліденгідразиновий, n -фторобензиліденгідразиновий та (піридин-3'-іл)метиліденгідразиновий радикали, наявність яких забезпечує імовірність прояву зазначених видів біологічного впливу. Імовірність прояву зазначених видів активностей для сполук № 3, № 4, № 5, № 8, № 9, № 12, № 13, № 15, № 16, № 18 та № 20 знаходилась в діапазоні ($0,5 < P_a < 0,7$). Уведення в молекули речовин (α -метил)- n -гідроксибензиліденгідразинового (сполука № 10) та (2' 3'-дигідроіндолон-2'-іліден-3') гідразинового (сполука № 11) призводить до зниження імовірності прояву спазмолітичної дії ($P_a < 0,5$).

Протизапальну активність з імовірністю ($P_a > 0,7$) виявляють 3 сполуки: № 1 – n -метилбензил-8-гідразинотеофілін, № 6 – 7- n -метилбензил-8- n -хлоробензиліденгідразинотеофілін та № 14 – 7- n -метилбензил-8- n -бромобензиліденгідразинотеофілін.

Субстанції № 3, № 7, № 9, № 18 та № 19, що містять n -метоксибензиліденгідразиновий, o -хлоробензиліденгідразиновий, n -амінодиметилбензиліденгідразиновий, n -етоксибензиліденгідразиновий та

(піридин-3'-іл)метиліденгідразиновий замісники з імовірністю ($0,5 < P_a < 0,7$). Для решти речовин протизапальна активність передбачена з коефіцієнтом вірогідності ($P_a < 0,5$). Імовірно, що механізм протизапальної дії досліджуваних похідних теофіліну обумовлений зниженням синтезу інтерлейкінів та прозапальних цитокінів.

Висока імовірність прояву сполуками анальгетичної активності ($P_a > 0,7$) передбачена для сполук № 9, № 14 та № 17. Для речовин № 1, № 2, № 3, № 6, № 7, № 13, № 15, № 16, № 18, № 19 та анальгетична дія зпрогнозована з імовірністю ($0,5 < P_a < 0,7$). Для сполук № 4, № 5, № 8, № 10, № 11, № 12 та № 20 імовірності прояву антиноцицептивної дії ($P_a < 0,5$).

Антигіпоксичну дію з імовірністю ($P_a > 0,7$) здатні виявляти 6 сполук: № 2, № 12, № 13, № 14, № 17, № 18 та № 20, які містять бензиліденгідразиновий, (5'-бром-2' 3'-дигідроіндолон-2'-іліден-3'), гідразиновий, (3,5'-диметилпіразоліл-1), n-бромбензиліденовий, n-фторбензиліденгідразиновий, етоксibenзиліденгідразиновий та (піридин-4'-іл)метиліденгідразиновий радикали. Заміна зазначених замісників у 8 положенні молекули призводить до зменшення імовірності прояву ними антигіпоксичної дії. Сполуки № 1 (7-n-метилбензил-8-гідразинотеофілін), № 6 (7-n-метилбензил-8-n-хлорбензиліденгідразинотеофілін) та № 7 (7-n-метилбензил-8-o-хлорбензиліденгідразинотеофілін) можуть виявляти антигіпоксичний вплив з імовірністю ($0,5 < P_a < 0,7$). Для решти сполук імовірність прояву антигіпоксичної дії знаходиться у діапазоні ($P_a < 0,5$).

Для 12 речовин зпрогнозована висока імовірність прояву бронхолітичної активності ($0,5 < P_a < 0,7$). Наявність у молекулі бензиліденгідразинового (сполука № 2), метоксибензиліденгідразинового (сполука № 3), (α-метил)-бензиліденгідразинового (сполука № 5), n-хлорбензиліденгідразинового (сполука № 6), метоксибензиліденгідразинового (сполука № 8), (α-метил)-n-гідроксибензиліденгідразинового (сполука № 10), (5'-бром-2' 3'-дигідроіндолон-2'-іліден-3') гідразинового (сполука № 12), бромбензиліденгідразинового (сполука № 14), n-гідроксибензиліденгідразинового, етоксibenзиліденгідразинового (сполука № 18), піридин-3'-іл)метиліденгідразинового (сполука № 19), (піридин-

4'-іл)метиліденгідразиного (сполука № 20) радикалів забезпечує високу імовірності прояву бронхолітичної активності сполук.

Більшість сполук, ймовірно, мають виявляти наступні види фармакологічної активності:

діуретичну – 8 речовин з 20 з діапазоном вірогідності ($P_a > 0,7$), 12 – з діапазоном вірогідності $0,5 < P_a < 0,7$;

салуретичну – 17 сполук ($0,5 < P_a < 0,7$); 3 сполуки ($P_a < 0,5$);

спазмолітичну – 7 сполук ($P_a > 0,7$), 11 сполук ($0,5 < P_a < 0,7$); 2 сполуки ($P_a < 0,5$);

протизапальну – 3 сполуки ($P_a > 0,7$), 7 сполук ($0,5 < P_a < 0,7$); 10 речовин ($P_a < 0,5$);

анальгетичну – 3 сполуки ($P_a > 0,7$), 10 сполук ($0,5 < P_a < 0,7$); 7 речовин ($P_a < 0,5$);

антигіпоксичну – 6 сполук ($P_a > 0,7$), 3 сполуки ($0,5 < P_a < 0,7$); 11 речовин ($P_a < 0,5$);

бронхолітичну – 3 сполуки ($P_a > 0,7$), 12 сполук ($0,5 < P_a < 0,7$), 5 речовин ($P_a < 0,5$).

Результати прогнозу біологічної активності синтезованих сполук представлено у таблиці 3 додатку А.

Аналіз результатів комп'ютерного прогнозу демонструє, що для всіх сполук було спрогнозовано стимулювальний вплив на сечовиділення. Більшість похідних гальмують активність фосфодіестерази, що призводить до накопичення цАМФ і цГМФ. Блокада α -1 АР посилює діурез і натрійурез внаслідок інгібування проксимальної каналцевої реабсорбції натрію. Стимулювання сечовиділення нирками пов'язане також зі зниженням реабсорбції іонів натрію в каналцях нирок, що супроводжується зменшенням реабсорбції води та збільшенням виділення сечі. Більшість цих речовин володіють салуретичною активністю та можуть бути застосовані для лікування захворювань урологічної патології як регулятори водно-електролітного балансу в організмі хворого.

Згідно комп'ютерного прогнозу більшість похідних 7-*n*-метилбензил-8-заміщених теофіліну проявили антагонізм до інтерлейкіну, що свідчить про наявність протизапальної та анальгетичної активності у цих речовин.

Для досліджуваних субстанцій також була спрогнозована периферична вазодилаторна активність, що свідчить про доцільність використання цих речовин

для розширення дистальних венул і артеріол. Зменшення венозного притоку до серця та системного судинного опору може сприяти зменшенню перед- і постнавантаження на міокард, покращувати функціональну діяльність серця, зменшувати потребу міокарда в кисні, знижувати АТ, розширювати кровоносні судини скелетних м'язів, нирок. Для цих сполук також була зпрогнозована протигіпертонічна та спазмолітична активності, відповідно. Важливою для сполук похідних теофіліну також була зпрогнозована бронхорозширювальна активність. Для всіх досліджуваних похідних 7-*n*-метилбензил-8-заміщених теофіліну зпрогнозовано збуджуючу активність на судинний і дихальний центри продовгуватого мозку. Для більшості сполук зпрогнозовано доцільність їх використання для лікування риніту. Сполуки ймовірно можуть виявити психостимулювальний вплив на функцію кори головного мозку.

Враховучи вищезазначене можна припустити, що існує велика вірогідність, що дані сполуки проявлять той чи інший вид біологічної активності в експерименті. На підставі результатів проведеного комп'ютерного прогнозу проведено фармакологічний скринінг 7,8-дизаміщених похідних теофіліну.

Висновки до розділу 3:

1. На підставі результатів проведеного комп'ютерного прогнозу встановлено, що з 20 вперше синтезованих 7,8-дизаміщених похідних теофіліну з високою імовірністю здатні виявляти наступні види дії: діуретичну – 20 сполук, салуретичну – 17, анальгетичну – 13, протизапальну – 10, спазмолітичну – 9 та антигіпоксичну – 9 речовин.

2. Отримані результати свідчать про широкі прогностичні можливості прояву комплексної фармакологічної активності у досліджуваних сполук і доцільність проведення скринінгових досліджень щодо встановлення зпрогнозованих видів біологічної активності цих речовин.

Результати експериментальних досліджень даного розділу наведено в таких публікаціях:

1. 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).

2. 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 ХХІХ наук.–практ. конф. з міжнар. уч., м. Харків, 15 берез. 2012 р. Х., 2012. С. 111. (Внесок дисертанта: проведення досліджень, статистична обробка результатів, оформлення тез до друку).*

РОЗДІЛ 4

СКРИНІНГОВЕ ДОСЛІДЖЕННЯ ПОХІДНИХ 7,8-ДИЗАМІЩЕНИХ 3-МЕТИЛКСАНТИНУ НА ДІУРЕТИЧНУ, СПАЗМОЛІТИЧНУ І СУПУТНІ ВИДИ АКТИВНОСТЕЙ

Метою даного розділу було проведення скринінгових досліджень нових хімічних похідних 7,8-дизаміщених теофіліну на виявлення діуретичної, анальгетичної, анти ексудативної, антигіпоксичної та спазмолітичної активностей, а також з'ясування залежності гострої токсичності та фармакологічної активності від будови радикалів у 8 положенні молекули досліджуваних сполук [37].

4.1 Дослідження гострої токсичності нових 7,8-дизаміщених похідних теофіліну

Результати проведених досліджень з вивчення гострої токсичності на мишах демонструють прояви токсичної дії через 10-30 хв. після введення токсичних доз досліджуваних речовин. Сполука № 18 викликала прояви збуджувальної дії, яка виражалася у посиленні рухової активності, появі тремору, фібрилярних тремтінь м'язів, а безпосередньо перед настанням смерті розвинулися клоніко-тонічні судоми. Крім того, спостерігалась підвищена чутливість на зовнішній подразник (больовий, звуковий), настороженість, збережений рефлекс задирання голови, при дотику до вусів. Зазначалося також незначне почастішання дихання, збліднення шкіри на відкритих ділянках (хвіст, вуха). Рогівка ока залишалася прозорою і вологою, зіниці звичайного діаметру, рогівковий рефлекс збережений. Особливо сильну збуджувальну дію виявляли сполуки № 3, № 7, № 17 та № 19. Після в/о введення цих сполук через 8-15 хв. спостерігалось різке збудження мишей з порушенням координації рухів. При цьому у деяких тварин з'являлася діарея, шерсть ставала неохайною, втрачала блиск. На тлі виразного підвищення загального тону м'язів розвивалися

фібриляції, клонічні судоми м'язів кінцівок. У деяких тварин хвіст був піднятий вгору, що свідчило про порушення рефлекторної функції соматичних спинальних мотонейронів.

Через 20-40 хв. збудження змінювалося пригніченням. Тварини ставали малорухливими і впадали в дрімоту. Згодом розвинулася м'язова гіпотонія, смерть наставала від зупинки дихання та припинення серцевої діяльності.

У результаті проведених досліджень не виявлено статистично достовірних змін маси тіла протягом 14 діб спостереження.

Досліджені сполуки № 5 та № 10 мають дещо іншу характеристику центральної дії. Після їх введення рухова активність тварин знижувалася, з'являлася задуха, температура тіла знижувалася в середньому на 1-2°C, колір шкіри на відкритих ділянках ставав синюшним, зменшувалися рогівкові рефлекси та швидкість реагування на зовнішні подразники. Це свідчило про наявність пригнічувального ефекту в спектрі фармакологічної дії цих речовин. Менш виразну заспокійливу дію виявляла сполука № 6. При її введенні спостерігалось зниження рухової активності, у деяких тварин була ослаблена реакція на голосовий та больовий подразник. Потім миші займали положення «на боці», судоми змінювалися окремими посмикуваннями кінцівок. Загибель наступала в різні періоди часу від 30 хв. до 72 год. після введення доз від 1500 до 2400 мг/кг маси тіла.

Окрім зміни функціонального стану ЦНС, спостерігали посилення діурезу, яке найбільш помітне при введенні сполук № 3, № 12, № 14.

Загиблих тварин та таких, що вижили протягом 14 діб, розтинали та проводили патоморфологічні дослідження, звертаючи при цьому увагу на кровонаповнення і масу внутрішніх органів та стан шлунково-кишкового тракту [37, 97].

Проведені дослідження не виявили достовірних змін маси серця, нирок і селезінки у мишей після одноразового введення вперше синтезованих 7,8-дизаміщених похідних теофіліну. Відмічали нормальне розташування внутрішніх органів. Величина органів звичайна, гіперемії і крововиливів в них не

спостерігалось. Випоту в черевній порожнині не зареєстровано. Шлунок і кишечник заповнені введеною масою. При огляді слизова шлунка дещо гіперемована ерозій і виразок не відмічалось. Складчастість помірно виражена.

Отже, гостра токсичність вперше синтезованих похідних 7-*n*-метилбензил-8-заміщених теофіліну у дослідах на мишах залежить від їх хімічної структури і знаходиться в інтервалі від 1255,0±18,4 мг/кг до 2180,0 мг/кг (таблиця 4 додатку А).

Найбільш токсичними речовинами серед 7,8-дизаміщених похідних теофіліну виявилися сполуки № 15 (ЛД₅₀ = 1255 мг/кг), № 16 (ЛД₅₀ = 1445 мг/кг) та № 17 (ЛД₅₀ = 1335 мг/кг) що містять у 8 положенні молекули (*a*-метил)-*n*-нітробензиліденгіdraзиновий, *n*-гідроксибензиліденгіdraзиновий та *n*-фторобензиліденгіdraзиновий радикали відповідно. Введення токсичних рівнів доз цих сполук викликало особливо сильне збудження на дослідних тварин. Дещо меншу токсичність, яка знаходилась у діапазоні від 1590 до 1755 мг/кг, демонстрували сполуки: № 7, № 8, № 11, № 12, № 18, № 19, № 20. Через 10-15 хв. після введення цих речовин спостерігалось різке збудження мишей з порушенням координації рухів. Загибель реєструвалася у різні періоди часу, однак більша частина тварин загинула в перші 2-6 год. після їх уведення.

Оцінюючи характер та виразність токсичного впливу речовин, а також швидкість настання летального ефекту, можна зробити висновок, що заміна хімічних радикалів у 8 положенні молекули похідних 7,8 дизаміщених теофіліну приводить до зниження їх токсичності, а саме: введення у 8 положення молекули *o*-хлорбензиліденгіdraзинового (сполука № 7), (*a*-метил)-*n*-метоксibenзиліденгіdraзинового (сполука № 8), (2',3'-дигідроіндолон-2'-іліден-3')гіdraзинового (сполука № 11), (5'-бромо-',3'дигідроіндолон-2'-іліден-3')гіdraзинового (сполука № 12), *n*-етоксибензиліденгіdraзинового (сполука №18), (піридин-3'-іл)метиліденгіdraзинового (сполука № 19) та (піридин-4'-іл)метиліденгіdraзинового (сполука № 20) радикалів замість (*a*-метил)-*n*-нітробензиліденгіdraзинового, *n*-гідроксибензиліденгіdraзинового та *n*-

фторобензиліденгідразинового робить дані речовини безпечнішими для організму.

Найтоксичнішою у досліджуваній групі речовин виявилася сполука № 15 (ЛД₅₀=1255,0 мг/кг), у 8 положенні молекули якої присутній (*a*-метил)-*n*-нітробензиліденгідразиновий радикал. Заміна цього радикалу приводить до зменшення гострої токсичності. Найбезпечнішою речовиною серед досліджених виявилась сполука № 14 (ЛД₅₀=2180,0 мг/кг).

Дані, наведені в таблиці демонструють, що досліджувані речовини у дослідах на мишах володіють загальнотоксичною дією та викликають на рівні токсичних доз гостре отруєння тварин. За класифікацією К. К. Сидорова [153] вперше синтезовані похідні 7-*n*-метилбензил-8-заміщених теофіліну (сполуки № 1-20) при одноразовому в/о введенні мишам належать до V класу практично нетоксичних речовин. Результати експериментів обробляли статистично методом варіаційного ряду за критерієм Стьюдента ($p < 0,05$).

4.2 Діуретична активність похідних 7,8-дизаміщених похідних теофіліну

Дослідження впливу 20 7,8-дизаміщених похідних теофіліну на функцію нирок за умов спонтанного діурезу проведено на білих щурах лінії Вістар за методом Є.Б. Берхіна (таблиця 5 додатку А).

У результаті дослідження встановлений виразний вплив більшості сполук на підвищення діурезу у щурів за умов спонтанного сечовиділення ($p < 0,05$). Об'єм сечовиділення тварин за 2 год. експерименту під впливом субстанцій № 1, № 4 та № 14 достовірно збільшився у 3,1; 2,8 та 3,2 рази відповідно у порівнянні з контролем. Сильний діуретичний ефект встановлений також для речовин № 6, № 7, № 15, № 16, № 20, які збільшували кількість виділеної сечі дослідних щурів в середньому у 2,5 рази у порівнянні з контролем ($p < 0,05$). Зазначені сполуки достовірно перевищували діуретичну активність ПП гіпотіазиду в експерименті. Найактивніша за діуретичною активністю субстанція № 14 за 2 год. спостереження перевищувала ефект гіпотіазиду в 1,7 рази.

Субстанції № 2, № 3, № 5, № 8, № 9, № 10, № 13, № 17, № 18, № 19 виявили помірну діуретичну активність, вони достовірно підвищували діурез у порівнянні з контролем, але поступалися ПП. Для двох сполук: № 11 та № 12 діуретичного ефекту на організм дослідних тварин не виявлено.

Аналіз залежності діуретичної активності від хімічної структури досліджуваних речовин демонструє, що найвиразніший вплив на збільшення сечовиділення у щурів чинять сполуки, які містять у 8 положенні молекули 7-*n*-метилбензил-8-заміщених теофіліну *n*-бромобензиліденгідразиновий (сполука № 14), гідразиновий (сполука № 1), *o*-гідроксибензиліденгідразиновий (сполука № 4), *n*-хлоробензиліденгідразиновий (сполука № 6), *o*-хлоробензиліденгідразиновий (сполука № 7), (α -метил)-*n*-нітробензиліденгідразиновий (сполука № 15), *n*-гідроксибензиліденгідразиновий (сполука № 16), (піридин-4'-іл)метиліденгідразиновий (сполука № 20) радикали. Заміна у 8-*n* положенні молекули вказаних радикалів на бензиліденгідразиновий, метоксибензиліденгідразиновий, (α -метил)-бензиліденгідразиновий, (α -метил)-*n*-метоксибензиліденгідразиновий, *n*-амінодиметилбензиліденгідразиновий, (α -метил)-*n*-гідроксибензиліденгідразиновий, (3,5'-диметилпіразоліл-1'), *n*-фторобензиліденгідразиновий, *n*-етоксибензиліденгідразиновий, (піридин-3'-іл)-метиліденгідразиновий (сполуки № 2, № 3, № 5, № 8, № 9, № 10, № 13, № 17, № 18 та № 19), призводить до зниження діуретичної активності. Введення у 8 положення молекули 7-*n*-метилбензил-8-заміщених теофіліну (2' 3'-дигідроіндолон-2'-іліден-3') гідразинового замісника (сполука № 11) та 5'-бром-2' 3'-дигідроіндолон-2'-іліден-3') гідразинового радикалу (сполука № 12) веде до зникнення діуретичної активності.

4.3 Анальгетична активність 7,8-дизаміщених похідних теофіліну

Відповідно до результатів комп'ютерного прогнозу видів фармакологічної активності за програмою PASS, досліджувані 7,8-дизаміщені похідні теофіліну з

високим ступенем ймовірності можуть проявляти анальгетичні властивості, що стало підставою для проведення даних досліджень.

В результаті в/о введення щурам 0,75% розчину оцтової кислоти через 20 хв. у тварин з контрольної групи розвинувся виразний больовий синдром у вигляді спазмів м'язів шлунку («корчів»), які проявлялися вигинаннями спини, скороченнями м'язів живота з витягуванням задніх кінцівок у середній кількості $26,9 \pm 2,3$. У групі профілактичного застосування диклофенаку натрію (за 30 хв. до моделювання патології) у дозі 8 мг/кг спостерігалось достовірне зниження кількості корчів у порівнянні з контролем до $14,6 \pm 1,41$ ($p < 0,05$) анальгетична активність становила 45,8%.

В ході дослідження анальгетичної активності похідних 7,8-дизаміщених теофіліну встановлено, що на тлі профілактичного застосування більшість досліджуваних сполук зменшують число оцтовокислих корчів у щурів у порівнянні з контролем ($p < 0,05$) (таблиця 6 додатку А). Найвищий знеболювальний ефект виявили сполуки № 1, № 4, № 7, № 15, № 16, № 18 та № 20. Найактивнішою виявилась сполука № 4, яка у дозі 20 мг/кг (1/100 ЛД₅₀) зменшувала число оцтовокислих корчів в 1,8 рази (43%). Субстанції № 1, № 7, № 15, № 16, № 18 та № 20 зменшували чутливість вісцеральних ноцицепторів та скорочували число корчів у щурів у середньому в 1,5 рази (33,5%) порівняно з показником у групі ПК ($p < 0,05$). Оскільки зазначений ефект сполук недостовірний по відношенню до ПП, то характер їхньої дії можна охарактеризувати як виразну тенденцію. Субстанції № 2, № 3, № 5, № 6, № 8, № 9, № 10, № 13, № 14, № 17 та № 19 також послаблювали виразність больового подразнення в експерименті. Їх активність варіювала в діапазоні від 10% (сполука № 2) до 28% (сполука № 14). Для двох сполук (№ 11 та № 12) анальгетичного впливу на чутливість рецепторів щурів до оцтовокислого подразнику не виявлено.

Аналіз залежності анальгетичної активності від хімічної структури демонструє, що наявність у 8 положенні молекули 7,8-дизаміщених похідних теофіліну *n*-метилбензилгідразинового (сполука № 1), *o*-гідроксибензиліденгідразинового (сполука № 4), *o*-хлоробензиліденгідразинового

(сполука № 7), *α*-метил-*n*-нітробензиліденгіdraзинового (сполука № 15), *n*-гідроксибензиліденгіdraзинового (сполука № 16), *n*-етоксибензиліденгіdraзинового (сполука № 18) та піридин-4'-ілметиліденгіdraзинового (сполука № 20) замісників надає речовинам виразних знеболювальних властивостей.

Субстанції, у будові молекул яких наявні бензиліденгіdraзиновий (сполука № 2), метоксибензиліденгіdraзиновий (сполука № 3), *α*-метилбензиліденгіdraзиновий (сполука № 5), *n*-хлоробензиліденгіdraзиновий (сполука № 6), *α*-метил-*n*-метоксибензиліденгіdraзиновий (сполука № 8), *n*-амінодиметилбензиліденгіdraзиновий (сполука № 9), *α*-метил-*n*-гідроксибензиліденгіdraзиновий (сполука № 10), 3',5'-диметилпіразоліл-1 (сполука № 13), *n*-бромобензиліденгіdraзиновий (сполука № 14) *n*-фторобензиліденгіdraзиновий (сполука № 17) та піридин-3'-ілметиліденгіdraзиновий (сполука № 19) радикали також виявляють виразні знеболювальні властивості. Заміна у 8-*n* положенні молекули 7,8-дизаміщених теофіліну зазначених замісників на 2',3'-дигідроіндолон-2'-іліден-3) гіdraзиновий (сполука № 11) та 5'-бром-2',3'-дигідроіндолон-2'-іліден-3) гіdraзиновий (сполука № 12), призводить до втрати речовинами анальгетичних властивостей.

4.4 Протизапальна активність 7,8-дизаміщених похідних теофіліну

Результати комп'ютерного прогнозу 7,8-дизаміщених теофіліну свідчать, що дані сполуки потенційно можуть виявляти протизапальні властивості, що стало підставою для проведення досліджень антиексудативної дії вказаних сполук.

Після субплантарного введення 1% розчину карагеніну мишам спостерігали виникнення виразного ексудативного процесу. Приріст маси лапки за 1 год. в групі КП склав $26,2 \pm 2,07\%$ порівняно з інтактною лапою. За профілактичного введення диклофенаку натрію у дозі 8 мг/кг спостерігалось достовірне зниження

набряку лапки у порівнянні з контролем до $12,3 \pm 2,35\%$ (антиексудативна активність становила 53,1%).

Результати досліджень з вивчення протизапальної (антиексудативної) активності нових сполук демонструють, що за умов профілактичного застосування більшість похідних 7-*n*-метилбензил-8-заміщених теофіліну виявили протизапальну (антиексудативну) активність в різній мірі (таблиця 7 додатку А).

Найбільший протинабряковий ефект в експерименті виявили сполуки № 1, № 14, № 15, № 16, № 17, № 18 та № 20. Зазначені речовини за умов профілактичного уведення (за 1 год. до моделювання патології) суттєво пригнічували розвиток набряку лапи мишей порівняно з групою КП ($p < 0,05$). Антиексудативна дія вказаних сполук знаходилась у діапазоні від 43,1% до 50,4% (в середньому 47%). Найсильніший антиексудативний ефект виявила сполука № 15, яка у дозі 13 мг/кг пригнічувала розвиток ексудативного набряку на 50,4% у порівнянні з КП ($p < 0,05$).

Аналіз залежності фармакологічної активності від хімічної структури вказує на те, що наявність у будові молекули 7-*n*-метилбензил-8-заміщених теофіліну гідразинового (сполука № 1), *n*-бромобензиліденгідразинового (сполука № 14), (α -метил)-*n*-нітробензиліденгідразинового (сполука № 15), *n*-гідроксибензиліденгідразинового (сполука № 16), *n*-фторобензиліденгідразинового (сполука № 17), *n*-етоксибензиліденгідразинового (сполука № 18) та 8-(піридин-4'-іл) метиліденгідразинового (сполука № 20) радикалів надає сполукам протизапальної дії.

Дещо меншу антиексудативну активність в експерименті виявили сполуки № 2 – № 10, № 13. Зазначені речовини пригнічували набряк лапки тварин в середньому на 25% у порівнянні з КП ($p < 0,05$). Речовини № 11, № 12 та № 19 майже не виявили протизапальної дії в експерименті. Виходячи з вищезазначеного можна припустити, що наявність в молекулі похідних теофіліну таких радикалів, як 2',3'-дигідроіндолон-2'-іліден-3') гідразиновий (сполука № 11), гідразиновий (сполука № 12) та (піридин-3'-іл)метиліденгідразиновий (сполука № 19), призводить до втрати протизапальної активності.

Результати проведених досліджень свідчать про те, що більшість досліджуваних похідних 7,8-дизаміщених теофіліну виявляють виразну протизапальну активність. Здатність пригнічувати розвиток ексудативного набряку в експерименті у деяких сполук був майже на рівні препарату порівняння диклофенаку натрію, що може бути цінним додатковим фармакологічним ефектом при створенні нового лікарського засобу комплексної дії.

4.5 Антигіпоксична активність 7,8-дизаміщених похідних теофіліну

Гіпоксія – це патологічний процес, який визначає розвиток різних захворювань людини. Гіпоксію характеризують як невідповідність енергопотребі клітини енергопродукції у системі мітохондріального окислювального фосфорилування [13, 14]. Такий стан може бути зумовлений різними чинниками: затримкою дихання, захворюваннями, малим вмістом кисню в атмосфері тощо. Внаслідок цього в життєво важливих органах розвиваються незворотні зміни. Найбільш чутливими до кисневої недостатності є центральна нервова система, м'язи серця, тканини нирок, печінки [13, 87, 112, 114].

Наслідками порушення продукції енергії у гіпоксичній клітині є розлади зовнішнього дихання, кровообігу у легнях, транспортувальної функції крові, порушення системного, регіонарного кровообігу та мікроциркуляції [99, 174]. Безпосередньою причиною патологічних станів є зниження надходження кисню у мітохондрії [184]. У результаті розвивається пригнічення мітохондріального окиснення, що призводить до пригнічення фосфорилування і викликає прогресуючий дефіцит АТФ, основного джерела енергії у клітині [14].

Антигіпоксанти справляють нормалізуючий вплив на енергетичний баланс у клітинах при гіпоксії та ішемії, стабілізують мітохондріальні мембрани, зменшують пригнічення дегідрогеназ циклу Кребса, запобігають відокремленню окиснення та фосфорилування, збільшують продукцію АТФ на одиницю споживаного дефіцитного кисню.

Згідно даних літератури було показано, що введення антиоксидантів має позитивний вплив на розвиток експериментального ГПН [42, 70, 71, 174]. Це дає можливість висловити припущення, що лікарські засоби з антиоксидантними тамембраностабілізуючими властивостями можуть бути застосовані для лікування ренальних форм ГПН [148, 164, 167].

У зв'язку з цим, дослідження в напрямку пошуку речовин з антигіпоксичною активністю для корекції ренальних порушень є актуальним. У наступній серії досліджень було проведено визначення антигіпоксичної активності 7,8-дизаміщених теофіліну проведено на білих щурах лінії Вістар на моделі гіпоксії з гіперкапнією (в замкнутому просторі). Отримані результати наведені в таблиці 8 додатку А.

В результаті проведених досліджень встановлено, що похідні 7-*n*-метилбензил-8-заміщених теофіліну збільшували тривалість життя щурів в умовах гострої нормобаричної гіпоксії з гіперкапнією. Найбільшу антигіпоксичну активність виявила сполука № 8, яка в дозі 17,0 мг/кг продовжила тривалість життя щурів в умовах гострої нормобаричної гіпоксії на 109,2% і перевищила препарат порівняння мексидол на 38% ($p < 0,05$). Активність сполуки № 14 також перевищувала антигіпоксичну дію мексидолу на 10,3%. Сполуки № 11 та № 16 продовжували тривалість життя щурів на рівні ПП. Субстанції №10, № 12, № 15 та № 18 також виявили високу антигіпоксичну активність на рівні 53%, 28,5%, 45% та 56,9% відповідно. Для чотирьох сполук: № 9, № 13, № 17 та № 19 антигіпоксичного впливу не виявлено.

Аналізуючи залежність антигіпоксичної активності від хімічної будови досліджуваних речовин встановлено, що наявність в будові молекули 7,8-дизаміщених теофіліну α -метил-*n*-метоксибензиліденгідразинового (сполука № 8), 2',3'-дигідроіндолон-2'-іліден-3')гідразинового (сполука № 11), *n*-бромобензиліденгідразинового (сполука № 14) та *n*-гідроксибензиліденгідразинового (сполука № 16) забезпечує наявність високої антигіпоксичної активності. У речовин, які містять у 8-положенні *n*-амінодиметилбензиліденгідразиновий, гідразиновий, (α -метил)-*n*-

нітробензиліденгідразиновий та n-етоксибензиліденгідразиновий радикали також наявний антигіпоксичний ефект. Заміна зазначених радикалів на n-амінодиметилбензиліденгідразиновий, 3',5'-диметилпіразоліл-1', n-фторобензиліденгідразиновий та (піридин-3'-іл)метиліденгідразиновий призводить до втрати антигіпоксичних властивостей.

Аналіз отриманих даних дає підстави припустити, що збільшення тривалості життя дослідних щурів в умовах гострої нормобаричної гіпоксії під впливом досліджуваних речовин та препарату порівняння, є результатом поліпшення метаболічних процесів та підвищення рівня АТФ у дихальному ланцюгу мітохондрій.

Отримані результати свідчать, що антигіпоксичні властивості досліджуваних речовин можуть бути цінним додатковим фармакологічним ефектом при їх застосуванні у клінічній практиці.

За підсумком результатів досліджень з вивчення діуретичної, анальгетичної, протизапальної та антигіпоксичної активності, були виявлені 8 речовин-лідерів. Виходячи з цього, дослідження спазмолітичної дії проведене для 8 речовин: № 1, № 4, № 8, № 14, № 15, № 16, № 18, № 20. Результати досліджень узагальнено в таблиці 9 додатку А.

4.6 Спазмолітична активність речовин-лідерів серед 7,8-дизаміщених похідних теофіліну

Однією з важливих фармакологічних властивостей майбутнього препарату з нефропротекторною дією є його здатність усувати спазми сечовивідних шляхів, а за рахунок цього зменшувати больовий синдром, покращувати відходження сечових конкрементів та полегшувати симптоматику захворювання.

Спазмолітичні лікарські засоби – це засоби, що мають здатність послаблювати або повністю усувати спазми гладеньких м'язів внутрішніх органів (бронхів, сечо- та жовчовивідних шляхів, шлунка, кишківника тощо) та кровоносних судин. Міотропні спазмолітики виявляють пряму дію на

гладеньком'язові клітини, змінюючи іонний баланс клітинної мембрани. Вони використовуються при захворюваннях шлунково-кишкового тракту, урологічних захворюваннях, у гінекології тощо [32, 33, 67]. Незважаючи на широкий арсенал спазмолітичних засобів, доступних сьогодні для використання у медичній практиці, актуальним є пошук нових, більш ефективних та менш токсичних препаратів. Зважаючи на вищезазначене, у наступній серії досліджень проведене вивчення спазмолітичної дії 8 субстанцій-лідерів з групи похідних 7,8-дизаміщених теофіліну, які відібрали за результатами попереднього фармакологічного скринінгу.

Згідно з даними літератури, у середньому в інтактних тварин вугілля за 10 хв. просувається на 30% загальної довжини кишечника. При експозиції вугілля, що складає 40 хв., довжина частини кишечника, заповненої пофарбованим вмістом, збільшується у середньому до 60-70%.

У ході проведення експерименту встановлено, що у тварин з групи інтактного контролю шлях контрасту за 20 хв. у середньому складав 44,8% від загальної довжини кишечника (таблиця 10 додатку А). Після введення розчину барію сульфату, який викликав спазм м'язів ШКТ, шлях контрасту скоротився на 19,2% порівняно з ІК.

У результаті проведених досліджень встановлено, що досліджувані сполуки чинять виразний спазмолітичний ефект на фоні спазму м'язів кишечника, викликаних в/о введенням мишам розчину барію сульфату.

Найактивнішою за спазмолітичним ефектом речовиною виявилась сполука № 14, яка в дозі 22 мг/кг виявила послаблювальний вплив на мускулатуру кишечника мишей у досліді. Шлях контрастної маси кишечником за 20 хв. під впливом вказаної субстанції збільшився у 2,6 рази у порівнянні з КП та на 48,9% у порівнянні з ІК, у той час, як під впливом спазмалгону – лише у 2,4 рази та на 35,9% відповідно ($p < 0,05$) (таблиця 10, додаток А). Субстанції № 4, № 16, № 18 та № 20 також чинили виразний вплив та послаблювали перистальтику кишечника мишей у порівнянні з КП. Шлях контрастної маси під впливом зазначених

речовини достовірно збільшився в середньому у 2,2 рази порівняно з КП та на 22,7%, 35,5%, 25,9% та 27,9% відповідно порівняно з ІК ($p < 0,05$).

Решта досліджуваних сполук: № 1, № 8 та № 15 також були достатньо активними за показником спазмолітичної дії на перистальтику кишечника тварин у досліді, в результаті їх застосування шлях контрасту достовірно збільшився у порівнянні з КП та сягав рівня ІК ($p < 0,05$).

Отже, для субстанцій № 1, № 4, № 8, № 14, № 15, № 16, № 18 та № 20 з групи похідних 7,8-дизаміщених теофіліну встановлено виразний вплив на перистальтику кишечника мишей за умов спазму, викликаного введенням барію сульфату. Зазначені речовини послаблюють моторику шлунка та кишечника на рівні препарату порівняння спазмалгону, а сполука № 14 навіть перевищувала його ($p < 0,05$).

Аналіз результатів проведених скринінгових досліджень 7,8-дизаміщених похідних теофіліну на діуретичну, анальгетичну, антиексудативну, антигіпоксичну та спазмолітичну активності демонструє, що більшість досліджуваних субстанцій є біологічно активними і виявляють вплив на організм за вказаними видами активності в різній мірі. В ході досліджень для подальшого поглибленого вивчення виявлено найактивнішу речовину – сполуку № 14 (7-п-метилбензил-8-п-бромобензиліденгідразинотеофілін), яка у дозі 22 мг/кг (1/100 ЛД₅₀) нормалізувала функціональний стан організму експериментальних тварин за умов патології.

Висновки до розділу 4:

1. Гостра токсичність (ЛД₅₀) 20 похідних 7,8-дизаміщених теофіліну при в/о введенні мишам у діапазоні доз 1000-5000 мг/кг, знаходилась у межах від 1255,0 до 2180,0 мг/кг. У відповідності до класифікації К. К. Сидорова дані сполуки відносяться до V класу практично нетоксичних речовин.

2. У дослідженні діуретичної активності за методикою Є. Б. Берхіна виявлена висока активність майже у всіх сполук. Сполука-лідер № 14 у дозі 22 мг/кг виявила стимулювальний вплив на сечовиділення тварин збільшуючи діурез у 3,2 рази порівняно з контролем ($p < 0,05$) та перевищувала ефект гіпотіазиду в 1,7 разу ($p < 0,05$).

3. На моделі оцтовокислих корчів більшість речовин виявляли знеболювальний ефект. Найактивніша сполука № 4 у дозі 20 мг/кг зменшувала число оцтовокислих корчів в 1,8 рази (43%) у порівнянні з контролем ($p < 0,05$) та несуттєво (4,6%) поступалася ефекту диклофенаку натрію.

4. На моделі карагенінового набряку у мишей виявлено здатність основної кількості сполук виявляти антиексудативну активність. Найсильніший ефект виявила сполука № 15, яка в дозі 13 мг/кг пригнічувала розвиток ексудативного набряку на 50,4% у порівнянні з контролем, та на 5,4% поступалася диклофенаку натрію.

5. На моделі гострої нормобаричної гіпоксії з гіперкапнією встановлено, що більшість досліджуваних речовин виявляють антигіпоксичну активність. Навиразнішу дію виявила сполука № 8, яка в дозі 17 мг/кг продовжувала тривалість життя щурів в умовах гіпоксії на 109,2% і перевищувала препарат порівняння мексидол на 38% ($p < 0,05$).

6. На моделі спазму кишечника, викликаного в/ш введенням розчину сульфату барію, найвищу активність серед 8 сполук-лідерів, встановлених за результатами попереднього скринінгу, виявила субстанція № 14, яка послаблювала тонус кишечника в 2,6 рази порівняно з контролем та на 6% перевищувала дію спазмалгону ($p < 0,05$).

7. В результаті вивчення гострої токсичності та біологічної активності речовин встановлена залежність токсикологічних характеристик, сили та виразності фармакологічної дії від хімічної структури сполук, а саме: будови радикалу у 8 положенні молекули.

8. В результаті проведених скринінгових досліджень для подальшого вивчення специфічної активності та нешкідливості було відібрано сполуку-лідера № 14 – 7-п-метилбензил-8-п-бромобензиліденгідразинотеофілін (умовна назва бенофілін).

Результати експериментальних досліджень даного розділу наведено в таких публікаціях:

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. Євсєєва. *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., 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)*.

5. 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 дії: 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).

6. 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. Х., 2011. С.313–314. (Внесок дисертанта: у співавторстві проведення експериментальних досліджень, статистична обробка результатів, оформлення тез до друку).*

7. 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. Х., 2013. С.157–158. (Внесок дисертанта: проведення біохімічних досліджень, статистична обробка результатів, оформлення тез до друку).*

8. 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. Х., 2013. С.168. (Внесок дисертанта: проведення експериментальних досліджень, систематизація результатів, оформлення тез до друку).*

9. 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. Х., 2013. С. 239–243. (Внесок дисертанта: проведення експериментальних досліджень, статистична обробка результатів, оформлення тез до друку).*

10. 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*

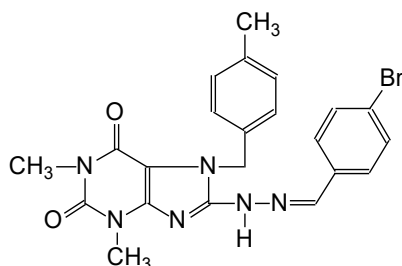
2014 р. Х., 2014. С. 31. *(Внесок дисертанта: проведення біохімічних досліджень, узагальнення, систематизація та статистична обробка результатів, оформлення тез до друку).*

РОЗДІЛ 5

ДОСЛІДЖЕННЯ ДІУРЕТИЧНОЇ АКТИВНОСТІ СПОЛУКИ-ЛІДЕРА ТА ВИЗНАЧЕННЯ ДЕЯКИХ МЕХАНІЗМІВ ДІУРЕТИЧНОЇ ДІЇ

У результаті проведеного комп'ютерного прогнозу, фармакологічного скринінгу на виявлення діуретичної, анальгетичної, антиексудативної, антигіпоксичної та спазмолітичної активностей та аналізу залежності фармакологічної активності від хімічної будови в ряду похідних теофіліну для доклінічного вивчення була відібрана сполука № 14 – 7-*n*-метилбензил-8-*n*-бромобензиліденгідразинотеофілін (умовна назва бенофілін), яка виявила виразну діуретичну активність.

Структурна формула бенофіліну



Брутто формула – $C_{22}H_{20}N_6O_2Br$; Молекулярна маса – 481,35

ЛД₅₀ при внутрішньочеревному введенні мишам – $2180,0 \pm 36,7$ мг/кг

Для вивчення специфічної активності відібрана сполука бенофілін була напрацьована в умовах напівзбільшеного синтезу на кафедрі біологічної хімії і лабораторної діагностики Запорізького державного медичного університету під керівництвом д. фарм. н., професора М. І. Романенка.

Бенофілін являє собою білий кристалічний порошок без запаху, гіркою смаку, легко розчинний в етанолі, ацетоні, диметилформаміді, диметилсульфоксиді, практично не розчинний у воді та ефірі, температура плавлення 208-210°C.

5.1 Вплив бенофіліну на спонтанний діурез у щурів

Вплив бенофіліну на спонтанний діурез досліджено за методом Є. Б. Берхіна [14] у дослідах на білих щурах-самцях лінії Вістар масою 140-180 г. Результати отриманих експериментальних даних наведені в таблиці 5.1.

Таблиця 5.1

Вплив бенофіліну у широкому діапазоні доз і гіпотіазиду в дозі 25 мг/кг на спонтанний діурез у щурів (n=7)

Групи тварин	Препарати	Доза, мг/кг	Діурез, мл	Діуретична активність, %
1	Контроль	–	2,9±0,1	–
2	Бенофілін	5,5	4,8±0,1 [*]	66,2
3		11	5,4±0,1 ^{**}	86,2
4		22	6,4±0,2 ^{*/**}	121,7
5		33	7,9±0,1 ^{*/**}	171,4
6		44	6,5±0,2 ^{*/**}	124,1
7		55	5,4±0,9 [*]	86,2
8	Гіпотіазид	25,0	5,1±0,2 [*]	76,6

Примітки:

1. * – відмінності статистично значущі щодо контролю, $p < 0,05$;
2. ** – відмінності статистично значущі щодо гіпотіазиду, $p < 0,05$;
3. n – кількість тварин у групі.

На підставі проведених досліджень була розрахована ЕД₅₀ для бенофіліну, яка склала 35 мг/кг.

Аналіз отриманих даних демонструє, що бенофілін у дозах 5,5; 11; 22; 33; 44 і 55 мг/кг збільшує виділення сечі за 4 год у межах від 66,2% до 171,4%. Препарат порівняння гіпотіазид у дозі 25 мг/кг збільшує водний діурез за 4 год. на 76,6%. Таким чином, при водному навантаженні бенофілін у 2,4 рази перевищує діуретичну дію гіпотіазиду у дозі 25 мг/кг.

На наступному етапі проведено дослідження впливу одноразового введення бенофіліну на добову екскрецію сечі та електролітів, питну активність, клубочкову фільтрацію та канальцеву реабсорбцію (за рівнем ендogenous креатиніну). Експериментальні дані наведені в таблиці 11 додатку А.

Встановлено, що бенофілін у дозі 35 мг/кг суттєво не впливав на споживання води у щурів, тоді як спонтанний діурез збільшився у 2,6 разу (158,3%) у порівнянні з контролем. Бенофілін на 78,3% активніше стимулював сечовиділення у щурів у порівнянні з гіпотіазидом ($p < 0,05$). В результаті його застосування екскреція креатиніну та ШКФ зросли на 17,8% та 9% відповідно, що свідчить про покращання фільтраційної функції нирок. Вірогідно підвищувалась також екскреція нирками іонів натрію на 51,8% ($p < 0,05$). Рівень екскреції іонів калію був на рівні контролю.

Під впливом препарату порівняння гіпотіазиду в дозі 25 мг/кг спонтанний діурез у щурів підвищився на 80% ($p < 0,05$), екскреція креатиніну та ШКФ залишилися на рівні контролю. Екскреція іонів натрію зросла на 40 %, калію – на 25 % порівняно з контролем ($p < 0,05$).

Таким чином, бенофілін збільшує спонтанний діурез за рахунок покращання фільтраційної функції нирок і підвищення екскреції іонів натрію. Зазначений ефект пов'язаний зі здатністю бенофіліну підвищувати ШКФ, зменшувати реабсорбцію іонів натрію та води. За сечогінним ефектом бенофілін перевищує гіпотіазид. Перевагою бенофіліну перед гіпотіазидом є його менша калійуретична активність.

5.2 Вплив бенофіліну на екскрецію сечі та електролітів у щурів за умов водного та сольового навантаження

Наступним етапом дослідження стало вивчення деяких сторін механізму впливу бенофіліну на екскреторну функцію нирок за умов водного та сольового навантаження.

Результати експериментальних даних приведені на рис. 1-3 додатку Б.

Проведений аналіз демонструє, що при водному навантаженні бенофілін в дозі 35 мг/кг викликав у щурів збільшення екскреції креатиніну на 15,6%, водного діурезу на 164,3%, що на 89,3% вище сечогінного ефекту гіпотіазиду. Натрійуретичний ефект бенофіліну також перевищує дію гіпотіазиду на 14,4%. Позитивним ефектом бенофіліну є те, що він на 11,7% менше виводить із організму щурів іонів калію у порівнянні з гіпотіазидом у дозі 25 мг/кг.

Під впливом бенофіліну за умов сольового навантаження щурам діурез збільшився у 2,9 рази, екскреція креатиніну зросла на 18%, натрію – на 63%, калію – на 9,6% відносно контролю ($p < 0,05$).

Під впливом гіпотіазиду у щурів із сольовим навантаженням діурез збільшився на 88,9%, екскреція іонів натрію – на 51,9%, калію – на 26,2%.

Таким чином, бенофілін на інтактних щурах виявляє сечогінний і натрійуретичний ефекти та перевищує активність гіпотіазиду. Перевагою бенофіліну є його менш виражений калійуретичний ефект, оскільки втрата великої кількості цього електроліту є негативною стороною дії салуретичних діуретичних препаратів через можливість викликати гіпокаліємію.

5.3 Вплив бенофіліну у дозі 35 мг/кг на діяльність нирок при тривалому введенні.

У наступній серії досліджень проведено вивчення впливу бенофіліну на функцію нирок при тривалому в/ш введенні (щодня протягом 14 діб) на білих

щурах лінії Вістар. Результати проведених досліджень наведені в таблиці 12 додатку А.

Аналіз отриманих даних демонструє, що бенофілін викликає стимуляцію екскреторної функції нирок та збільшення діурезу у щурів в межах від 121,1% до 148,1% ($p < 0,05$), а також підвищує виведення ендogenous креатиніну з сечею в діапазоні від 3,8% до 23,5%, що свідчить про покращання фільтраційної функції нирок.

Слід відзначити, що салуретичний ефект бенофіліну виявлявся збільшенням екскреції з сечею натрію нирками в межах від 10,8% до 31,6% ($p < 0,05$), що свідчить про зменшення реабсорбції натрію в проксимальних і дистальних каналцях нефронів.

При тривалому в/ш введенні проведено поглиблене вивчення впливу бенофіліну на вміст ендogenous креатиніну, ШКФ, екскреції іонів натрію і калію у плазмі крові, та ВФН щурів в умовах водного навантаження.

Відомо, що при проведенні досліджень в умовах водного навантаження виявляється здатність нирок до екстреної регуляції гомеостатичних параметрів організму. В результаті проведених досліджень встановлено, що після в/ш введення бенофіліну в дозі 35 мг/кг за умов об'ємної стимуляції (введення в шлунок в об'ємі 3% від маси тіла водогінної води) виявляв водний діуретичний ефект (таблиця 13 додатку А): ВФН посилилась в межах від 99,4%, до 163,1% ($p < 0,05$), екскреція сечі зросла з $3,14 \pm 0,12$ мл/100 г (вихідний стан) до $8,26 \pm 0,28$ мл/100 г на 9 добу при тривалому введенні.

Під впливом бенофіліну в плазмі крові виявили зменшення вмісту іонів натрію на 14 % порівняно з контролем ($p < 0,05$) вже на 5 добу експерименту, калій плазми залишався на рівні контролю.

На підставі отриманих результатів дослідження впливу курсового введення бенофіліну на ВФН щурів в умовах водного навантаження розраховували ШКФ. Під дією бенофіліну зареєстровано збільшення ШКФ в межах від 74,8% до 101,8% ($p < 0,05$), що свідчить про покращання видільної функції нирок у щурів протягом проведення тривалого експерименту.

За результатами проведених досліджень впливу бенофіліну на ВФН розраховували реабсорбцію води, фільтраційний заряд натрію, реабсорбцію натрію та екскрецію ендogenous креатиніну. Одержані результати наведені в таблиці 14 додатку А.

На 14 добу спостерігали зменшення реабсорбції води у вихідному стані при курсовому внутрішньошлунковому введенні бенофіліну з 94,4% до 93%, що свідчить про збільшення об'єму сечовиділення, а не довгострокові метаболічні зміни. Крім того, спостерігали збільшення фільтраційного заряду натрію в межах від 28,2 мкМ/хв у вихідному стані інтактних щурів до 53,37 мкМ/хв під впливом бенофіліну у дослідних щурів на 14 добу. Зменшення реабсорбції натрію в каналцях нефронів спостерігали у піддослідних щурів з 93,14 % у вихідному стані до 90,65 % на 14 добу при курсовому застосуванні бенофіліну. Збільшення екскреції креатиніну при в/ш введенні бенофіліну виявилось в усіх серіях дослідів, що свідчить про покращання ВФН у щурів.

Після припинення введення бенофіліну спостерігали зменшення діурезу, що свідчить про пригнічення фільтраційної функції нирок і екскреції електролітів, а через 2 доби після припинення введення бенофіліну діурез, екскреція креатиніну та іонів натрію нормалізувалась до вихідних величин. Виражений діуретичний ефект бенофіліну пов'язаний з пригніченням реабсорбції натрію в каналцях нефрону і збільшенням його екскреції з сечею.

Таким чином, бенофілін при тривалому введенні у щурів виявив виразний діуретичний і натрійуретичний ефекти, зменшував реабсорбцію води, підвищував фільтраційний заряд і реабсорбцію натрію в проксимальних і дистальних каналцях нирок та покращував видільну функцію нирок.

5.4 Вплив бенофіліну у дозі 35 мг/кг на об'єм внутрішньосудинної рідини і вміст електролітів у плазмі

Дослідження впливу бенофіліну у дозі 35 мг/кг на об'єм внутрішньосудинної рідини і вміст електролітів у плазмі щурів проводили після в/ш введення досліджуваної речовини протягом 14 діб. На 15 день у щурів визначали об'єм внутрішньосудинної рідини за синім Еванса (Т-1824). Одержані результати виражали у відсотках до маси тіла. В плазмі крові визначали концентрацію іонів натрію і калію. Отримані результати наведені в таблиці 5.2.

Таблиця 5.2

Вплив бенофіліну у дозі 35 мг/кг на об'єм внутрішньосудинної рідини і вміст електролітів у плазмі крові (n=7)

Умови дослідів	Доза, мг/кг	Об'єм рідини, % до маси тіла	Креатинін, мкмоль/л	Натрій, мкмоль/л	Калій, мкмоль/л
Контроль	–	5,30 ± 0,09	37,8±1,21	134,1±1,13	5,1±0,12
Бенофілін	35,0	4,96± 0,08	36,1 ±1,12	124,4±1,23	4,9±0,11
Гіпотіазид	25,0	5,08± 0,06	36,8±1,23	126,4±1,09	4,8±0,10

Примітки:

- * $p < 0,05$ у порівнянні з контролем.
- n – кількість тварин у групі.

Аналіз даних свідчить, що бенофілін при введенні протягом 14 діб не викликає суттєвого зменшення об'єму внутрішньосудинної рідини, вмісту креатиніну та концентрації іонів натрію і калію у плазмі крові щурів.

Під впливом гіпотіазиду спостерігали незначне зменшення об'єму внутрішньосудинної рідини на 4,2%, та зменшення вмісту креатиніну на 2,6% а також зниження концентрації іонів натрію у плазмі крові на 5,7% і калію – на 5,9%.

Таким чином, проведені дослідження свідчать, що бенофілін достовірно збільшував клубочкову фільтрацію і сечовиділення, не викликаючи при цьому дегідратації (зневодення організму). Даний факт є позитивним, оскільки зневоднення призводить до тяжких наслідків, які пов'язані зі зменшенням об'єму циркулюючої крові, венозного повернення і серцевого викиду з наступним порушенням периферичного кровотоку і циркуляторною гіпоксією, гемоконцентрацією з уповільненням кровотоку, посиленням циркуляторних розладів і підвищенням в'язкості та згортання крові (порушення мікроциркуляції, колапс). Дегідратація особливо обтяжує стан пацієнтів похилого віку, хворих з ураженням серця, нирок, цирозом печінки. Порушення кровообігу призводить до гіпоксії тканин, яка впливає передусім на ЦНС.

Висновки до розділу 5:

1. В ході дослідження сечогінної дії бенофіліну в широкому діапазоні доз, було визначено його середню ефективну дозу за діуретичною активністю, яка становить 35 мг/кг.

2. Бенофілін в дозі 35 мг/кг (ЕД₅₀) в умовах спонтанного діурезу перевищує сечогінний ефект гіпотіазиду на 78,3%, посилює ШКФ та виявляє виразний натрійуретичний ефект.

3. Бенофілін здатний покращувати функціональну активність нирок як за умов спонтанного сечовиділення так і в умовах водного та сольового навантаження, не викликаючи при цьому дегідратації організму. Перевагою бенофіліну перед гіпотіазидом є значно менша його калійуретична активність.

Результати експериментальних досліджень даного розділу наведено в таких публікаціях:

1. 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*).

2. Матвійчук О. П. Вплив бенофіліну на спонтанний діурез та екскрецію електролітів після водного та сольового навантаження. *Фармакологія, фізіологія і 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)*.

3. 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)*.

РОЗДІЛ 6

ДОСЛІДЖЕННЯ НЕФРОПРОТЕКТОРНОЇ ДІЇ СПОЛУКИ-ЛІДЕРА

6.1 Визначення нефропротекторної дії сполуки-лідера на моделі гострого токсичного ураження нирок етиленгліколем

ГПН – потенційно оборотний синдром, який характеризується швидким розвитком та порушенням гомеостатичної функції нирок. Клінічні прояви ГПН виявляються порушенням водно-електролітного обміну та кислотно-лужного балансу, наростанням азотемії з розвитком уремії, патологічним ураженням практично всіх органів і систем. Одним з найнебезпечніших нефротоксинів є етиленгліколь.

Токсичний вплив етиленгліколю на паренхіму нирок здійснюється за рахунок впливу його метаболітів (гліколевої, гліоксилової та щавелевої кислот), які і викликають ГНН. Характерним клінічним ознаками етиленгліколевої ГНН є макрогематурія, оліго- або анурія, гіперкреатиніємія, гіперпротеїнурія, інтенсифікація процесів ПОЛ та симптоми ураження ЦНС (атаксія, кома) [129]. При відсутності або несвоєчасності адекватної терапії приблизно 50 % випадків ГПН закінчується летально.

У ході проведення дослідження через 30 хв. після ін'єкції етиленгліколю у тварин групи КП виникла макрогематурія. На 3-ю год. спостереження спостерігались атаксія, арефлексія, бічне положення тварин, кома. Протягом перших 12 год. спостереження всі тварини з групи КП загинули (таблиця 6.1).

При застосуванні бенофіліну вже з перших 12 год. гострої патології вірогідно знижувався показник летальності. На момент закінчення експерименту (5 доба спостережень) зареєстровано найвищу виживаність – 50%. При використанні референс-препарату хофітолу летальність на момент закінчення експерименту склала 67%. Цей показник достовірно перевищував дані групи КП, але хофітол поступався за ефективністю бенофіліну. Покращення виживаності

тварин доводить наявність нефропротекторних властивостей у досліджуваній речовини.

Таблиця 6.1

Летальність щурів за умов гострої етиленгліколевої ГНН (n=6)

Група	1 доба	2 доба	3 доба	4 доба	5 доба
	загинуло/ вижило	загинуло/ вижило	загинуло/ вижило	загинуло/ вижило	загинуло/ вижило
Інтактний контроль	0/6	0/6	0/6	0/6	0/6
Контрольна патологія	6/6 (100%)	—	—	—	—
ГНН+Бенофілін 35 мг/кг	2/4 (33%)*	3/3 (50%)*	3/3 (50%)*	3/3 (50%)*	3/3 (50%)*
ГНН+Хофітол 70 мг/кг	3/3 (50%)*	4/2 (67%)*	4/2 (67%)*	4/2 (67%)*	4/2 (67%)*

Примітка:

1. у числівнику – кількість тварин, що загинули;
2. у знаменнику – загальна кількість у групі;
3. у дужках % тих, що загинули;
4. *- вірогідні відмінності з контролем ($p < 0,05$)

Олігурична стадія етиленгліколевої ГНН характеризується зменшенням діурезу більше, ніж у 2 рази, що пов'язано із зниженням ШКФ майже у 5 разів та достовірним зниженням канальцевої реабсорбції на 1% порівняно з аналогічним показником інтактних щурів.

Результати дослідження функціонального стану нирок наведені в таблиці 15 додатку А.

Розвиток патології супроводжується суттєвим зменшенням здатності нирок до виведення азотовмісних продуктів обміну, що призводить до

виникнення гіперазотемії та уремії. Рівень креатиніну і сечовини в сироватці крові щурів збільшується у 1,3 та 5,5 разу відповідно, а екскреція із сечею достовірно знижується у 1,5 та 2,3 разу відповідно порівняно з показниками тварин з групи інтактного контролю. На ступінь пошкодження нирок також вказує різке зниження кліренсу сечовини у 21,5 разу у порівнянні з контролем.

На прогресування етиленгліколевої ГНН вказує розвиток протеїнурії, яка навіть в умовах значного зниження спонтанного сечовиділення характеризується значно більшою втратою білка із сечею (у 3,2 рази) при одночасному достовірному зниженні цього показника на 20 % у сироватці крові порівняно з рівнем інтактних тварин.

Застосування досліджуваної речовини сприяло достовірній нормалізації порушеного функціонального стану нирок за всіма вищезазначеними показниками, окрім рівня білку в сечі, який мав тенденцію до зниження (таблиця 15 додатку А).

Значне відновлення діурезу при застосуванні бенофіліну на фоні етиленгліколевої ГНН характеризується його підвищенням у 2,3 разу порівняно з рівнем у групі патології та навіть на 10,7% щодо рівня ІК. Проте за цим показником бенофілін несуттєво (на 8%) поступається референс-препарату хофітолу.

Така динаміка діурезу на фоні бенофіліну пов'язана із збільшенням ШКФ у 5,4 разу та достовірною нормалізацією каналцевої реабсорбції, яка лише на 0,14 % не досягає норми порівняно з етиленгліколевою ГНН.

Зазначені показники вказують на нормалізувальний вплив бенофіліну на азотовидільну функцію нирок. Гіпоазотемічна активність бенофіліну характеризується достовірним зниженням концентрації креатиніну та сечовини сироватки крові у 1,2 та 6,5 разу з одночасним підвищенням їх виведення з сечею у 1,4 та 1,9 разу відповідно порівняно з групою КП.

Інформативним показником за умов експерименту був кліренс сечовини, який на фоні бенофіліну достовірно нормалізувався. Вказаний показник був дещо

нижчим за такий у групі ІК, але порівняно з етиленгліколевою ГНН підвищився у 18 разів.

Загальна гіпоазотемічна активність бенофіліну за всіма вивченими показниками також перевищує аналогічний ефект хофітолу: за вмістом креатиніну в середньому на 4–12 %, за динамікою змін рівня сечовини – у 1,5–2,6 разу, а за кліренсом сечовини – у 4 разу порівняно з референтним препаратом.

Важливим критерієм нефропротекторного ефекту бенофіліну можна також вважати його здатність запобігати втраті білка із сечею як одній з принципових ознак ниркової недостатності. Бенофілін нормалізував вміст загального білка сироватки крові майже до рівня ІК ($66,4 \pm 1,10$ г/л) ($P \leq 0,05$). В той же час у тварин з групи застосування хофітолу спостерігалася лише невелика тенденція до збільшення рівня білка сироватки, який залишався майже на рівні КП ($57,8 \pm 1,80$ г/л). Зниження вмісту білка у сечі тварин під впливом бенофіліну та хофітолу мало характер тенденції – на 26,1 % та 8,7 % відповідно.

Таким чином, за результатами експериментального аналізу впливу бенофіліну на показники функціонального стану нирок у щурів в експерименті доведено, що досліджувана речовина на фоні гострого токсичного пошкодження нирок етиленгліколем достовірно нормалізує всі досліджувані показники нирок та виявив вищий нефропротекторний ефект, ніж референтний препарат хофітол.

Наступний етап дослідження присвячено поглибленому вивченню впливу бенофіліну на перебіг міоглобінової ГНН, у тому числі на гістоструктуру нирок щурів.

6.2 Вплив бенофіліну на перебіг модельного міоглобінового пошкодження нирок у щурів

Майже половину випадків виникнення ГПН становлять тяжкі травматичні ушкодження, включаючи crush-синдром [44, 53, 226]. В результаті стискання скелетних м'язів та гострого некрозу міоцитів відбувається потрапляння внутрішньоклітинних речовин в системний кровообіг. Серед пошкоджувальних

факторів чільне місце займає міоглобін, накопичення якого у ниркових клубочках призводить до прямого токсичного ураження з подальшою обструкцією каналців, що викликає порушення функції нирок [226, 231, 234].

Зважаючи на вищенаведене, для експериментального дослідження впливу бенофіліну, похідного 7,8-дизаміщених теофіліну, на перебіг ГПН була обрана гліцеролова модель. Дана модель характеризується порушеннями функціонального стану нирок – зменшенням здатності нирок до виведення водного навантаження, падінням ШКФ, підвищенням вмісту креатиніну в плазмі крові, протеїнурією, ацидифікацією сечі, підвищеним натрійурезом та гіперкаліємією [108, 156].

Відповідно до отриманих даних, введення розчину гліцеролу викликало виразне пошкодження нирок (таблиці 16-18 додатку А). Порівняно з ІК у тварин з групи КП діурез зменшився в 2 рази, рівні сечовини та креатиніну в сироватці крові збільшилися у 1,5 та 1,8 разу відповідно. Одночасно з цим у сечі вміст зазначених речовин суттєво знижувався: сечовини – у 4,2 разу, креатиніну – у 2,5 разу. Це вказувало на порушення екскреторної функції нирок: виділення сечовини та креатиніну знижувалося у 8,7 та 6 разів відповідно порівняно з ІК. Усі наведені зміни були статистично значущими щодо ІК, окрім рівня сечовини у сироватці, підвищення якого мало характер виразної тенденції. Поряд зі зниженням екскреторної функції у тварин з групи КП відбувалося зниження ШКФ в 8,7 разу та каналцевої реабсорбції. Важливим показником функціональної активності нирок є обмін іонів натрію. За умови КП спостерігали накопичення натрію у сечі, зниження фільтраційного заряду та абсолютної реабсорбції іонів натрію (таблиця 17 додатку А).

Таким чином, введення гліцеролу призводило до пошкодження нирок у тварин, що виражалось розвитком виразної ретенційної азотемії.

За застосування бенофіліну спостерігали відновлення ШКФ та каналцевої реабсорбції, зниження вмісту натрію в сечі до рівня інтактних тварин та збільшення фільтраційного заряду, абсолютної та відносної реабсорбції щодо значень тварин з групи КП (таблиця 17 додатку А). Вміст креатиніну в крові

значно знизився в порівнянні з показником у тварин з групи КП, проте був дещо вищим за такий в групі ІК.

Препарат порівняння канефрон дещо поступався за нефропротекторною дією бенофіліну. Збільшення ШКФ та каналцевої реабсорбції відбувалося лише у 2 та 1,04 разу у порівнянні з контрольною патологією. Вміст натрію в сечі був меншим ніж у тварин з групи КП у 2 рази. Фільтраційний заряд іонів Na^+ та їх абсолютна реабсорбція були більшими за показники тварин з групи КП у 3 рази, відносна реабсорбція – в 1,1 разу. Креатинін в крові знизився порівняно з групою КП, але був вищим за зазначений показник в групах ІК та бенофіліну. На тлі застосування референс-препарату канефрону також реєстрували підвищення діурезу порівняно з контрольною патологією та відновлення екскреції сечовини та креатиніну. Проте за виразністю нормалізувальної дії щодо екскреторної функції нирок канефрон дещо поступався бенофіліну.

В результаті ГПН у тварин групи КП спостерігалось підвищення вмісту білка в сечі в 1,7 разу порівняно з інтактним контролем, що вказувало на розвиток протеїнурії.

За застосування бенофіліну та канефрону рівень білка в сечі досягав рівня ІК, що також підтверджувало відновлення екскреторної функції нирок щурів (таблиця 18 додатку А).

Отже, на моделі ГПН гліцеролом встановлені виразні нефропротекторні властивості бенофіліну, сполукиз групи похідних 7,8-дизаміщених теофіліну. За профілактично-лікувального застосування досліджуваної речовини у тварин нормалізувався обмін сечовини та креатиніну, відновлювалася ШКФ, каналцева реабсорбція, знижувалися гіпернатріємія та протеїнурія. За ефективністю досліджувана речовина не поступалася препарату порівняння канефрону, а за окремими показниками дещо переважала його.

Дослідження впливу бенофіліну на стан процесів ПОЛ та АОС продемонструвало наступне: у гомогенатах нирок щурів з групи КП відбувалася активація процесів ліпопероксидації та порушення функціонування антиоксидантної системи, про що свідчить підвищення вмісту ТБК-Р майже на

30%, та зменшення активності КТ і вмісту ВГ у гомогенаті нирок на 3% та на 15% відповідно у порівнянні з ІК. Наведені зміни були статистично значущими щодо ІК (таблиця 19 додатку А).

У сироватці крові щурів в екстремальних умовах патології внаслідок адаптаційних реакцій вміст продуктів ВРО ліпідів та активність АОС порівняно з показниками інтактного контролю знижувалися.

Отже, наведена динаміка показників ТБК-Р, активності ВГ та КТ свідчить про компенсаторне підвищення інтенсивності процесів ПОЛ та відповідно АОС з метою знешкодження продуктів розпаду, що утворилися внаслідок токсичного пошкодження нирок на органному рівні, а на системному – зниження їх інтенсивності з метою зменшення енергозатрат загальнометаболических процесів за умови патологічного стану.

Ступінь каналцевої мембранної патології оцінювали за активністю γ -глутамілтранспептидази (ГГТП) – ферменту, який каталізує переміщення γ -глутамілової групи від пептиду або сполук, що містять цю групу, до акцепторного пептиду або амінокислоти, завдяки чому відбувається перенос амінокислот через мембрану клітини. Це забезпечує їх реабсорбцію з первинної сечі [77, 79]. Слід зазначити, що ГГТП має високу органоспецифічність щодо ниркової тканини: активність ферменту в епітелії проксимальних ниркових каналців є найвищою в організмі людини, перевищуючи таку в клітинах печінки в 25 разів, а в сироватці крові – в декілька тисяч разів [7, 49]. Нами встановлено, що на тлі гліцеролової інтоксикації відбувається значне пошкодження нефроцитів про що свідчило статистично значуще зниження активності ГГТП (рис. 4 додатку Б)

За лікувально-профілактичного застосування сполуки бенофіліну у гомогенатах нирок тварин зареєстроване зменшення вмісту ТБК-Р на 27% у порівнянні з КП, що відповідало ІК. Активність ВГ та КТ зросли на 22% та 26% відповідно відносно КП. Зазначена динаміка зміни активності зазначених ферментів свідчить про компенсаторне підвищення внаслідок активації глутатіонової АОС в тканинах нирок. Слід зазначити, що у сироватці крові динаміка досліджуваних показників була однонаправленою з такою у групі

контрольної патології. Доведено, що інтенсивність перебігу вільнорадикальних реакцій у тканинах значною мірою визначається функціонуванням систем антиоксидантного захисту [49, 111].

На тлі застосування препарату порівняння канефрону інтенсивність процесів ПОЛ також зберігалася на рівні інтактних тварин (таблиця 19 додатку А).

Найважливішою функцією глутатіону є його участь у процесах детоксикації ксенобіотиків, тому активація синтезу *de novo* цього трипептиду у нирках має особливе значення, оскільки поруч із реакціями АОС (він є антиоксидантом прямої дії), він інтенсивно використовується у найважливіших метаболічних процесах організму: білковому та вуглеводному обміні, підвищенні стійкості організму до гіпоксії [130].

Взаємодія ВГ із ксенобіотиками може здійснюватись трьома шляхами: кон'югацією субстрату з ВГ, внаслідок нуклеофільного заміщення та завдяки відновленню органічних пероксидів до спиртів [14]. Ймовірно припустити, що тривала дія ксенобіотику на організм щурів призводить до надмірної генерації вільних радикалів, що викликає виснаження субстратів кон'югації, зокрема ВГ [174, 226, 232]. Вищенаведене деякою мірою підтверджується й отриманими даними щодо активності ГГТП, яка на тлі застосування канефрону була вищою ніж у групі контрольної патології, але не досягала рівня інтактних тварин та тварин, яким вводили бенофілін.

Підтвердженням позитивного впливу бенофіліну на вміст ензимів антиоксидантного захисту та рівня кінцевих продуктів ВРО ліпідів є збереження функціональної активності мембран нефроцитів, на що вказує збереження активності ГГТП на рівні інтактних тварин (рис. 4 додатку Б)

Отже, на моделі пошкодження нирок гліцеролом бенофілін нормалізував процеси ПОЛ та АОС, знижував виразність деструкції нефроцитів, за ефективністю переважаючи ПП канефрон.

6.3 Дослідження впливу бенофіліну на гістоструктуру нирок при їх токсичному ураженні

Для підтвердження нефропротекторних властивостей бенофіліну наступним етапом роботи було гістологічне дослідження його впливу на морфологічні зміни в нирках при гострому міоглобіновому ураженні нирок. Гістоструктуру нирок вивчали методом світлової мікроскопії. Мікротомні зрізи забарвлювали гематоксиліном та еозином. Отримані цифрові дані обробляли з використанням непараметричних методів.

Макроскопічні спостереження. У тварин з групи ІК при розтині встановлено, що нирки звичайні за розміром, капсула знімається без труднощів. Поверхня органів гладка, колір червонувато-коричневий. На розрізі малюнок тканини чіткий, темна кіркова речовина нирки відокремлена від мозкової. У кірковій речовині видно численні клубочки, що розташовані зі звичайною щільністю. Нефротелій не змінений, ядра чіткі. Внутрішньоорганні кровоносні судини і строми без особливих змін.

У щурів з групи КІ спостерігали весь спектр патологічних змін каналцевих клітин нирок – від дистрофії (набухання та вакуолізація цитоплазми) до розпаду окремих капілярних сегментів. Нирки збільшені, капсула напружена і при надрізі відразу сповзає з органа. Поверхня нирки гладка, колір блідо-сірий. На розрізі у більшості тварин малюнок шарів згладжений, кірковий шар набряклий, його забарвлення блідніше, ніж у мозковому шарі.

У тварин третьої групи (міоглобінова патологія + бенофілін, 35 мг/кг) нирки за розміром, кольором, станом капсули, характером малюнків шарів наближалися до таких в інтактному контролі.

У більшості щурів четвертої групи, які отримували препарат порівняння канефрон у дозі 20 мг/кг, нирки були дещо збільшеними за розміром, мали сіруватий відтінок, малюнок тканини на розрізі подекуди був стертий.

Мікроскопія нирок показала, що в інтактних тварин на гістологічних зрізах нирок збережені всі структурні елементи: нефрони, судинні та стромальні компоненти (рис. 5-6 додатку Б). Визначається чіткий розподіл на кору та мозкову речовину. У корі ядра чіткі, проглядаються численні клубочки нефронів, помірно варіабельні за розмірами, мають сферичну форму зі злегка нерівною поверхнею.

Дані морфологічних досліджень узгоджуються із результатами функціональних як щодо підтвердження розвитку ГНН, так і щодо захисної дії досліджуваної речовини на нефроцити. На мікропрепаратах нирок інтактних щурів чітко простежені кірковий та мозковий шари. Ниркові клубочки звичайні за розміром, щільністю розташування. У судинному компоненті клубочків виразність малюнка капілярних петель, повнокровність їх і клітинна насиченість у межах норми. Просвіт капсули клубочків помірний, вільний. Канальці кіркової речовини щільно упаковані. Перикаріони клітин компактні, ядра мономорфні. Нефроцити проксимальної (превалуючої) частини каналців нефронів помірно високі, просвіт каналців достатній, що свідчить про виробку нормальної кількості фільтрату у клубочку. Епітелій дистальної частини каналців нефронів менший за розміром, частина клітин характеризувалася помірним розпушенням апікальних відділів. Просвіт каналців дещо більш вузький, в деяких візуалізувалися так звані циліндри – невеликі ущільнені «зліпки» з білка, який коагулювано. Епітелій петель Генле, прямих каналців мозкового шару та збиральних трубок звичайний. Мікроциркуляторні процеси та стан інтерстицію кіркового та мозкового шару без особливостей (рис. 6 додатку Б).

Через тиждень після ін'єкції гліцеролу у щурів групи КП виявлені зміни у структурі нирок, які можна охарактеризувати як дистрофічні зміни паренхіми і строми, помірні дисциркуляторні порушення. Зміни паренхіми проявлялися різноманітністю стану ниркових клубочків та каналців нефронів. Так, частина судинних клубочків були зморщена, рисунок капілярних петель нерозбірливий. У інших судинних клубочках (їх більшість) рисунок петель більш чіткий, капіляри надзвичайно повнокровні, еритроцити у стані стазу. В деяких клубочках нефронів простежено розпад окремих капілярних сегментів. Ендотелій капсули клубочків

та мезангій (аморфна міжклітинна речовина, яка створює центральну частину клубочка) часто набряклі, але просвіт капсул був вільний (рис. 7а, 7б додатку Б).

У системі каналців найбільшою різноманітністю стану характеризувалися каналці проксимальної частини нефронів. Просвіт одних не візуалізувався, каналці деструктуровані, рисунок цієї ділянки зруйновано. У других каналцях просвіт був дуже виразно розширений (тубулоектазія), часто з накопиченням еозинофільних аморфних білкових мас (що нерідко закупорювали каналець), нефроцити сплюснені (рис. 8а-в додатку Б). Зони пошкодження перемежались з «незміненими» зонами – рисунок каналців збережено, але у значній кількості каналців (і проксимальної, і дистальної частини нефронів) апікальна мембрана нефроцитів надмірно розпушена або зруйнована, у просвіті видні різного розміру і форми гіалінові циліндри. Іноді у каналцях нефроцити злуцені. Часто ядра епітеліальних клітин зустрічалися і у стані каріопікнозу, і каріорексису, і каріолісису, і здуття (рис. 9а-в додатку Б).

Зміни, що відмічені у збиральних трубочках та прямих каналцях мозкового шару, схожі з наведеними вище, але менш виразні. Просвіт їх збережений, частково заповнений білковими масами, цитоплазма нефроцитів іноді вакуолізована, навколо ядер відмічені зони розрідження (рис. 10а-б додатку Б).

У всіх щурів цієї групи в інтерстиції нирок відмічався застій у венозному секторі з вогнищами дрібних крововиливів (рис. 10а-б додатку Б), численні різні за розміром лімфоцитарно-клітинні інфільтрати, часткова деструкція каналців, що розташована поруч (рис. 11а-б додатку Б).

Після профілактично-лікувального введення бенофіліну на тлі гліцеролу в паренхімі нирок 62,5% щурів відмічено достатньо помітне зниження дистрофічних та дисциркуляторних порушень. Серед ниркових клубочків домінували клубочки з виразним рисунком капілярних петель, значно меншою, ніж у контрольних тварин, повнокровністю судин – еритроцити у капілярах розташовані центрально, видно просвіт капілярів, що свідчить про відновлення току крові в них (рис. 12а-б додатку Б). Помітно збільшились зони з незміненою

структурою звивистих каналців (особливо у зовнішніх відділах кіркового шару. Зберігалася лише підвищена розпушеність апікальних відділів нефроцитів, наявність циліндрів у просвіті каналців юкстамедулярних нефронів (рис. 13 а-б додатку Б). Практично незмінені були прямі каналці мозкового шару та збиральні трубочки (рис. 14 а-б додатку Б).

У решти 37,5% щурів після введення бенофіліну характерні зміни ниркових клубочків та звивистих каналців нефронів були більш виразні і різноманітні, хоча і дещо поступалися таким у контрольній патології (рис. 15 а-б додатку Б).

На відміну від КП на різних ділянках каналців нефронів в тій чи іншій мірі у всіх щурів, які отримували бенофілін, помітні були ознаки регенерації епітелію – ядра нефроцитів виразно коливалися за розміром, чисельність клітин у стінці каналців збільшена (рис. 15 додатку Б). У всіх щурів групи виразно зменшена або практично відсутня лімфоцитарно-клітинна інфільтрація інтерстицію, ознаки венозного застою та набряку строми.

Після введення у аналогічному режимі препарату порівняння канефрону у 44,44% щурів стан ниркових клубочків та системи каналців практично відповідав нормі (рис. 16а-б додатку Б). Ще у 22,22% тварин стан переважної більшості ниркових клубочків був нормальний, але просвіт доволі значної частки проксимальних та дистальних відділів каналців нефронів, а також частини прямих каналців був виразно розширено, в деяких містилися білкові маси. Апікальні відділи нефроцитів звивистих каналців значно розпушені (рис. 17а-в додатку Б).

У 33,34% щурів даної групи відмічено більш виразне коливання стану судинних клубочків, більш виразна тубулоектазія звивистих каналців, оклюзія білковими масами просвіту частини каналців, у тому числі і прямих (рис. 17а-б додатку Б).

Дисциркуляторні розлади у всіх щурів були мінімальні. Лімфоцитарно-клітинна інфільтрація інтерстицію мала осередковий характер і визначалася у

більшості тварин (рис. 18 а додатку Б). У цілому ряді каналців простежені ознаки регенерації (рис. 18 б додатку Б).

6.4 Визначення нешкідливості бенофіліну при внутрішньошлунковому введенні за умов тривалого експерименту

Оскільки обов'язковою умовою на етапі доклінічних досліджень перспективних БАР є вивчення токсичності за умов тривалого введення [149, 151], наступним етапом дослідження було вивчення нешкідливості бенофіліну за умов тривалого введення щурам в трьох дозах: 35 мг/кг, 70 мг/кг та 105 мг/кг.

В результаті проведених досліджень встановлено, що як миші так і щури, які отримували бенофілін за зовнішнім виглядом, поведінкою, відношенням до їжі, частотою та характером виділень відповідали інтактним. Тварини вільно переміщались по клітці, нормально реагували на подразнення. Введення бенофіліну мишам та щурам у всіх трьох дозах протягом 30 діб не викликало загибелі тварин. У цілому відмічається позитивна динаміка ваги протягом усього досліду (таблиця 6.2). При макроскопічному дослідженні внутрішніх органів щурів після розтину спостерігалось їх нормальне розташування та зовнішній вигляд. Величина їх звичайна, крововиливів, гіперемії немає. Слизова шлунка і кишечника рожева, ерозії та язви відсутні.

Таблиця 6.2

Динаміка маси тіла та показник летальності щурів при застосуванні бенофіліну в різних дозах протягом 30 діб, $M \pm m$ (n = 6)

Умова досліджу	Маса тіла щурів, г				Терміни загибелі щурів
	Вихідні дані	10 діб	20 діб	30 діб	
Контроль	178,5 ± 1,5	194,8 ± 1,2	218,9 ± 4,6	255,4 ± 4,0	–
Бенофілін					
35 мг/кг	176,8 ± 2,1	196,4 ± 1,4*	221,2 ± 3,7*	254,0 ± 3,4*	–

продовження таблиці 6.2

Умова досліджу	Маса тіла щурів, г				Терміни загибелі щурів
	Вихідні дані	10 діб	20 діб	30 діб	
70 мг/кг	175,4 ± 2,8	197,0 ± 3,0*	224,4 ± 2,2*	255,7 ± 2,7*	–
105 мг/кг	177,1 ± 2,8	194,8 ± 3,5*	222,2 ± 4,3*	255,3 ± 4,7*	–

Примітка. * $p < 0,001$ порівняно з вихідними даними відповідної групи.

Результати таблиці свідчать, що до кінця експерименту маса щурів збільшилася на 43% у контрольній групі та на 43,7–45,8 % – у дослідних групах. Позитивна динаміка зміни маси тіла щурів в групах застосування бенофіліну свідчить про відсутність його токсичного впливу на трофічні процеси організму тварин.

Маса тіла мишей, що отримували препарат також мала позитивну динаміку. Макроскопічно при розтині мишей при їх забої відмічали нормальне взаєморозташування внутрішніх органів. Величина органів звичайна, гіперемія і крововиливи в них відсутні. Випоту в черевній порожнині не спостерігали. Шлунок і кишечник заповнені введеною масою. При огляді слизова шлунка деяких тварин була злегка гіперемована, наявності ерозій і виразок не відмічалась. Складчастість виражена помірно.

Відсутність токсичного впливу бенофіліну у дозах 35 мг/кг (ED_{50}) та 70 мг/кг ($2ED_{50}$) та 105 мг/кг ($3ED_{50}$) при тривалому застосуванні на функції життєво важливих органів та систем організму щурів та мишей поряд із встановленою раніше діуретичною, антигіпоксичною, спазмолітичною, нефропротекторною та іншими видами специфічної активності є підставою для проведення поглиблених доклінічних досліджень з метою створення нового лікарського препарату діуретичної та нефропротекторної дії.

6.5 Вплив бенофіліну на стан слизової оболонки шлунка.

Більшість лікарських препаратів, що застосовуються перорально можуть мати негативний вплив на слизову оболонку ШКТ [19, 48, 80, 102, 118]. В літературі зустрічаються дані про подразнювальний вплив похідних ксантину на слизову оболонку шлунка і дванадцятипалої кишки [10, 199]. У зв'язку з цим проведене дослідження, яке могло б засвідчити, чи має досліджувана речовина ульцерогенну дію на слизову оболонку ШКТ.

Дослідження можливої пошкоджувальної дії бенофіліну на слизову оболонку шлунка та дванадцятипалої кишки проведено на 60 білих нелінійних щурах лінії Вістар обох статей масою 150-180 г за методом J. Marazzi-Uberti [221].

Під час проведення макроскопічного дослідження шлунка і 12-ти палої кишки у щурів встановлено, що бенофілін в дозі 35 мг/кг і 70 мг/кг не викликав пошкодження слизової оболонки ШКТ та симптомів, що передують утворенню деструкції – ін'єкції судин, згладжуванню складок, набряку слизової оболонки. Бенофілін у дозі 105 мг/кг виявив незначну ульцерогенну дію: викликав ступінь пошкодження слизової оболонки шлунка ($0,3 \pm 0,06$) тільки у 10 % тварин (індекс виразки – 0,03), що у 10,6 разів менше, ніж при застосуванні ацетилсаліцилової кислоти в дозі 100 мг/кг (ступінь пошкодження слизової оболонки шлунка – $3,18 \pm 0,03$ у 100% тварин, а індекс виразки – 3,18) (таблиця 20 додатку А). У тварин з групи введення ацетилсаліцилової кислоти в дозах 40 мг/кг і 100 мг/кг виникли істотні зміни слизової оболонки шлунка і дванадцятипалої кишки, а саме: злущення клітин епітелію, геморагічне запалення, виникнення значної кількості виразок.

Таким чином, результати досліджень свідчать, що тривале застосування бенофіліну у дозі 35 мг/кг не виявило ульцерогенної дії на слизову оболонку шлунково-кишкового тракту тварин.

Наступним етапом дослідження можливої ульцерогенної дії речовини був порівняльний аналіз впливу бенофіліну та ацетилсаліцилової кислоти на стан слизової оболонки шлунка і дванадцятипалої кишки в умовах експериментальних

виразок ШКТ, викликаних в/ш уведенням щурам етилового спирту. Результати проведених досліджень наведені в таблиці 21 додатку А.

При аналізі результатів проведених досліджень встановлено, що ацетилсаліцилова кислота в досліджуваних дозах посилювала ульцерогенний ефект етанолу. В дозі 40 мг/кг ацетилсаліцилова кислота викликала посилення виразки слизової оболонки шлунка і дванадцятипалої кишки, ВІ склав 3,9 бали; у дозі 100 мг/кг ВІ становить 4,3 бали (табл.). На моделі етанолових виразок у щурів значний пошкоджувальний вплив ацетилсаліцилової кислоти на слизову оболонку шлунка ($4,3 \pm 0,29$) спостерігався після введення тваринам у дозі 100 мг/кг, що в 1,3 разу вище, ніж у тварин з контрольної групи, де ступінь пошкодження слизової оболонки шлунка склала $3,2 \pm 0,21$. Ступінь пошкодження слизової оболонки ШКТ під впливом бенофіліну в дозах 70 та 105 мг/кг був на рівні $3,2 \pm 0,13$ та $3,7 \pm 0,14$ відповідно, що дещо вище, ніж в групі контролю ($3,2 \pm 0,21$).

Отже, результати дослідження на моделі етанолових виразок у щурів показав, що досліджувана речовина бенофілін у дозі 70 мг/кг не виявила пошкоджувального впливу на слизову оболонку ШКТ, у дозі 105 мг/кг виявлено деякий потенціювальний вплив на виразковий процес, але нижчий за такий у групах застосування ацетилсаліцилової кислоти.

Висновки до розділу 6:

1. На моделі етиленгліколевого ГПН встановлено виразні нефропротекторні властивості бенофіліну. За показником виживаності тварин у перші 12 год. бенофілін на 17% перевищував ефект хофітолу. За профілактично-лікувального уведення бенофілін підвищував діурез у 2,3 рази відносно КП ($p < 0,05$) та виявляв нормалізувальний вплив на азотовидільну функцію нирок тварин, а саме: зменшував вміст сечовини у сироватці крові та білку у сечі, підвищував екскрецію креатиніну та кліренс сечовини в 6,5; 1,4; 3,2 та 18 разів відповідно відносно КП ($p < 0,05$). За підвищенням кліренсу сечовини та здатністю усувати протеїнурію виявлено перевагу бенофіліну над хофітолом у 3,6 разу та 1,2 рази відповідно ($p < 0,05$).

2. В умовах міоглобінового ураження нирок на тлі профілактично-лікувального застосування бенофіліну об'єм сечовиділення у щурів збільшився у 2 рази порівняно з КП ($p < 0,05$), нормалізувався обмін сечовини та креатиніну. Вміст зазначених речовин у сироватці крові тварин знизився на 31,8% та 36,4%, а їх екскреція зросла в 4,6 та 5 рази відповідно відносно КП ($p < 0,05$). При застосуванні бенофіліну вміст білка у сечі тварин знижувався у 1,7 рази відносно КП і сягав рівня інтактних тварин ($p < 0,05$). За впливом на екскрецію сечовини та креатиніну виявлено перевагу бенофіліну над канефроном у 1,3 рази ($p < 0,05$). В результаті застосування бенофіліну встановлено достовірне збільшення ШКФ – у 4,7 рази в порівнянні з КП, що у 2,4 рази вище ефекту канефрону ($p < 0,05$).

3. В результаті застосування бенофіліну виявлено його нормалізувальний вплив процесу ПОЛ та активність АОЗ в нирках. Про це свідчить зменшення вмісту ТБК-Р у гомогенатах нирок щурів на 26,8% до рівня ІК ($p < 0,05$). Під впливом бенофіліну встановлено підвищення активності ВГ та КТ на 26% та 22% відповідно у порівнянні з КП ($p < 0,05$). За вказаними показниками бенофілін переважає дію канефрону на 14% та 15% відповідно ($p < 0,05$). В результаті профілактично-лікувального застосування бенофіліну встановлено його здатність знижувати виразність деструкції нефроцитів, про що свідчить збереження активності ГГТП у сироватці крові на рівні інтактних тварин, тоді як на тлі застосування канефрону активність вказаного ферменту у 1,5 рази нижча ($p < 0,05$).

4. Дослідження гістоструктури нирок на тлі міоглобінової нефропатії засвідчило, що профілактично-лікувального введення бенофіліну сприяло покращанню стану органу у всіх щурів. При цьому у 62,5% щурів морфологічно стан нирок був наближений до стану ІК, а у 37,5% тварин відмічали помітне зниження дистрофічних та дисциркуляторних порушень, проявів запалення, виявлено ознаки регенерації нефроцитів.

5. Результати дослідження нешкідливості бенофіліну у дозах 35 мг/кг (ED_{50}), 70 мг/кг ($2ED_{50}$) та 105 ($3ED_{50}$) мг/кг за умов тривалого застосування свідчать, що у дослідах на мишах і щурах він не має токсичного впливу на

організм тварин. Встановлено, що бенофілін в дозі ЕД₅₀ (35 мг/кг) не чинить ульцерогенної дії на слизову оболонку шлунка щурів.

Результати експериментальних досліджень даного розділу наведено в таких публікаціях:

1. 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).

2. 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).

АНАЛІЗ ТА УЗАГАЛЬНЕННЯ РЕЗУЛЬТАТІВ

У теперішній час дослідження взаємопов'язаних механізмів водно-сольового обміну і ниркової патології привертають увагу клініцистів і вчених в області фундаментальної медицини. Загальновідомо, що водно-електролітний обмін належить до головних систем регуляції гомеостазу організму. Зміна водно-електролітного складу внутрішньоклітинної і позаклітинної рідин, порушення ниркової екскреції електролітів та продуктів білкового обміну грає значну роль у розвитку та прогресуванні різноманітних патологічних станів [119, 121, 122, 124, 135, 159, 215]. Регуляція видільної функції нирок – складний багатокомпонентний процес, який реалізується на різних рівнях і знаходиться під контролем численних регуляторних чинників: нервових, гормональних, гуморальних, фізико-хімічних і ін. Діуретичні препарати чинять регулювальний вплив на водно-електролітний баланс в організмі [26, 28, 48].

ЛП похідні ксантину близькі до метаболітів людського організму, мають високу біодоступність, змінюють функціонування більшості органів і систем, малотоксичні, не кумулюють. Виводяться здебільшого із сечею і частково з жовчю [94]. Метилксантини є групою сечогінних препаратів, дія яких частково пов'язана із зміною клітинної реакції на гормони і медіатори. Рівень реабсорбції натрію у каналці регулюється як мінімум двома шляхами: синтезом білків *de novo* чи утворенням ряду гормонів із АТФ під впливом аденіліклази 3',5'-АМФ. 3',5'-АМФ є внутрішньоклітинним посередником, що змінює проникність мембран для натрію та води та інактивується ферментом фосфодіестеразою. Метилксантини є інгібіторами вказаного ферменту, сповільнюючи перетворення 3',5'-АМФ у фізіологічно інертний АМФ, що впливає на гуморальну регуляцію діяльності нирок. Похідні ксантину сприяють збільшенню ниркового кровотоку і клубочкової фільтрації. Збільшення клубочкової фільтрації відіграє суттєву роль у нормалізації функції нирки. Важливе значення препаратів, які посилюють

клубочкову фільтрацію, полягає в тому, що в сполученні з інгібіторами каналцевого транспорту вони забезпечують інтенсивний діурез і натрійурез.

У дисертаційній роботі теоретично узагальнено та експериментально обґрунтовано доцільність використання 7,8-дизаміщених теофіліну як потенційних лікарських засобів з діуретичною та нефропротекторною дією, яка полягає у захисному впливі на нирки за комплексним механізмом, захисті клітин нирок від ушкодження та загибелі, відновленні метаболічних процесів та функціональної активності органа, покращенні прогнозу захворювання.

В результаті дослідження нових похідних 7,8-дизаміщених теофіліну встановлена низька токсичність досліджуваних речовин.

За результатами скринінгових досліджень встановлено наявність у досліджуваних сполук широкого спектру фармакологічних активностей, які обумовлюють можливість захисної дії на нирки в умовах гострої ниркової недостатності. Узагальнені результати досліджень фармакологічної активності 8 сполук-лідерів з групи похідних 7,8-дизаміщених теофіліну наведені в таблиці 22 додатку А.

Одним з важливих компонентів нефропротекції при ГНН є застосування сечогінних препаратів, що протидіють ішемічно-реперфузійному ушкодженню та препарати, що відновлюють об'єм внутрішньосудинної рідини та нормалізують нирковий кровообіг, є, оскільки збереження руху рідини каналцями сприяє підтриманню їхніх функцій та протидіє колапсу — важливій складовій патогенезу ГНН.

Як видно з таблиці, всі речовини виявляють високу діуретичну активність, яка у 7 сполук-лідерів перевищила ефект препарату порівняння гіпотіазиду. Найактивнішою за діуретичною дією сполукою виявилася речовина γ -2806 (умовна назва бенофілін), яка в ефективній дозі 35 мг/кг збільшує спонтанний діурез за рахунок покращання фільтраційної ШКФ і підвищення екскреції іонів натрію. За сечогінним ефектом бенофілін перевищує ефект гіпотіазиду на 78,3%. Діуретична дія тiazидних діуретиків полягає в пригніченні активного транспорту натрію в області базальної мембрани без істотного впливу на проникність як

індивідуальних клітинних мембран так і міжклітинних проміжків [28, 48]. Більш виражений діуретичний ефект бенофіліну в порівнянні з гіпотіазідом, можливо пов'язаний з пригніченням активного транспорту натрію в каналцях нефрону і збільшенням його екскреції з сечею. Перевагою бенофіліну над гіпотіазидом є його менша калійуретична активність.

Серед інших симптомів, що супроводжують захворювання нирок та органів сечовидільної системи, біль є одним з найпоширеніших. Виникнення болю при нирковій патології обумовлене запаленням паренхіми, спазмом ниркових судин, ішемією внаслідок оклюзії ниркових каналців тощо. Разом з тим, світовий досвід свідчить, що НПЗЗ при тривалому прийомі можуть викликати розвиток шлункових кровотеч внаслідок зниження синтезу гастропротекторних простагландинів, а селективні блокатори ЦОГ-2 – тромботичних ускладнень та інфаркту міокарда [16]. У зв'язку з цим наявність у препарату, який застосовується для корекції ниркової патології, знеболювального впливу є важливим додатковим ефектом.

Відомо, що ЛП ксантинів (ксантинолу нікотинат, амінофілін) можуть виявляти опосередковану нефропротекторну дію, за рахунок усунення спазмів гладеньких м'язів, вазодилатації та покращенню ниркового кровообігу [62-65]. Розслаблення гладеньком'язових клітин сприяє зниженню тонуусу стінки порожнинного органа, зменшенню внутрішньопросвітнього тиску усуненню відчуття болю, що значно покращує якість життя та емоційний стан хворих.

Вивчення механізмів дії лікарських препаратів групи похідних ксантину, що вже існують на фармацевтичному ринку України, дає підставу припускати, що їх нові структурні аналоги можуть впливати на патогенетичні ланки виникнення болю та спазму. У зв'язку з чим були проведені скринінгові дослідження речовин, що вивчаються, на анальгетичну, спазмолітичну та протизапальну активності. Модель «оцтовокислих корчів» є класичною скринінговою моделлю, оскільки введення оцтової кислоти сприяє загальній активації ноцицептивної системи та місцевому вивільненню брадикініну, гістаміну, серотоніну та інших медіаторів болю, що призводить до розвитку скорочень м'язів живота тварин (корчів), які

супроводжуються витягуванням задніх кінцівок та вигинанням спини. Дослідження анальгетичної активності лікарських засобів на моделі «оцтовокислих корчів» дозволяє визначити наявність впливу препарату відразу на всі медіатори периферичного компонента больового синдрому [16, 19].

В ході дослідження встановлено, що більшість похідних 7-*n*-метилбензил-8-заміщених теофіліну виявили анальгетичну активність, яка знаходилась в інтервалі від 10,4 до 43,1%. Найбільший анальгетичний ефект виявила сполука № 4, яка зменшує кількість оцтових корчів у 1,8 рази у порівнянні з КП внаслідок зменшення больової чутливості.

Модель карагенінового набряку стопи є класичною моделлю для вивчення протизапальних властивостей лікарських препаратів. В патогенезі виникнення запалення в перші 30-90 хв. беруть участь серотонін та гістамін, а потім 1,5-2,5 год. – кініни, у наступні 2,5-5,5 год. – простагландини. Дослідження протизапальної активності продемонстрували, що більшість похідних 7-*n*-метилбензил-8-заміщених теофіліну виявили протизапальну активність. Найбільший антиексудативний ефект виявила сполука № 15. Вказана речовина у дозі 13 мг/кг суттєво пригнічувала розвиток карагенінового набряку лапи мишей на 50,4% у порівнянні з КП та майже не поступалася дії диклофенаку натрію.

В результаті дослідження спазмолітичної активності речовин було встановлено, що вони чинять виразний спазмолітичний ефект на фоні спазму м'язів кишечника, викликаних в/ш введенням щурам розчину барію сульфату. Найактивнішою за спазмолітичним ефектом речовиною виявилась сполука № 14 (умовна назва бенофілін), яка в дозі 22 мг/кг виявила послаблювальний вплив на мускулатуру кишечника. Шлях, пройдений контрастною масою по кишечнику за 20 хв. під впливом бенофіліну збільшився на 21,9% у порівнянні з К, у той час, як під впливом ПП спазмалгону він збільшився лише на 16,1% (таблиця 10 додатку А). Отже, у даному досліді бенофілін виявився майже на 6% активнішим за спазмалгон. Інші досліджувані сполуки з групи 7,8-дизаміщених похідних теофіліну також виявляли виразний спазмолітичний ефект і послаблювали перистальтику кишечника тварин у досліді.

Імовірно, що анальгетична та спазмолітична дія похідних теофіліну реалізується за рахунок декількох механізмів. Один із найбільш значимих пов'язаний з інгібіцією фосфодіестерази (ФДЕ), збільшенням внутрішньоклітинного циклічного аденозинмонофосфату (цАМФ) або зменшенням внутрішньоклітинного циклічного гуанідинмонофосфату (цГМФ). Ці циклічні нуклеотиди є вторинними месенджерами для гладеньком'язових клітин різних органів (гладенької мускулатури шлунково-кишкового тракту (ШКТ), трахеї, бронхів, матки, сечоводів, судин тощо). Імовірно, цАМФ у гладеньком'язових клітках судин активує депонування кальцію в саркоплазматичному ретикулумі, знижуючи скоротливість клітини, а цГМФ, навпаки, збільшує вільний пул кальцію в клітині, стимулюючи його вихід з внутрішньоклітинного депо, що призводить до підвищення утворення актоміозинових комплексів і скорочення стінок судин. Крім цАМФ та цГМФ, у реалізації спазмолітичного ефекту препаратів бере участь кальмодулін, цитоплазматичний Ca^{2+} -модулюючий білок. Кальмодулін функціонує як необхідний медіатор дії іонів Ca^{2+} у Ca^{2+} -залежних внутрішньоклітинних процесах: при збільшенні концентрації іонів Ca^{2+} у стимульованій клітині кальмодулін зв'язує їх, що призводить до конформаційної зміни молекули кальмодуліну, і вона набуває здатності зв'язуватися актин-міозиною скоротливою системою.

Наявність додаткових фармакологічних ефектів – анальгетичного, спазмолітичного та протизапального у потенційного нефропротектора є важливою перевагою, оскільки дозволить запобігти поліпрагмазії. Це дозволить значно знизити ризик виникнення побічних ефектів, алергічних реакцій, випадків несумісності ліків та знизити вартість лікування. А їх комбінування в одній лікарській формі може бути корисним для раціоналізації знеболювальної фармакотерапії захворювань сечовидільної системи.

Гіпоксія є одним із біологічно значущих факторів, з яким людина зустрічається впродовж усього свого життя. На сучасному етапі розвитку медицини особливо актуального значення набуває вивчення впливу хронічної

гіпоксії на організм, а саме на функціональну здатність нирок, оскільки вважають, що основними ланками в патогенезі розвитку ГНН є розвиток окисного стресу, звуження ниркових судин та гострий канальцевий некроз. Загальновідомо, що антигіпоксанти чинять нормалізуючий вплив на енергетичний баланс у клітинах при гіпоксії та ішемії, стабілізують мітохондріальні мембрани, зменшують пригнічення дегідрогенази циклу Кребса, запобігають окисленню та фосфорилуванню, збільшують продукцію АТФ на одиницю споживаного дефіцитного кисню.

До Державного формуляра в розділі «12.3. Нефрологія. Лікарські засоби», окрім антигіпертензивних та гіполіпідемічних препаратів, внесено ЛП, що нормалізують реологічні властивості крові та метаболічні процеси у стінці судин. У тому числі і ЛП з групи ксантинів – пентоксифілін, який не лише підвищує нирковий кровообіг, але й, за експериментальними даними, протидіє розвитку тубулоінтерстиційного фіброзу (у т.ч. у разі діабетичної нефропатії), оскільки пригнічує експресію трансформуючого фактора росту та відновлює експресію фактора росту ендотелію судин. Раціональним є застосування антиоксидантів, оскільки антиоксидантний ефект є одним із механізмів захисної активності щодо нирки у мексидолу, тіотріазоліну, тіоцетаму, мельдонію. Ці ЛП політропної метаболічної дії протидіють фундаментальним механізмам ушкодження клітини — гіпоксії та її наслідкам, порушенням мембранного транспорту, апоптозу та пероксидному окисненню ліпідів.

В результаті проведених досліджень встановлено, що серед похідних 7-*n*-метилбензил-8-заміщених теофіліну (спол. 1-20) найбільшу антигіпоксичну активність виявила сполука 8 – 7-*n*-метилбензил-8-(*a*-метил)-*n*-метоксибензиліденгідразинотеофілін, яка в дозі 17 мг/кг продовжила тривалість життя щурів в умовах гострої нормобаричної гіпоксії на 109,2% ($p < 0,05$). Препарат порівняння мексидол поступався дії сполуки 8 на 18,8%.

Можна припустити, що збільшення тривалості життя щурів в умовах гострої нормобаричної гіпоксії є результатом поліпшення метаболічних процесів

та підвищення рівня АТФ у дихальному ланцюгу мітохондрій під дією синтетичних похідних 7-*n*-метилбензил-8-заміщених теофіліну.

Отримані дані вивчення антигіпоксичної активності похідних 7-*n*-метилбензил-8-заміщених теофіліну є підставою для більш поглибленого дослідження механізмів антигіпоксичної активності з метою створення нового ефективного лікарського засобу для усунення проявів гіпоксії при різноманітних патологічних станах.

Порівняльний аналіз скринінгових досліджень виявив залежність структура – токсичність та структура – активність нових похідних теофіліну, що зумовлена природою і будовою радикалів у 8 положенні молекули, які узгоджуються з даними досліджень науковців [39, 40, 42, 46, 50, 51, 70, 71]. В результаті аналізу залежності структура – активність встановлено, що найвищу токсичність з 20 досліджуваних сполук та водночас прояв широкого спектру різноманітних видів фармакологічної дії, демонструють речовини № 15 (ЛД₅₀=1255 мг/кг) та № 16 (ЛД₅₀=1445 мг/кг) які містять у 8 положенні молекули *α*-метил-*n*-нітробензиліденгіdraзиний та *n*-гідроксибензиліденгіdraзиний радикали. Для зазначених сполук встановлено наявність високої діуретичної, протизапальної, анальгетичної, антигіпоксичної та спазмолітичної дії. Сполуки з дещо меншою токсичністю виявляли менший спектр фармакологічної активності, зазвичай виявляючи 1-3 види активності. Наприклад, речовини № 1 (ЛД₅₀=1930 мг/кг), № 4 (ЛД₅₀=2010 мг/кг), № 18 (ЛД₅₀=1715 мг/кг) та № 20 (ЛД₅₀=1590 мг/кг), що містять гіdraзиний, *o*-гідроксибензиліденгіdraзиний, *n*-етоксибензиліденгіdraзиний та 8-(піридин-4'-іл)метиліденгіdraзиний радикали, демонструють наявність високої діуретичної, спазмолітичної та антиексудативної активності. Сполука № 4 за анальгетични ефектом майже не поступалася дії диклофенаку натрію. Субстанція № 8 (ЛД₅₀=1685 мг/кг) в будові молекули якої наявний *α*-метил-*n*-метоксибензиліденгіdraзиний радикал виявила виразний спазмолітичний та антигіпоксичний ефекти, за антигіпоксичним ефектом зазначена речовина перевищувала дію мексидолу на 38%. Натомість речовини № 11 (ЛД₅₀=1595 мг/кг) та № 12 (ЛД₅₀=1755 мг/кг), в

будові яких наявні 2',3'-дигідроіндолон-2'-іліден-3')гідразиний та (5'-бромо-2',3'-дигідроіндолон-2'-іліден-3') гідразиний радикали, поряд з порівняно високою токсичністю для досліджуваної групи сполук, виявилися найменш фармакологічно активними. Речовина № 11 виявила лише досить високу антигіпоксичну дію на рівні 78,4%. Водночас інших видів дії в експерименті для них не встановлено. Поряд з цим, найбезпечніша речовина № 14 (ЛД₅₀=2180 мг/кг), яка містить *n*-бромобензиліденгідразиний радикал, виявила діуретичну та спазмолітичну активності, за якими перевищувала ПП гіпотіазид та спазмалгон на у 1,7 рази та 23 % відповідно та високу антигіпоксичну дію на рівні 81,5%.

У результаті багаторічних досліджень в галузі нефрології доведено, що в умовах відносного спокою нирки рівень клубочкової фільтрації знаходиться на мінімально фізіологічно низькому рівні [170, 171]. Тоді як виконання додаткових функцій, включення у дію ряду адаптивних реакцій супроводжується збільшенням клубочкової фільтрації. Різниця між показниками величин клубочкової фільтрації в умовах спокою організму і при виконанні додаткової роботи була названа функціональним нирковим резервом (ФНР) [23, 25, 170-172]. ФНР відображає спроможність нирок підвищувати швидкість клубочкової фільтрації на навантаження білком, амінокислотами, блокаторами кальцієвих каналів, допаміном тощо на 5-60 %. Парадоксальне зниження або відсутність підвищення функціонального ниркового резерву при стимуляції перерахованими агентами вказує на виснаження резерву нирок [23, 25, 170, 171].

Для з'ясування впливу бенофіліну на здатність нирок до виведення додаткового навантаження та збереженість ФНР проведено дослідження за умов водного та сольового навантаження у щурів (5% від маси тіла).

В результаті дослідження встановлено, що при водному навантаженні бенофілін в дозі 35 мг/кг викликав у щурів збільшення екскреції креатиніну 15,6%, водного діурезу на 164,3%, що на 89,3% більше сечогінного ефекту гіпотіазиду. Натрійуретичний ефект бенофіліну також перевищує дію гіпотіазиду на 14,4 %. Позитивним ефектом бенофіліну є те, що він на 11,7% менше виводить із організму щурів іонів калію у порівнянні з гіпотіазидом.

При сольовому навантаженні щурам бенофілін за 4 години викликав збільшення водного діурезу на 192,6%, концентрації креатиніну в сечі на 18%, натрію на 63%, калію – на 9,6%. Виражений діуретичний ефект бенофіліну, в порівнянні з гіпотіазидом, можливо, пов'язаний з пригніченням активного транспорту натрію в каналцях нефрону і збільшенням його екскреції з сечею.

Під впливом гіпотіазиду у щурів із сольовим навантаженням діурез збільшився на 88,9%, екскреція креатиніну зросла на 9,4%, іонів натрію – на 51,9% і калію – на 26,2%.

Таким чином, бенофілін на інтактних щурах виявляє сечогінний і натрійуретичний ефекти та перевищує активність гіпотіазиду. Перевагою бенофіліну є його менш виражений калійуретичний ефект, оскільки втрата великої кількості цього електроліту є негативною стороною дії салуретичних діуретичних препаратів і може викликати гіпокаліємію.

В субхронічному експерименті бенофілін за умов об'ємної стимуляції виявив водний діуретичний ефект в межах від 99,4%, ($p < 0,05$) до 163,1% ($p < 0,05$), сприяв вираженому збільшенню в плазмі крові ендogenous креатиніну на протязі тривалого експерименту в межах від 5,4% до 39,7% ($p < 0,05$). Під впливом бенофіліну в плазмі крові виявили зменшення іонів натрію на 13,4% на 9 добу експерименту, а також спостерігали тенденцію до зменшення вмісту іонів калію до 6,9%.

Під дією бенофіліну зареєстровано збільшення ШКФ в межах від 74,8% $p < 0,05$ до 101,8% ($p < 0,05$), що свідчить про покращення ренальної діяльності нирок у щурів протягом тривалого експерименту та збереженість ФНР.

На 14 добу спостерігали зменшення реабсорбції води у вихідному стані при курсовому внутрішньошлунковому введенні бенофіліну з $93,14 \pm 0,12$ до $90,65 \pm 0,21$, що свідчить про збільшення об'єму сечовиділення, а не довгострокові метаболічні зміни. Крім того, спостерігали збільшення фільтраційного заряду натрію в межах від $28,24 \pm 1,42$ мкМ/хв у вихідному стані інтактних щурів до $53,37 \pm 1,12$ мкМ/хв на 14 добу експерименту. Реабсорбція натрію в проксимальних і дистальних каналцях нефронів зменшилась у щурів з

93,14±0,12% у вихідному стані до 90,65±0,31% на 14 добу після курсового застосування бенофіліну. Збільшення екскреції креатиніну при введенні бенофіліну виявилось в усіх серіях дослідів, що свідчить про покращення фільтраційної функції нирок у щурів.

Після припинення введення бенофіліну діурез, екскреція креатиніну, іонів натрію і калію нормалізувалась до вихідних величин.

Бенофілін при введенні протягом 14 діб не викликає істотного зменшення об'єму внутрішньосудинної рідини (6,4%), вмісту креатиніну (4,5%), концентрації іонів натрію у плазмі крові (7,2%) і калію (2,9%).

Під впливом гіпотіазиду спостерігали зменшення об'єму внутрішньосудинної рідини на 4,2%, та зменшення вмісту креатиніну на 2,6% а також зниження концентрації іонів натрію у плазмі крові на 5,7% і калію – на 5,9%.

Таким чином, проведені дослідження свідчать про здатність бенофіліну істотно збільшувати клубочкову фільтрацію в нирках і сечовиділення, а також виявляти натрійуретичний ефект, не викликаючи при цьому дегідратації.

Широко розповсюджені в даний час гострі та хронічні захворювання нирок часто супроводжуються гіперазотемією, зумовленою зниженням виведенням з організму рідини й продуктів азотистого обміну [6, 36, 44, 177]. Однією з важливих складових комплексної нефропротекторної дії препарату є гіпоазотемічна активність [110]. Лікувальна дія гіпоазотемічних препаратів обумовлена прямим і опосередкованими ефектами, такими як профілактика ендотоксикозу, зниження метаболічного навантаження на органи екскреції і детоксикації, що актуально при захворюваннях нирок, корекція процесів обміну речовин. У пацієнтів з ГНН нирки не здатні виводити продукти обміну (уремічні токсини). Тому доцільним і необхідним при ГНН є застосування гіпоазотемічних препаратів з метою зниження метаболічного навантаження, корекції процесів обміну речовин, запобігання подальшим ушкодженням нирок та інших внутрішніх органів азотовмісними метаболітами.

Враховуючи вищезазначене, на моделях ГПН етиленгліколем та гліцеролом досліджено вплив бенофіліну на функціональний стан нирок за

основними показниками водно-електролітного обміну, ШКФ, азотовидільної функції нирок, процеси перекисного окислення ліпідів та антиоксидантного захисту [108].

В результаті проведених досліджень становлені виразні нефропротекторні властивості бенофіліну. Захисний вплив на функціональний стан нирок верифіковано за збільшенням виживаності тварин протягом 5 діб спостереження на моделі ураження нирок етиленгліколем та перевищувала ПП хофітол на 17%, відновленням об'єму сечовиділення, ШКФ, водно-електролітного обміну, усуненням протеїнурії, як принципової ознаки ниркової недостатності, нормалізацією вмісту у крові та екскреції сечовини та креатиніну.

На міоглобіновій (гліцероловій) моделі поряд з нормалізацією показників, вказаних вище, встановлено здатність сполуки-лідера до зменшення процесів ліпопероксидації, що виявлялося збільшенням вмісту у крові та гомогенатах нирок щурів ферментів АОЗ та нормалізації вмісту ферментів ПОЛ. Встановлено відновлення морфологічної структури нирок, що виявлялося нормалізацією структури ниркових клубочків: відновленням просвіту капілярів, зменшенням повнокровності судин та відновленням кровотоку в них. Зареєстроване збільшення зон з незміненою структурою прямих та звивистих каналців, зменшення ознак їх оклюзії та тубулоектазії. У 62,5 % тварин стан ниркової паренхіми відповідав інтактним. У 37,5% щурів спостерігалось помітне зниження дистрофічних та дисциркуляторних порушень, проявів запалення. Виявлено ознаки регенерації епітелію – коливання розміру ядер нефроцитів, збільшення чисельності клітин у стінці каналців. Значне зменшення лімфоцитарно-клітинної інфільтрації інтерстицію, ознак венозного застою та набряку строми. За ефективністю досліджувана речовина не поступалася препарату порівняння канефрону, а за окремими показниками навіть переважала його.

Дослідження впливу бенофіліну на стан слизової оболонки шлунку що при макроскопічному дослідженні в 1-й та 2-й групі не виявлено пошкодження слизової оболонки шлунку – ін'єкції судин, згладженості складок, набряку.

Внутрішньошлункове введення кожного дня бенофіліну одноразово щурам у дозі 35, 70 і 105 мг/кг протягом 14 діб не викликало пошкодження слизової оболонки шлунку і дванадцятипалої кишки.

Бенофілін в дозах 35, 70 і 105 мг/кг не чинить негативного впливу на слизову оболонку шлунку і дванадцятипалої кишки на фоні утворення виразок під дією етанолу. На відміну від ацетилсаліцилової кислоти бенофілін не потенціює ульцерогенну дію етанолу.

Дослідження специфічної діуретичної активності демонструє, що бенофілін є малотоксичною сполукою, має виразний натрійуретичний і діуретичний ефект, не викликає ульцерогенної дії на слизову оболонку шлунку і дванадцятипалої кишки. Застосування бенофіліну має патогенетичне значення в перших 2-3 діб захворювання до накопичення патологічних концентрацій ендотоксинів і подальшої реалізації їх нефротоксичних ефектів. У тварин з групи застосування бенофіліну спостерігається зменшення тяжкості перебігу гострої ниркової недостатності за рахунок зниження поліурії і креатиніємії, ніж в групі застосування канефрону. Отримані результати узгоджуються з літературними даними щодо перспективності застосування нових похідних теофіліну у якості препаратів з гіпоазотемічною активністю для корекції патології нирок [64].

В результаті проведеного фармакологічного скринінгу та аналізу залежності фармакологічної активності від хімічної структури похідних 7,8-дизаміщених теофіліну (спол. 1-20) для доклінічного вивчення була відібрана сполука 7-*n*-метилбензил-8-*n*-бромобензиліденгідразинотеофілін (умовна назва речовини бенофілін), яка виявила виразну діуретичну та нефропротекторну активність і може конкурувати з відомими лікарськими препаратами нефропротекторної дії. Даний факт обґрунтовує доцільність її подальшого дослідження з метою створення лікарського препарату з діуретичною та нефропротекторною активністю.

ВИСНОВКИ

У дисертації наведено 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 етиленгліколем, 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-реактивів 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 ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ

1. Авдеев С. Н., Баймаканова Г. Е. ХОБЛ и сердечно-сосудистые заболевания: механизмы ассоциации. *Пульмонология*. 2008. № 1. С. 5–13.
2. Айзман Р. И. Современные представления о механизмах регуляции гомеостаза калия. *Физиология и патология почек и водно-солевого обмена: материалы международной научной конференции, посвященной 100-летию со дня рождения профессора Н. Н. Прониной*. Владикавказ: ИПК «Литера». 2012. С. 10–18.
3. Александрова К. В., Левіч С. В., Сінченко Д. М. Алгоритм створення нових біологічно активних речовин серед похідних ксантиніл-7-ацетатних кислот. *Науково-технічний прогрес і оптимізація технологічних процесів створення лікарських препаратів: матеріали VI наук.–практ. конф. з міжнар. участю, м. Тернопіль, 2016 р. / ТДМУ; редкол. І. М. Кліщ, Т. А. Грошовий, С. М. Марчишин та ін. Т.: ТДМУ, 2016. С. 6.*
4. Аналіз номенклатури та складу сучасних лікарських засобів рослинного походження для лікування захворювань сечовидільної системи / Р. М. Лисюк, Р. Є. Дармограй, Н. І. Гудзь, Т. Г. Калинюк. *Технологія ліків та організація фармсправи: зб. наук. праць співробіт. НМАПО імені П. Л. Шупика*. 2015. № 24 (4). С. 264–269.
5. Андреева Е. Ю., Дмитриенко С. Г., Золотов Ю. А. Метилксантины: свойства и определение в различных объектах. *Успехи химии*. 2012. № 81 (5). С. 397–414.
6. Аракелян Н. Г., Штриголь С. Ю. Профілактика та лікування гострої ниркової недостатності: пошук нових підходів. *Вісник фармації*. 2012. № 4. С. 52–55.
7. Арутюнян А. В., Дубинина Е. Е., Зыбина Н. Н. Методы оценки свободнорадикального окисления и антиоксидантной системы организма: метод. реком. СПб.: ИКФ «Фолиант». 2000. 104 с.

8. Баула О. П., Деркач Т. М. Забезпечення якості лікарських засобів рослинного походження: стан та перспективи. *Фармацевтичний часопис*. 2017. № 2 С. 79–86.
9. Бачурин Г. В. Динамика изменений инфекции мочевых путей за последнее десятилетие. *Актуальні питання фармацевтичної і медичної науки та практики*. 2015. Т. 10. №3 (19) С. 61–63.
10. Белоусов Ю. Б., Лукьянов С. В, Духанин А. А. Современные представления о фармакодинамике теофиллина. *Качеств. клинич. практика*. 2002. №3. С. 5–8.
11. Беленький М. Л. Элементы количественной оценки фармакологического эффекта. Изд. 2-е. Л.: Медгиз. 1963. 152 с.
12. Берхин Е. Б. Методы изучения действия новых химических соединений на функцию почек. *Хим.-фарм.журн.* 1977. Т. 11. № 5. С. 3–11.
13. Белоусова І. П. Патогенетичне обґрунтування фармакокорекції гіпоксичного синдрому похідними ксантину: автореф. дис. на здобуття ступеня канд. мед. наук: 14.03.05 / ОДМУ, Одеса., 2000. 16 с.
14. Биохимия человека: навч. посіб. / Р. Марри, Д. Греннер, П. Мейес [и др.]. М.: Мир. 2003. 206 с.
15. Бойчук Т. М., Кишкан І. Г. Функціональний стан нирок за сумісного застосування ксантинолу нікотинату з L-аргініном. *Бук. мед. вісник*. 2012. Т. 16. № 3 (63). ч. 2. С. 55–57.
16. Боль и проблема безопасности НПВС: монография / А. В. Курята, Т. К. Лысунец, А. В. Зайченко, А. В. Черкасова. Днепропетровск: Герда. 2014. 84 с.
17. Возрастные особенности регуляции водно-электролитного обмена (экспериментальное исследование) / Л. П. Купраш, И. С. Безверхая, Л. Б. Шарабура [и др.]. *Буковинський медичний вісник*. 2012. Т. 16. № 3 (63), ч. 2. С. 148–152.
18. Вандер А. Физиология почек / пер. с англ. М.: Медицина. 5-е изд. 2001. 256 с.

19. Вахрушев Я. М., Загребина Е. А. Энтеропатия, индуцированная нестероидными противовоспалительными препаратами (патогенез, диагностика, лечение). *Терапевтический архив*. 2012. Т. 84. № 5. С. 74–79.

20. Влияние замещённых 3-метил-7-алкил-8-пиперидиноксантинов на возбудимость висцеральных ноцицепторов и течение воспалительной реакции у крыс / Е. П. Матвийчук, Б. А. Самура, Н. И. Романенко, О. А. Мартынюк. *Ліки – людині: матеріали ХХVІІІ всеукр. наук.–практ. конф. з міжнар. участю*. Х.: вид-во НфаУ. 2011. С. 85–87.

21. Влияние новых солей 3-метил-1-этилксантина на систему гемостаза / Ф. Х. Камилов, Г. А. Тимирханова, А. И. Самородова [и др.]. ГБОУ ВПО «Башкирский Государственный медицинский университет» Минздравсоцразвития России. 2012. № 6. С. 247–253.

22. Влияние теофиллина на состояние пуриновых рецепторов у больных бронхиальной астмой / Ю. Б. Белоусов, П. В. Сергеев, В. В. Омеляновский [и др.]. *Терапевт. арх.* 1999. Т. 71. № 3. С. 58–60.

23. Гоженко А. И., Гоженко Е. А. Функциональный почечный резерв в физиологии и патологии почек. *Буковинський медичний вісник*. 2012. Т. 16. № 3 (63), ч. 2. С. 18–25.

24. Гоженко А. И., Жигалина-Гриценюк М. С. Превентивные механизмы регуляции водно-солевого обмена сквозь призму теории функциональных систем. *Буковинський медичний вісник*. 2012. Т. 16. № 3 (63), ч. 2. С. 80–83.

25. Гоженко А. И., Хаминич А. В., Гоженко Е. А. Функциональный почечный резерв: механизмы, методики определения и диагностическое значение. *Нефрология*. 2009. Т. 13. № 3. С. 149.

26. Горн М. М., Хейтц У. И., Сверинген П. Л. Водно-электролитный и кислотно-основной баланс: пер. с англ. СПб.: Невский Диалект; М.: Бином. 2000. 320 с.

27. Гацура В. В. Методы первичного фармакологического исследования биологически активных веществ. М.: Медицина. 1974. 141 с.

28. Глезер Г. А. Диуретики. Руководство для врачей. М.: Интербук-бизнес.

1993. 352 с.

29. Годлевський Л. С., Полясний В.О., Антонян І. С. Протекторний ефект кетогенної дієти і пентоксифіліну щодо викликаних хронічним стресом порушень з боку збудливості мозку та шлунково-кишкового тракту. *Одес. мед. ж.* 2012. №1 (129). С. 9–12.

30. Григоренко Ю. А., Сукало А. В., Тур Н. И. Результаты применения препарата Хофитол у детей с додиализной стадией хронической почечной недостаточности. *Рецепт.* 2009. № 2. С. 217–220.

31. Давлетьярова А. В., Халиуллин Ф. А., Назипов Н. М., Насыров Х. М., Галимова Р. А. Производные 1,3-диметил-8-(2-гидроксипропил-1)тиоксантина, проявляющие биологическую активность: пат. 2223273, Україна; заявл. 16.08.2002; опубл. 4.08.2004, Бюл. № 4.

32. Державний реєстр лікарських засобів України: Офіційний сайт [Електронний ресурс]. Режим доступу: <http://www.drlz.kiev.ua>.

33. Державний формуляр лікарських засобів. Вип. дев'ятий / під ред. М. Л. Аряєва, В.Г. Бебешка, Ф.С. Глумчера [та ін.]. К. 2017. 1889 с.

34. Дзизинский А. А., Храмова Н. А. Кардиоваскулярная патология при ревматоидном артрите: Монография. Иркутск: РИО ГИУВа. 2010. 150 с.

35. Діуретична активність 3-(5-бромфуран-2-іл)-4-*R*-(4*H*)-1,2,4-тріазол-5-тіонів, їх *S*-похідних та 2-(5-бромфуран-2-іл)-5-*R* Γ -тіазоло[3,2-*b*][1,2,4]тріазол 6(5*H*)-онів / Є. С. Пругло, А. С. Гоцуля, О. І. Панасенко, Є. Г. Книш *Актуальные вопросы фармацевтической и медицинской науки и практики.* 2015. № 3 (19). С. 9–13.

36. Добронравов В. А., Смирнов А. В., Каюков И. Г. Многогранная альбуминурия: аспекты клинического значения. *Нефрология.* 2009. № 3. С. 33–39.

37. Доклінічні дослідження лікарських засобів / За ред. О. В. Стефанова. К.: Авіцена. 2001. 528 с.

38. Дослідження гострої токсичності і діуретичної активності амонієвих солей *N*-(3-метил-7-метоксіетилксантиніл-8-) оцтової кислоти / В. І. Корнієнко, Б. А. Самура, М. І. Романенко [та ін.]. *Проблеми екологічної та медичної генетики і*

клінічної імунології: зб. наук. праць. Київ-Луганськ. 2010. Вип. 6 (102). С. 365–372.

39. Дослідження залежності антигіпоксичної активності від хімічної структури в ряду похідних 7-*n*-метилбензил-8-заміщених теофіліну / О. П. Матвійчук, А. В. Таран, Б. А. Самура [та ін.]. *Український біофармацевтичний журнал*. Харків: ПП «Фармітек». 2011. № 5 (16). С. 26–29.

40. Дослідження залежності гострої токсичності та діуретичної активності від хімічної структури серед похідних 7-*n*-метилбензил-8-заміщених теофіліну / О. П. Матвійчук, А. В. Таран, Б. А. Самура [та ін.]. *Український біофармацевтичний журнал*. Харків: ПП «Фармітек». 2011. № 3 (14). С. 13–16.

41. 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. Vol. 7. № 4. С. 774–786.

42. Дученко К.А. Діуретична, аналгезуюча та протизапальна активність нового похідного 1,8-дизаміщених-7-алкіл-3-метилксантинів: дис. на здобуття ступеня к. мед. наук: 14.03.05 / Харків. 2017. 176 с.

43. Експериментальне вивчення токсичної дії потенційних лікарських засобів: метод. рек. / В. М. Коваленко, О. В. Стефанов, Ю. М. Максимов, І. М. Трахтенберг. *Доклінічні дослідження лікарських засобів*: ред. О. В. Стефанов. К.: МОЗ України, Державний фармакологічний центр. 2001. С. 74–97.

44. Ермоленко В. М., Николаев А. Ю. Острая почечная недостаточность: руков. М.: Гэотар-Медиа. 2010. 240 с.

45. Жураківська О. Ю. Нові прогностичні можливості термінального мозкового натрійуретичного пропептиду. *Клінічна та експериментальна патологія*. 2010. Т. 9. № 1 (31). С. 17–19.

46. Залежність гострої токсичності та діуретичної активності від хімічної структури серед похідних 7-*n*-метилбензил-8-заміщених теофіліну / О. П. Матвійчук, А. В. Таран, Б. А. Самура [та ін.]. *Український біофармацевтичний журнал*. Харків: ПП «Фармітек». 2010. № 3 (14). С. 13–17.

47. Залявська О. В. Механізми розвитку та взаємообтяження, клінічні

особливості перебігу реактивних артритів та хронічної хвороби нирок, шляхи патогенетичної корекції: автореф. дис. на здобуття ступеня канд. мед. наук: 14.01.02 / Тернопіль, 2014. 20 с.

48. Зверев Я. Ф., Брюханов В. М. Фармакология и клиническое использование экстремального действия диуретиков. М.: *Медицинская книга*, Н. Новгород: НГМА. 2000. 256 с.

49. Зограб'ян Р. О. Застосування антиоксидантів для лікування хронічної дисфункції ниркового алотрансплантата. *Укр. журн. нефрології та діалізу*. 2014. № 1(41). С. 37–41.

50. Исследование зависимости острой токсичности и диуретической активности от структуры аммониевых солей N-(3-метил-7-ацетилметилксантинил-8-пиперазиния) / В. И. Корниенко, Б. А. Самура, Н. И. Романенко [та ін.]. *Український біофармацевтичний журнал*. 2011. № 2 (13). С. 51–55.

51. Исследование зависимости анальгетической активности от химической структуры в ряду аммониевых солей N-(3-метил-7-ацетилметилксантинил)-8-пиперазиния / В. И. Корниенко, Б. А. Самура, Н. И. Романенко [та ін.]. *Фармаком*. 2011. № 1/2. С. 36–39.

52. Иванов Ю. И. Регуляция постоянства внутрисосудистой жидкости и роль натрийуретического фактора. *Кардиология*. 1975. Т. 15. № 8. С. 138–145.

53. Иванов Д. Д. Гостра ниркова недостатність. *Therapia*. 2008. № 5 (26). С. 22–24.

54. Иванченко Д. Г. Синтез, фізико-хімічні та біологічні властивості 1,8-дизаміщених теоброміну. *Актуальные вопросы фармацевтической и медицинской науки и практики*. 2015. № 3 (19). С. 4–8.

55. К методике определения среднесмертельных доз и концентраций химических веществ / Б. М. Штабский, М. Н. Биегоцкий, М. Р. Биегоцкий [и др.]. *Санитария и гигиена*. 1980. № 10. С. 49–51.

56. Косуба Р. Б., Кишкан І. Г., Коровенкова О. М. Роль натрійуретичного фактора (гормону) у ренальній та екстраренальній (на рівні кишечника) екскреції

іонів натрію з організму. *Клінічна та експериментальна патологія*. 2012. Т. 11. № 3 (41), ч. 1. С. 100–104.

57. Камилов, Ф. Х. Антиагрегационный эффект производных 3-метил-1-этилксантина. *Актуальные проблемы биохимии и бионанотехнологии: материалы III Международной научной конференции*, Казань. 2013. С. 141–142.

58. Камышников В. С. Клинико-биохимическая лабораторная диагностика. Справочник: В 2 т., Т. 1. / 2-е изд. Мн.: Интерпрессервис. 2003. 495 с.

59. Карабаева А. Ж. Альдостерон, сердечно-сосудистая система и почки. *Нефрология*. 2008. Т. 10. № 1. С. 25–33.

60. Киришина Н. С., Пименов Л. Т. Этапность развития дисфункции почек и анемии у больных с хронической сердечной недостаточностью. *Российский кардиологический журнал*. 2009. С. 21–24.

61. Кишкан І. Г. Вплив ксантинолу нікотинату на стан тканинного фібринолізу у щурів. *Бук. мед. вісник*. 2000. Т. 4. № 4. С. 154–157.

62. Кишкан І. Г. Вплив тренталу і ксантинолу нікотинату на функцію нирок та стан водно-солевого обміну (експериментальне дослідження): автореф. дис. на здобуття наук. ступеня канд. мед. наук: спец. 14.03.05 – фармакологія / К. 2001. 20 с.

63. Кишкан І. Г. Роль простагландинів у ренальній дії тренталу і ксантинолу нікотинату. *Бук. мед. вісник*. 2003. Т. 7. № 1–2. С. 71–73.

64. Кишкан І. Г., Кишкан П. Я. Роль клубочкового та каналцевого факторів у ренальній дії тренталу й ксантинолу нікотинату. *Матеріали II наук.-практ. конф. з міжнар. участю БДМУ [«Природничі читання»] (14-17 травня 2015 р., м. Чернівці)*. Чернівці: Медуніверситет. 2015. С. 198.

65. Кишкан І. Г., Косуба Р. Б. Метилксантини: сучасний стан та перспективи застосування (огляд літератури). *Буковинський медичний вісник*. 2017. Т. 21. № 1 (81).

66. Кишкан І. Г., Роговий Ю.Є., Косуба Р. Б. Вплив ксантинолу нікотинату на процеси необмеженого протеолізу. *Укр. мед. альманах*. 2003. Т. 6, № 2. С. 23–25.

67. Клиническая фармакология и фармакотерапия: учебник. изд 3-е. / под ред. В. Г. Кукеса, А. К. Стародубцева. Москва, Гэотар-Медиа. 2012. 840 с.
68. Князькова И. И., Лесовая А. В. Кардиоренальные взаимоотношения при сердечной недостаточности. *Ліки України*. 2010. № 10 (1). С. 57–59.
69. Колесник М. О., Лапчинська І. І. Вплив вазоактивних препаратів на функціональний стан нирок у хворих на хронічний гломерулонефрит з нирковою недостатністю. *Лікар. справа*. 1996. № 7–9. С. 18–21.
70. Компендіум 2012 – лекарственные препараты / под ред. В. Н. Коваленко. К.: Морион. 2012. 2320 с.
71. Корнієнко В. І. Пошук та розробка засобу для фармакологічної корекції нефро- та кардіопатії серед п-с-8-заміщених і конденсованих похідних ксантину: дис. на здобуття ступеня д. біол. наук: 14.03.05 / Харків. 2016. 316 с.
72. Корнієнко В. І. Фармакологічна активність 7,8-ди-, 1,7,8-тризаміщених ксантину та амонієвих солей 3,7-ди- і 1,3,7-триметилімідазо[1,2-f]ксантиніл-8-оцтової і пропіонової кислот: дис. на здобуття ступеня канд. фарм. наук: 14.03.05 / Харків. 2010. 185 с.
73. Корнієнко В. І., Самура Б. А. Вплив бенфураму на функцію нирок при пригніченні діяльності ренін-ангіотензин-альдостеронової системи. *Український біофармацевтичний журнал*. 2014. № 4. С. 30–34.
74. Красюк І. В. Вплив прогресування хронічної хвороби нирок на показники якості життя. *Укр. журнал нефрології та діалізу*. 2015. № 2 (46). С. 37–41.
75. Кузнецов С. Л., Мушкамбаров Н. Н. Гистология, цитология и эмбриология: Учебник для медицинских вузов. М.: ООО «Медицинское информационное агентство». 2008. 600 с.
76. Логвиненко Н. С., Иванова Л. Н. Молекулярные механизмы быстрой регуляции активности натриевого насоса в дистальных сегментах нефрона. *Нефрология*. 2001. Т. 3. № 3. С. 106.
77. Лот К. Основы физиологии почки. М.: Научный мир. 2005. 292 с.
78. Лапач С. Н., Чубенко А. В., Бабич П. Н. Статистические методы в

медико-биологических исследованиях с использованием EXCEL. Изд. 2-е, перераб. и доп. К.: Морион. 2001. 408 с.

79. Лебедев А. А. Диуретики как факторы, предупреждающие нарушение антиоксидантных систем при токсическом повреждении почек. *Нефрология*. 2002. Т. 5. № 3. С. 105–106.

80. Лекарственные средства: справочник / под ред. М.А. Клюева. М.: Лада. 2005. 768 с.

81. Лекарственные препараты в России: *Справ. Видаль*. М.: Астра-Фарм-Сервис. 2007. 1632 с.

82. Лечение заболеваний почек фитохимическими препаратами / Н. В. Попова, С. И. Дихтярев, Н. Ф. Маслова [и др.]. *Фітотерапія. Часопис*. 2011. № 4. С. 40–44.

83. Лікарські засоби. Належна лабораторна практика (видання офіційне): Настанова СТ-Н МОЗУ 42-6.0:2008. / О. Стефанов, Т. Бухтіарова, В. Коваленко [та ін.]. К.: Моріон. 2009. С. 37–68.

84. Мальцев В. И., Казимирко В. К. Гомеостаз натрия и калия в организме, его нарушения. *Здоров'я України*. 2004. № 4. С. 27.

85. Маслова Н. Ф., Носальская Т. Н., Литвинова Е. В. Экспериментальное обоснование состава нового препарата фларосукцин в лечении заболеваний почек, мочевыводящих путей и профилактике мочекаменной болезни. *Фармаком*. № 1. 2015. С.80–86.

86. Маслова Н.Ф., Шевіна В.Л., Борщевська М.І. Порівняльна оцінка фармакологічної дії препарату УРОНЕФРОН в 2-х лікарських формах: таблетки і краплі. *Фітотерапія. Часопис*. 2017. № 2. С.32–36.

87. Матвеева Н. Ю. Апоптоз: морфологические особенности и молекулярные механизмы. *Pacific Medical Journal*. 2003. № 4. С. 12–16.

88. Матвийчук Е. П. Исследование анальгетической и антиэкссудативной активности амонийных солей замещенных имидазо-[1,2-f]ксантинил-8-пропионовой кислоты. *Проблеми екологічної та медичної генетики і клінічної імунології: збірник наукових праць*. 2011. Вип. 1 (103). С. 352–360.

89. Матвійчук Е. П., Григорьева 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: збірник наукових праць*. 2011. Вип. 1 (103). С.300–306.

90. Матвійчук Е. П., Матвійчук А. В., Самура Б. А. Анальгетическая и антиэкссудативная активность замещенных 3-метилксантинов. *Актуальні питання створення нових лікарських засобів: матеріали всеукр. наук.–практ. конф. студентів та молодих вчених, м. Харків*. 2011. Х.: НФаУ, 2011. С.313–314.

91. Матвійчук Е. П., Самура Б. А. Влияние бенофиллина на функцию почек при водной нагрузке в длительном эксперименте. *Вестник фармации*. 2014. № 3 (65). С. 95–100.

92. 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.

93. 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 ХХІХ наук.–практ. конф. з міжнар. уч., м. Харків, 15 берез. 2012 р. Х., 2012. С. 111.*

94. 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 ХХХ Всеукр. наук.–практ. конф. з міжнар. уч., м. Харків, 23 травня 2013 р. Х., 2013. С. 239–243.*

95. 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 ХХХІ Всеукр. наук.–практ. конф. з міжнар. уч., м. Харків, 22 травня 2014 р. Х., 2014. С. 31.*

96. Матвійчук О. П. Вплив бенофіліну на спонтанний діурез та екскрецію електролітів після водного та сольового навантаження. *Фармакологія, фізіологія*

и патология 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.

97. 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.*

98. 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.*

99. 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.*

100. 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.*

101. 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.*

102. Машковский М. Д. Лекарственные средства / изд. 16-е, перераб., испр. и доп. М.: РИА Новая волна. 2010. 1216 с.

103. Медицинские лабораторные технологии: справочник. В 2 т. Т. 1 / под ред. А. И. Карпищенко. СПб: Интермедика. 2002. 408 с.; Т. 2 / под ред. А. И. Карпищенко. СПб: Интермедика. 2002. 600 с.

104. Мерзон А. К., Титаренко О. Т., Андреева Е. К. Сравнительная оценка методов химической индикации креатинина. *Лабораторное дело. 1970. № 7. С. 416–418.*

105. Меркулов Г. А. Курс патологогистологической техники. М.: Медицина, Ленингр. отделение, 1969. 424 с.

106. Метод определения активности каталазы / М. А. Королюк, Л. И. Иванова, И. Г. Майорова, В. Е. Токарев. *Лабораторное дело*. 1988. № 1. С. 16–19.

107. Метелица В. И. Справочник по клинической фармакологии сердечно-сосудистых лекарственных средств / изд.2-е. М.: Бином; СПб.: Невский диалект. 2002. 926 с.

108. Методи експериментального моделювання ураження нирок для фармакологічних досліджень: метод. реком. ДФУ України / С. Ю. Штриголь, В. М. Лісовий, І. А. Зупанець [та ін.]. К. 2009. С. 9–10.

109. Михеева А. И., Богодарова И. А. К методике определения общего белка в моче на ФЭК–Н–56. *Лабораторное дело*. 1969. № 7. С. 441–442.

110. Монатко К. В. Експериментальне дослідження нефропротекторної дії ліофільного порошку кавуна: автореф. дис. на здобуття наук. ступ. к.фарм.н. 14.03.05 / Харків. 2014. 20 с.

111. Мондодоев А. Г. Экспериментальная фармакотерапия поврежденных почек растительными лекарственными средствами : автореф. дисс. ... д-ра. мед. наук: 14.00.25 / Улан-Удэ. 2009. 44 с.

112. Морева Е. В., Бульон В. В. Влияние этимизола, кофеина и теофиллина на некоторые показатели углеводного обмена головного мозга и сердечной мышцы крыс. *Фармакология и токсикология*. 1975. Т. 37. № 9. С. 341–432.

113. Мохорт М. А., Яковлева Л. В., Шаповал О. М. Пошук та експериментальне вивчення фармакологічних речовин, які пропонуються як ненаркотичні анальгетики. *Доклінічні дослідження лікарських засобів: методичні рекомендації*. Київ. 2001. С. 307–320.

114. Мухин Н. А., Тареева И. Е., Шилов Е. М. Диагностика и лечение болезней почек. М.: Гэотар-Медиа. 2008. 384 с.

115. Мухин Н. А., Арутюнов Г. П., Фомин В. В. Альбуминурия – маркер поражения почек и риска сердечно-сосудистых осложнений. *Клиническая нефрология*. 2009. № 1. С. 5–10.

116. Мухин Н. А., Фомин В. В. Нефропротективная стратегия / учебное пособие для послевузовского образования: *Нефрология*; под ред. Е. М. Шилова. М.: ГЭОТАр-Медиа. 2007. С. 629–644.

117. Надлежащая производственная практика лекарственных средств. Активные фармацевтические ингредиенты. Готовые лекарственные средства: руководство по качеству / под ред. Н. А. Ляпунова, В. А. Загория, В. П. Георгиевского. К.: Морион. 2001. 472 с.

118. Насонов Е. Л., Каратаев А. Е. Поражения желудка, связанные с приемом нестероидных противовоспалительных препаратов (часть 1). *Клиническая медицина*. 2000. №3. С. 4–7.

119. Наточин Ю. В. Клиническая и молекулярная физиология осморегулирующей функции почек (К 200-летию со дня рождения Ф. Г. Генле). *Клиническая нефрология*. 2009. № 4. С. 25–31.

120. Наточин Ю. В. Физиология почки: формулы и расчеты. Л.: Наука. 1974. 60 с.

121. Наточин Ю. В. Физиология человека: почка. *Физиология человека*. 2010. Т. 36. № 5. С. 9–18.

122. Наточин Ю. В., Мухин Н. А. Введение в нефрологию. М.: Геотар-Медиа. 2007. 354 с.

123. Науменко Л. В. Поиск и изучение механизма действия производных ксантина, проявляющих гемореологические свойства: автореферат дисс. на соискание уч. степени канд. мед. наук 14.03.05 / Волгоград. 2006. 28 с.

124. Нефрология и урология: Учеб. пособие / А. С. Чиж, В. С. Пилотович, В. Г. Колб. Мн.: Книжный дом. 2004. С. 410–412.

125. Николаев А. Ю. Достоинства и недостатки нефропротективной стратегии (обзор литературы). *Лечащий врач*. 2014. № 8. С. 15–18.

126. Николаев А. Ю., Ермоленко В. М. Лечение почечной недостаточности: руков. для врачей. Изд. 2–е. перераб. и доп. М.: ООО «Издательство «Медицинское информационное агенство». 2011. 592 с.

127. Никоненко О. С., Грищенко С. М. Ренопротекція при трансплантації

нирки. *Медицина сьогодні і завтра*. 2011. № 1–2 (50–51). С. 158–161.

128. Новые перспективы нефропротекции / С. Ю. Штрыголь, О. В. Товчига, О. О. Койро [и др.]. *Буковинський медичний вісник*. 2012. Т. 16. № 3, ч. 2. С. 35–37.

129. Отравления этиленгликолем и его эфирами [Электронный ресурс] / Е. Ю. Бонитенко, Р. В. Бабаханян, В. К. Бородавко и др. *Российский биомедицинский журнал*, 2003. Т.4. 124с. Режим доступа: <http://www.medline.ru/public/art/tom4/art124.phtml>.

130. Олійник О. П. Використання антигіпоксантив у терапії експериментального гострого респіраторного дистрес-синдрому з сепсисом у щурів. *Шпитальна хірургія*, 4, 2013.С. 19–21.

131. Поиск активных соединений среди производных 2-[3-метил-1-этил-7-(диоксотетанил-3)ксантинил-8-тио]уксусной кислоты, влияющих на систему гемостаза / Ф. Х. Камилов, А. И. Самородова, Г. А. Тимирханова [и др.]. *Фундаментальные исследования*. 2011. № 9 (2). С. 254–256.

132. Поиск зависимости «структура-активность» производных ксантина в отношении адгезивно-агрегационной функции тромбоцитов / Г. А. Тимирханова, А. В. Самородов, Ф. Х. Камилов [та ін.]. *Химия и медицина: материалы VIII Всероссийской конференции*. Уфа. 2010. С. 96–97.

133. Поройков В. В. Компьютерное предсказание биологической активности веществ: пределы возможного. *Химия в России*. 1999. № 2. С. 8–42.

134. Поройков В. В. Компьютерный прогноз биологической активности химических соединений как основа для поиска и оптимизации базовых структур новых лекарств. В сб.: *Азотистые гетероциклы и алкалоиды*. Москва: Иридиум-пресс. 2001. Т. 1. С. 123–129.

135. Папаян А. В., Архипов В. В., Береснева Е. А. Маркеры функции почек и оценка прогрессирования почечной недостаточности. *Терапевтический архив*. 2004. №4. С. 83–90.

136. Порядок проведення науковими установами дослідів, експериментів на тваринах: Нормативний документ Міністерства освіти, науки, молоді та спорту України. Наказ від 01.03.2012 № 249 / Офіційний вісник України. Офіц. вид. 2012.

№ 24. С. 82.

137. Пошук біологічно активних сполук серед похідних 8-аміно-7-бензоілметилксантинів / М. В. Назаренко, М. І. Романенко, Д. Г. Іванченко [та ін.]. *Ліки – людині. Сучасні проблеми створення і клінічної апробації лікарських засобів*: матеріали ХХІХ Всеукраїнської науково–практичної конференції з міжнар. уч. 2012. Х.: вид-во НФаУ. С. 114.

138. Пошук протигрибкових сполук серед похідних 3-меркаптотріазолілметилксантинів / К. В. Александрова, С. В. Левіч, Д. М. Сінченко, Є. К. Михальченко. *Науково-технічний прогрес і оптимізація технологічних процесів створення лікарських препаратів*: матеріали VI науково–практичної конф. з міжнар. уч.: зб. матеріалів / під ред. І. М. Кліща, Т. А. Грошового, С. М. Марчишин [та ін.]. Тернопіль: ТДМУ. 2016. С. 4–5.

139. Про затвердження протоколів надання медичної допомоги за спеціальністю «Нефрологія»: Наказ МОЗ України від 12 грудня 2004 р. № 593 (Із змінами і доповненнями, внесеними згідно із Наказом МОЗ України від 24 травня 2012 р. № 382).

140. Прогностическое значение ранней коррекции анемии у больных хронической почечной недостаточностью / Л. Ю. Милованова, А. Ю. Николаев, Т. Ю. Козлова [и др.]. *Нефрология и диализ*. 2008. № 1. С. 54–57.

141. Прогностическое значение снижения функции почек у больных с хронической сердечной недостаточностью / В. А. Серов, А. М. Шутов, Е. Р. Сучков [и др.]. *Нефрология и диализ*. 2008. Т. 10. № 3–4. С. 214–218.

142. Прозоровский В. Б. Практическое пособие по ускоренному определению средних эффективных доз и концентрации биологически активных веществ. СПб. 1992. 42 с.

143. Романенко М. І., Мартинюк О. О., Самура Б. А., Таран А. В. 3-Метил-7-β-феноксіетил-8-N-піперазиніюксантин, що проявляє анальгетичну, протизапальну та діуретичну дію: пат. 60232, Україна. МПК (2009) С 07D 473/00; заявл. 13.12.2010 ; опубл. 10.06.2011, Бюл. №11.

144. Романенко М. І., Черчесова О. Ю., Евсеева Л. В., Самура Б. А., Таран

А. В. 3-Метил β-гідрокси γ-(п-хлорофенокси)-8-метилтіоксантин, який виявляє діуретичну дію: пат. 42262, Україна. МПК (2009) С 07D 473/00; заявл. 25.06.2009 ; опубл. 25.06.2009, Бюл. № 12.

145. 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 дії: пат. 116958. (51) України: МПК (2006) С07D 473/00; заявл. 26.12.2016; опубл. 12.06.2017, Бюл. № 11. 6 с.

146. Реброва О. Ю. Статистический анализ медицинских данных. Применение пакета прикладных программ STATISTICA. Изд 3-е. М.: МедиаСфера. 2006. 312 с.

147. Рекалов Д. Г., Приткова А. В. Патогенетическая сопряжённость активности инфламаторных процессов и ренальной дисфункции у больных с ранним ревматоидным артритом. *Запорожский медицинский журнал*. 2017. Т. 19. № 1(99) С. 118–122.

148. Роль ингибиторов фосфодиэстеразы цАМФ в фармакокоррекции гипоксического синдрома / В. Д. Лукьянчук, Л. В. Савченкова, В. В. Рыдлевский, И. П. Белоусова *Эксперим. и клинич. фармакология*. 1998. № 6. С. 37–39.

149. Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ / Под общей редакцией чл.-кор. РАМН, профессора Р. У. Хабриева. М. 2005. 796 с.

150. Рябов С. И., Наточин Ю. В. Функциональная нефрология. СПб.: Лань. 1997. 304 с.

151. Саноцкий И. В. Методы определения токсичности и опасности химических веществ (токсикометрия). М.: Медицина. 1980. С. 56–57.

152. Сернов Л. Н., Гацура В. В. Элементы экспериментальной фармакологии. М.: Медицина. 2000. 352 с.

153. Сидоров К. К. О классификации токсичности ядов при парентеральных способах введения. *Токсикология новых промышленных веществ*. 1973. Вып. 13. С. 47–60.

154. Синтез і вивчення діуретичної дії похідних 7-β-гідрокси-γ-(4'-

хлорфенокси)пропіл-3-метил-8-тіоксантину / О. Ю. Черчесова, М. І. Романенко, Б. А. Самура, А. В. Таран. *Актуальні питання фармацевтичної медичної науки та практики*. 2015. Вип. XXIV. С. 41–44.

155. Сметаніна К. І. Рослинні ліки. Проблеми розробки лікарських засобів рослинного походження. *Фармацевтичний часопис*. 2011. № 2. С. 95–97.

156. Смирнов А.В., Каюков И. Г., Добронравов В. И. Острое повреждение почек – новое понятие в нефрологии. *Клиническая нефрология*. 2016. № 1. С. 11–15.

157. Снижение скорости клубочковой фильтрации как независимый фактор риска сердечно-сосудистой болезни / А. В. Смирнов, В. М. Седов, Лхаахуу Од Эрдэнэ [и др.]. *Нефрология*. 2008. Т.10. № 4. С. 7–17.

158. Стальная И. Д., Гаришвили Т. Г. Метод определения малонового диальдегида с помощью тио-барбитуровой кислоты. *Современные методы в биохимии*: за ред. В. Н. Орехович. М.: Медицина. 1977. С. 66–68.

159. Сучасні уявлення про водно-сольовий обмін / М. В. Погорелов, В. І. Бумейстер, Г. Ф. Ткач [та ін.]. *Вісник проблем біології і медицини*. 2009. вип. 2. С. 8–14.

160. Сергиенко В. И., Бондарева И. Б. Математическая статистика в клинических исследованиях. Изд. 2-е, перераб. и доп. М.: Гэотар-Медиа. 2006. 304 с.

161. Синтез і фізико-хімічні властивості водорозчинних похідних 3-бензилксантину / К. В. Александрова, С. В. Левіч, О. С. Шкода, Д. М. Юрченко. *Актуальні питання фармацевтичної і медичної науки та практики*. 2015. № 1 (17). С. 60–65.

162. Синтез та фізико-хімічні та біологічні властивості амідів 3-арил(аралкіл)ксантиніл-7-ацетатних кислот / К. В. Александрова, С. В. Левіч, Д. М. Сінченко, О. Б. Макоїд. *Науково-технічний прогрес і оптимізація технологічних процесів створення лікарських препаратів*: матеріали VI науково-практичної конф. з міжнар. уч.: зб. матеріалів; під ред. І. М. Кліща, Т. А. Грошового, С. М. Марчишин [та ін.]. Тернопіль: ТДМУ. 2016. С. 5.

163. Сметаніна К. І. Рослинні ліки. Проблеми розробки лікарських засобів рослинного походження. *Фармацевт. часоп.* 2011. № 2. С. 95–98.

164. Смирнов А. В., Каюков И. Г., Добронравов В. А. Концепция факторов риска в нефрологии: вопросы профилактики и лечения хронической болезни почек. *Нефрология.* 2008. Т. 12. № 1. С. 7–13.

165. Таран А. В., Самура Б. А. Дослідження впливу амонієвих солей 7- β -етаноат-8-гідроген-3-метилксантину на системний артеріальний тиск. *Фармацевтичний часопис.* 2011. № 1. С. 63–66.

166. Товчига О. В. Дослідження сечогінної, нефропротекторної, гіпоурикемічної дії яглиці звичайної (*Aegorodium podagraria* L.) як основа для створення лікарських засобів: автореф. дис. ... канд. фармацев. наук: 14.03.05 «Фармакологія» / Харків, 2009. 21 с.

167. Товчига О. В., Ролік С. М., Штриголь С. Ю. Препарати з нефропротекторною дією: Огляд фармацевтичного ринку України. *Український біофармацевтичний журн.* 2011. № 2. С. 29–35.

168. Фармацевтична енциклопедія / НАН України, НАМН України, НФаУ; ред. рада: В. П. Черних (голова), І. М. Перцев; ред.–упоряд.: С. В. Андрущенко, С. А. Нежуріна, Д. В. Литкін. Вид. 3–тє, доп. К.: МОРІОН, 2016. 1952 с.

169. Филимонов Д. А., Поройков В. В. Прогноз спектра биологической активности органических соединений. *Рос. Хим. Ж.* 2006. №2. С. 66–75.

170. Функціональний нирковий резерв: монографія / А. І. Гоженко, А. В. Кравчук, О.П. Никитенко, О. М. Москоленко, В. М. Сірман. Одеса: Фенікс. 2015. 182 с.

171. Функціональний нирковий резерв при хронічних нефропатіях / А. І. Гоженко, С. Г. Котюжинська, Н. І. Бурлака, О. М. Слученко. *Актуальные проблемы транспортной медицины.* 2007. № 1. С. 131–134.

172. Функціональний стан нирок в умовах спонтанного та індукованого діурезу у нефрологічних хворих / А. І. Гоженко, А. В. Хамініч, Л. В. Романів [та ін.]. *Вісник морської медицини.* 2008. № 3-4. С. 70–75.

173. Хорошилов С. Е., Никулин А. В. Возможности медикаментозной

нефропротекции и профилактики острой почечной недостаточности. *Буковинський медичний вісник*. 2012. Т. 16. № 3(63), ч.2. С. 31–35.

174. Чайковская И. В., Яворская Л. В. Синдром эндогенной интоксикации и его роль при патологических процессах. *Питання експериментальної та клінічної медицини*. 2012. Вип. 16. Т. 1. С. 144–149

175. Штриголь С. Ю. Побочное действие диуретиков. *Провизор*. 2003. № 19. С. 30–33.

176. Штриголь С. Ю., Товчига О. В. Біологічно активні речовини та препарати рослинного походження із нефропротекторною активністю. *Фармаком*. 2010. № 1. С. 140–155.

177. Штриголь С. Ю., Аракелян Н. Г. Острая почечная недостаточность: механизмы развития и экспериментальные модели. *Запорожский мед. журн*. 2005. Т. 32. № 5. С. 150–155.

178. Шюк О. Т. Функциональное исследование почек. Прага: Авиценум. 1981. 344 с.

179. Щорічна доповідь про стан здоров'я населення, санітарно-епідемічну ситуацію та результати діяльності системи охорони здоров'я України. 2015 рік / МОЗ України, ДУ «УІСД МОЗ України». Київ, 2016. 536 с.

180. Юрченко Д. М., Александрова К. М., Романенко М. І., Самура Б. А., Таран А. В. Амід 4-феніл-5-(3'-метилксантиніл-7)-1,2,4-триазоліл-3-тіоацетатної кислоти, який виявляє протизапальну та анальгетичну дії: пат. 61715, Україна. МПК (2011.01) С 07D 473/00; заявл. 17.01.2011; опубл. 25.07.2011, Бюл. № 14.

181. Юрченко Д. М., Александрова К. М., Романенко М. І., Самура Б. А., Таран А. В. Амід 4-феніл-5-(3'-метилксантиніл-7)-1,2,4-триазоліл-3-тіоацетатної кислоти, який виявляє протизапальну та анальгетичну дії: пат. 61925, Україна. МПК (2011.01) С 07D 473/00; заявл. 12.11.2010; опубл. 10.08.2011, Бюл. № 15.

182. (3-бензилксантиніл-8)метилтіоацетати: антиоксидантна дія в умовах модельованого нітрозуючого стресу in vitro / К. В. Александрова, І. Ф. Беленічев, Н. В. Бухтіярова [та ін.]. *Запорож. мед. ж.* 2011. Т. 13, № 5. С. 137–139.

183. 8-Substitutes xanthine derivatives: Pat. 2253075 Austria. / К. Klinger.

Chem. Abstrac. 1973. Vol. 79. P. 6638.

184. Acute kidney injury, mortality, length of stay, and costs in hospitalized patients / G. M. Chertow, E. Burdick, M. Honour [et al.]. *Journal Am SocNephrol.* 2009. P. 3365–3370.

185. Adenosine A1 and A3 receptors protect astrocytes from hypoxic damage / O. Björklund, M. Shang, I. Tonazzini [et.al.]. *Eur Journal Pharmacol.* 2008. Vol. 596. P.6–13.

186. Adenosine A2A receptor activation attenuates inflammation and injury in diabetic nephropathy / A. S.Awad, L.Huang, H. Ye [et al.]. *Am. Journal Physiol. Renal. Physiol.* 2008. Vol. 290. P. 828–837.

187. Adenosine generation and signaling during acute kidney injury / J. D. Bauerle, A. Grenz, J. H. Kim [et al.]. *J Am SocNephrol.* 2011; 22:14–20.

188. Adenosine receptor agonists: from basic medicinal chemistry to clinical development / L. Yan, J. C. Burbiel, A. Maass, C. E. Miller. *Expert Opin Emerg Drugs.* 2003. Vol. 8. P. 537–576.

189. Adenosine receptors: therapeutic aspects for inflammatory and immune diseases / G. Hasky, J. Linden, B. Cronstein, P. Pacher. *Nat Rev Drug Discov.* 2008. Vol. 7.P. 759–770.

190. Bagshaw S. M., Ghali W. A., Bagshaw S. M. Theophylline for prevention of contrast-induced nephropathy: a systematic review and meta-analysis. *Arch Intern Med.* 2005. Vol. 165. P. 1087–1093.

191. Bakr A. F. Prophylactic theophylline to prevent renal dysfunction in newborns exposed to perinatal asphyxia – a study in a developing country. *Pediatr Nephrol.* 2009. Vol.20.P. 1249–1252.

192. Bertil B. F. Methylxanthines. *Springer Science & Business Media.* 2010. 559 p.

193. BG9719 (CVT-124), an A1 adenosine receptor antagonist, protects against the decline in renal function observed with diuretic therapy / S. S. Gottlieb, D. C. Brater, I. Thomas [et al.]. *Circulation.* 2008. P. 1348–1353.

194. Brugós L.,Gesztelyi R., Zsuga J. Modulation of adenosine-induced

responses in the guineapig trachea during longterm caffeine treatment: possible role of epithelium. *Journal Pharmacol. Sci.* 2010. Vol. 105. № 3. P. 279–290.

195. Caffeine analogs inhibits adenosine-induced accumulation of hypoxia-inducible factor-1alpha, vascular endothelial growth factor, and interleukin-8 expression in hypoxic human colon cancer cells / S. Merighi, A. Benini, P. Mirandola [et al.]. *Mol Pharmacol.* 2009. Vol. 72. № 2. P. 395–406.

196. Caffeine and diuresis during rest and exercise: A metaanalysis / Yang Zhang, Aitor Coca, Douglas J. Casa [et al.]. *Journal of Science and Medicine in Sport.* 2015. Vol. 18. Issue 5. P. 569–574.

197. Caffeine-induced diuresis and natriuresis is independent of renal tubular NHE3 / R. A. Fenton, S. B. Poulsen, S. M. Chavez [et al.]. *American Journal of Physiology. Renal Physiology Published.* 2015. Vol. 308. №. 12. P. 102–112.

198. Chen Y. M., Lin S. L., Chiang W. C. Pentoxifylline ameliorates proteinuria through suppression of renal monocyte chemoattractant protein-1 in patients with proteinuric primary glomerular diseases. *Kidney Int.* 2006. P. 1410–1455.

199. Daly J. W. Caffeine analogs: biomedical impact. *Cell Mol Life Sci.* 2009. P. 2153–2169.

200. Darmon M. Acute renal failure. *Intensive Care Medicine* Volume 41, Issue 5 May 2015. pp 875–886

201. Day Y. J., Huang L., Linden Ye. J. Renal ischemia-reperfusion injury and adenosine a2a receptor-mediated tissue protection: role of macrophages. *Am Journal Physiol. Renal. Physiol.* 2008. Vol. 288. P. 722–731.

202. Devarajan P. Update on mechanisms of ischemic acute kidney injury. *Am Journal Soc. Nefrol.* 2006. Vol. 17. № 6. P. 1503–1520.

203. Di Sole F. Adenosine and renal tubular function. *Curr Opin Nephrol Hypertens.* 2008. P. 399–407.

204. Early renal post-ischaemic tissue damage and dysfunction with contribution of A1-adenosine receptor activation in rat / S. M. Moosavi, G. Bayat, S. M. Owji, M. R. Panjehshahin. *Nephrology (Carlton).* 2009. P. 179–188.

205. Effects of pentoxifylline on TNF- α production by peripheral blood mononuclear cells in patients with nonalcoholic steatohepatitis / D. G. Duman, F. Ozdemir, E. Birben [et al.]. *Digestive Diseases and Sciences*. 2007. Vol. 52, № 10. P. 2520–2524.

206. Efrati S., Berman S., Ilgiyeav I. Differential effects of Nacetylcysteine, theophylline or bicarbonate on contrast-induced rat renal vasoconstriction. *Am Journal Nephrol*. 2009. P. 181–191.

207. Eltzschig H. K., Kohler D., Eckle T. Central role of Sp1-regulated CD39 in hypoxia/ischemia protection. *Blood*. 2009. P. 113. 224–232.

208. European convention for the protection of the vertebrate animals used for experimental and other scientific purposes: Council of Europe 18.03.1986. Strasbourg, 1986. 52 p.

209. European Renal Best Practice (ERBP) position statement on the Kidney Disease Improving Global Outcomes (KDIGO) clinical practice guidelines on acute kidney injury: part 1: definitions, conservative management and contrast-induced nephropathy / D. Fliser, M. Laville, A. Covic [et al.]. *Nephrol Dial Transplant*. 2012. Vol. 27. P. 4263–4272.

210. Fluid, electrolyte, and renal indices of hydration during 11 days of controlled caffeine consumption / L. E. Armstrong, A. C. Pumerantz, M. W. Roti [et al.]. *Int J Sport Nutr Exerc Metab*. 2005. P. 252–265.

211. Giassock R. J., Winearls C. Routine reporting of estimated glomerular filtration rate: Not ready for prime time. *Nat. Clin. Pract. Nephrol*. 2008. № 8. P. 422–423.

212. Givertz M. M., Massie B. M., Fields T. K. The effect of KW-3902, an adenosine A1-receptor antagonist, on diuresis and renal function in patients with acute decompensated heart failure and renal impairment or diuretic resistance. *J Am Coll Cardiol*. 2007. Vol. 50. P. 1551–1560.

213. Grenz A., Zhang H., Eckle T. Protective role of ecto-5'-nucleotidase (CD73) in renal ischemia. *Journal Am Soc Nephrol*. 2008. Vol. 18. P. 833–845.

214. Inhibition of monoamine oxidase B by analogues of the adenosine A2A

receptor antagonist (E)-8-(3-chlorostyryl)caffeine (CSC) / J. J. Bergh, J. P. Petzer, N. Vlok [et al.]. *Jr Bioorg Med Chem*. 2008. Vol. 14.P. 3512–3521.

215. Intensity of renal support in critically ill patients with acute kidney injury / P. M. Palevsky, J. H. Zhang, T. Z. O'Connor [et al.]. *The New England Journal of Medicine*. 2008. № 359 (1). P. 7–20.

216. Jacobson K. A. Adenosine A3 receptors: novel ligands and paradoxical effects. *Trends Pharmacol Sci*. 1998. P. 184–191.

217. Kidney-specific reconstitution of the A1 adenosine receptor in A1 adenosine receptor knockout mice reduces renal ischemia reperfusion injury / M. Kim, S. W. Chen, S. W. Park [et.al.]. *Kidney Int*. 2009. P. 809–823.

218. Kornienko V., Tarasyavichyus E., Samura B. Conformity research of antiexudative activity of the chemical structure among 7-benzoyl-8- substituted theophyllines. *Mediconos*. 2013. Vol. 19, № 2. P. 137–140.

219. Kunle O. F., Egharevba H. O., Ahmadu P. O. Standardization of herbal medicines - A review. *Int. J. Biodivers. Conserv*. 2012. Vol. 4, No. 3. P. 101–112.

220. Linden J. New insights into the regulation of inflammation by adenosine. *Journal Clin. Invest*. 2008. Vol. 116. P. 1835–1837.

221. Marrasi-Uberti E., Turba C. The experimental gastric ulcer from histamin in guinea-pigs. Rept.II. Methodology for biologically controlling the antiulcer activity of drugs. *Med. Exp*. 1961. Vol. 37. № 1. P. 9–14.

222. Meta-analysis: effectiveness of drugs for preventing contrast-induced nephropathy / A. M. Kelly, B. Dwamena, P. Cronin [et al.]. *Ann Intern Med*. 2008. P. 284–294.

223. Mitochondria-targeted antioxidant peptide SS31 prevents hypoxia/reoxygenation-induced apoptosis by down-regulating p66Shc in renal tubular epithelial cells / W. Y. Zhao, S. Han, L. Zhang [et al.]. *Cell. Physiol. Biochem*. 2013. Vol. 32.№ 3. P. 591–600.

224. Nephroprotection by theophylline in patients with cisplatin chemotherapy: a randomized, single-blinded, placebocontrolled trial / P. Benoehr, P. Krueth, C. Bokemeyer [et al.]. *Journal Am Soc Nephrol*. 2005. P. 452–458.

225. Okusa M. D. A(2A) adenosine receptor: a novel therapeutic target in renal disease. *AmJournal Physiol. Renal. Physiol.* 2002. Vol. 282. P. 10–18.
226. Okusa M. D. The changing pattern of acute kidney injury: from one to multiple organ failure. *Contrib-Nephrol.* 2010. P. 153–158.
227. Osswald H., Schnermann J. Methylxanthines and the kidney. *Handb.Exp.Pharmacol.* 2011. Vol. 16. P. 391–412.
228. Overview on External Contamination Sources in Traditional Chinese Medicines / J. Xue, D. J. Liu, Sh. Chen [et al.]. *Mode. Tradit. Chin. Med. Mater. Med.* 2008. Vol. 10, No1. P. 91–96.
229. Pentoxifylline protects against endotoxininduced acute renal failure in mice / W. Wang, E. Zolty, S. Falk [et al.]. *Am Journal Physiol Renal Physiol.* 2008. P. F1090–F1095.
230. Pentoxifylline suppresses renal tumour necrosis factor-alpha and ameliorates experimental crescentic glomerulonephritis in rats / Y. M. Chen, Y. Y. Ng, S. L. Lin [et al.]. *Nephrol Dial Transplant.* 2008. P. 1106–1115.
231. Prognosis for long-term survival and renal recovery in critically ill patients with severe acute renal failure: a population-based study / T. Rosenal, S. M. Bagshaw, K. B. Laupland, C. J. Doig. *Crit Care.* 2005. Vol. 9. P. R700–R709.
232. Protection against acute kidney injury via A1 adenosine receptor-mediated Akt activation reduces liver injury after liver ischemia and reperfusion / S. W. Park, S. W. Chen, M. Kim [et al.]. *Journal Pharmacol. Exp. Ther.* 2010. Vol. 333. P. 736–747.
233. Purinergic receptors in gastrointestinal inflammation / V. L. Kolachala, R. Bajaj, M. Chalasani, S. V. Sitaraman. *Am Journal Physiol. Gastrointest Liver Physiol.* 2008. Vol. 294. P. 401–410.
234. Rajagopalan C. S. Crush injuries and the crush syndrome. *MJAFI.* 2010. Vol. 66. P. 317–320.
235. Regulated catalysis of extracellular nucleotides by vascular CD39/ENTPD1 is required for liver regeneration / G. Beldi, Y. Wu, X. Sun [etal.]. *Gastroenterology.* 2008. Vol. 135. P. 1751–1760.
236. Renal actions of theophylline and atrial natriuretic peptide in humans: a

comparison by means of clearance studies / J. J. Beutler, H. A. Koomans, J. A. Bijlsma, E. J. Dorhout Mees. *Journal Pharmacol Exp Ther.* 1990. Vol. 255. P. 1314–1319.

237. Renal functional reserve / C. Amiel, F. Blanchet, G. Friedlander [et al.]. *Nephrology Dial Transplant.* 1990. Vol. 5. P. 763–770.

238. Rieg T., Steigele H., Schnermann J. J. Requirement of destructive adenosine A1 receptors for the diuretic and natriuretic action of the methylxanthines theophylline and caffeine. *Pharmacol Exp Ther.* 2008. Vol. 313. P. 403–409.

239. Rodriguez-Moran M., Guerrero-Romero F. Pentoxifylline is as effective as captopril in the reduction of microalbuminuria in non-hypertensive type 2 diabetic patients-a randomized, equivalent trial. *Clin Nephrol.* 2005. Vol. 64. P. 91–97.

240. Sahoo N., Manchikanti P., Dey S. Herbal drugs: Standards and regulation. *Fitoterapia.* 2010. Vol. 81. P. 462–471.

241. Stickney J.S., Van Liere E. I., Weiztimp P. W. Medicinal regulation of cAMP content in cells. *American Journal Physiology.* 1951. Vol. 167. P. 24–36.

242. The comparison of the diuretic and natriuretic efficacy of continuous and bolus intravenous furosemide in patients with chronic kidney disease / S. Sanjay, R. A. Annigeri, R. Seshadri [et al.]. *Nephrology.* 2008. Vol. 13. P. 247–250.

243. The effect of KW-3902, an adenosine A1 receptor antagonist, on renal function and renal plasma flow in ambulatory patients with heart failure and renal impairment / H. C. Dittrich, D. K. Gupta, T. C. Hack [et al.]. *Journal Card Failure.* 2009. Vol. 13 P. 609–617.

244. The reno-vascular a 2b adenosine receptor protects the kidney from ischemia / A. Grenz, H. Osswald, T. Eckle [et al.] *Plos Med.* 2008. Vol. 5. P. 137.

245. Theophylline for prevention of kidney dysfunction in neonates with severe asphyxia / Eslami Z., Shajari A., Kheirandish M. [et al.] *Iran Journal Kidney Dis.* 2009. Vol. 3. № 4. P. 222–226.

246. Thompson L. F., Eltzhig H. K., Ibla J. C. Crucial role for ecto-5'-nucleotidase (CD73) in vascular leakage during hypoxia. *Journal Exp Med.* 2014. P. 1395–1405.

247. Thomson S. C., Blantz R. C. Glomerulotubular balance, tubuloglomerular

feedback, and salt homeostasis. *Journal Am Soc Nephrol*. 2008. Vol. 19. P. 2272–2275.

248. Vallon V., Osswald H. Adenosine receptors and the kidney. *Handb. Exp. Pharmacol.* 2009. P. 443–470.

249. Xanthine derivatives processes for their production and their use as pharmaceutical for treating asthma and bronchitis: Pat. 215736 G. Brit. C 07 D 473 / 12. *Chem. Abstrac.* 1984. Vol. 79. P. 4632.

250. Yang D., Koupenova M., McCrann D. J. The A2b adenosine receptor protects against vascular injury. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 2008. Vol. 105. P. 792–796.

251. Zheng J., Wang R., Zambraski E. A novel protective action of adenosine A3 receptors: attenuation of skeletal muscle ischemia and reperfusion injury. *Am Journal Physiol Heart Circ Physiol*. 2007. Vol. 293. P. 3685–3691

ДОДАТКИ

Додаток А

Таблиця 1

Основні фармакологічні ефекти сучасних препаратів ксантинового ряду

Назва препарату (діюча речовина)	Фармакологічні ефекти	Механізм дії	Показання	Побічні ефекти	Протипоказання
1	2	3	4	5	6
Кофеїн-Бензоат Натрію (кофеїн)	Центральні: психостимуловальний, аналептичний; Периферичні: вплив на коронарний та нирковий кровообіг, У низьких дозах позитивний інотропний ефект, у високих – позитивний хронотропний.	Пригнічення фосфодіестерази, накопичення цАМФ, посилення глікогенолізу, стимуляція метаболізму в органах і тканинах. Зв'язок з пуриновими рецепторами мозку.	Захворювання з пригніченням ЦНС та ССС, пригнічення дихання, асфіксія; отруєння наркотиками та речовинами, що пригнічують ЦНС; астеничний синдром; спазми судин головного мозку.	Збудження, безсоння, головний біль, епілептичні напади, стиснення у грудях, тахікардія, аритмія, підвищення АТ, нудота, діарея, загострення ВХШ, бронхоспазм.	Підвищена збудливість; безсоння; виражене підвищення АТ; атеросклероз; захворювання ССС, у т. ч. гострий ІМ; тахікардія; АГ; глаукома; вік понад 60 років.

продовження таблиці 1

1	2	3	4	5	6
Апо-Окстрифілін, Теопек (холіну теофілінат).	Психостимулювальний Бронхолітичний	Неселективний інгібітор ФДЕ, ↑цАМФ бронхів та бронхіол, Інгібітор ФДЕ IV тип, ↑ пригнічення функції опасистих клітин, еозинофілів, Т-лімфоцитів. Антагоніст АР. Стимулює дихальний центр, вентиляцію легень ↓ тиск у малому колі кровообігу покращує роботу серця. Чинить діуретичну дію (ШКФ). Стимулює ЦНС.	Бронхообструктивний синдром, БА, ХОЗЛ, обструктивна емфізема легенів.	Диспепсія, ВХШ, кровотечі з ШКТ, головний біль, нервозність, безсоння, судоми, тахікардія, гіпотонія, колапс, лейкопенія, анемія, алергічні реакції.	ВХШ та дванадцятипалої кишки, гострий ІМ, ГСН, вік до 10 років.

продовження таблиці 1

1	2	3	4	5	6
Трентал (пентоксифілін)	Периферичний вазодилататор	Пригнічення ФДЕ накопичення цАМФ у в тканинах і органах, ↓ агрегації тромбоцитів і еритроцитів, ↓ концентрації фібриногену в плазмі крові та ↑ фібриноліз, покращує реологічні властивості крові. Міотропна судиннорозширювальна дія, поліпшує мікроциркуляцію та кровопостачання тканин, розширює коронарні судини.	Атеросклеротична енцефалопатія; ішемічний церебральний інсульт; дисциркуляторна енцефалопатія; порушення периферичного кровообігу, трофічні розлади в тканинах, облітеруючий ендартеріїт; ангіонейропатії (хвороба Рейно) та ін.	Захворювання ШКТ, нудота, блювання, пронос, головний біль, запаморочення, неспокій та порушення сну.	Масивні кровотечі, значні крововиливи у сітківку, у мозок, гострий період ІМ

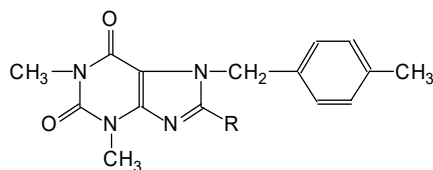
продовження таблиці 1

1	2	3	4	5	6
Ксантинолу нікотинат (ксантинолу нікотинат)	Спазмолітичний	Блокує ФДЕ, антагоніст АР, сприяє накопиченню цАМФ, коферментів і простагліцину у стінці судин. Розширює кровоносні судини, покращує колатеральний та мозковий кровообіг, ↓ церебральну гіпоксію, агрегацію тромбоцитів, мікроциркуляцію, посилює скорочення серця, покращує метаболічні процеси у мозку, ↓ рівень холестерину, ліпопротеїдів, сечової кислоти, фібриногену, посилює активність ліпопротеїнліпази, посилює фібриноліз.	Атеросклероз судин нижніх кінцівок; хвороба Рейно; атеросклероз периферичних кровоносних судин; діабетична ангіопатія; ретинопатія; тромбоз та емболія кровоносних судин; мігрень; порушення мозкового кровообігу; травми гол. мозку	Артеріальна гіпотонія, мінуще відчуття тепла, почервоніння шкіри голови і шиї, слабкість, запаморочення, відчуття тиску в голові, нудота, ↓ толерантності до глюкози, підвищення активності печінкових трансаміназ і лужної фосфатази, гіперурикемія.	Гіперчутливість до компонентів препарату, тяжка застійна серцева недостатність, гостра кровотеча, гострий ІМ, ВХШ і дванадцяти палої кишки в стадії загострення, 1 триместр вагітності.

закінчення таблиці 1

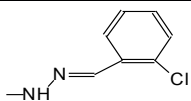
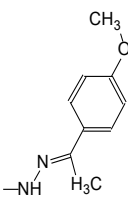
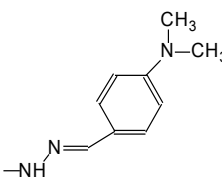
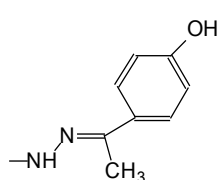
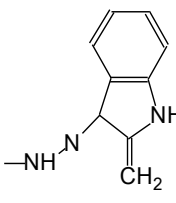
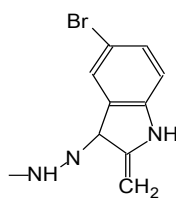
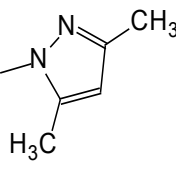
1	2	3	4	5	6
Теобромін (теобромін)	Стимулює серцеву діяльність, розширює коронарні судини та бронхи, посилює сечовиділення, викликає слабе збудження ЦНС.	Діуретичний ефект, пов'язаний переважно зі зменшенням каналцевої реабсорбції води, іонів натрію і хлору.	Спазми судин головного мозку, іноді при набряках внаслідок серцевої і ниркової недостатності	Слабке збудження ЦНС	Подагра, пептична ВШ.
Спофілін Дифумал 24 Вентакс Ретафіл Доксофілін Еуфілін (теофілін)	Діуретичний Кардіотонічний Вазодилатуючий Бронходилатуючий	Пригнічує фосфодіестеразу і збільшує рівень цАМФ в клітинах, конкурентно блокує аденозинові рецептори.	БА, бронхообструктивний синдром, хронічна дихальна недостатність	Нудота, блювання, шлунково-стравохідний рефлюкс, шлунково-кишкові кровотечі, головний біль, безсоння, занепокоєння судами, тахікардія, алергічні реакції	ВХШ та дванадцятипалої кишки, кровотеча в ШКТ, печінкова недостатність, ІМ, аритмія, кардіоміопатія, тиреотоксикоз, епілепсія, глаукома

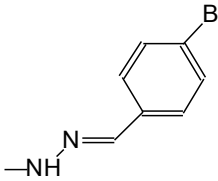
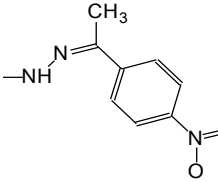
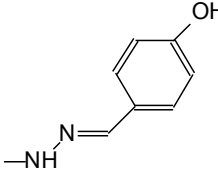
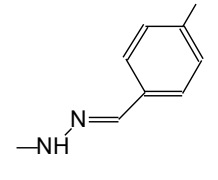
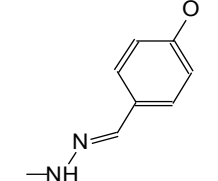
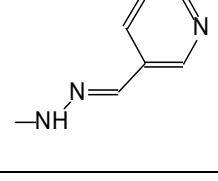
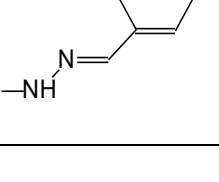
Хімічна будова 7,8-дизаміщених похідних теофіліну



№	Шифр	Назва сполуки	Брутто формула	Будова радикалу (R)	М. м.
1	2	3	4	5	6
1.	γ-2769	7-п-метилбензил-8-гідразинотеофілін	C ₁₅ H ₁₈ N ₆ O ₂	—NH—NH ₂	314,34
2.	γ-2791	7-п-метилбензил-8-бензиліденгідразинотеофілін	C ₂₂ H ₂₂ N ₆ O ₂		402,45
3.	γ-2792	7-п-метилбензил-8-п-метоксибензиліденгідразинотеофілін	C ₂₃ H ₂₅ N ₆ O ₃		432,48
4.	γ-2793	7-п-метилбензил-8-о-гідроксибензиліденгідразинотеофілін	C ₂₂ H ₂₃ N ₆ O ₃		418,45
5.	γ-2794	7-п-метилбензил-8-(α-метил)-бензиліденгідразинотеофілін	C ₂₄ H ₂₅ N ₅ O ₂		416,48
6.	γ-2795	7-п-метилбензил-8-п-хлорбензиліденгідразинотеофілін	C ₂₂ H ₂₀ N ₆ O ₃		436,89

продовження таблиці 2

1	2	3	4	5	6
7.	γ -2796	7-п-метилбензил-8-о-хлорбензиліденгідразинотеофілін	$C_{22}H_{20}N_6O_2C$ 1		436,89
8.	γ -2797	7-п-метилбензил-8-(α -метил)-п-метоксибензиліденгідразинотеофілін	$C_{24}H_{25}N_6O_3$		446,50
9.	γ -2798	7-п-метилбензил-8-п-амінодиметилбензиліденгідразинотеофілін	$C_{24}H_{26}N_7O_2$		445,52
10.	γ -2799	7-п-метилбензил-8-(α -метил)-п-гідроксибензиліденгідразинотеофілін	$C_{23}H_{24}N_6O_3$		432,48
11.	γ -2802	7-п-метилбензил-8-(2,3'-дигідроіндолон-2-іліден-3)гідразинотеофілін	$C_{24}H_{24}N_7O_2$		443,46
12.	γ -2803	7-п-метилбензил-8-(5-бром-2,3'-дигідроіндолон-2-іліден-3)гідразинотеофілін	$C_{24}H_{23}N_7O_2Br$		522,36
13.	γ -2805	7-п-метилбензил-8-(3,5-диметилпіразоліл-1) теофілін	$C_{20}H_{22}N_6O_2$		378,43

1	2	3	4	5	6
14.	γ-2806	7-п-метилбензил-8-п- бромобензиліденгідрази нотеофілін	$C_{22}H_{20}N_6O_2Br$		481,35
15.	γ-2808	7-п-метилбензил-8-(α- метил)-п- нітробензиліденгідрозин отеофілін	$C_{21}H_{23}N_7O_4$		461,47
16.	γ-3394	7-п-метилбензил-8-п- гідроксибензиліденгідрозино теофілін	$C_{22}H_{22}N_6O_3$		418,45
17.	γ-3398	7-п-метилбензил-8-п- фторобензиліденгідрозинотео філін	$C_{22}H_{20}N_6O_2F$		420,44
18.	γ-3399	7-п-метилбензил-8-п- етоксибензиліденгідрозиноте офілін	$C_{24}H_{26}N_6O_3$		446,50
19.	γ-3401	7-п-метилбензил-8-(піридин- 3'-іл) метиліденгідрозинотеофілін	$C_{21}H_{21}N_7O_2$		403,44
20.	γ-3402	7-п-метилбензил-8-(піридин- 4'-іл) метиліденгідрозинотеофілін	$C_{21}H_{21}N_7O_2$		403,44

Таблиця 3

Зведені дані результатів прогнозу біологічної активності вперше синтезованих 7,8-дизаміщених похідних теофіліну

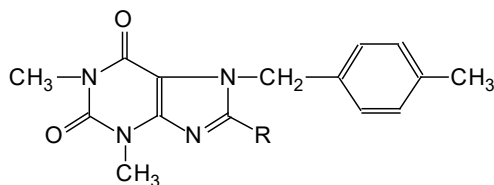
№ сполуки	Вид активності													
	Сечогінна		Салуретична		Спазмолітична		Анальгетична		Протизапальна		Антигіпоксична		Бронхорозширювальна	
	Pa	Pi	Pa	Pi	Pa	Pi	Pa	Pi	Pa	Pi	Pa	Pi	Pa	Pi
1.	0,689	0,006	0,672	0,004	0,787	0,003	0,641	0,005	0,706	0,027	0,579	0,031	0,334	0,023
2.	0,666	0,004	0,382	0,010	0,724	0,016	0,659	0,006	0,247	0,027	0,746	0,011	0,559	0,010
3.	0,641	0,007	0,558	0,007	0,581	0,018	0,537	0,031	0,556	0,011	0,279	0,066	0,539	0,104
4.	0,677	0,022	0,572	0,006	0,545	0,011	0,474	0,158	0,358	0,015	0,248	0,007	0,343	0,060
5.	0,654	0,025	0,610	0,009	0,578	0,009	0,425	0,056	0,389	0,029	0,247	0,027	0,513	0,033
6.	0,721	0,004	0,771	0,022	0,722	0,005	0,636	0,080	0,717	0,013	0,546	0,005	0,563	0,288
7.	0,686	0,004	0,617	0,009	0,754	0,025	0,657	0,010	0,506	0,014	0,528	0,077	0,457	0,005
8.	0,650	0,074	0,643	0,026	0,571	0,010	0,492	0,042	0,469	0,288	0,296	0,086	0,576	0,076
9.	0,702	0,051	0,638	0,027	0,585	0,017	0,782	0,006	0,503	0,014	0,294	0,049	0,410	0,108
10.	0,598	0,031	0,546	0,011	0,438	0,064	0,435	0,058	0,369	0,097	0,268	0,082	0,538	0,054
11.	0,547	0,040	0,536	0,012	0,464	0,049	0,415	0,099	0,376	0,034	0,311	0,093	0,313	0,034
12.	0,702	0,051	0,781	0,016	0,590	0,157	0,388	0,030	0,384	0,111	0,737	0,139	0,535	0,009
13.	0,725	0,009	0,727	0,130	0,663	0,007	0,538	0,076	0,421	0,041	0,786	0,030	0,246	0,120

закінчення таблиці 3

№ сполуки	Вид активності													
	Сечогінна		Салуретична		Спазмолітична		Анальгетична		Протизапальна		Антигіпоксична		Бронхорозширювальна	
	Pa	Pi	Pa	Pi	Pa	Pi	Pa	Pi	Pa	Pi	Pa	Pi	Pa	Pi
14.	0,839	0,019	0,703	0,014	0,789	0,007	0,772	0,035	0,715	0,057	0,763	0,025	0,510	0,036
15.	0,658	0,024	0,493	0,050	0,567	0,112	0,532	0,012	0,435	0,068	0,592	0,051	0,405	0,078
16.	0,609	0,005	0,488	0,259	0,532	0,012	0,501	0,143	0,485	0,044	0,396	0,059	0,526	0,026
17.	0,731	0,005	0,770	0,006	0,794	0,019	0,711	0,014	0,426	0,081	0,725	0,027	0,425	0,039
18.	0,694	0,020	0,596	0,016	0,647	0,004	0,512	0,028	0,533	0,012	0,700	0,035	0,533	0,023
19.	0,758	0,013	0,776	0,006	0,720	0,088	0,561	0,155	0,554	0,011	0,399	0,008	0,506	0,095
20.	0,744	0,014	0,746	0,076	0,610	0,005	0,497	0,248	0,424	0,040	0,764	0,014	0,584	0,009

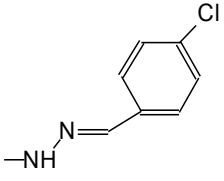
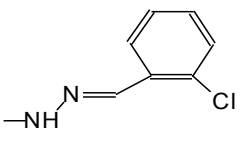
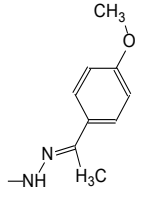
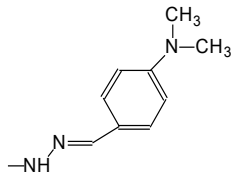
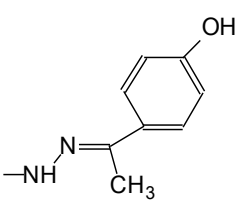
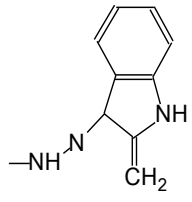
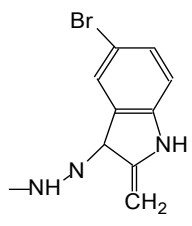
Таблиця 4

Хімічна будова і гостра токсичність 7-*n*-метилбензил-8-заміщених теофіліну у дослідях на мишах (*n*=5)

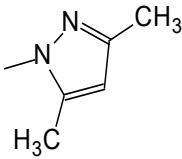
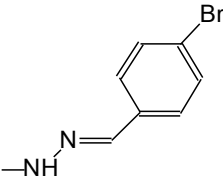
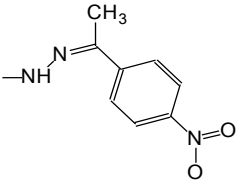
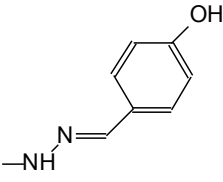
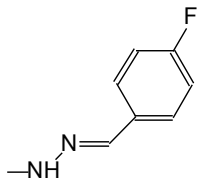
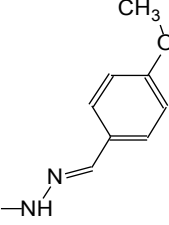
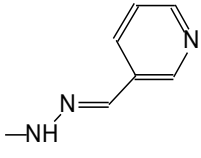


№ з.п	R	Будова радикалу	Токсикометричні параметри		Терміни загибелі тварин, год.
			ЛД ₅₀ МГ/КГ	ЛД ₁₀₀ МГ/КГ	
1	2	3	4	5	6
1.	гідразиновий	—NH—NH ₂	1930,0±39,7	2100±24,2	4-72
2.	бензиліден-гідразиновий		1835,0±19,9	1950±32,6	4-72
3.	<i>n</i> -метоксибензиліденгідразиновий		2065,0±29,8	2150±19,2	4-72
4.	<i>o</i> -гідроксибензиліденгідразиновий		2010,0±36,8	2200±16,7	4-72
5.	(<i>a</i> -метил)-бензиліден-гідразиновий		2085,0±18,4	2200±21,3	4-72

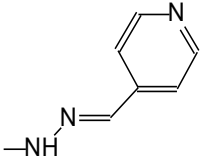
продовження таблиці 4

1	2	3	4	5	6
6.	<i>n</i> -хлоробензиліденгідазинний		2015,0±19,9	2100,0±16,7	4-72
7.	<i>o</i> -хлоробензиліденгідазинний		1755,0±18,4	1850,0±12,1	2-6
8.	(<i>α</i> -метил)- <i>n</i> -метоксибензиліденгідазинний		1685,0±19,9	1800,0±22,7	2-6
9.	<i>n</i> -амінодиметилбензиліденгідазинний		2130,0±39,7	2300,0±19,7	4-72
10.	(<i>α</i> -метил)- <i>n</i> -гідроксибензиліденгідазинний		2020,0±39,5	2250,0±23,5	4-72
11.	(2',3'-дигідроіндолон-2'-ілден-3')гідазинний		1595,0±18,4	1700,0±20,7	2-6
12.	(5'-бромо-2',3'-дигідроіндолон-2'-ілден-3')гідазинний		1755,0±19,9	1850,0±11,7	2-6

продовження таблиці 4

1	2	3	4	5	6
13.	(3',5'- диметилпіра- золіл-1')		2070,0±39,7	2300,0±21,5	4-72
14.	<i>n</i> - бромобензи- ліденгідрози- новий		2180,0±36,7	2350,0±13,7	4-72
15.	(<i>a</i> -метил)- <i>n</i> - нітробензи- ліденгідрози- новий		1255,0±18,4	1350,0±22,7	0,5-1
16.	<i>n</i> -гідрокси- бензиліден- гідрозинний		1445,0±18,2	1550,0±11,7	0,5-1
17.	<i>n</i> -фторобензи- ліденгідрози- новий		1335,0±19,9	1450,0±17,1	0,5-1
18.	<i>n</i> -етоксибен- зиліденгідра- зинний		1715,0±19,9	1800,0±22,0	2-6
19.	(піридин-3'- іл)метиліден- гідрозинний		1745,0±18,4	1850,0±22,0	2-6

закінчення таблиці 4

1	2	3	4	5	6
20.	(піридин-4'-іл)метиліденгідразиний		1590,0±36,8	1800,0±19,7	2-6

Таблиця 5

**Діуретична активність 7-*n*-метилбензил-8-заміщених теофіліну та гіпотіазиду
у дослідах на щурах (*n*=7)**

№ Сполуки	Доза, мг/кг	Діурез за 2 год, мл	Активність, %
1	2	3	4
1.	19,0	6,8±0,11 ^{*/**}	109,1
2.	18,0	3,5±0,13 [*]	59,1
3.	23,0	3,4±0,12 [*]	54,5
4.	20,0	6,2±0,15 ^{*/**}	181,8
5.	21,0	4,6±0,10 [*]	109,1
Гіпотіазид	25,0	4,5±0,21 [*]	104,5
Контроль	–	2,2±0,1	–
6.	20,0	5,1±0,15 ^{*/**}	131,8
7.	18,0	5,6±0,22 ^{*/**}	154,5
8.	17,0	3,2±0,14 [*]	45,5
9.	21,0	3,7±0,12 [*]	68,2
10.	20,0	3,6±0,18 [*]	63,6
Гіпотіазид	25,0	4,2±0,3 [*]	90,9
Контроль	–	2,2±0,11	–
11.	16,0	2,4±0,21	–
12.	18,0	2,3±0,15	–
13.	21,0	3,2±0,13 [*]	28
14.	22,0	7,9±0,23 ^{*/**}	216
15.	13,0	5,8±0,19 ^{*/**}	132
Гіпотіазид	25,0	4,6±0,21 [*]	84
Контроль	–	2,5±0,12	–
16.	15,0	6,0±0,16 ^{*/**}	160,8
17.	13,0	4,4±0,18 [*]	91,3

закінчення таблиці 5

1	2	3	4
18.	17,0	5,2±0,19*	126,1
19.	18,0	3,4±0,20*	47,8
20.	16,0	5,8±0,23*/**	152,2
Гіпотіазид	25,0	4,8±0,7*	108,7
Контроль	–	2,3±0,11	–

Примітки:

1. * – відмінності статистично значущі щодо контролю, $p < 0,05$;
2. ** – відмінності статистично значущі щодо гіпотіазиду, $p < 0,05$;
3. n – кількість тварин у групі.

Таблиця 6

Анальгетична активність 7-*n*-метилбензил-8-заміщених теофіліну і диклофенаку натрію на моделі оцтовокислих корчів у щурів (*n*=5)

№ Сполуки	Доза, мг/кг	Пригнічення больового подразнення	
		Число корчів	Активність, %
Контроль	–	26,9±2,3	–
Диклофенак натрію	8,0	14,6±1,41*	45,8
1.	19,0	18,2±1,7*	32,3
2.	18,0	24,1±1,9	10,4
3.	21,0	23,6±1,5	12,3
4.	20,0	15,3±1,4*	43,1
5.	21,0	20,2±1,3*	24,9
6.	20,0	19,8±1,6*	26,4
7.	18,0	18,3±1,9*	32,0
8.	17,0	23,3±2,1	13,4
9.	21,0	21,7±1,8*	19,3
10.	20,0	21,9±1,7*	18,6
11.	16,0	28,4±1,9	–
12.	18,0	29,7±2,3	–
13.	21,0	23,1±1,6	14,1
14.	22,0	19,4±1,5*	27,8
15.	13,0	17,4±1,4*	35,3
16.	15,0	17,2±1,2*	36,1
17.	13,0	19,7±1,8*	26,8
18.	17,0	18,5±1,6*	31,2
19.	18,0	22,9±1,3	14,9
20.	16,0	17,7±1,6*	34,2

Примітки: * – відмінності статистично значущі щодо контролю, $p < 0,05$; *n* – кількість тварин у групі.

Таблиця 7

Антиексудативна активність 7,8-дизаміщених теофіліну і диклофенаку натрію у дозі 8 мг/кг на моделі модифікації карагенінового набряку у мишей

№ Сполуки	Доза мг/кг	Мк	Мд	Індекс реакції	Активність %
Контроль	–	164,0	207,0	26,2±2,07	–
Диклофенак натрію	8,0	154,0	173,0	12,3±2,35*	53,1
1.	19,0	153,0	174,0	13,7±1,54*	47,7
2.	18,0	145,0	173,0	19,3±1,49*	26,3
3.	21,0	144,9	177,5	22,5±1,72	14,1
4.	20,0	153,1	180,4	17,8±1,73*	32,1
5.	21,0	147,0	178,0	21,1±1,91*	19,4
6.	20,0	145,0	171,0	17,9±1,69*	31,7
7.	18,0	148,0	173,2	17,0±1,39*	35,1
8.	17,0	153,2	189,1	23,4±1,23	10,7
9.	21,0	147,0	179,0	21,7±2,03	17,2
10.	20,0	148,0	176,0	18,9±1,68*	27,9
11.	16,0	152,3	189,8	24,6±2,68	6,1
12.	18,0	152,5	190,8	25,1±1,23	4,2
13.	21,0	147,0	177,0	20,4±1,39*	22,1
14.	22,0	157,0	178,0	13,4±1,48*	48,9
15.	13,0	147,4	166,6	13,0±2,19*	50,4
16.	15,0	155,2	176,6	13,8±2,88*	47,3
17.	13,0	148,0	170,0	14,9±1,53*	43,1
18.	17,0	155,0	178,0	14,8±1,83*	43,5
19.	18,0	155,7	195,8	25,8±1,84	1,5
20.	16,0	151,2	172,8	14,3±1,59*	45,4

Примітки: Мд – маса досл. лапи; Мк – маса контр. лапи; * – відмінності значущі до контролю, $p < 0,05$; ** – відмінності значущі до препарату порівняння, $p < 0,05$.

Таблиця 8

Антигіпоксична активність 7,8-дизаміщених похідних теофіліну та мексидолу у дозі 25мг/кг на моделі нормобаричної гіпоксії з гіперкапнією у щурів (n=5)

№ Сполуки	Доза мг/кг	Антигіпоксична активність	
		Тривалість життя, хв.	Активність, %
Контроль	–	26,0±0,58	–
Мексидол	25,0	44,5±0,72*	71,2
1.	19,0	30,8±1,09*	18,5
2.	18,0	34,4±1,12*	32,3
3.	21,0	32,2±1,14*	23,8
4.	20,0	34,2±1,06*	31,5
5.	21,0	35,2±0,96*	35,4
6.	20,0	31,2±1,12*	20,0
7.	18,0	45,4±1,26*	74,6
8.	17,0	54,4±1,32*/**	109,2
9.	21,0	30,0±1,06	15,4
10.	20,0	39,8±1,12*	53,1
11.	16,0	46,4±1,08*	78,4
12.	18,0	33,4±1,07*	28,5
13.	21,0	27,3±0,87	5,0
14.	22,0	47,2±1,14*/**	81,5
15.	13,0	37,8±0,98*	45,4
16.	15,0	45,2±1,15*	73,8
17.	13,0	27,8±0,65	6,9
18.	17,0	40,8±1,08*	56,9
19.	18,0	29,6±1,06	13,8
20.	16,0	32,2±1,13*	23,8

Примітки: * – відмінності значущі до контролю, $p < 0,05$; ** – відмінності значущі до препарату порівняння, $p < 0,05$; n – кількість тварин у групі.

Таблиця 9

Сполуки-лідери з групи похідних 7-п-метилбензил-8-заміщених теофіліну за результатами скринінгових досліджень

№	ЛД ₅₀ мг/кг	Доза мг/кг	Фармакологічна активність, %			
			Діуретична ДС/ПП	Анальге- тична ДС/ПП	Антиексу- дапівна ДС/ПП	Антигіпок- сична ДС/ПП
1.	1930,0	19,0	109,1/104,5	32,3/45,8	47,7/53,1	18,5/71,2
4.	2095,0	20,0	181,8/104,5	43,1/45,8	32,1/53,1	31,5/71,2
8.	1685,0	17,0	45,5/90,9	13,4/45,8	10,7/53,1	109,2/71,2
14.	2180,0	22,0	216,0/84,0	27,8/45,8	48,9/53,1	81,5/71,2
15.	1255,0	13,0	132,0/84,0	35,3/45,8	50,4/53,1	45,4/71,2
16.	1445,0	15,0	160,8/108,7	36,1/45,8	47,3/53,1	73,8/71,2
18.	1715,0	17,0	126,1/108,7	31,2/45,8	43,5/53,1	56,9/71,2
20.	1590,0	16,0	152,2/108,7	34,2/45,8	45,4/53,1	23,8/71,12

Примітки:

1. ДС – активність досліджуваної сполуки (%)
2. ПП – активність препарату порівняння (%)

Таблиця 10

**Спазмолітична дія субстанцій-лідерів та спазмалгону у дозі 42 мг/кг на моделі
спазму кишечника, викликаного BaSO₄ серед 7,8-дизаміщених похідних
теофілінуу дослідях на мишах (n=5)**

№ сполуки	Доза мг/кг	Довжина кишечника (абсолютна), см	Шлях контрасту за 20 хв., см	% заповненого кишечника Дк/Шк × 100%
1	2	3	4	5
ІК	–	59,8±1,40	26,8±2,12	44,8±3,42
КП	–	58,7±1,94	15,00±1,2	25,6±2,34**
Спазмалгон	42,0	59,44±2,21	35,1±1,59	60,9±4,44*/**
1.	19,0	57,66±2,15	31,4±1,33	54,5±3,14*
4.	20,0	58,65±1,4	32,3±1,22	55,0±4,50*/**
8.	17,0	61,0±1,5	32,2±1,7	52,8±3,67*
14.	22,0	50,5±0,32	33,7±1,19	66,7±0,98*/**/**
15.	13,0	58,5±1,34	30,3±1,26	51,8±3,82*
16.	15,0	54,50±1,6	33,1±2,34	60,7±3,38*/**
18.	17,0	54,3±1,9	30,6±1,32	56,4±1,76*/**
20.	16,0	59,72±1,94	34,2±2,1	57,3±2,45*/**

Примітки:

1. ІК – інтактний контроль;
2. КП – контрольна патологія;
3. Дк – абсолютна довжина кишечника;
4. Шк – шлях контрасту за 40 хв;
5. * – відмінності статистично значущі щодо КП, p<0,05;
6. ** – відмінності статистично значущі щодо ІК, p<0,05;
7. *** – відмінності статистично значущі щодо спазмалгону, p<0,05;
8. n – кількість тварин у групі.

Таблиця 11

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

Показники	Контроль	Бенофілін, 35 мг/кг (M ± m)	Гіпотіазид, 25 мг/кг (M ± m)
Випито води, мл	20,6±1,1	21,2±1,2	21,7±1,3*
Виділено сечі, мл	4,8±0,21	12,4±1,1 ^{*/**}	8,64±1,6*
Екскреція креатиніну, мг	2,8±0,12	3,3±0,11*	3,0±0,13
Екскреція натрію, мкмоль	91,2±0,17	138,4±1,7 ^{*/**}	127,8±1,8*
Екскреція калію, мкмоль	28,1±1,14	30,2±0,9 ^{**}	35,1±0,8*
ШКФ, мкл/хв	370,5±25,3	404,5±28,4 ^{*/**}	372,3±32,5
Реабс. води, %	99,5±0,06	91,6±0,10*	94,3±0,08*
Реабс. натрію мкмоль/хв	69,43±6,32	50,3±5,5*	51,4±4,8*
Фільтр. заряд натрію мкмоль/хв	69,46±6,33	50,6±3,5*	51,7±2,7*

Примітки:

1. * – відмінності статистично значущі щодо контролю, $p < 0,05$;

2. ** – відмінності статистично значущі щодо гіпотіазиду, $p < 0,05$; n – кількість тварин у групі.

Таблиця 12

Вплив бенофіліну у дозі 35 мг/кг на екскреторну функцію нирок у щурів при тривалому внутрішньошлунковому введенні (n=7)

Дні спостереження	Умови досліджу	Показники за добу					
		Випито води, мл	Діурез, мл	ШКФ, мкл/хв	Екскреція з сечею(мкмоль)		
					креатинін	натрій	Калій
1	2	3	4	5	6	7	8
Вихідний рівень		20,6±1,1	5,0±0,18	346,0±48,1	2,60±0,06	124,6±1,17	23,2±0,3
1 доба	Бенофілін	21,4±1,04	11,5±0,23*	419,9±37,1*	2,90±0,09	138,7±1,12*	23,8±0,1
	контроль	20,5±1,12	5,0±0,14	370,7±25,4	2,61±0,05	125,3±1,18	23,5±0,2
3 доба	Бенофілін	22,1±0,91	11,9±0,32*	436,7±36,5*	3,08±0,11*	145,8±1,26*	24,2±0,3
	контроль	20,7±1,20	5,1±0,12	367,2±36,0	2,62±0,06	124,8±1,11	23,1±0,1
5 доба	Бенофілін	22,0±0,82	12,0±0,23*	421,9±37,7*	3,12±0,16*	152,0±1,19*	25,1±0,2
	контроль	20,6±1,08	5,0±0,19	358,8±14,6	2,59±0,12	124,9±1,24	22,9±0,1
7 доба	Бенофілін	21,8±1,11	12,6±0,52*	425,3±97,1*	3,10±0,18*	163,5±1,35*	26,2±0,4
	контроль	20,1±1,09	4,9±0,24	311,5±29,1	2,60±0,12	125,3±1,17	22,8±0,2

продовження таблиці 12

1	2	3	4	5	6	7	8
9 доба	Бенофілін	21,5±1,14	12,9±0,33*	435,0±59,2*	3,00±0,17*	164,3±1,34*	24,9±0,3
	контроль	20,6±1,22	5,0±0,12	312,8±18,1	2,61±0,09	125,7±1,29	22,3±0,2
11 доба	Бенофілін	22,1±1,24	12,9±0,34*	420,7±38,1*	2,90±0,14*	164,8±1,34*	25,3±0,3
	контроль	20,2±1,12	5,1±0,19	355,5±49,1	2,61±0,12	123,9±1,26	22,7±0,2
14 доба	Бенофілін	23,1±0,86	12,9±0,41*	439,3±19,5*	2,85±0,18*	165,1±1,32*	25,2±0,1
	контроль	20,2±0,94	5,1±0,16	370,7±25,4	2,61±0,08	125,9±1,12	22,8±0,1
Після відміни введення бенофіліну							
1 доба	Дослід	21,7±1,2	9,4±0,32*	425,7±11,6*	3,0±0,12	146,3±1,14	24,9±0,1
	контроль	20,3±1,1	4,98±0,18	359,8±15,6	2,62±0,11	124,8±1,21	22,5±0,2
2 доба	Дослід	21,5±1,3	6,7±0,32	410,3±22,8*	2,93±0,13	134,1±1,21	23,7±0,1
	контроль	20,9±0,94	5,0±0,11	379,1±21,4	2,64±0,14	126,1±1,13	22,4±0,2
3 доба	Дослід	21,2±0,98	5,9±0,34	389,8±27,2	2,72±0,17	125,2±1,41	22,9±0,2
	контроль	20,6±0,96	5,1±0,12	375,9±22,6	2,60±0,12	125,7±1,21	22,3±0,1

Примітки: * – відмінності статистично значущі щодо контролю, $p < 0,05$; n – кількість тварин у групі

Таблиця 13

Вплив курсового введення бенофіліну на видільну функцію нирок у щурів, ШКФ та вміст у плазмі ендogenous креатинину, натрію та калію в умовах водного навантаження (n=7)

Доба	Діурез, мл/100 г	Плазма			ШКФ мл/хв. на 100 г
		Креатинін, мкМ/л	Натрій, мМ/л	Калій, мкМ/л	
Контроль					
Вихідний стан	3,14±0,12	38,12±0,15	134,6±0,54	5,2±0,12	0,218±0,012
5 доба	3,09±0,09*	37,8±0,21	134,4±0,43	5,17±0,04	0,216±0,011
9 доба	3,12±0,08*	37,4±0,49	133,2±0,54	5,18±0,11	0,224±0,013
14 доба	3,11±0,15	37,8±0,24	134,7±0,72	5,26±0,12	0,220±0,008
Бенофілін, 35 мг/кг					
Вихідний стан	3,26±0,21	40,17±0,11	135,3±0,54	4,98±0,05	0,381±0,011
5 доба	7,64±0,31*	38,13±0,17	116,27±0,43*	4,89±0,06	0,443±0,023*
9 доба	8,26±0,28*	39,25±0,23	115,4±0,72*	4,82±0,07	0,452±0,032*
14 доба	7,84±0,31*	37,94±0,34	117,1±0,54*	4,83±0,08	0,440±0,024*
Після відміни введення бенофіліну					
3 доба	3,27±0,24*	39,58±0,27	134,72±0,6	4,92±0,05	0,365±0,027

Примітки: * – відмінності статистично значущі щодо контролю, $p < 0,05$; n – кількість тварин у групі.

Таблиця 14

Вплив курсового введення бенофіліну у дозі 35 мг/кг на функціональний стан нирок у щурів в умовах водного навантаження (M±m, n=7)

Дніспостереження	Реабсорбція води, %	Фільтраційний заряд Na ⁺ мкМ/хв	Реабсорбція Na ⁺ (відносна), %	Реабсорбція Na ⁺ (абсолютна), мкМ/хв	Екскреція креатиніну, мМ на 100 г
Контроль					
Вихідний стан	98,0±0,12	69,4±6,2	95,46±0,14	68,7±4,2	8,12±0,57
5 доба	96,8±0,17	69,42±7,3	95,17±0,23	68,4±7,3	8,06±0,41
9 доба	97,7±0,21*	68,45±3,3	95,46±0,27*	67,45±5,2	8,22±0,32*
14 доба	97,6±0,12*	69,1±5,3	95,24±0,18*	68,1±2,5	8,18±0,33*
Бенофілін, 35 мг/кг					
Вихідний стан	94,4±0,17	53,42±1,12*	93,14±0,12	53,3±1,2*	18,16±0,26*
5 доба	93,2±0,29*	53,26±2,18*	91,13±0,41*	53,1±1,8*	20,36±1,04*
9 доба	92,1±0,15*	53,18±3,26*	90,74±0,28*	52,8±1,6*	21,04±1,63*
14 доба	91,0±0,21*	51,37±3,14*	90,65±0,21*	51,1±2,1*	21,10±1,07*
Після відміни бенофіліну					
3 доба	94,89±0,11	30,31±2,61	95,28±0,12	68,7±6,5	14,23±0,42

Примітки: *- відмінності статистично значущі щодо контролю p< 0,05; n – кількість тварин у групі.

Таблиця 15

Вплив бенофіліну та хофітолу на біохімічні показники сироватки крові та сечі у щурів з етиленгліколевою нефропатією через 1 год. після моделювання патології (M ± m, n = 6)

Показник	ІК	КП	Бенофілін,	Хофітол
Діурез за добу, мл	6,25 ± 0,05	3,11 ± 0,02 [*]	7,00 ± 0,06 ^{*/**/#}	7,6 ± 0,04 ^{*/**}
Креат.кр., мкмоль/л	65,50 ± 4,56	85,57 ± 3,57 [*]	71,05 ± 8,79 ^{*/**}	73,9 ± 6,22 ^{*/**}
Креат. сечі, ммоль/л	6,81 ± 0,39	4,51 ± 0,43 [*]	6,49 ± 0,44 ^{**}	5,53 ± 0,84 ^{**}
ШКФ, мл/хв.	0,430 ± 0,035	0,09 ± 0,01 [*]	0,490 ± 0,17 ^{**}	0,450 ± 0,07 ^{**}
Канальц.реабс.,%	98,98 ± 0,08	98,07 ± 0,33 [*]	98,840 ± 0,183 ^{**}	98,500 ± 0,332 ^{**}
Сечов.кр., ммоль/л	5,85 ± 0,29	32,3 ± 0,89 [*]	5,00 ± 0,25 ^{*/**/#}	14,4 ± 1,20 ^{*/**}
Сечов. сечі, ммоль/л	25,7 ± 1,82	11,2 ± 0,63 [*]	21,6 ± 1,13 ^{**/#}	14,9 ± 1,40 ^{**}
Конц. коэф.сечов.,од.	5,32 ± 0,64	0,34 ± 0,03 [*]	4,14 ± 0,33 ^{**/#}	1,06 ± 0,12 ^{**}
Клір.сечов., моль/хв.	0,3450 ± 0,04	0,016 ± 0,001 [*]	0,29 ± 0,02 ^{**/#}	0,08 ± 0,01 ^{**}
Заг. білок сир.кр., г/л	68,30 ± 0,49	54,6 ± 2,86 [*]	66,4 ± 1,10 ^{**}	57,8 ± 1,80
Заг. білок сечі, г/л	0,07 ± 0,03	0,23 ± 0,04 [*]	0,17 ± 0,06 ^{**}	0,21 ± 0,09
Екскр.креат., мкМ/2 год.	42,56 ± 0,02	14,03 ± 0,01 [*]	45,43 ± 0,03 ^{*/**}	42,03 ± 0,03 ^{*/**}

Примітка:

1. ІК – інтактний контроль;
2. КП – контрольна патологія;
3. * – порівняно з інтактною контрольною групою ($P_1 \leq 0,05$);
4. ** – порівняно з групою патології ($P_2 \leq 0,05$);
5. # – порівняно з референтною групою ($P_3 \leq 0,05$).

Таблиця 16

Вплив курсового введення бенофілінуу дозі 35 мг/кг та канефрону у дозі 20 мг/кг на вміст сечовини та креатиніну у сироватці та сечі та ВФН щурів умови ГПН у щурів (водний діурез) на 5 добу експерименту (n=6-9)

Групи тварин	Діурез, мл/100г хв	Сечовина, ммоль/л		Екскреція U ммоль/100 г за 2 год	Креатинін, ммоль/л		Екскреція креатиніну, ммоль/100 г за 2 год
		у сироватці	у сечі		у сироватці	у сечі	
ІК	0,022±0,001	5,41±0,60	131,37±18,58	2,88±0,34	0,08±0,01	2,63±0,37	0,06±0,01
КП	0,011±0,001*	8,04±0,64*	31,37±6,20*	0,33±0,09*	0,22±0,02*	1,05±0,09*	0,01±0,00*
Бенофілін	0,021±0,001**	5,48±0,53**	72,27±9,05*/**	1,51±0,24*/**	0,14±0,02**	2,30±0,12**	0,05±0,00**
Канефрон	0,019±0,002**	6,33±0,92**	64,71±9,17*/**	1,16±0,13*/**	0,16±0,03**	2,17±0,12*/**	0,04±0,00**

Примітки:

1. ІК – інтактний контроль;
2. КП – контрольна патологія;
3. – відмінності статистично значущі щодо інтактного контролю, $p < 0,05$;
4. ** – відмінності статистично значущі щодо контрольної патології, $p < 0,05$;
5. n – кількість тварин у групі.

Таблиця 17

Ренальні ефекти бенофіліну у щурів за умови ГНН (водний діурез) на 5 добу експерименту (n=6-9)

Групи тварин	Клубочкова фільтрація, мл/хв на 100 г	Канальцева реабсорбція, %	Натрій сироватки, ммоль/л	Na сечі, ммоль/л	фільтраційний заряд ммоль/хв	екскреція Na ммоль/хв	абсолютна реабсорб Na, ммоль/хв	відносна реабсорб Na, ммоль/хв
ІК	0,87±0,16	97,07±0,44	135,65±4,93	8,10±0,73	0,12±0,03	0,18±0,01	0,12±0,03	98,43±0,37
КП	0,10±0,02*	86,09±1,67*	141,58±4,90	20,54±1,24*	0,01±0,00*	0,24±0,03*	0,01±0,00*	82,79±2,59
Бенофілін	0,47±0,20**	92,54±1,46**	133,58±6,11	8,67±0,82**	0,07±0,03**	0,18±0,02**	0,07±0,03**	96,26±0,54**
Канефрон,	0,20±0,03**	89,59±1,06**	138,69±4,37	9,87±0,76**	0,03±0,00**	0,18±0,01**	0,03±0,00**	93,51±1,03**

Примітки:

1. ІК – інтактний контроль;
2. КП – контрольна патологія;
3. – відмінності статистично значущі щодо інтактного контролю, $p < 0,05$;
4. ** – відмінності статистично значущі щодо контрольної патології, $p < 0,05$;
5. n – кількість тварин у групі.

Таблиця 18

Вплив курсового введення бенофіліну на вміст у сечі та екскрецію білка за умови ГПН у щурів (водний діурез) на 5 добу експерименту (n=6-9)

Групи тварин	Загальний білок сироватки крові, г/л	Білок в сечі, г/л	Екскреція білка мг/100 г за 2 год
ІК	66,41±3,09	0,06±0,01	0,17±0,02
КП	71,17±1,86	0,10±0,01*	0,14±0,02
Бенофілін, 35 мг/кг	68,42±1,35	0,06±0,00**	0,15±0,01
Канефрон, 20 мг/кг	71,93±1,22	0,07±0,00**	0,16±0,02

Примітки:

1. ІК – інтактний контроль
2. КП – контрольна патологія
3. * – відмінності статистично значущі щодо інтактного контролю, $p < 0,05$;
4. ** – відмінності статистично значущі щодо контрольної патології, $p < 0,05$;
5. n – кількість тварин у групі.

Таблиця 19

**Вплив бенофіліну на стан процесів ПОЛ і АОЗ в сироватці крові та гомогенатах нирок щурів за умови ГПН
(n=6-9)**

Показники	Групи тварин			
	ІК	КП	Бенофілін, 35 мг/кг	Канефрон, 20 мг/кг
у сироватці крові				
ТБК-Р, мкмоль/л	0,60±0,11	0,48±0,12	0,31±0,05#	0,74±0,10
Активність каталази, ммоль/(хв*л)	22,82±1,45	19,07±0,97*	17,23±1,62*	17,72±1,28*
у гомогенаті нирок				
ТБК-Р, мкмоль/г	179,91±13,31	233,27±9,08*	170,71±9,13**	192,82±9,35**
ВГ, мкмоль/г	2,68±0,04	2,30±0,04*	2,9±0,05*/**/#	2,5±0,04*/**
Активність каталази, мкмоль/(хв*100мг)	105,48±1,03	102,34±3,21	125,23±1,52*/**/#	106,99±2,14**

Примітки:

1. ІК – інтактний контроль
2. КП – контрольна патологія
3. * – відмінності статистично значущі щодо інтактного контролю, $p < 0,05$;
4. ** – відмінності статистично значущі щодо контрольної патології, $p < 0,05$;
5. # – відмінності статистично значущі щодо КП, $p < 0,05$;
6. n – кількість тварин у групі.

Таблиця 20

Вплив бенофіліну і ацетилсаліцилової кислоти на слизову оболонку шлунку і дванадцятипалої кишки у інтактних тварин (n=7)

№	Серія дослідів	Доза, мг/кг	Число щурів	К-ть тварин з пошкодженнями	Ступінь пошкодження	Виразковий індекс
1	Бенофілін	35,0	7	0	0	0
2	Бенофілін	70,0	7	0	0	0
3	Бенофілін	105,0	7	1	0,3±0,01*	0,03
4	Ацетилсаліцилова кислота	10,0	7	4	0,86±0,03*/**	0,43
5	Ацетилсаліцилова кислота	40,0	7	5	2,3±0,03*/**	1,38
6	Ацетилсаліцилова кислота	100,0	7	7	3,18±0,03*/**	3,18

Примітки:

1. * $p < 0,05$ у порівнянні з інтактним контролем;
2. ** – відмінності статистично значущі щодо бенофіліну, $p < 0,05$;
3. n – кількість тварин у групі.

Таблиця 21

Дослідження впливу бенофіліну й ацетилсаліцилової кислоти на стан слизової оболонки шлунку на моделі етанолових виразок у щурів

№	Серія дослідів	Доза, мг/кг	Число щурів	К-ть тварин з пошкодженням слизової оболонки шлунку	Ступінь пошкодження, бали	Виразковий індекс
1	ІК	-	7	0	0	0
2	ПК	-	7	7	3,2±0,21*	3,2*
3	Бенофілін	70,0	7	7	3,2±0,13*	3,2*
4	Бенофілін	105,0	7	7	3,7±0,14*	3,7*
5	Ацетилсаліцилова кислота	40,0	7	7	3,9±0,27*	3,9*
6	Ацетилсаліцилова кислота	100,0	7	7	4,3±0,29*	4,3*

Примітки:

1. ІК – інтактний контроль;
2. ПК – контрольна патологія;
3. * $p < 0,05$ у порівнянні з інтактним контролем;
1. ** – відмінності статистично значущі щодо бенофіліну, $p < 0,05$;
5. n – кількість тварин у групі.

Таблиця 22

Узагальнення доведених фармакологічних активностей 8 речовин-лідерів з 20 нових похідних 7,8-дизаміщених теофіліну

Шифр сполуки	LD ₅₀ мг/кг	Види активності						
		Діуретична	Анальгетична	Противі запальна	Антигіпоксична	Спазмолітична	Нефропротекторна	Ульцерогенна
γ-2769	1930,0	+	+	+	±	+	н/д	н/д
γ-2793	2130,0	+	+	+	±	+	н/д	н/д
γ-2796	1735,0	+	±	±	+	+	н/д	н/д
γ-2806	2180,0	+	+	+	+	+	+	–
γ-2808	1255,0	±	+	+	±	+	н/д	н/д
γ-3394	1445,0	+	+	+	+	±	н/д	н/д
γ-3399	1715,0	+	+	+	±	+	н/д	н/д
γ-3402	1590,0	+	+	+	±	+	н/д	н/д

Примітки:

1. н/д – активність не досліджувалася.
2. + – наявність вираженого ефекту.
3. ± ефект поступаєтьсЯ препарату порівняння.
4. – ефекту не виявлено.

Додаток Б

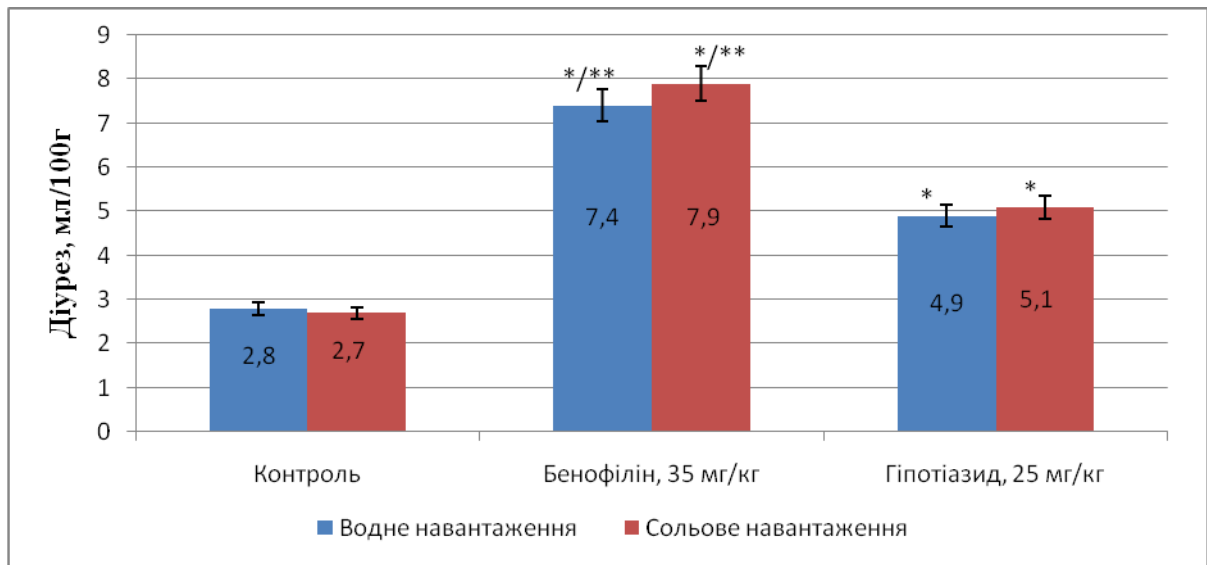


Рис. 1. Порівняння ефективності впливу бенофіліну і гіпотіазиду на добову екскрецію сечі у щурів за умов водного і сольового навантаження

1. * $p < 0,05$ у порівнянні з контролем;
2. ** $p < 0,05$ у порівнянні з гіпотіазидом.

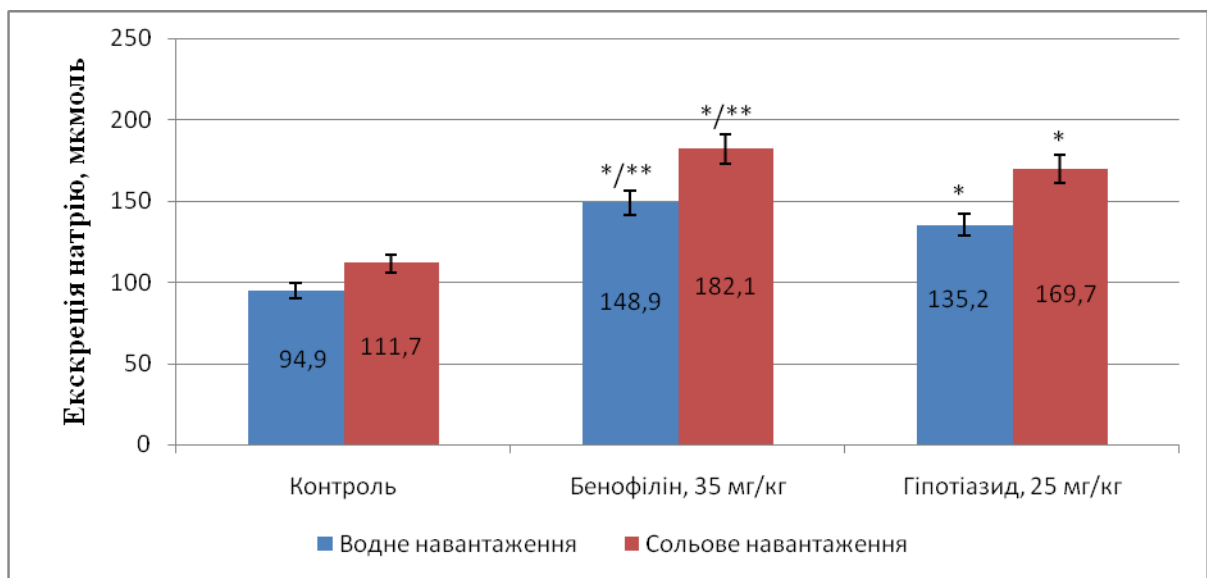


Рис. 2. Порівняльний аналіз ефективності впливу бенофіліну і гіпотіазиду на екскрецію натрію у щурів за умов водного і сольового навантаження

1. * $p < 0,05$ у порівнянні з контролем;
2. ** $p < 0,05$ у порівнянні з гіпотіазидом.

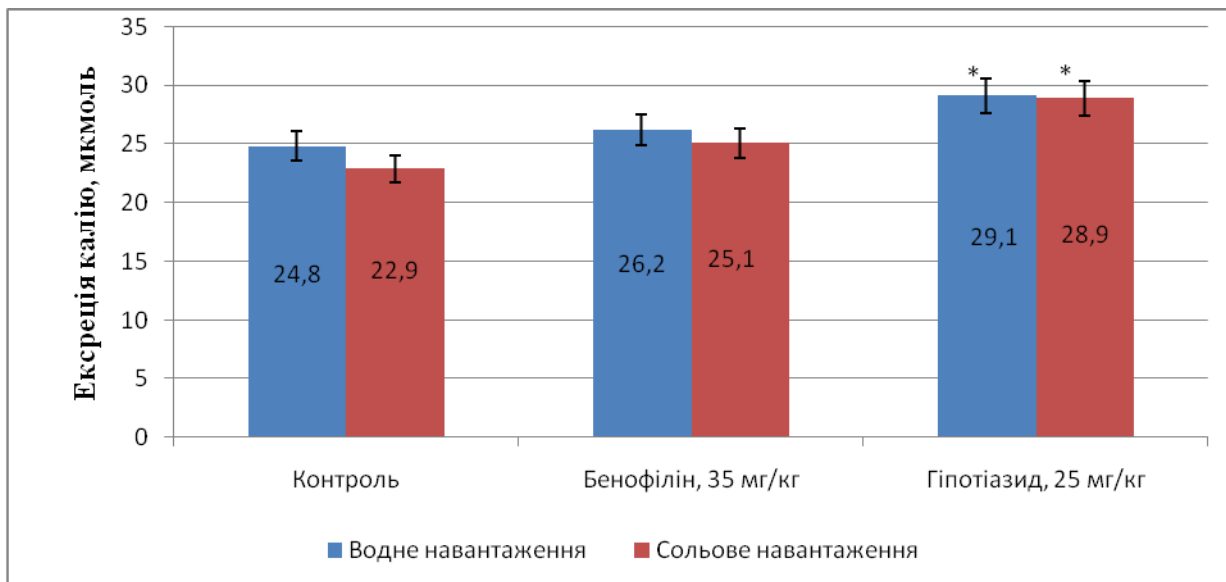


Рис. 3. Порівняльний аналіз ефективності впливу бенофіліну у дозі 35 мг/кг і гіпотіазиду у дозі 25 мг/кг на екскрецію калію у щурів за умов водного і сольового навантаження

* $p < 0,05$ у порівнянні з контролем.

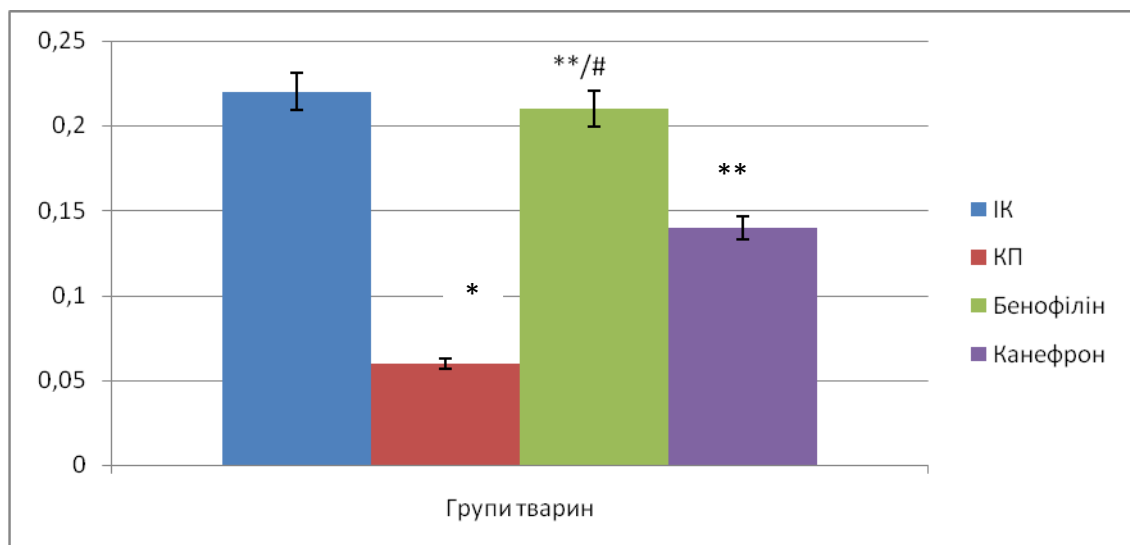


Рис. 4. Вплив курсового введення бенофіліну на активність ГГТП у сироватці крові щурів за умови ГПН (n=6-9).

1. ІК – інтактний контроль;
2. КП – контрольна патологія;
3. * – відмінності статистично значущі щодо інтактного контролю, $p < 0,05$;
4. ** – відмінності статистично значущі щодо контрольної патології, $p < 0,05$;
5. # – відмінності статистично значущі щодо препарату порівняння, $p < 0,05$.

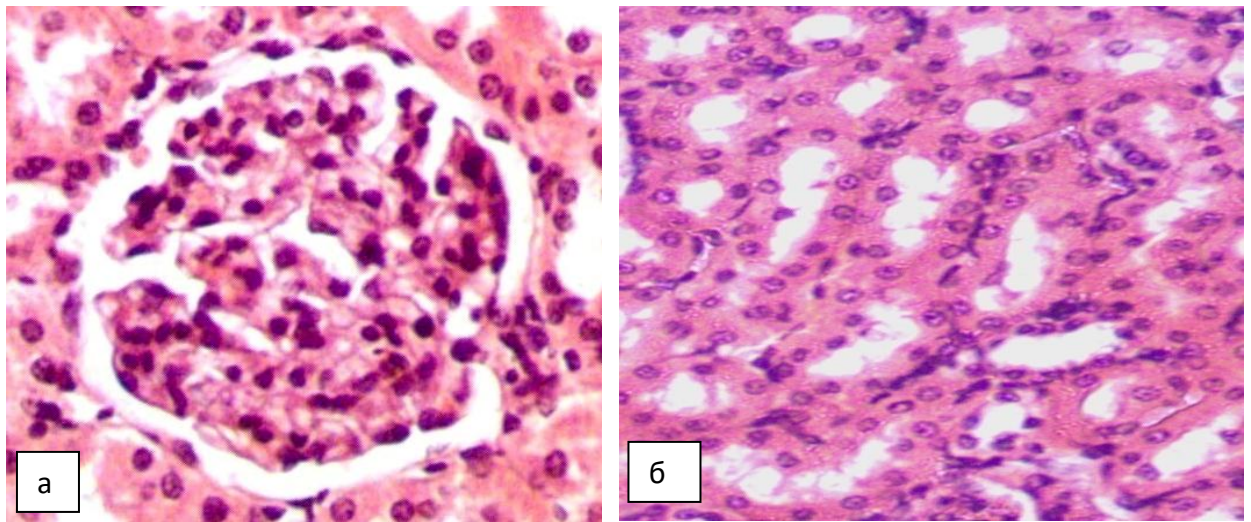


Рис. 5. Нирка інтактного щура. Нормальний стан ниркового клубочка (а), звивистих каналців нефронів (б). Гематоксилін-еозин – х400.

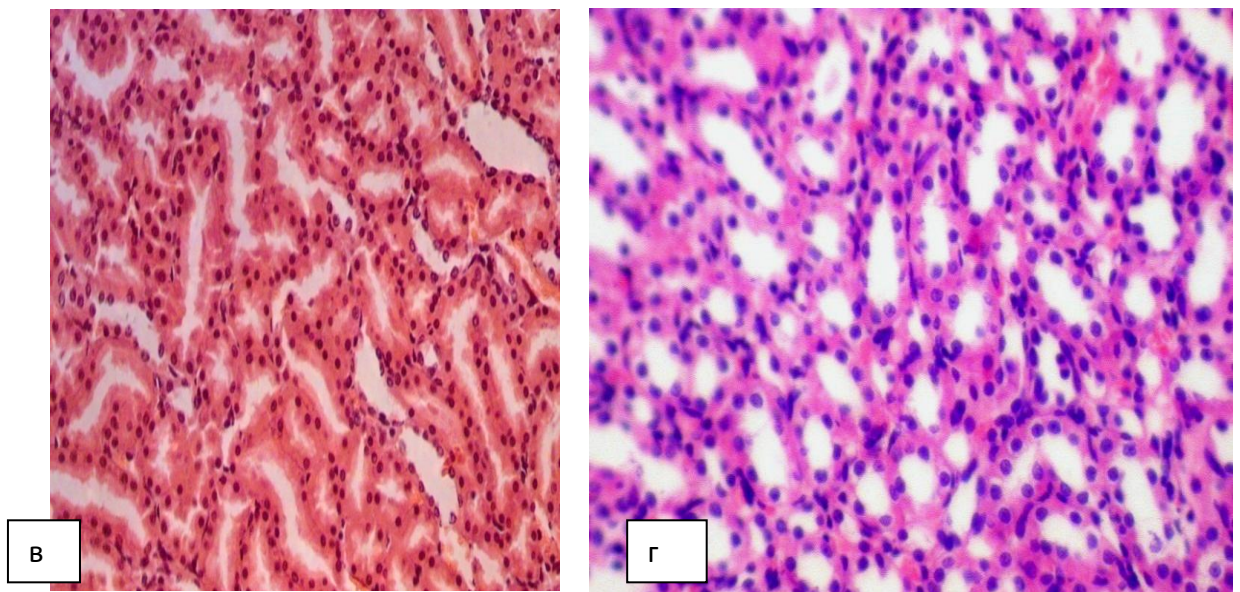


Рис. 6. Нирка інтактного щура. Нормальний стан звивистих каналців нефронів (в), прямих каналців мозкового шару (г). Гематоксилін-еозин х250.

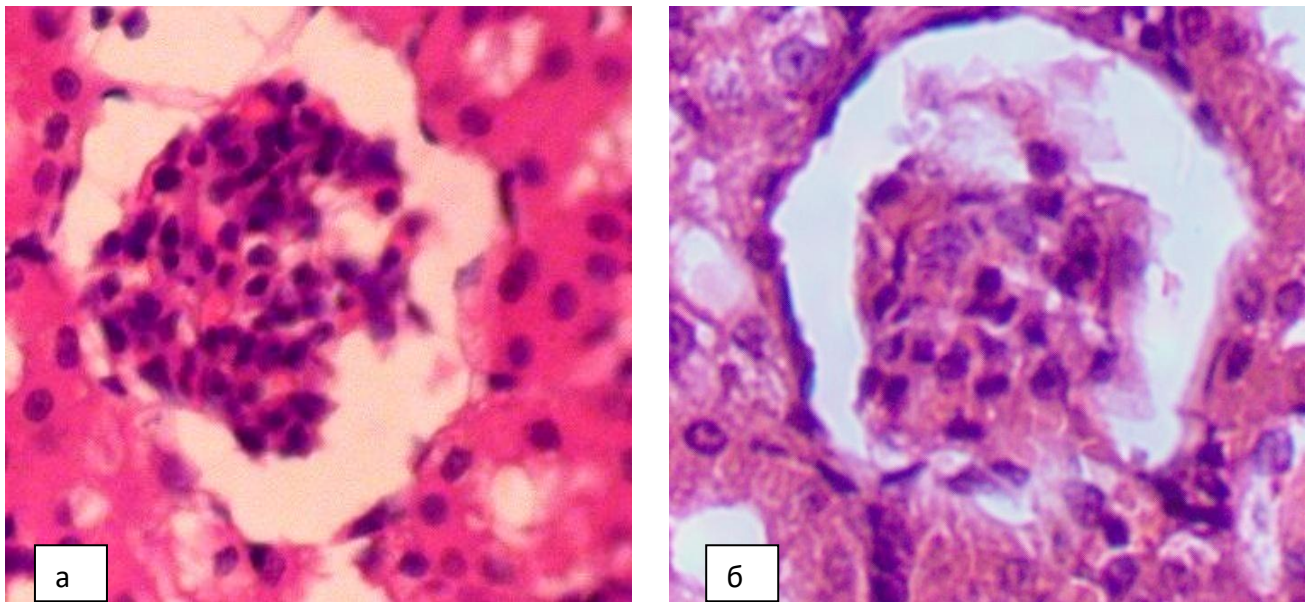


Рис. 7. Нирка щура групи КП через тиждень після введення гліцеролу. Різноманітність стану клубочків нефронів: зморщений (а), з розпадом капілярних сегментів (б). Гематоксилін-еозин. х400.

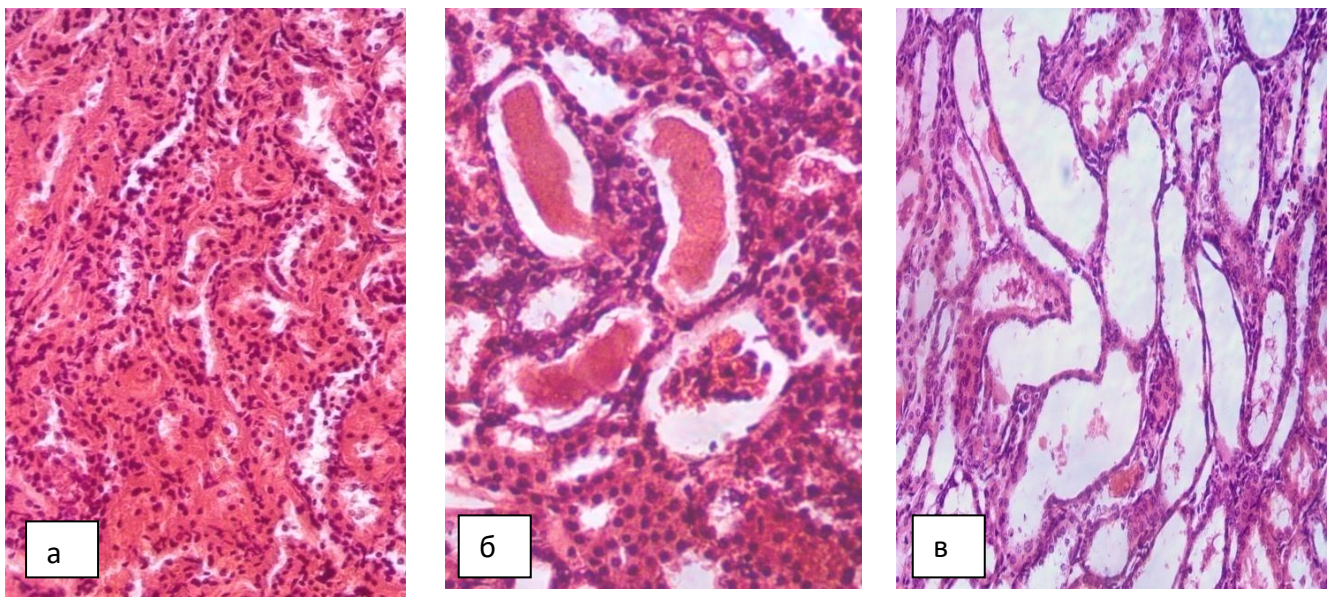


Рис. 8. Нирка щура групи КП через тиждень після введення гліцеролу. Різноманітність стану кіркових каналців нефронів: відсутність просвіту, деструкція каналців (а), розширення просвіту деяких каналців, білкові маси оклюзують просвіт (б), виразна тубулоектазія, сплющення епітелію, гіалінові циліндри у просвіті (в). Гематоксилін-еозин. а,в – х200, б – х250.

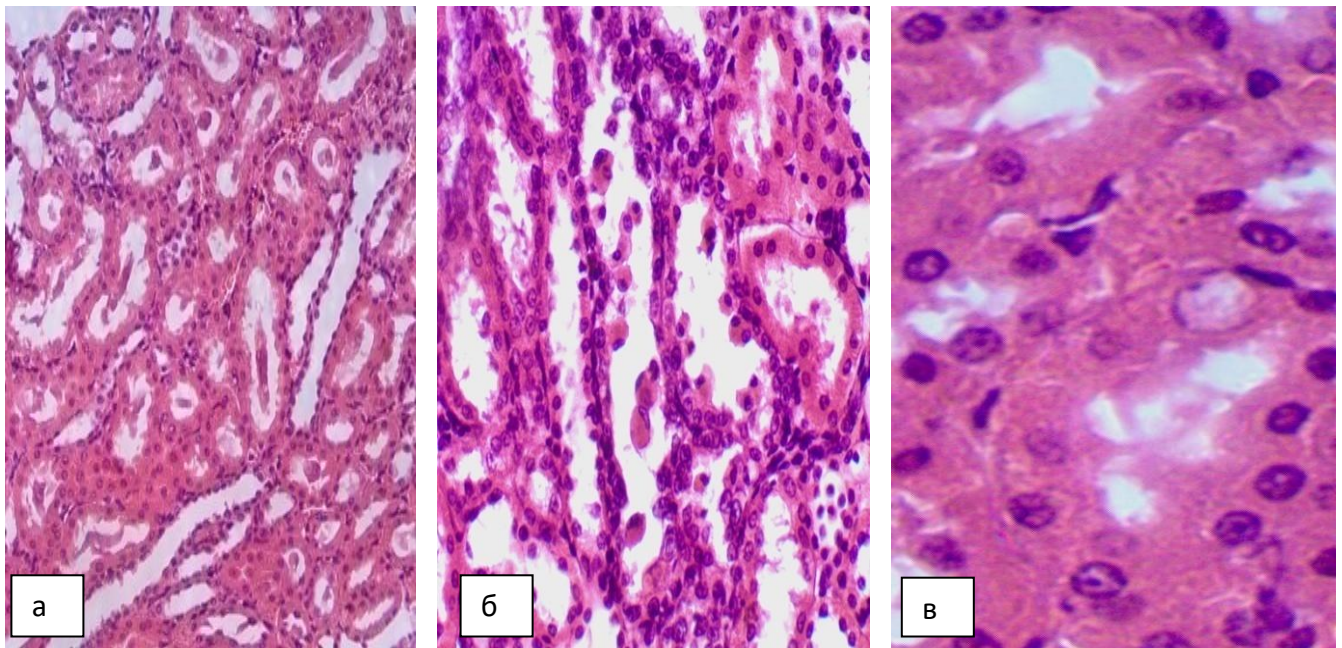


Рис. 9. Нирка щура групи КП через тиждень після введення гліцеролу. «Змінені» зони кіркових канальців: гіалінові циліндри у просвіті (а), злуцнення нефроцитів (б), каріолізіс та здугтя ядра нефроцитів (в). Гематоксилін-еозин. а – х200, б – х250, в– х400.

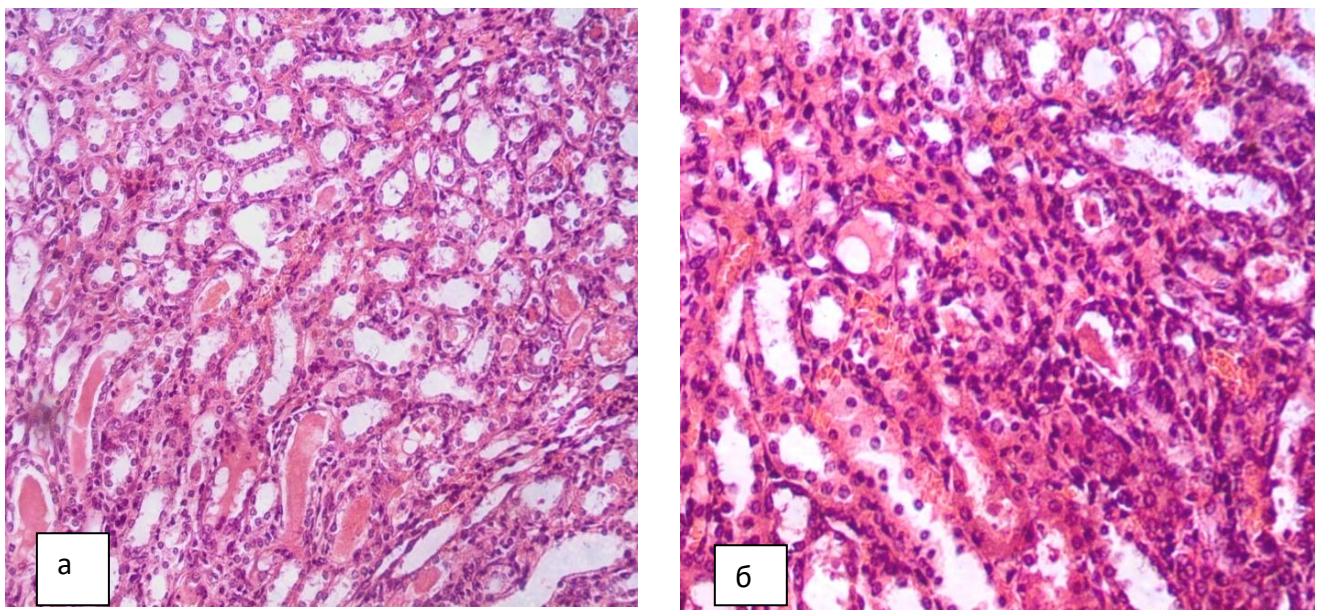


Рис. 10. Нирка щура з групи КП через тиждень після введення гліцеролу: білкові маси у просвіті прямих канальців мозкового шару (а, х200), дрібні крововиливи у інтерстиції (б, х250). Гематоксилін-еозин.

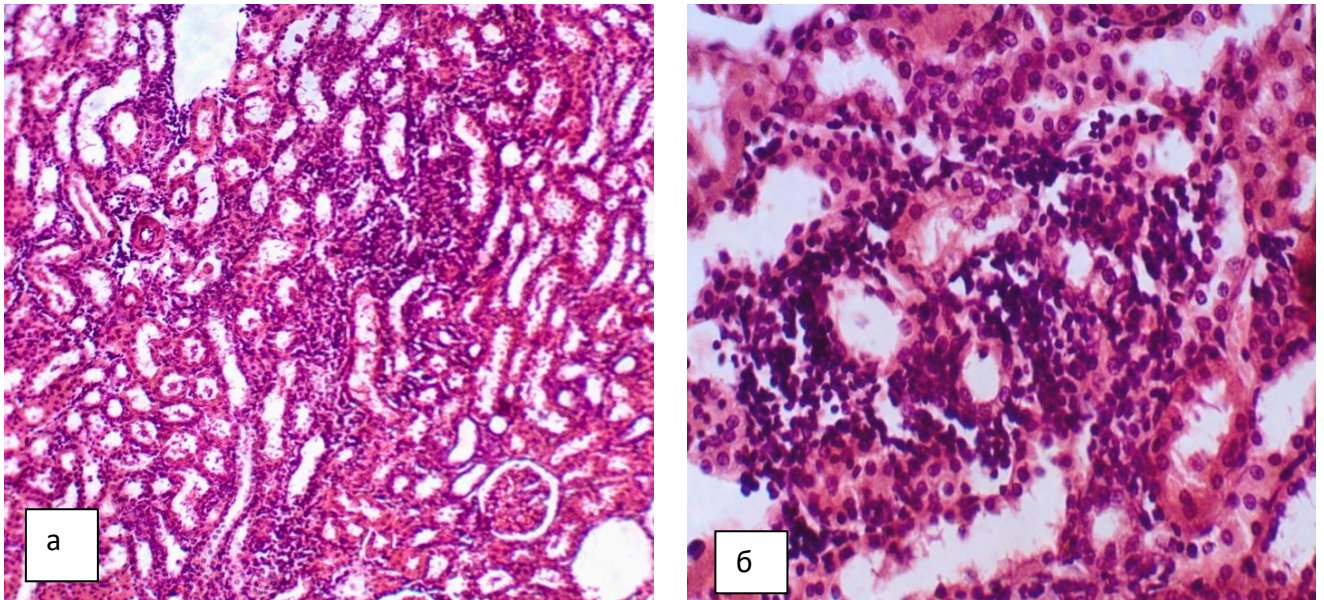


Рис. 11. Нирка щура з групи КП через тиждень після введення гліцеролу. Лімфоцитарно-клітинна інфільтрація строми (а, x100), часткова деструкція каналців клітинами інфільтрату (б), x250. Гематоксилін-еозин.

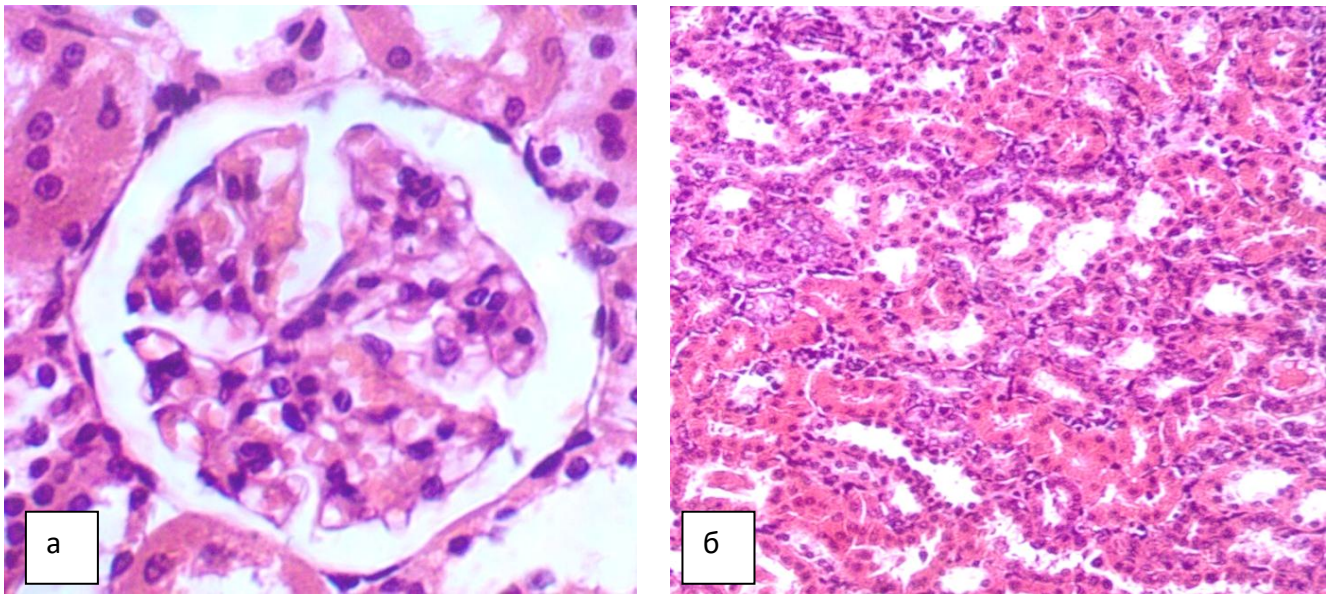


Рис. 12. Нирка щура з гліцероловим ГПН якому вводили бенофілін. Відновлення структури ниркового клубочка (а), незмінені звивисті каналці зовнішніх відділів кіркової речовини (б). Гематоксилін-еозин. а – x400, б – x200.

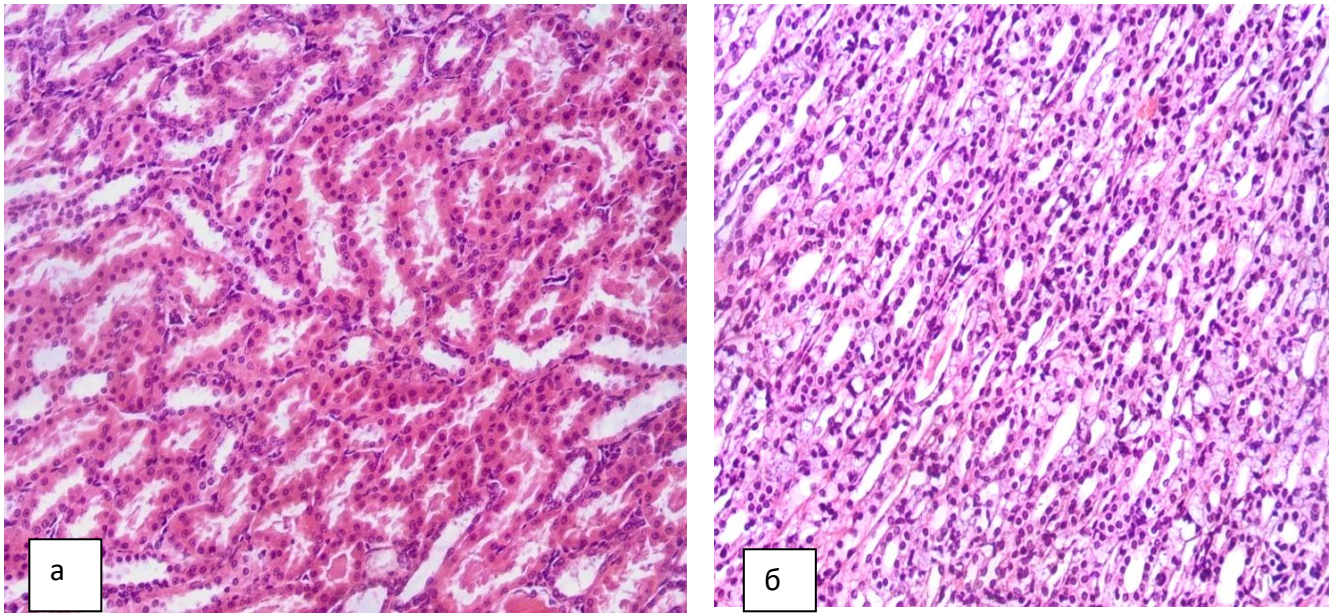


Рис. 13. Нирка щура з гліцероловим ГПН якому вводили бенофілін. Циліндри у просвіті канальців юкстамедулярних нефронів (а), прямих канальців мозкового шару (б). Гематоксилін-еозин. – x200.

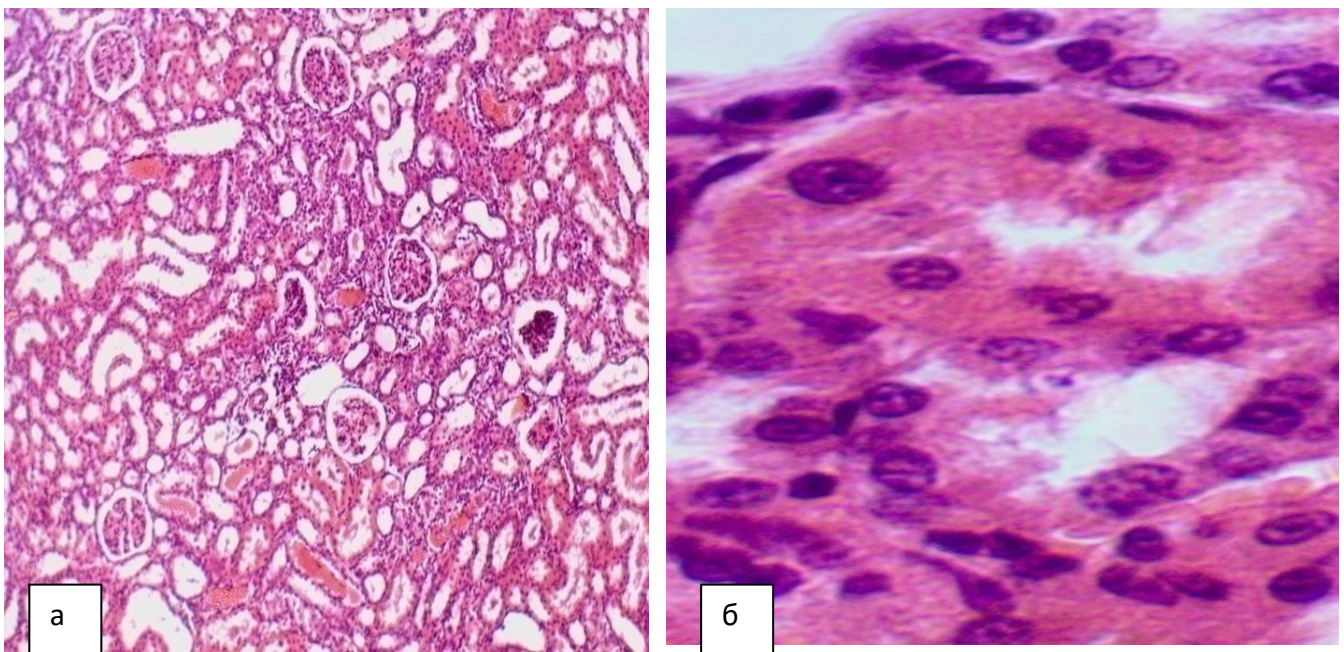


Рис.14. Нирка щура з гліцероловим ГПН якому вводили бенофілін. Різний стан судинних клубочків, дрібні ділянки проксимальних канальців з відсутністю просвіту (овал), дезорганізація структури частини канальців, помірна тубулоектазія, наявність у просвіті білкових мас (а, x100), виразне коливання ядер за розміром (б, x400), Гематоксилін-еозин.

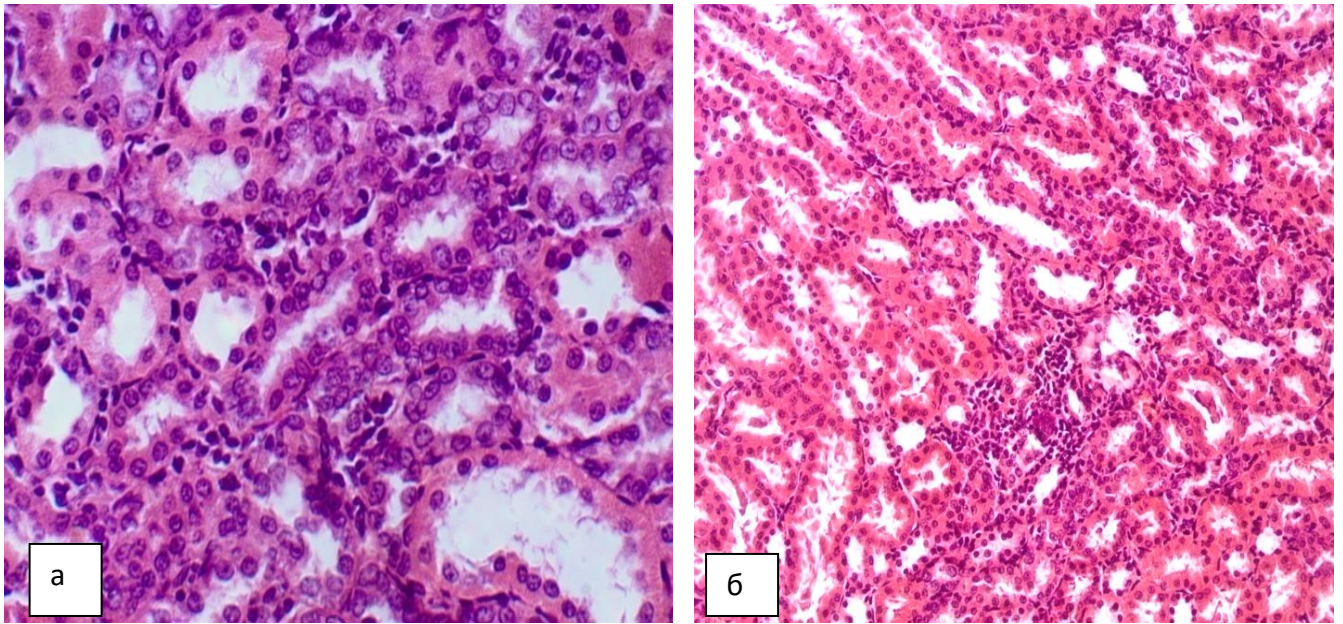


Рис. 15. Нирка щура з гліцероловим ГПН якому вводили бенофілін. Проліферація нефроцитів у стінці каналців (а, х250), зменшення лімфоцитарно-клітинної інфільтрації ітерстицію (б, х200). Гематоксилін-еозин.

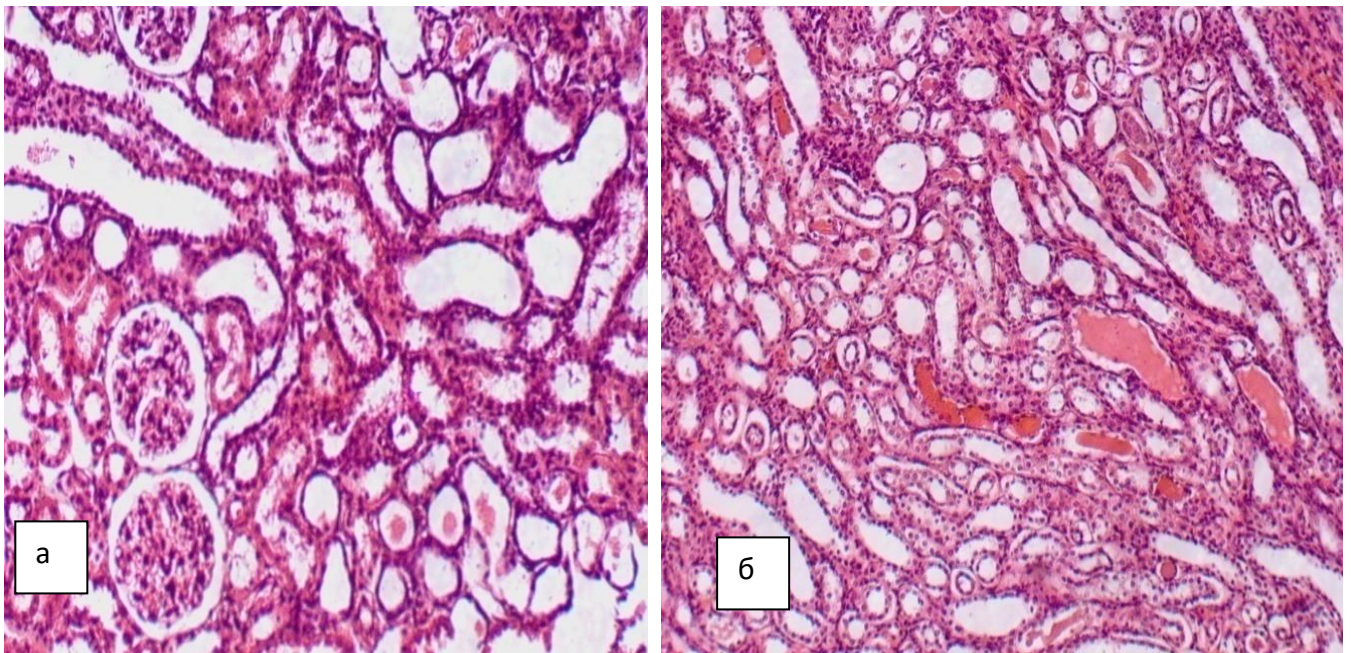


Рис. 16. Нирка щура з гліцероловим ГПН, якому вводили канефрон. Стан ниркових клубочків, проксимальних та дистальних відділів каналців нефронів (а), прямих каналців мозкового шару (б) відповідає нормальному; Гематоксилін-еозин. х200.

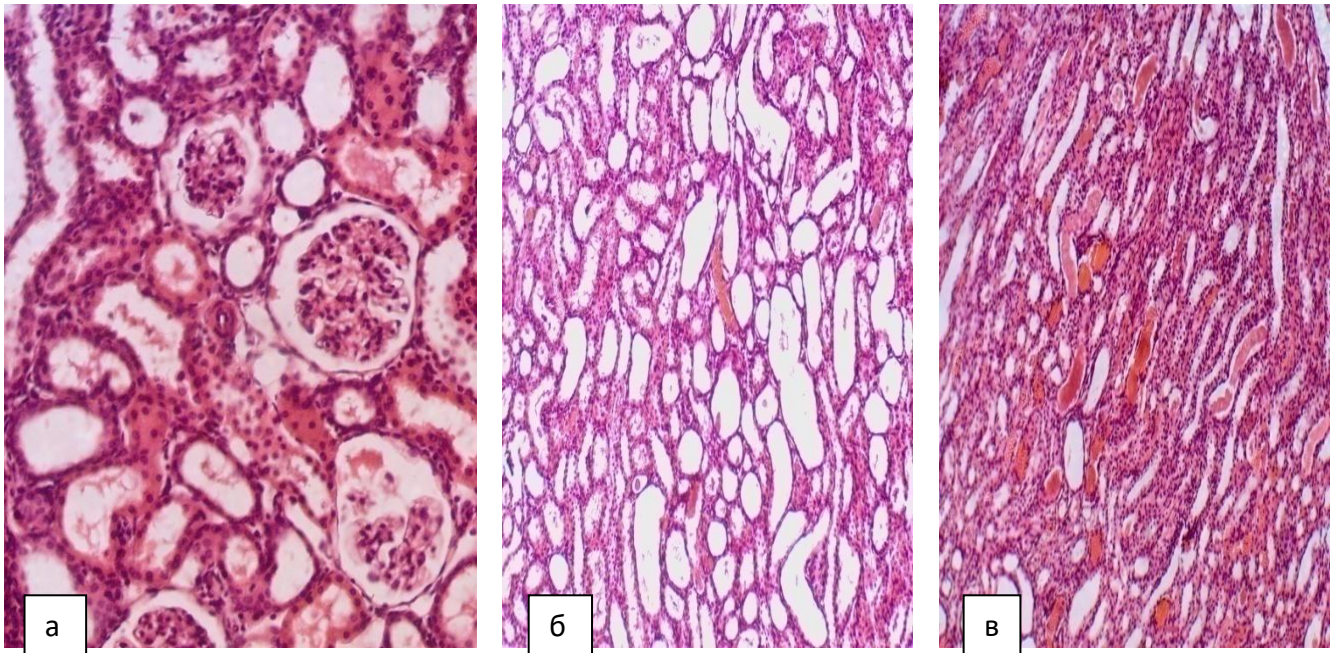


Рис. 17. Нирка щура з гліцероловим ГПН, якому вводили канефрон. Коливання стану ниркових клубочків (а), тубулоектазія звивистих канальців (б), оклюзія білковими масами просвіту частини прямих канальців (в). Гематоксилін-еозин. а, х200, б-в, х100.

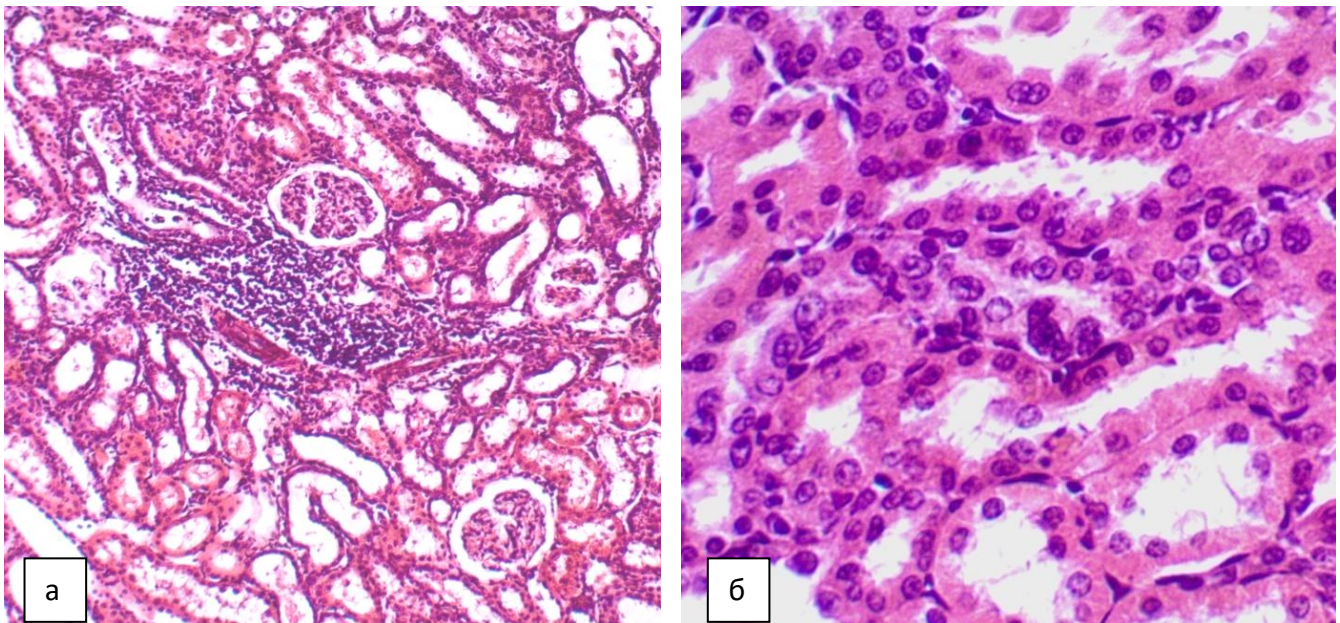


Рис. 18. Нирка щура з гліцероловим ГПН, якому вводили канефрон. Лімфоцитарно-клітинна інфільтрація строми вогнищового характеру (а, х100), ознаки регенерації нефроцитів у канальці (б, х250). Гематоксилін-еозин.

Додаток В

Список публікацій дисертанта:

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*: зб. наук. праць. Київ-Луганськ, 2011. Вип. 1(103). С.300–306. (Особистий внесок дисертанта – участь у плануванні, проведенні експерименту, узагальненні результатів та підготовці статті).
2. Матвійчук О. П., Таран А. В., Самура Б. А., Романенко М. І.;Євсеєва Л. В.Дослідження залежності гострої токсичності та діуретичної активності від хімічної структури серед похідних 7-п-метилбензил-8-заміщених теофіліну. *Український біофармацевтичний журнал*. 2011. №3(14). С. 13–17. (Особистий внесок дисертанта – брала участь у плануванні, проведенні експерименту, обробці, узагальненні результатів та підготовці статті).
3. Матвійчук О. П., Таран А. В., Самура Б. А., Романенко М. І.;Євсеєва Л. В.Дослідження залежності антигіпоксичної активності від хімічної структури в ряду похідних 7-п- метилбензил-8-заміщених теофіліну. *Український біофармацевтичний журнал*. 2011. №5(16). С. 26–29. (Особистий внесок дисертанта – брала участь у плануванні, проведенні експерименту, обробці, систематизації та узагальненні результатів і написанні статті).
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 – брала участь у плануванні та проведенні експерименту, обчисленні та узагальненні результатів і підготовці статті).
5. Матвийчук Е. П., Самура Б. А. Влияние бенофиллина на функцию почек при водной нагрузке в длительном эксперименте. *Витебский журнал «Вестник фармации»*. 2014. №3(65). С. 95–100. (Особистий внесок дисертанта – брала участь у плануванні та проведенні експерименту, обчисленні, систематизації та узагальненні результатів і підготовці статті).

6. Матвійчук О. П., Матвійчук А. В., Гладченко О. М., Таран А. В. Дослідження нефропротекторної дії бенофіліну на моделі гліцеролової гострої ниркової недостатності в дослідах на щурах. *Journal of Education, Health and Sport*. 2017. № 7(4). С. 774–786. (Особистий внесок дисертанта – брала участь у плануванні та проведенні експерименту, обчисленні, систематизації та узагальненні результатів і підготовці статті).

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 – брала участь у плануванні та проведенні експерименту, обчисленні, систематизації та узагальненні результатів і підготовці статті).

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 дії: пат. 116958. (51) України: МПК (2006) C07D 473/00; заявл. 26.12.2016 ; опубл. 12.06.2017, Бюл. № 11 (Особистий внесок дисертанта – брала участь в патентному пошуку, проведенні, систематизації та узагальненні експериментальних досліджень і оформленні патенту).

9. Матвійчук О. П., Таран А. В. Дослідження нефропротекторної дії нової субстанції серед похідних 7,8-дизаміщених теофіліну. *Інформ. лист Укрмедпатентінформу МОЗ України № 183-2017*. К., 2017. 3 с.

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 д. ф. та хім. н., проф. М. О. Валяшко (до 140-річчя від дня народження), м. Харків. 21-22 квіт. 2011 р. Х., 2011. С.313–314.*

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 ХХІХ наук.–практ. конф. з міжнар. уч., м. Харків, 15 берез. 2012 р. Х., 2012. С.*

111.

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. Х., 2013. С.157–158.

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. Х., 2013. С.168.

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. Х., 2013. С. 239–243.

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. Х.: вид-во НфаУ., 2014. С. 31.

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. Х.: вид-во НфаУ., 2014. С. 154.

17. Іванченко Д. Г., Романенко М. І., Матвійчук О. П. Синтез та діуретична активність естерів теобромініл-8-тіооцтової 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. Х., 2015. С. 59.

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

інтеграції, присвяченого пам'яті академіка НАНУ О.О. Мойбенка: матеріали VII Нац. конгр. патофіз. України з міжнар. уч., м. Харків, 5-7 жовтня 2016 р. X., 2016. С. 154.

Додаток Г

Апробація результатів дисертації

Основні положення роботи викладено та представлено на науково-практичних конференціях різного рівня:

1. Всеукраїнська науково-практична конференція студентів та молодих вчених «Актуальні питання створення нових лікарських засобів», присвячена пам'яті д. ф. та хім. н., проф. М. О. Валяшко (до 140-річчя від дня народження) (Харків, 21-22 квітня 2011 р.; форма участі – публікація тез);

2. ХХІХ науково-практична конференція з міжнародною участю «Ліки – людині. Сучасні проблеми створення, дослідження та апробації лікарських засобів» (Харків, 15 березня 2012 р.; форма участі – усна доповідь; публікація тез);

3. Національний конгрес «Клінічна фармація: 20 років в Україні» (Харків, 22 березня 2013 р.; форма участі – публікація тез);

4. Всеукраїнська науково-практична конференція студентів та молодих вчених «Актуальні питання створення нових лікарських засобів» (Харків, 25-26 квітня 2013 р.; форма участі – публікація тез);

5. ХХХ науково-практична конференція з міжнародною участю «Ліки – людині. Сучасні проблеми створення, дослідження та апробації лікарських засобів» (Харків, 23 травня 2013 р.; форма участі – усна доповідь; публікація тез);

6. ХХХІ Міжнародна науково-практична конференція з міжнародною участю «Ліки – людині. Сучасні проблеми фармакотерапії і призначення лікарських засобів» (Харків, 22 травня 2014 р.; форма участі – усна доповідь; публікація тез);

7. Науково-практична конференція з міжнародною участю і школою молодих вчених «Фармакологія, фізіологія і патологія нирок, сечовивідних шляхів і водно-сольового обміну» (Харків, 1-3 жовтня 2014 р.; форма участі – постерна доповідь; публікація тез);

8. XXXII Міжнародна науково-практична конференція з міжнародною участю «Ліки – людині. Сучасні проблеми фармакотерапії і призначення лікарських засобів» (Харків, 21 травня 2015 р.; форма участі – усна доповідь; публікація тез);

9. VII Національний конгрес патолофізіологів України з міжнародною участю «Патофізіологія і фармація: шляхи інтеграції», присвячена пам'яті академіка НАНУ О. О. Мойбенка (Харків, 5-7 жовтня 2016 р.; форма участі – публікація тез).

Додаток Д

«ЗАТВЕРДЖУЮ»

Перший проректор Вищого державного
навчального закладу України
«Українська медична стоматологічна
академія»
професор В.М. Бобирьов
«18» _____ 2017 р.



АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

1. **Назва пропозиції для впровадження:** діуретична та антигіпоксична дія нових похідних 7,8-дизаміщених теофіліну.
 2. **Установа, її адреса, виконавці:** кафедра фармакології Національного фармацевтичного університету, 61002, м. Харків, вул. Пушкінська, 53, Матвійчук Олена Петрівна.
 3. **Джерела інформації:**
 1. Матвійчук О. П., Таран А. В., Самура Б. А., Романенко М. І., Євсєєва Л. В. Дослідження залежності антигіпоксичної активності від хімічної структури в ряду похідних 7-п- метилбензил-8-заміщених теофіліну. Український біофармацевтичний журнал. 2011. Вип. №5(16). С. 26–29.
 2. 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.
 4. **Де і коли впроваджено:** в науково-педагогічний процес кафедри експериментальної та клінічної фармакології з клінічною імунологією та алергологією ВДНЗУ «Української медичної стоматологічної академії» з січня 2017 р.
 5. **Результат впровадження:** висвітлено нові види фармакологічної активності нових 7,8-дизаміщених похідних теофіліну, а саме діуретичну та антигіпоксичну. Результати наукових досліджень Матвійчук О.П. обґрунтовують використання даних сполук для корекції патології нирок, викликаной впливом факторів гіпоксії.
 6. **Зауваження та пропозиції:** не вносилися.
- Обговорено та затверджено на засіданні кафедри експериментальної та клінічної фармакології з клінічною імунологією та алергологією ВДНЗУ «УМСА», протокол № 5 від «5» жовтня 2017 р.
- Відповідальний за впровадження:
завідувач кафедри експериментальної
та клінічної фармакології
з клінічною імунологією та алергологією
ВДНЗУ «УМСА»,
д.мед.н., професор



Dev'yatkina

Т. О. Дев'яткіна

«ЗАТВЕРДЖУЮ»

Проректор з наукової роботи
Національного фармацевтичного
університету

професор Крутьких Т. В.

«30» вересня 2017 р.

АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

1. **Назва пропозиції для впровадження:** Використання нової хімічної речовини в ряду похідних 7,8-дизаміщених теофіліну в якості засобу діуретичної дії.
2. **Установа, її адреса, виконавці:** кафедра фармакології Національного фармацевтичного університету, 61002, м. Харків, вул. Пушкінська, 53, Матвійчук Олена Петрівна.
3. **Джерела інформації:**
 1. 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.
 2. Матвійчук О. П., Самура Б. А. Влияние бенофиллина на функцию почек при водной нагрузке в длительном эксперименте. *Вестник фармации*. 2014. Вип. №3(65). С. 95–100.
4. **Де і коли впроваджено:** в науково-педагогічний процес кафедри фармакології Національного фармацевтичного університету «18» вересня 2017 р.
5. **Результат впровадження:** висвітлено новий вид фармакологічної активності нової речовини в ряду похідних 7,8-дизаміщених теофіліну, а саме – діуретичну дію. Результати наукових досліджень Матвійчук О.П. обґрунтовують використання 7-п-метилбензил-8-п-бромобензиліден-гідразинотеофіліну (умовна назва бенофілін) як діуретика.
6. **Зуваження та пропозиції:** не вносилися.

Обговорено та затверджено на засіданні кафедри фармакології НФаУ, протокол № 4 від «18» вересня 2017 р.

Відповідальний за впровадження:
завідуюча кафедрою фармакології НФаУ
доктор фармацевтичних наук, професор



С.Ю. Штриголь

«ЗАТВЕРДЖУЮ»

Перший проректор ЗДМУ
к.фарм.н., доцент Авраменко М.О.

« 8 » червня 2017 р.

АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

1. **Назва пропозиції для впровадження:** Засіб з нефропротекторною дією на основі нового похідного в ряду 7,8-дизаміщених теофіліну з умовною назвою «бенофілін».
 2. **Установа, її адреса, виконавці:** кафедра фармакології Національного фармацевтичного університету, 61002, м. Харків, вул. Пушкінська, 53, Матвійчук Олена Петрівна.
 3. **Джерела інформації:**
 1. Матвійчук Е.П. Влияние бенофиллина на функцию почек при водной нагрузке в длительном эксперименте // Вестник фармации. – 2014. – №3(65) – С. 95-100.
 2. Матвійчук О.П. Дослідження нефропротекторної дії бенофіліну на моделі гліцерової гострої ниркової недостатності / О.П. Матвійчук, А.В. Матвійчук, О.М. Гладченко // Journal of Education, Health and Sport. – Poland, 2017. – Vol. 7. – №4 – С. 774-786.
 4. **Де і коли впроваджено:** в науково-педагогічний процес кафедри біохімії Запорізького державного медичного університету з „ 6 ” червня 2017 р.
 5. **Результат впровадження:** висвітлено новий вид фармакологічної активності нового похідного в ряду 7,8-дизаміщених теофіліну з умовною назвою «бенофілін», а саме – нефропротекторну дію. Результати наукових досліджень Матвійчук О.П. обґрунтовують використання бенофіліну як нефропротектора при виконанні наукових досліджень.
 6. **Зауваження та пропозиції:** не вносилися.
- Обговорено та затверджено на засіданні кафедри біохімії ЗДМУ, протокол № від „ 12 ” червня 2017 р.

Відповідальний за впровадження:
завідувач кафедри біохімії,
доктор хімічних наук, професор



Власноручно підписав: К.В. Александрова
ПІДТВЕРДЖУЮ
Нач. відділу кадрів Запорізького
державного медичного університету
« 20 » р. Підпис