Національний фармацевтичний університет
Міністерство охорони здоров’я України

ВОРОНІНА-ТУЗОВСЬКИХ ЮЛІЯ ВАСИЛІВНА

УДК: 615.225.2:615.254.1:547.831.9

ПОХІДНІ ХІНОЛІН-2-КАРБОНОВОЇ КИСЛОТИ ЯК ПОТЕНЦІЙНІ АНТИГІПЕРТЕНЗИВНІ ЗАСОБИ З ДІУРЕТИЧНОЮ ДІЄЮ
(експериментальне дослідження)

14.03.05 – фармакологія

Автореферат
дисертації на здобуття наукового ступеня
кандидата фармацевтичних наук

Харків – 2021

Дисертацією є рукопис.
Робота виконана на кафедрі біологічної хімії
Національного фармацевтичного університету МОЗ України, м. Харків.

Науковий керівник: доктор біологічних наук, професор
НАБОКА Ольга Іванівна,
Національний фармацевтичний університет
МОЗ України (м. Харків),
професор кафедри біологічної хімії

Офіційні опоненти: доктор фармацевтичних наук, професор
ПОДПЛЕТНЯ Олена Анатоліївна
Державна установа «Дніпропетровська медична академія»
МОЗ України (м. Дніпропетровськ),
завідувачка кафедри загальної та клінічної фармації

доктор фармацевтичних наук, професор
СЕМЕНІВ Дмитро Васильович
Івано-Франківський національний медичний університет
МОЗ України (м. Івано-Франківськ),
професор кафедри організації та економіки фармації
і технології ліків

Захист відбудеться «12» травня 2021 року о 10.00 годині на засіданні спеціалізованої вченої ради Д 64.605.03 при Національному фармацевтичному університеті за адресою: 61002, м. Харків, вул. Валентинівська, 4.

З дисертацією можна ознайомитись у бібліотеці Національного фармацевтичного університету (61168, м. Харків, вул. Валентинівська, 4).

Автореферат розісланий «09» квітня 2021 р.

Вчений секретар
спеціалізованої вченої ради
доктор фармацевтичних наук, професор К. Г. Щокіна

ЗАГАЛЬНА ХАРАКТЕРИСТИКА РОБОТИ

Обґрунтування вибору теми дослідження. Вже декілька десятиліть поспіль серцево-судинні захворювання залишаються основною причиною смертності населення в різних країнах світу, в тому числі в Україні. Вагоме місце серед патології серцево-судинної системи посідає артеріальна гіпертензія (АГ), яку можна вважати неінфекційною епідемією, що охопила населення планети (Г.А. Барышникова, 2017). Поширеність АГ, її несприятливий вплив на серцево-судинну захворюваність та смертність зростає у всьому світі незалежно від економічного рівня країн, що становить 10,4 млн летальних наслідків на рік (Е.И. Емелина, 2015).

Історія становлення антигіпертензивної терапії стартує з діуретиків, які й натепер відносять до препаратів першої лінії лікування АГ. Сьогодні можна з упевненістю стверджувати про антигіпертензивну ефективність діуретичних лікарських засобів, яка виявляється тією чи іншою мірою в більшості представників цієї фармакологічної групи, що протягом багатьох років традиційно застосовують при гострих отруєннях, нирковій та серцевій недостатності, набряках легень та головного мозку тощо (С.Ю. Штриголь та співавт., 2016; О.В. Ткачова та співавт., 2018; О.Я. Міщенко та співавт., 2018; W. Mullens, 2019).

Клінічні дослідження виявили незалежний і безперервний зв'язок між артеріальним тиском (АТ) і несприятливими серцево-судинними подіями. Відомо, що до механізму підвищення АТ залучено багато органів і систем: серце й судини, наднир-кові залози, нирки, вегетативна нервова система та інші. Діуретики виводять іони Na^+ та рідину із внутрішньосудинного простору, що зменшує гідростатичний тиск, а за тривалого введення зменшують чутливість судинної стінки до пресорних впливів, що сприяє зниженню АТ. Діуретичні лікарські засоби добре поєднуються з гіпотензивними препаратами інших класів (M.I. Lutay, 2016; C. Guerrero-Garcsa et al., 2018).

Зважаючи на те, що з боку практичної медицини потреба в антигіпертензивних препаратах з різним механізмом дії постійно зростає, пошук нових речовин з цим видом фармакологічної активності та створення на їх основі лікарських засобів, які відповідають сучасним вимогам до ефективності та безпеки, залишається актуальним завданням фармакології (М.І. Завгородний, 2017).

Протягом останніх десятиріч похідні хінолін-2-карбонової кислоти є предметом системних досліджень кафедри фармацевтичній хімії Національного фармацевтичного університету під керівництвом професора І.В. Українця і кафедр медико-біологічного спрямування (О.І. Набока та співавт., 2011). Дана робота є продовженням циклу праць, присвячених синтетичним перетворенням та пошуку потенційних біологічно активних речовин з діуретичною дією серед похідних хінолін-2-карбонової кислоти.

Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами. Дисертація виконана за планом, затвердженим МОЗ України, науково-дослідних програм Національного фармацевтичного університету «Фармакологічні дослідження біологічно активних речовин і лікарських засобів синтетичного та природного походження, їх застосування в медичній практиці» (№ держреєстрації 0103U000478, 2003-2013 рр.) та «Фармакологічне вивчення біологічно активних речовин та лікарських засобів» (№ держреєстрації 0114U000956, 2014-2024 рр.), в яких автор є співвиконавцем.

Мета і завдання дослідження. *Мета* дослідження – експериментальне обґрунтування доцільності застосування анілідів хінолін-2-карбонової кислоти для оптимізації лікування АГ і набряків різного генезу.

Для досягнення мети були поставлені такі *завдання*:

1. Провести фармакологічний скринінг та відібрати для поглиблених досліджень найактивнішу субстанцію за діуретичною активністю, визначити її LD_{50} і ED_{50} та дослідити загальнотоксичну дію в хронічному експерименті. Встановити залежність «структура-діуретична активність» в ряду анілідів хінолін-2-карбонової кислоти.

2. З'ясувати особливості та основні механізми діуретичної дії субстанції-лідера в умовах спонтанного діурезу в щурів при одноразовому та багаторазовому введенні, на тлі індукованого (водного) діурезу, об'ємної стимуляції та блокади дофамінових рецепторів.

3. Дослідити протинабрякові властивості субстанції-лідера на моделях набряку легень і мозку в лабораторних тварин.

4. Провести морфологічне дослідження впливу субстанції-лідера на стан легенів у щурів на моделі адреналінового набряку.

5. Оцінити вплив сполуки-лідера на артеріальний тиск, частоту серцевих скорочень та біохімічні показники крові в щурів з експериментальною індометациновою гіпертензією.

6. Дослідити вплив сполуки-лідера на артеріальний тиск, електролітний склад крові, біохімічні показники та вміст циркулюючих імунних комплексів крові у спонтанно гіпертензивних щурів (SHR).

7. Визначити міотропну спазмолітичну активність субстанції-лідера на кільцях аорти і ниркової артерії щурів.

Об'єкт дослідження – оптимізація фармакотерапії АГ та набряків різного ґенезу.

Предмет дослідження – фармакологічна (діуретична, протинабрякова, антигіпертензивна, міотропна спазмолітична) активність та безпека анілідів хінолін-2-карбонової кислоти.

Методи дослідження. Фармакологічні (дослідження діуретичної активності при одноразовому, багаторазовому введенні за умов спонтанного та індукованого діурезу, визначення середньої летальної дози, встановлення середньої ефективної дози, моделювання адреналінового і хлорамонійного набряків легенів та осмотичного набряку головного мозку, моделювання експериментальної АГ, спричиненої індометацином, дослідження антигіпертензивної дії на спонтанно гіпертензивних щурах); біохімічні (визначення вмісту креатиніну, загального білка, сечовини, електролітів, циркулюючих імунних комплексів); морфологічні (дослідження структури легенів); in vitro (дослідження міотропної спазмолітичної активності на кільцях аорти і ниркової артерії щурів); статистичні методи.

Наукова новизна отриманих результатів. Вперше теоретично обгрунтовано та експериментально доведено, що аніліди хінолін-2-карбонової кислоти є сполуками, які мають виразні діуретичні, протинабрякові та антигіпертензивні властивості, низький профіль токсичності та показана доцільність подальшого пошуку антигіпертензивних сполук з діуретичною дією серед речовин означеної групи.

Доведено, що зміни функціональної діяльності нирок під впливом субстанції-лідера 2-карбоксианілід 1-гідрокси-5-метил-3-оксо-5,6-дигідро-3Н-піроло[3,2,1-ij]хінолін-2-карбонової кислоти (умовна назва хінокарб) залежать від дози, тривалості застосування та ступеня гідратації організму. За умов вільного доступу до води та спонтанного діурезу субстанція хінокарб (10 мг/кг) підвищує добовий діурез на 93 % ($p<0,05$), збільшує натрійурез на 58 % ($p<0,05$), екскрецію креатиніну – на 28 % ($p<0,05$). На тлі гіпергідратації під впливом хінокарбу в діапазоні доз від 3 мг/кг до 20 мг/кг добовий діурез, ниркова екскреція іонів Na^+ та креатиніну в щурів зростає, а починаючи з дози 20 мг/кг – не змінюється. Найвиразніші зміни при одноразовому застосуванні реєстрували при введенні субстанції-лідера в дозі 10 мг/кг (діурез зростав у 2,31 разу, $p<0,05$; екскреція іонів Na^+ – у 2,11 разу, $p<0,05$; екскреція креатиніну – на 57 %, $p<0,05$ щодо контролю). Встановлено, що при курсовому застосуванні субстанції хінокарбу (7 діб) вірогідно підвищуються: спонтанний діурез – у 2,11 разу, $p<0,05$; натрійурез – у 2,2 разу, $p<0,05$; калійурез – на 40 %, $p<0,05$; екскреція креатиніну – на 41 %, $p<0,05$ з максимальними значеннями на 5-7 добу введення. При відміні препарату показники екскреторної функції нирок нормалізуються, проте в перші 3 дні залишається ще дещо підвищений натрійурез. Як за умов спонтанного, так і водного діурезу підвищувався Na^+/K^+ коефіцієнт, що свідчить про суттєвішу натрійуретичну дію субстанції-лідера. З'ясовано, що механізми діуретичної дії хінокарбу зумовлені стимулювальною дією на ниркові рецептори дофаміну та підвищенням клубочкової фільтрації, що приводить до посилення діуретичного ефекту. Найбільш виразно хінокарб виявляє натрійуретичний та діуретичний ефекти в умовах об'ємної стимуляції, що, ймовірно, є результатом активації натрійуретичного гормону.

На експериментальних моделях адреналінового (миші) і хлорамонійного (щури) набряків легень та при розвитку осмотичного набряку головного мозку в мишей доведено, що хінокарб у дозі 10 мг/кг виявляє виразну протинабрякову дію. Реалізація протинабрякових ефектів хінокарбу супроводжується збільшенням виживаності тварин, що вигідно відрізняє його від референтного препарату гідрохлортіазиду. На підставі гістологічних досліджень даних показано, що субстанція хінокарб у дозі 10 мг/кг на моделі гемодинамічного набряку легень у щурів виявляє протинабрякову дію на рівні препарату порівняння гідрохлортіазиду в дозі 50 мг/кг.

В експерименті з'ясовано механізми порушень водно-електролітного обміну в щурів з індометациновою АГ, які виявляються гіперкреатинемією поряд з мікроальбумінурією та призводять до порушення функції нирок. Показано, що хінокарб при одноразовому внутрішньошлунковому введенні щурам з індометациновою АГ в дозі 10 мг/кг виявив суттєвий антигіпертензивний ефект, максимум якого розвивався через 6 год та складав 13,6 %, $p<0,05$ (–24,0 мм рт.ст.), а його виразність і тривалість перевищувала антигіпертензивну дію гідрохлортіазиду в 1,6 разу, $p<0,05$ (8,7 %, або –15,0 мм рт.ст.). Середній антигіпертензивний ефект субстанції хінокарбу при 7-денному введенні складав 17,1 % ($p<0,05$), та був вищим, ніж після одноразового введення. При 7-денному внутрішньошлунковому введенні в дозі 10 мг/кг на моделі індометацинової АГ хінокарб зберігає антигіпертензивну дію, за виразністю та тривалістю якої дещо поступається еналаприлу (0,5 мг/кг) та дорівнює гідрохлортіазиду

в дозі, еквівалентній хінокарбу. Антигіпертензивний ефект хінокарбу не супроводжується побічними реакціями з боку метаболічного профілю, що вигідно відрізняє його від референтних препаратів.

Доведено, що на тлі спонтанної АГ у щурів відбувається істотне порушення електролітного складу крові та клубочкової фільтрації, що віддзеркалюється накопиченням сечовини та креатиніну в сироватці крові SHR. При 7-денному внутрішньошлунковому введенні хінокарбу в дозі 10 мг/кг у SHR знижувався АТ, відновлювався електролітний склад крові, поліпшувалася клубочкова фільтрація, зменшувалася виразність неспецифічного запалення. За виразністю антигіпертензивної дії хінокарб не поступався препаратам порівняння еналаприлу (0,5 мг/кг) та гідрохлортіазиду (25 мг/кг), а за здатністю відновлювати клубочкову фільтрацію перевершував їх.

За даними досліджень *in vitro* доведено, що субстанція хінокарбу знімала спазм судин грудної аорти і ниркової артерії щурів, ініційований фенілефрином, на рівні препарату порівняння дротаверину (EC_{50} $7{,}29\times10^{-8} \pm 1{,}23\times10^{-8}$ моль/л; EC_{50} $7{,}11\times10^{-8} \pm 1{,}18\times10^{-8}$ моль/л). З'ясовано, що механізми антигіпертензивного ефекту хінокарбу базуються на зменшенні вмісту рідини в організмі щурів з індометациновою АГ та SHR, а також за рахунок прямої спазмолітичної дії на стінку судин.

Новизна проведених досліджень захищена патентом України № а 2010 15452; заявл. 25.05.2011, Бюл. № 10; опубл. 12.03.2012, Бюл. № 5.

Практичне значення отриманих результатів. Робота належить до фундаментальних досліджень. На підставі отриманих результатів розширені та поглиблені знання про фармакологічну активність анілідів хінолін-2-карбонової кислоти, встановлена залежність «структура-діуретична активність» в ряду вказаних похідних, що дозволить проводити цілеспрямований пошук субстанцій з діуретичною дією серед означених речовин. Експериментально обґрунтована доцільність використання субстанції хінокарбу для створення антигіпертензивного засобу з діуретичною дією для нормалізації АТ і корекції водно-електролітного обміну.

Результати дисертаційного дослідження впроваджені в науково-педагогічний процес кафедр вищих медичних (фармацевтичного) навчальних закладів України: Центральної науково-дослідної лабораторії (ЦНДР) Національного фармацевтичного університету (протокол № 11 від 20.11.2015 р.); клінічної фармації і клінічної фармакології Вінницького національного медичного університету ім. М.І. Пирогова (протокол № 13 від 05.01.2016 р.); загальної та клінічної фармації ДЗ «Дніпропетровська медична академія МОЗ України» (протокол № 5 від 29.01.2021 р.); фармації та фармакології Донецького Національного медичного університету (протокол № 6 від 05.01.2021 р.); патологічної фізіології, топографічної анатомії і оперативної хірургії Харківської медичної академії післядипломної освіти (протокол № 2 від 05.01.2021 р.). До дисертації додаються акти впровадження.

За результатами дослідження отримано інформаційний лист про нововведення МОЗ України «Похідні хінолін-2-карбонової кислоти як потенційні антигіпертензивні засоби з діуретичною дією» № 295-2013.

Особистий внесок здобувача. Разом з керівником визначені мета і завдання дослідження, розроблені методичні підходи, відпрацьовані адекватні дослідні моделі й методики для виконання експериментальних досліджень. Автором особисто був

здійснений патентно-інформаційний пошук, у тому числі з використанням пошукових серверів Yandex, Rambler, Alta Vista, а також медичної бази даних “Medline” мережі Internet, проведений аналіз даних літератури за темою дисертації, експериментальні дослідження, статистична обробка, аналіз і узагальнення результатів, сформульовані основні положення і висновки дисертації. Гістологічні дослідження проведені на базі ЦНДЛ НФаУ за консультативної допомоги к.біол.н. Ю.Б. Лар’яновської. Дослідження з визначення міотропної спазмолітичної активності проведені на базі кафедри фармакології та клінічної фармакології ДЗ «Дніпропетровська медична академія МОЗ України» під керівництвом д.мед.н., проф. О.О. Нефьодова. Дослідження з вивчення антигіпертензивної дії на лінії щурів SHR проведені за консультативної допомоги к.біол.н., доц. О.Ю. Кошової. Дисертант вдячний усім науковцям за співпрацю, методичну та консультативну допомогу. В опублікованих у співавторстві наукових працях наведені результати особистих експериментальних досліджень. Співавторами статей є науковий керівник д.біол.н., проф. О.І. Набока та фахівці, які брали участь у виконанні окремих досліджень: И.В. Українець, М.Ю. Голік, Л.А. Шемчук, Н.О. Хохлова, Л.В. Галузінська, С.З. Хуарі, А.В. Мигаль, С.М. Бородай. Особистий внесок конкретизовано у списку опублікованих праць за темою дисертаційної роботи.

Апробація результатів дисертації. Основні положення дисертаційної роботи оприлюднені та обговорені на: VII Національному з’їзді фармацевтів України «Фармація України. Погляд у майбутнє» (Харків, 15-17 вересня, 2010 р.); Всеукраїнській науково-практичній конференції студентів та молодих вчених, присвяченої 140-річчю з дня народження доктора фармацевтичних та хімічних наук, професора Миколи Овксентійовича Валяшка «Актуальні питання створення нових лікарських засобів» (Харків, 21 квітня, 2011 р.); Всеукраїнській науково-практичній конференції студентів та молодих вчених «Актуальні питання створення нових лікарських засобів» (Харків, 19-20 квітня, 2012 р.); Національному конгресі «Клінічна фармація: 20 років в Україні» (Харків, 21-22 березня, 2013 р.); Topical issues of new drugs develop-ment (Kharkiv, April 23, 2015); Topical issues of new drugs development (Kharkiv, April 21, 2016); Науково-практичній конференції з міжнародною участю «Актуальні питання експериментальної та клінічної біохімії» (Харків, 2 жовтня, 2020 р.).

Публікації. За матеріалами дослідження опубліковано 21 наукову працю, з них 4 статті в наукових фахових журналах, рекомендованих МОН України, 3 статті у закордонних наукових виданнях, 12 тез доповідей, 1 деклараційний патент України, 1 інформаційний лист.

Обсяг і структура дисертації. Дисертаційна робота викладена на 234 сторінках машинописного тексту, складається з анотацій українською та англійською мовами, вступу, огляду літератури, опису матеріалів та методів досліджень, 4 розділів власних досліджень, аналізу та узагальнення результатів, висновків, списку посилань, який містить 321 джерело, серед яких 142 є іноземними. Робота ілюстрована 29 рисунками та 27 таблицями.

ОСНОВНИЙ ЗМІСТ РОБОТИ

Матеріали та методи дослідження. Експериментальні дослідження виконані на 568 білих нелінійних статевозрілих щурах масою 180-240 г обох статей, 32 спонтанно гіпертензивних щурах, 470 безпородних білих мишах масою 15-24 г. Тварини вирощені у розпліднику віварію ЦНДЛ НФаУ. З тваринами поводились згідно з правилами «Європейської конвенції із захисту хребетних тварин, яких використовують для експериментальних та наукових цілей» (Страсбург, 1986 р. зі змінами, 1998 р.). Дослідження проведені відповідно до методичних рекомендацій (Стефанов, 2001), з дотриманням вимог Належної лабораторної практики (Good Laboratory Practice, 2009). Комітетом з біоетики НФаУ (протокол № 10 від 18.09.2013 р., протокол № 2 від 04.11.2019 р.) встановлено, що проведені дослідження не суперечать загальноприйнятим біоетичним нормам з дотримання відповідних міжнародних положень стосовно проведення експериментальних досліджень. Нові досліджувані хімічні сполуки – аніліди хінолін-2-карбонової кислоти (51 субстанція) – синтезовані на кафедрі фармацевтичної хімії НФаУ під керівництвом д. хім. н., проф. І.В. Українця. Субстанції являють собою безбарвні або білі з жовтим відтінком кристалічні речовини, при кімнатній температурі помірно розчинні у воді, диметилформаміді та диметилсульфоксиді. Для підтвердження їх хімічної будови використана спектроскопія ядерно-магнітного резонансу протону водню (ЯМР^{1}Н).

Первинну фармакологічну оцінку діуретичної активності новосинтезованих субстанцій проводили за методом Є.Б. Берхіна (1977). Досліджувані субстанції та гідрохлортіазид уводили внутрішньошлунково у вигляді тонкодисперсної водної суспензії, стабілізованої твіном-80 у дозі 10 мг/кг (О.І. Набока, 2009).

Дослідження LD_{50} анілідів хінолін-2-карбонової кислоти проводили на мишах при внутрішньочеревинному введенні. Ступінь токсичності розраховували за методом Cr. Karber (А. Н. Сернов и соавт., 2000; К.К. Сидоров, 1973).

Середньосмертельну дозу відібраної на етапі скринінгу субстанції хінокарбу визначали на двох видах лабораторних тварин – нелінійних білих мишах і білих щурах за умов внутрішньочеревинного та внутрішньошлункового введення за методом Cr. Karber (А.Н. Сернов и соавт., 2000; К.К. Сидоров, 1973).

Можливу загальнотоксичну дію хінокарбу вивчали згідно з Методичними рекомендаціями ДФЦ МОЗ України (2001). Досліджували вплив на загальний стан тварин, який оцінювали за динамікою маси тіла тварин; функціональний стан серцево-судинної системи – за показниками електрокардіограми (И.А. Западнюк и др., 1983; Т.А. Гуськова, 2003); склад периферійної крові, який визначали за кількістю еритроцитів, лейкоцитів, гемоглобіну, ШОЕ та лейкоцитарною формулою (В.В. Меньшиков, 2002); функціональний стан печінки – за кількістю загального білка (ЗБ), фракційним складом білків, активністю ферментів АЛТ, АСТ; функціональний стан нирок – за якісним визначенням білка в сечі, pH, кількості азоту сечовини сироватки крові, яку визначали уніфікованим діацетилмонооксимним методом (В.С. Камышников, 2009).

Середньоефективну дозу хінокарбу визначали за методом Cr. Karber (А.Н. Сернов и соавт., 2000; К.К. Сидоров, 1973).

Функціональний стан нирок у щурів під впливом хінокарбу вивчали за умов

спонтанного та індукованого (водного) діурезу після одноразового і багаторазового уведень. Концентрацію іонів Na^+ і K^+ в сечі та плазмі крові визначали методом полуменевої фотометрії на плазмовому аналізаторі рідин ПАЖ-2 (В.В. Бардин и соавт., 1988), концентрацію креатиніну в плазмі крові визначали на спектрофотометрі СФ-46 при довжині хвилі 590 нм за методом Фоліна в модифікації Є.Б. Берхіна (1977). Концентрацію ЗБ в сечі визначали за методом А.П. Міхєєвої (1996). Як референс-препарат обрано гідрохлортіазид (таблетки гіпотіазиду, які містять 25 мг гідрохлортіазиду («Хіноїн», Угорщина, серія 0629), у дозі 25 мг/кг в/ш (А. В. Таран, В. И. Корниенко, Б. А. Самура, 2010).

Взаємодію хінокарбу з блокатором дофамінових рецепторів відтворювали в/ш введенням домперидону (Мотиліум, таб. 10 мг, Janssen Pharmaceutica N.V., Бельгія) в дозі 40 мг/кг (А. Ю. Маркіна, 2019).

Вплив хінокарбу на натрійуретичну активність плазми крові щурів досліджували за умов збільшення об'єму позаклітинної рідини. Продукцію НУГ стимулювали збільшенням об'єму позаклітинної рідини введенням у хвостову вену щурів 0,9 % розчину натрію хлориду в кількості 3 % від маси тіла. Контрольну і досліджувану плазму крові тестували на 10 щурах у кожній групі (І.Л. Куковська, 2004).

Протинабрякову дію хінокарбу досліджували на двох моделях набряку легень: адреналіновому в мишей та щурів і хлорамонійному в щурів, а також на моделі осмотичного набряку головного мозку в мишей. Адреналіновий набряк легень відтворювали внутрішньочеревинним уведенням 0,1 % розчину адреналіну в дозі 0,1 мг/10 г маси тіла (О.І. Набока, 2009). Хлорамонійний набряк легень викликали шляхом внутрішньочеревинного введення 6 % розчину хлористого амонію з розрахунку 0,7-0,75 мл/100 г маси тіла (О.І. Набока, 2009). Хінокарб уводили внутрішньошлунково в дозах 30, 50, 80 і 100 мг/кг. Ступінь виразності набряку легень оцінювали за виживанням тварин та легеневим коефіцієнтом, що являє собою відношення маси легень до маси тіла тварини (Ю.М. Галин, В.А. Мартынов, 1973; Л.Н. Сернов, В.В. Гацура, 2000).

Вплив хінокарбу на розвиток осмотичного набряку головного мозку в мишей вивчали шляхом внутрішньочеревинного уведення тваринам великої кількості води (21-22 % від маси тіла), що призводить до різкого порушення осмотичної рівноваги і, як наслідок, накопичення великих кількостей рідини в тканині мозку (В.М. Самвелян,1981). Хінокарб уводили в дозах 10, 30, 50 і 100 мг/кг. Оцінку ступеня виразності набряку і протинабрякової дії проводили за станом тварин та коефіцієнтом маси головного мозку, вираженим у відсотках (О.І. Набока, 2009).

Морфологічне дослідження впливу хінокарбу на розвиток гемодинамічного набряку легень щурів проводили на моделі адреналінового набряку методом світлової мікроскопії (забарвлення гематоксилін-еозином). Використовували мікроскоп Micros 400 (Austria) з цифровим фотоапаратом Nikon Cool Pix 4500. Фотографування мікропрепаратів проведено в системі Aver Media, фотознімки обробляли на комп'ютері Pentium 2,4GHz за допомогою програми Nikon Viw 5.

Антигіпертензивну дію хінокарбу досліджували на моделі індометацинової АГ, яку відтворювали шляхом хронічного уведення інгібітора синтезу простагландинів індометацину на тлі зміни функціонального стану нирок завдяки сольовому навантаженню (Т.Ю. Либерман, 1971). АГ у щурів викликали щоденним, протягом

6 тижнів, 1 % розчином NaCl, який тварини одержували замість питної води, в сполученні з уведенням всередину індометацину в дозі 2 мг/кг (Л.Д. Куница, 1983). Вплив на АТ та ЧСС субстанції хінокарбу вивчали при одноразовому і 7-денному введенні щурам при вивченні водно-сольового обміну. Вплив хінокарбу на стан реноваскулярної системи досліджували при його 7-денному введенні, визначали в крові вміст креатиніну, сечовини та рівень ЗБ. Препаратами порівняння були таблетки гіпотіазиду, які містять 25 мг гідрохлортіазиду (“Хіноїн”, Угорщина, серія 0627) та таблетки берліприлу, які містять 5 мг еналаприлу малеату (“Берлін-Хемі АГ”, Німеччина, серія 71002). Хінокарб і гідрохлортіазид уводили в дозі 10 мг/кг. Доза еналаприлу 0,5 мг/кг відповідає діапазону добових доз для людини з розрахунком коефіцієнта перерахунку на щурів (А.П. Викторов, 2005; Ж.Д. Кобалова, Ю.В. Котовская, 2007). АТ та ЧСС у щурів реєстрували в хвостовій артерії неінвазивним методом за допомогою реєстратора артеріального тиску BP Recorder (“Ugo Basile”, Італія). В крові визначали вміст креатиніну та сечовини за допомогою тест-наборів (“Pliva-Lachema Diagnostika”, Чехія) та рівень ЗБ за допомогою тест-набору (“Філісит-Діагностика”, Україна). На наступному етапі проведено дослідження антигіпертензивної дії хінокарбу на спонтанно гіпертензивних щурах-самцях лінії SHR.

Вивчення міотропної спазмолітичної активності хінокарбу виконано на щурах обох статей лінії Вістар масою 160-190 г. У дослідженнях використовували ізольовані кільця грудного сегмента аорти та кільця правої ниркової артерії. Ізольовані судини розрізали на кільця шириною 1-2 мм (D.N. Guedes, et al., 2004). Механографічне дослідження м’язових скорочень ізольованих судин проводили на експериментальній установці. Дані реєструвались за допомогою аналогоцифрового перетворювача (WPI LabTrax 4/16, США) на персональний комп’ютер з використанням програми DataTrax 2. Силу скорочувальних реакцій судин реєстрували в ізометричному режимі за допомогою ємнісних тензометричних датчиків (FTK-0.1). Рівень спазмолітичного ефекту обчислювали у відсотках відносно рівня максимального тонічного напруження, викликаного фенілефрином (1 мкмоль/л) (C.R. Tirapelli, et al., 2006). Для розрахунку середньоефективної концентрації (log EC_{50}) застосовували графічний метод побудови кривих «доза–ефект» за допомогою програми Origin 7.5 (OriginLab Co., США). Спазмолітична ефективність нової сполуки визначалась у порівнянні з класичним спазмолітиком дротаверином (Дарниця, 40 мг, серія 0844). Статистичну обробку результатів проводили з використанням пакета статистичного аналізу електронних таблиць Exel (С.Н. Лапач и соавт., 2000), за допомогою програми “Statgra-phics Plus v. 3.0.” та стандартного пакета статистичних програм «Statistica, V. 6,0». Використовували критерій Стьюдента, непараметричний аналог однофакторного дисперсійного аналізу – критерий Крускала-Воліса, та критерій Мана-Вітні.

Результати та їх обговорення. Першим етапом роботи була скринінгова серія дослідів з вивчення гострої токсичності та діуретичної активності 51 аніліду хінолін-2-карбонової кислоти. Результати досліджень свідчать, що LD_{50} анілідів хінолін-2-карбонової кислоти для білих мишей при внутрішньочеревинному введенні коливається в діапазоні 1000-4042 мг/кг, що дозволяє віднести їх до практично нетоксичних і відносно нешкідливих речовин. Встановлена залежність “структура–діуретична активність” в ряду анілідів хінолін-2-карбонової кислоти, яка залежить

від природи радикала R (де R=3-F або 3-Br, або 4-OMe, або 2,5-Me_2, або 3-COOH, або 4-COOH, або 4-COOMe, або 4-COOEt) (I. V. Ukrainets, O. I. Naboka, et al., 2011). У результаті скринінгових фармакологічних досліджень встановлено, що субстанціям ND_7, ND_{17}; ND_{20}; ND_{29}; ND_{41}; ND_{42}; ND_{43}; ND_{44}; ND_{45} у дозі 10 мг/кг притаманна діуретична активність на рівні 68, 69, 90, 83, 80, 67, 62, 67 та 67 %, відповідно.

За результатами проведеного скринінгу для подальшого дослідження потенційних фармакологічних властивостей нового ряду хімічних сполук – анілідів хінолін-2-карбонової кислоти – відібрана сполука-лідер під шифром ND_{41} (рис. 1, умовна назва «хінокарб»), яка в дозі 10 мг/кг виявила виразну діуретичну активність за умов спонтанного діурезу в щурів, за якою перевищувала гідрохлортіазид в еквівалентній дозі в 1,4 разу ($p<0,05$) і мала низький профіль токсичності. Середня ефективна доза хінокарбу при внутрішньошлунковому введенні щурам дорівнює 10 мг/кг, середня летальна доза при внутрішньочеревинному введенні мишам і щурам – 4042±735 та 3708±434 мг/кг відповідно, за внутрішньошлункового введення перевищує 5000 мг/кг. В умовах хронічного експерименту (1 місяць) випробувана субстанція хінокарбу не чинить негативного впливу на функцію життєво важливих органів і систем організму щурів.

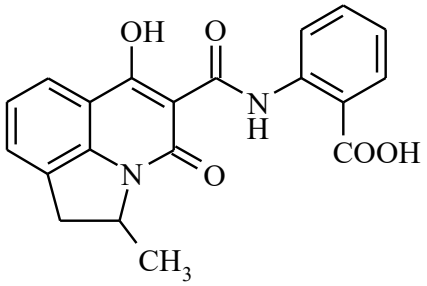

Рис.1 Хімічна будова сполуки-лідера 2-карбоксианілід 1-гідрокси-5-метил-3-оксо-5,6-дигідро-3Н-піроло[3,2,1-ij]хінолін-2-карбонової кислоти (ND_{41}, хінокарб)

На наступному етапі досліджено вплив хінокарбу на функціональний стан нирок за умов спонтанного та індукованого (водного) діурезу в щурів. Доведено, що зміни функції нирок під впливом субстанції-лідера залежать від дози, тривалості застосування та ступеня гідратації організму. Так, за умов вільного доступу до води та спонтанного діурезу хінокарб (10 мг/кг) підвищує добовий діурез на 93 % ($p<0,05$), збільшує екскрецію іонів Na^+ на 58 % ($p<0,05$), екскрецію креатиніну – на 28 % ($p<0,05$). На тлі гіпергідратації під впливом досліджуваної субстанції в діапазоні доз від 3 мг/кг до 20 мг/кг добовий діурез, екскреція іонів Na^+ і креатиніну зростає, а починаючи з дози 20 мг/кг – не змінюється. Найвиразніші зміни при одноразовому застосуванні реєстрували при введенні субстанції-лідера в дозі 10 мг/кг (діурез зростав у 2,31 разу, $p<0,05$; екскреція іонів Na^+ – у 2,11 разу, $p<0,05$; екскреція креатиніну – на 57 %, $p<0,05$ щодо контролю).

При тривалому (7-денному) введенні хінокарбу в дозі 10 мг/кг виразний діуретичний ефект зберігається протягом 7 діб з максимальними значеннями на 5-7 добу, коли достовірно підвищуються: спонтанний діурез – у 2,11 разу ($p<0,05$), натрійурез – у 2,2 разу ($p<0,05$), калійурез – на 40 % ($p<0,05$), екскреція креатиніну – на 41 % ($p<0,05$). При курсовому застосуванні хінокарбу зростала також екскреція іонів K^+, однак менш виразно. При відміні досліджуваної субстанції показники екскреторної

функції нирок нормалізувалися, проте в перші 3 дні залишався дещо підвищений натрійурез. Як за спонтанного, так і за водного діурезу підвищувався Na^+/K^+ коефіцієнт, що свідчить про суттєвішу натрійуретичну дію субстанції-лідера та про зменшення мінералокортикоїдного контролю функції нирок.

Наступним етапом досліджень стало з'ясування можливої ролі дофамінергічної ланки ренальних ефектів хінокарбу шляхом оцінки його дії за одночасного застосування блокатора дофамінових рецепторів домперидону в дозі 40 мг/кг. За результатами експерименту сумісне застосування хінокарбу та домперидону викликало збільшення діурезу на 63 % ($p<0,05$), екскреції іонів Na^+ – у 2,82 разу ($p<0,05$), екскреція іонів K^+ зростала на 30 % ($p<0,05$). Ці результати свідчать, що на тлі блокади дофамінових рецепторів діуретична активність хінокарбу несуттєво знизилася.

Для з'ясування можливої ролі НУГ у механізмі дії хінокарбу на нирки в наступній серії вивчено вплив субстанції-лідера на натрійуретичну активність плазми крові щурів. Вплив випробуваної субстанції виявлявся збільшенням натрійурезу на 51 % ($p<0,05$) у порівнянні з показником тварин, яких не піддавали водному навантаженню, та подальшим зростанням натрійурезу в 2,2 разу ($p<0,05$) порівняно з показником щурів, яким внутрішньовенно уводили 0,9 % розчин натрію хлориду.

Отже, є підстави вважати, що механізми діуретичної дії хінокарбу зумовлені стимулювальною дією на дофамінові рецептори нирки з підвищенням клубочкової фільтрації, що приводить до посилення видільної функції нирок. Хінокарб виявляє найбільш виразний натрійуретичний та діуретичний ефект в умовах об'ємної стимуляції, що, ймовірно, є результатом активації НУГ.

Обговорення механізмів формування діуретичної дії хінокарбу було б неповним без урахування вивчення його протинабрякових властивостей. Як показали проведені дослідження, субстанція хінокарбу в дозах 10 і 30 мг/кг виявляє виразну протинабрякову дію при розвитку осмотичного набряку головного мозку в мишей і збільшує виживаність тварин на 90 %, $p<0,05$.

Протинабрякову дію новосинтезованої сполуки встановлено також на моделях адреналінового (миші) і хлорамонійного (щури) набряків легень. Протинабрякову дію хінокарбу підтвержено за результатами вивчення гістоструктури легень щурів із моделлю адреналінового набряку. В групі інтактного контролю респіраторний відділ легеневої паренхіми був представлений альвеолярними ходами, альвеолярними порожнинами та альвеолами, чіткість альвеолярного рисунка не була порушена, а стан кровоносних судин, перивазальні простори без особливостей (рис. 2).

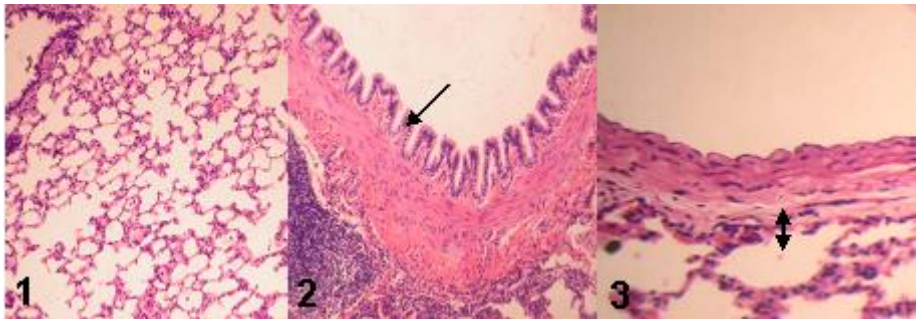

Рис. 2 Респіраторний відділ легеневої тканини інтактного щура. Нормальний альвеолярний рисунок паренхіми. Стан епітелію дрібного бронха відповідає нормі (1). Перибронхіально видно лімфоцитарний фолікул (2). Стінка вени не пошкоджена, перивазальна тканина не змінена (3). Гематоксилін-еозин, x100

Після внутрішньочеревинного введення адреналіну в щурів групи контрольної патології на різних ділянках легеневих часточок альвеолярний рисунок паренхіми було порушено, виявлено дифузний або великовогнищевий альвеолярний набряк, який значно зменшував дихальну поверхню тканини. Просвіт альвеол був заповнений набряковою рідиною, яка мала гомогенний характер, бліде еозинофільне забарвлення, місцями в ній реєстрували велику кількість еритроцитів, нечисленні ядерні клітини крові, злущені клітини альвеолярного епітелію, а також невеликі порожнини – бульбашки повітря, що примішалися до неї. Набрякла рідина розтягувала та спотворювала контури альвеол (рис. 3).

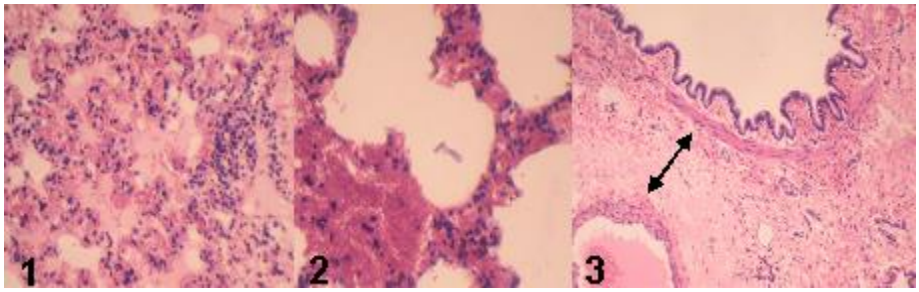

Рис. 3 Респіраторний відділ легеневої тканини щура з моделлю адреналінового набряку легень. Набрякова рідина в порожнині альвеол, міжальвеолярні перегородки зруйновані, рисунок тканини спотворений (1). Крововиливи у міжальвеолярних перегородках, тромбоз, емфіземоподібно розтягнуті альвеоли (2). Виразна зона набряку навколо кровоносної судини (3). Гематоксилін-еозин, х200

У місцях із збереженими міжальвеолярними перегородками кровоносні капіляри були дуже розширені, переповнені кров'ю, в них відмічався стаз еритроцитів, тромбоз, нерідко видно крововиливи, просякнення набряковою рідиною. Поряд з альвеолами, які суцільно виповнені серозним випотом, зустрічалися й такі, що були емфіземоподібно розтягнуті внаслідок явищ гострої емфіземи, що настає одночасно з набряком легень (рис. 3).

Профілактично-лікувальне введення хінокарбу в дозі 10 мг/кг виразно покращувало стан легеневої тканини у переважної більшості щурів (рис. 4). При цьому в 25 % тварин на мікропрепаратах були відсутні ознаки альвеолярного набряку, збережено типовий альвеолярний рисунок тканини (рис. 4, 1). У 37,5 % щурів виразність альвеолярного набряку була набагато зменшена, він мав або дрібновогнищевий характер та локалізувався тільки у верхівкових ділянках легеневих часточок (рис. 4, 2), або мав дещо більш поширений характер (25 %). При цьому в альвеолах набрякову рідину часто було видно лише пристінково, альвеоли не були так розтягнуті, як у контролі, відповідно більш збережено рисунок тканини.

У 57,1 % щурів, яким уводили препарат порівняння гідрохлортіазид, також спостерігали поліпшення стану респіраторного відділу легеневої тканини. У 28,6 % випадків стан альвеолярної паренхіми був або нормальний, або наближений до нього. Ще у 28,6 % набряк мав гніздовий характер у верхівкових ділянках легень, типовий рисунок тканини було частково зруйновано. Ознаки венозного застою були або відсутні, або слабкі. Таким чином, напівкількісна оцінка впливу дослідженої субстанції хінокарбу (10 мг/кг) та референс-препарату гідрохлортіазиду (50 мг/кг) на вира-

зність морфологічних ознак модельного набряку легень показала виразні позитивні зміни, що відбувалися в легеневій тканині щурів.

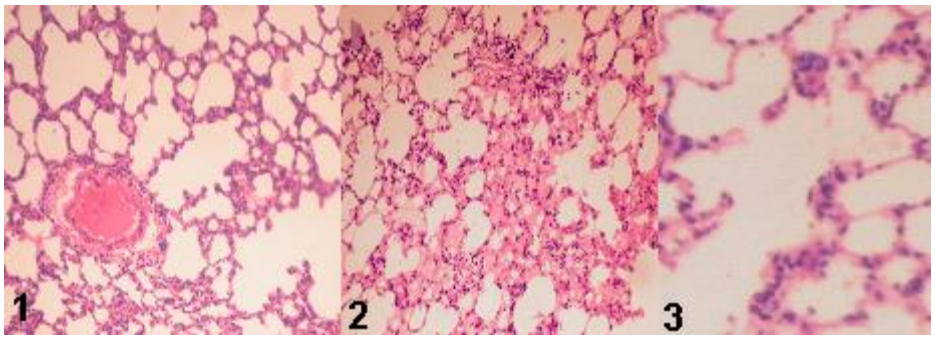

Рис. 4 Респіраторний відділ легеневої тканини щура з моделлю адреналінового набряку легень, якому вводили хінокарб у дозі 10 мг/кг. Відсутність ознак альвеолярного набряку, збереження типової гістоархітектоніки, перивазальна тканина звичайна (1). Дрібновогнищевий альвеолярний набряк (2). Нормальний стан капілярів у міжальвеолярних перегородках (3). Гематоксилін-еозин, х100

У наступній серії дослідів на моделі індометацинової АГ у щурів доведено антигіпертензивну дію хінокарбу при одноразовому і 7-денному пероральному введенні, а також його вплив на біохімічні показники, які характеризують обмін небілкових (креатинін, сечовина) азотистих речовин та ЗБ. Встановлено, що хінокарб (10 мг/кг) при одноразовому внутрішньошлунковому введенні виявив антигіпертензивний ефект, максимум якого розвивався через 6 год та складав 13,6 % (–24,0 мм рт.ст.), а його виразність і тривалість вірогідно перевищувала антигіпертензивну дію гідрохлортіазиду (8,7 %, або –15,0 мм рт.ст.). Отримані результати щодо антигіпертензивної дії гідрохлортіазиду підтверджені даними літератури (Ж.Д. Кобалова, 2007).

7-денне введення хінокарбу, як і референтних препаратів гідрохлортіазиду і еналаприлу, не впливало на ЧСС щурів з індометациновою АГ. Хінокарб при 7-денному введенні викликав у 67 % щурів зниження АТ більш ніж на 5 %. Індивідуальні зниження АТ у цих щурів, чутливих до терапії хінокарбом, коливалися від 20 до 60 мм рт.ст., або 12,1-28,6 %. Середній антигіпертензивний ефект хінокарбу в цих щурів складав 17,1 %, тобто був вище, ніж після одноразового введення. У групі щурів, яким уводили препарат порівняння гідрохлортіазид, на 7 добу в 50 % випадків зареєстровано зниження АТ від 10 до 45 мм рт.ст., або на 5,6-28,1 %. Середнє зниження АТ у цих щурів складало 14,1 %, що тенденційно поступалось ефекту хінокарбу в чутливих щурів (табл. 1).

Вплив хінокарбу, гідрохлортіазиду та еналаприлу на азотемію та обмін білка досліджували при їх 7-денному введенні, визначаючи в крові вміст креатиніну, сечовини та рівень ЗБ. У контрольних тварин з індометациновою АГ вміст сироваткового креатиніну, сечовини і ЗБ становив у середньому відповідно 80,9 мкмоль/л, 6,8 ммоль/л і 63 г/л при фізіологічній нормі цих показників у нормотензивних нелінійних щурів відповідно 62,48 -77,44 мкмоль/л, 2,9-10,7 ммоль/л і 69-76 г/л. Таким чином, вміст тільки одного з показників − сечовини − відповідав референтним значенням здорових нелінійних щурів. Напрям змін креатиніну та ЗБ в крові під впливом хінокарбу мав позитивний характер, оскільки спостерігалось відновлення цих показни-

ків до рівня фізіологічної норми. Що стосується змін рівня сечовини в крові, незважаючи на те, що її зниження на 46 % не було статистично достовірним, цю динаміку слід вважати як позитивну з огляду на активацію азотвидільної функції нирок.

Таблиця 1

Вплив 7-денного внутрішньошлункового введення хінокарбу, гідрохлортіазиду та еналаприлу на динаміку АТ і ЧСС у щурів із моделлю індометацинової АГ

Препарати	n	сАТ, мм рт.ст.			ЧСС, уд./хв	
		вих.	7 діб	ΔАТ	вих.	7 діб
Контроль АГ (без лікування)	6	183±7,7	183±9,2	0	513±15	525±16
АГ + хінокарб (10 мг/кг)	усього – 6	189±7,7	165±9,1	–24,0±9,5[2] (12,8%)	513±24	493±10
	чутл. – 4	191±10,3	155±8,4[1]	–36,0±9,0[2] (17,1%)	510±23	497±10
АГ + гідрохлортіазид (10 мг/кг)	усього – 6	184±7,7	168±3,1	–16,0±7,2 (8,7%)	503±11	511±11
	чутл. – 3	198±9,3	170±5,8	–28,0±10,1[2] (14,1%)	505±11	510±11
АГ + еналаприл (0,5 мг/кг)	6	193±9,5	155±4,5[1,2,3]	–38,0±9,6[2] (19,8%)	517±12	507±11

Примітки:
1. n – кількість тварин у групі;
2. [1] – $p < 0,05$ відносно вихідного рівня;
3. [2] – $p < 0,05$ відносно нелікованого контролю;
4. [3] – $p < 0,05$ відносно гідрохлортіазиду;
5. У дужках – ΔАТ відносно вихідного рівня у %.

У щурів, яким уводили гідрохлортіазид, препарат не викликав достовірних змін вмісту креатиніну, сечовини і ЗБ у крові в порівнянні з нелікованим контролем. Слід зазначити, що в щурів, чутливих до антигипертензивної дії гідрохлортіазиду, відмічена тенденція до підвищення рівня креатиніну в крові до 109 % відносно нелікованих контрольних тварин. Під впливом еналаприлу вміст креатиніну в крові щурів тенденційно зростав у 1,21 разу, сечовини – в 1,29 разу, а ЗБ – достовірно в 1,55 разу. У порівнянні з референтним препаратом еналаприлом досліджувана субстанція хінокарбу не чинила негативного впливу на фільтраційну здатність нирок, про що свідчили статистично значущі відмінності між відповідними досліджуваними групами щодо вмісту креатиніну в крові. Таким чином, субстанція хінокарбу при 7-денному внутрішньошлунковому уведенні в дозі 10 мг/кг щурам з індометациновою АГ чинить антигіпертензивну дію, яка за виразністю та тривалістю дещо поступається дії еналаприлу (0,5 мг/кг) та дорівнює ефекту гідрохлортіазиду (10 мг/кг). Антигіпертензивний ефект субстанції не супроводжується побічними реакціями з боку метаболічного профілю крові, що вигідно відрізняє її від референтних препаратів.

У наступній серії досліджено антигіпертензивну дію хінокарбу (10 мг/кг) та його вплив на електролітний і метаболічний профіль, а також на циркулюючі імунні комплекси крові (ЦІК) у спонтанно гіпертензивних щурів лінії SHR. Вихідні показники сАТ та дАТ у SHR були достовірно вищими значень нормотензивних тварин у 1,7 ($p<0,05$) і 1,85 ($p<0,05$) разу (табл. 2), що підтверджує виразну АГ. Отримані дані корелюють з даними інших дослідників, які показують, що в щурів зі спонтанною АГ рівень АТ дорівнює 190-200 мм рт. ст. (Л.И. Благонравов, 2017). Встановлено позитивну динаміку під впливом застосування хінокарбу протягом 7 діб. Вже на 1 добу експерименту на тлі введення хінокарбу відбувалося статистично значуще щодо показників SHR-контролю зниження сАТ, дАТ виявляв лише тенденцію до зниження. Проте, на 4 та 7 добу антигіпертензивна дія хінокарбу суттєво посилювалася: сАТ був нижче ніж у групі SHR-контролю в 1,4 разу (4 доба) та в 1,7 разу (7 доба), дАТ – у 1,4 разу ($p<0,05$) на 4 добу та в 1,5 разу ($p<0,05$) на 7 добу спостереження (табл. 2).

Таблиця 2

Вплив хінокарбу на АТ щурів зі спонтанною артеріальною гіпертензією (SHR) у порівнянні з ефектами гідрохлортіазиду та еналаприлу

Групи тварин	Термін спостереження, доба							
	Вихідні дані		1 доба		4 доба		7 доба	
	сАТ	дАТ	сАТ	дАТ	сАТ	дАТ	сАТ	дАТ
Нормотензивний контроль	111,5±2,7	72,2±1,4	113,7±3,8	74,8±2,3	116,5±2,0	76,7±2,3	112,0±3,1	76,5±4,6
SHR-контроль	195,1±4,5 *	134,1±3,5 *	197,3±4,4 *	136,6±3,4 *	207,3±6,1 *	147,1±3,6 *	197,4±5,8 *	140,1±3,4 *
SHR + хінокарб, 10 мг/кг	197,5±3,4 *	136,7±4,2 *	177,9±3,1 */**	124,3±3,8 *	148,3±3,3 */**	107,6±2,0 */**	118,7±7,0 */**	90,9±2,6 **
SHR + гідрохлортіазид, 25 мг/кг	194,9±4,8 *	137,8±3,8 *	183,9±4,6 */**	130,0±3,5 *	157,6±2,0 */**	111,6±4,6 */**	131,3±2,7 */**	93,2±6,0 */**
SHR + еналаприл, 0,5 мг/кг	195,8±2,6 *	136,4±4,2 *	181,3±2,4 */**	126,3±3,9 *	150,7±1,5 */**	107,5±3,1 */**	120,1±2,7 **	88,8±3,7 */**

Примітки:

1. n – кількість тварин у групі;
2. * – $p<0,05$ відносно нормотензивного контролю;
3. ** – $p<0,05$ відносно групи SHR-контролю.

Отже, введення хінокарбу протягом 7 діб сприяло статистично значущому зниженню АТ у SHR. Досліджувана субстанція виявляла антигіпертензивний ефект, який був зіставним з ефектом препаратів порівняння еналаприлу та гідрохлортіазиду.

У розвитку АГ у SHR важливу роль відіграють зміни водно-електролітного метаболізму, зокрема зменшення інтенсивності натрійурезу внаслідок порушення взаємодії ангіотензинових рецепторів 2 типу з ангіотензином III (R.M. Carey, 2017). Визначення електролітного складу показало, що у SHR на тлі підвищеного АТ розвивалася гіпонатріємія та гіпокаліємія. Концентрація іонів Na^+ в крові щурів з групи SHR-контролю була в 1,16 разу ($p<0,05$) нижче порівняно з показниками нормотензивних щурів. Вміст іонів K^+ знижувався невиразно (у 1,1 разу), але також статистично значуще щодо показників нормотензивних щурів (табл. 3). Отримані дані свідчать про посилення виділення іонів Na^+ з організму SHR.

Таблиця 3

Вплив хінокарбу на вміст електролітів у сироватці крові щурів зі спонтанною АГ у порівнянні з гідрохлортіазидом та еналаприлом

Групи тварин	Показники	
	Калій, ммоль/л	Натрій, ммоль/л
Нормотензивний контроль	5,18±0,06	132,2±0,87
SHR-контроль	4,68±0,05*	113,9±0,57*
SHR + хінокарб, 10 мг/кг	5,03±0,13**	156,4±0,74**
SHR + гідрохлортіазид, 25 мг/кг	4,94±0,16**	145,2±0,65**
SHR + еналаприл, 0,5 мг/кг	4,98±0,11	153,6±1,90**

Примітки:
1. n – кількість тварин у групі;
2. * – $p<0,05$ відносно нормотензивного контролю;
3. ** – $p<0,05$ відносно групи SHR-контролю.

Одними з провідних механізмів регулювання об’єму крові та позаклітинної рідини, а також підтримки рівноваги для іонів Na^+ та води є вплив АТ на виділення іонів Na^+ або води з організму – пресорний натрійурез. Цей зворотній зв'язок між нирками та кровообігом відіграє важливу роль у довготривалій регуляції АТ (Л.И. Благонравов, 2017). Вважають, що в підвищенні АТ у щурів лінії SHR однією з причин є порушення механізмів пресорного натрійурезу, тобто послаблення компенсаторної відповіді на підвищення АТ з боку нирок. На ранніх термінах АГ у SHR включаються механізми, скеровані на стримання її розвитку за рахунок різкого посилення натрійурезу. Однак у подальшому цей ефект починає виснажуватись, після чого відбувається зниження інтенсивності екскреції іонів Na^+ із сечею, що, очевидно, призводить до його затримки в організмі (M. Hultstron, 2012).

На тлі застосування хінокарбу концентрація електролітів у крові відновлювалася до значень нормотензивних щурів (табл. 3). Аналогічна динаміка вмісту іонів Na^+ та K^+ спостерігалася в групах тварин, яким уводили препарати порівняння – еналаприл і гідрохлортіазид. Причини такого впливу потребують подальшого з’ясування.

Важливим показником функціональної активності нирок і печінки є вміст сечовини у сироватці крові. Відповідно до отриманих даних, у групі SHR реєстрували статистично значуще підвищення вмісту сечовини у сироватці крові в 1,6 разу ($p<0,05$) у порівнянні з показниками нормотензивних щурів (табл. 4). Високий рівень сечовини свідчить про підвищення вмісту азоту в крові внаслідок порушення клубочкової фільтрації. Іншим маркером зниження клубочкової фільтрації нирок є підвищення креатиніну – кінцевого продукту білкового обміну. Він вільно фільтрується в нирках, не піддається реабсорбції і секреції в канальцях, та як і сечовина є маркером ШКФ. За результатами дослідження у SHR спостерігається підвищення вмісту креатиніну в 1,4 разу, $p<0,05$ (табл. 4).

Таблиця 4

Вплив хінокарбу на вміст біохімічних показників у сироватці крові щурів зі спонтанною АГ (SHR) у порівнянні з гідрохлортіазидом та еналаприлом

Групи тварин	Показники		
	Глюкоза, ммоль/л	Сечовина, ммоль/л	Креатинін, мкмоль/л
Нормотензивний контроль	5,15±0,07	4,35±0,43	80,70±2,93
SHR-контроль	5,71±0,18	6,96±0,21*	109,63±3,55*
SHR + хінокарб, 10 мг/кг	6,02±0,30	5,53±0,69**	99,71±3,31*
SHR + гідрохлортіазид, 25 мг/кг	6,39±0,19	7,62±0,31*/$^{X/E}$	114,59±3,35*/^{X}
SHR + еналаприл, 0,5 мг/кг	5,26±0,41	5,29±0,68	106,41±3,14*

Примітки:
1. n – кількість тварин у групі;
2. * – $p<0,05$ відносно нормотензивного контролю;
3. ** – $p<0,05$ відносно групи SHR-контролю;
4. ^{X} – $p<0,05$ відносно групи хінокарбу;
5. ^{E} – $p<0,05$ відносно групи еналаприлу.

Уведення хінокарбу протягом 7 діб приводило до статистично значущого зниження вмісту як сечовини, так і креатиніну до рівня показників нормотензивних щурів. На відміну від препаратів порівняння хінокарб виявив більшу ефективність щодо досліджуваних показників. Так, еналаприл виявив лише слабку тенденцію до зниження вмісту сечовини та креатиніну. На тлі гідрохлортіазиду вміст сечовини та креатиніну залишався на рівні показників SHR.

Останнім часом доведено, що у підвищенні АТ важливу роль відіграють циркулюючі імунні комплекси (ЦІК). Накопичення ЦІК в циркуляційному руслі призводить до їх осадження в тканинах, а це, в свою чергу, викликає порушення мікроциркуляції, нормального функціонування тканин і органів та їх пошкодження. Здатність ЦІК фіксуватися на ендотелії судин призводить до активації імунокомпетентних клітин (макрофагів, нейтрофілів, Т-лімфоцитів) та викликає порушення балансу між такими констрікторними молекулами, як ендотелін, та релаксуючими факторами, такими як NO і простациклін, у бік перших. Це призводить до підвищення судинної проникності та розвитку АГ. Відповідно до отриманих даних, у сироватці

крові SHR спостерігали статистично значуще підвищення вмісту ЦІК у 2,3 разу ($p<0,05$), що свідчить про активацію процесів неспецифічного імунного запалення. Введення хінокарбу протягом 7 діб сприяло зниженню вмісту ЦІК у крові SHR. Ефективність досліджуваної речовини була на рівні препаратів порівняння – еналаприлу та гідрохлортіазиду.

Таблиця 5

Вплив хінокарбу на вміст циркулюючих імунних комплексів у сироватці крові щурів зі спонтанною АГ (SHR) у порівнянні з гідрохлортіазидом та еналаприлом

Групи тварин	Показник
	ЦІК (3,5 %), ум. од.
Нормотензивний контроль	0,015±0,002
SHR-контроль	0,035±0,004*
SHR + хінокарб, 10 мг/кг	0,018±0,002**
SHR + гідрохлортіазид, 25 мг/кг	0,020±0,003**
SHR + еналаприл, 0,5 мг/кг	0,019±0,002**

Примітки:
1. n – кількість тварин у групі;
2. * – $p<0,05$ відносно нормотензивного контролю;
3. ** – $p<0,05$ відносно групи SHR-контролю.

Отже, за умови спонтанної АГ відбувається істотне порушення електролітного складу крові та клубочкової фільтрації, що віддзеркалюється накопиченням сечовини і креатиніну в сироватці крові SHR. На тлі уведення хінокарбу протягом 7 діб у SHR знижувався АТ, відновлювався електролітний склад крові, поліпшувалася клубочкова фільтрація, зменшувалася виразність неспецифічного запалення. За виразністю антигіпертензивної дії хінокарб не поступався препаратам порівняння еналаприлу та гідрохлортіазиду, а за здатністю відновлювати клубочкову фільтрацію перевершував їх.

У дослідах *in vitro* на моделі ізольованого фрагменту грудної аорти та ниркової артерії щурів в умовах попередньої констрикції фенілефрином досліджено вплив хінокарбу як міотропного спазмолітичного засобу. Хінокарб знімав спазм судин грудної аорти та ниркової артерії щурів, ініційований фенілефрином, на рівні препарату порівняння дротаверину (EC_{50} $7,29\times10^{-8} \pm 1,23\times10^{-8}$ моль/л; EC_{50} $7,11\times10^{-8} \pm 1,18\times10^{-8}$ моль/л). Отже, механізми антигіпертензивного ефекту хінокарбу базуються на зменшенні рідини в організмі SHR, а також на прямій спазмолітичній дії на стінку судин.

Таким чином, підсумкові результати дослідження свідчать, що новосинтезована субстанція хінокарб є ефективною та нетоксичною сполукою, виявляє діуретичний, протинабряковий, антигіпертензивний та спазмолітичний ефекти. Одержані результати дозволяють рекомендувати хінокарб для подальшого фармакологічного дослідження з метою створення нового вітчизняного антигіпертензивного засобу з діуретичною дією для оптимізації лікування АГ і набрякових станів різного генезу.

ВИСНОВКИ

У дисертаційній роботі проведено експериментально-теоретичне узагальнення і запропоноване нове вирішення актуальної наукової задачі, яка полягає в дослідженні новосинтезованого ряду сполук - похідних анілідів хінолін-2-карбонової кислоти з антигіпертензивними властивостями. Показана можливість використання сполуки-лідера з умовною назвою хінокарб у дозі 10 мг/кг в терапії АГ і набряків різного ґенезу.

1. Гостра токсичність (LD_{50}) анілідів хінолін-2-карбонової кислоти для білих мишей при внутрішньочеревинному введенні коливається в діапазоні 1000-4042 мг/кг, що дозволяє віднести їх до практично нетоксичних і відносно нешкідливих речовин. Встановлена залежність "хімічна структура–біологічна активність" в ряду анілідів хінолін-2-карбонової кислоти, яка залежить від природи радикала R (де R=3-F або 3-Br, або 4-OMe, або 2,5-Me_2, або 3-COOH, або 4-COOH, або 4-COOMe, або 4-COOEt). За результатами скринінгу виділена найактивніша субстанція 2-карбоксианілід 1-гідрокси-5-метил-3-оксо-5,6-дигідро-3H-піроло[3,2,1-ij]хінолін-2-карбонової кислоти (умовна назва хінокарб), яка в дозі 10 мг/кг виявила виразну діуретичну активність за умов індукованого (водного) діурезу в щурів (діурез підвищувався в 1,8 разу, $p<0,05$ щодо контролю) та за виразністю дії перевищувала гідрохлортіазид в еквівалентній дозі в 1,4 разу ($p<0,05$). ED_{50} хінокарбу при внутрішньошлунковому введенні щурам дорівнює 10 мг/кг, LD_{50} при внутрішньочеревинному уведенні мишам і щурам становить 4042±735 і 3708±434 мг/кг відповідно, при внутрішньошлунковому − перевищує 5000 мг/кг (VI клас токсичності).

2. У хронічному експерименті хінокарб при пероральному щоденному введенні в дозі 10 ED_{50} (100 мг/кг) білим щурам протягом 1 місяця не чинить негативного впливу на масу тіла тварин, не змінює функціональний стан серцево-судинної системи, системи крові та печінки.

3. Зміни функціонального стану нирок під впливом хінокарбу залежать від дози, тривалості застосування та ступеня гідратації організму. За спонтанного діурезу хінокарб (10 мг/кг) достовірно ($p<0,05$) збільшує добовий діурез на 93 %, екскрецію іонів іонів Na^+ – на 58 %, екскрецію креатиніну – на 28 %. На тлі гіпергідратації при застосуванні хінокарбу в діапазоні доз від 3 мг/кг до 20 мг/кг добовий діурез, ниркова екскреція іонів Na^+ і креатиніну в щурів зростає, а в дозі 20 мг/кг – не змінюється. Найвиразніші зміни ($p<0,05$) при одноразовому введенні хінокарбу реєстрували в дозі 10 мг/кг: діурез зростав у 2,31 разу, екскреція іонів Na^+ – у 2,11 разу, екскреція креатиніну – на 57 %. При курсовому (7 діб) застосуванні субстанції хінокарбу вірогідно ($p<0,05$) підвищуються спонтанний діурез – у 2,11 разу, натрійурез – у 2,2 разу, калійурез – на 40 %, екскреція креатиніну – на 41 % з максимальними значеннями на 5-7 добу введення. При відміні препарату показники екскреторної функції нирок нормалізуються, проте в перші 3 дні залишається дещо підвищений натрійурез. В усіх режимах функціонування нирки хінокарб підвищує Na^+/K^+ коефіцієнт сечі, що свідчить про суттєвішу натрійуретичну дію. Механізм діуретичної дії хінокарбу зумовлений стимулювальною дією на дофамінові рецептори нирки та підвищенням клубочкової фільтрації. Хінокарб виявляє натрійуретичний і діуретичний ефекти найбільш виразно в умовах об'ємної стимуляції, що, ймовірно, є результатом акти-

вації натрійуретичного гормону.

4. На різних моделях набрякових станів (адреналіновий і хлорамонійний набряки легень, осмотичний набряк головного мозку) хінокарб у дозі 10 мг/кг виявляє виразні протинабрякові властивості, суттєво зменшує або запобігає набряк легень і головного мозку та збільшує виживаність тварин. За результатами гістологічних досліджень на моделі гемодинамічного набряку легень у щурів хінокарб у дозі 10 мг/кг виявляє виразну протинабрякову дію на рівні препарату порівняння гідрохлортіазиду в дозі 50 мг/кг.

5. На моделі індометацинової гіпертензії в щурів хінокарб при одноразовому внутрішньошлунковому введенні в дозі 10 мг/кг виявив суттєвий антигіпертензивний ефект, максимум якого розвивався через 6 год та складав 13,6 %, $p<0,05$ (–24,0 мм рт.ст.), а виразність і тривалість перевищувала антигіпертензивну дію гідрохлортіазиду (8,7 %, або –15,0 мм рт.ст.). Середній антигіпертензивний ефект субстанції хінокарбу при 7-денному введенні складав 17,1 % ($p<0,05$) та був вищим, ніж після одноразового введення. При 7-денному внутрішньошлунковому введенні в дозі 10 мг/кг хінокарб зберігає антигіпертензивну дію, яка за виразністю та тривалістю дещо поступається активності еналаприлу (0,5 мг/кг) та дорівнює гідрохлортіазиду (10 мг/кг). Антигіпертензивний ефект хінокарбу не супроводжується побічними реакціями біохімічних показників крові, що вигідно відрізняє його від референтних препаратів.

6. У спонтанно гіпертензивних щурів (SHR) відбувається істотне порушення електролітного складу крові та клубочкової фільтрації, що віддзеркалюється накопиченням сечовини і креатиніну в сироватці крові. На тлі уведення хінокарбу в дозі 10 мг/кг протягом 7 діб у SHR достовірно ($p<0,05$) знижувався АТ, відновлювався електролітний склад крові, поліпшувалася клубочкова фільтрація, зменшувався вміст циркулюючих імунних комплексів, що вказує на пригнічення неспецифічного запалення. За виразністю антигіпертензивної дії хінокарб не поступався препаратам порівняння еналаприлу і гідрохлортіазиду, а за здатністю відновлювати клубочкову фільтрацію перевершував їх ($p<0,05$).

7. У дослідах *in vitro* субстанція хінокарбу знімала спазм судин грудної аорти та ниркової артерії щурів, індукований фенілефрином, на рівні препарату порівняння дротаверину (EC_{50} $7,29\times10^{-8} \pm 1,23\times10^{-8}$ моль/л; EC_{50} $7,11\times10^{-8} \pm 1,18\times10^{-8}$ моль/л).

8. Досліджений ряд хімічних сполук – аніліди хінолін-2-карбонової кислоти – є перспективним для створення нових ефективних лікарських препаратів з діуретичною, антигіпертензивною і протинабряковою дією. Отримані результати обґрунтовують доцільність поглибленого доклінічного вивчення 2-карбоксианілід1-гідрокси-5-метил-3-оксо-5,6-дигідро-3Н-піроло[3,2,1-ij]хінолін-2-карбонової кислоти і перспективність проведення його клінічних випробувань.

СПИСОК ОПУБЛІКОВАНИХ ПРАЦЬ ЗА ТЕМОЮ ДИСЕРТАЦІЇ

1. Украинец И. В. Поиск новых диуретиков в ряду галогензамещенных анилидов 6-гидрокси-2-метил-4-оксо-1,2-дигидро-4*H*-пирроло[3.2.1-ij]хинолин-5-карбоновой кислоты / Украинец И. В., Голик Н. Ю., Шемчук А. Л., Набока О. И., Воронина Ю. В., Туров А. В. // *Химия гетероциклических соединений.* – 2011 р. – № 7. – С. 1009-1017. (*Особистий внесок: участь в розробці дизайну та проведенні експерименту, узагальнення результатів, написання та підготовка фрагменту статті до друку).*

2. Набока О. І. Вплив хінокарбу на розвиток адреналінового набряку легенів у мишей / О. І. Набока, Ю. В. Вороніна, С. З. Хуарі, А. В. Мигаль // *Клінічна фармація.* – 2011. – Т.15, №4. – С. 38-40. (Особистий внесок: участь у проведенні експерименту, інтерпретація даних, узагальнення результатів, написання та підготовка статті до друку).

3. Ukrainets I. V. 4-Hidroxy-2-quinolones.197*. The search for novel diuretics amongst halo-substituted 6-hydroxy-2-methyl-4-oxo-1,2-dihydro-4*H*-pyrrolo-[3.2.1-ij] qualinoline-5-carboxylic acid anilides / I. V. Ukrainets, N. Yu. Golik, A. L. Shemchuk, O. I. Naboka, Yu. V. Voronina, A. V. Turov // *Chemistry of Heterocyclic Compounds.* – 2011, № 7 (October). – P. 826-832. (*Особистий внесок: участь в розробці дизайну та проведенні експерименту, узагальнення результатів, написання фрагменту статті*).

4. Вороніна Ю. В. Експериментальне визначення ефективної дози, гострої токсичності та загальнотоксичної дії хінокарбу / Ю. В. Вороніна, О.І. Набока, Л. В. Галузінська // Український біофармацевтичний журнал. – 2012. – №5-6 (22-23). – С. 32-37. (*Особистий внесок: участь в розробці дизайну та проведенні експерименту, узагальнення результатів, написання та підготовка статті до друку).*

5. Набока О. І. Морфологічне дослідження хінокарбу на розвиток гемодинамічного набряку легень щурів / О. І. Набока, Ю. В. Вороніна // *Український біофармацевтичний журнал.* – 2013. – № 1. – С. 52-56. (*Особистий внесок: участь в розробці дизайну та проведенні експерименту, узагальнення результатів, написання та підготовка статті до друку).*

6. Набока О. І. Вивчення гіпотензивної дії хінокарбу на експериментальній моделі артеріальної гіпертензії у щурів / О. І. Набока, Ю. В. Вороніна // *Український біофармацевтичний журнал.* – 2013. – № 6 (29). – С. 37-41. (*Особистий внесок: участь в розробці дизайну та проведенні експерименту, узагальнення результатів, написання та підготовка статті до друку).*

7. Вороніна Ю. В. Механизмы биохимических нарушений водно-электролитного обмена у экспериментально гипертензивных крыс и перспективы их фармакологической коррекции хинокарбом / Ю. В. Воронина, О. И. Набока // *Инновации в медицине и фармации* – 2016: Материалы дистанционной научно-практической конференции студентов и молодых учених /под. редакцией А. В. Сикорского, О. К. Дорониной, – Минск: БГМУ, 2016 – С. 762-766. (*Особистий внесок: участь в розробці дизайну та проведенні дослідження, узагальнення результатів, написання та підготовка статті до друку здійснено особисто дисертантом).*

8. Пат. 97750 Україна, МПК C07D 215/22, A61K 31/47, A61P 7/10. Аніліди 1-гідрокси-5-метил-3-оксо-5,6-дигідро-3Н-піроло [3,2,1-ij] хінолін-2-карбонової кислоти, які виявляють діуретичну активність / Українець І. В., Шемчук О. Л., Голік М.Ю., Набока О. І. Вороніна Ю. В.; заявник і власник НФаУ. – № а 2010 15452; заявл. 25.05.2011, Бюл. №10; опубл. 12.03.2012, Бюл. № 5.

9. Набока О. І. Вивчення діуретичної активності хінокарбу /О. І. Набока, Ю. В. Вороніна // *Фармація України. Погляд у майбутнє*: мат. VII Нац. з'їзду фармацевтів України, м. Харків, 15-17 вер. 2010 р. – С. 95.

10. Набока О. І. Пошук діуретичних засобів серед похідних хінолін-2-карбонової кислоти / О. І. Набока, Ю. В. Вороніна, Н. О. Хохлова // *Фармація України. Погляд у майбутнє*: мат. VII Нац. з'їзду фармацевтів України, м. Харків, 15-17 вер. 2010 р. – С. 96.

11. Хохлова Н. О. Вплив хінокарбуна спонтанний і водний добовий діурез у щурів / Н. О. Хохлова, Ю. В. Вороніна, О. І. Набока // *Актуальні питання створення нових лікарських засобів.* Матеріали всеукраїнської науково-практичної конференції студентів та молодих вчених, присвяченої 140-річчю з дня народження док. фарм. та хім. наук, проф. М. О. Валяшко, м. Харків, 21 квітня 2011 р. – С. 329.

12. Naboka O. I. Estimation of changes of osmo- and volumoregulatory functions of kidneys under influence of quinocarb on a model of rats' sublimate nephropathy. Матеріали національного конгресу / O. I. Naboka, Yu. V. Voronina // *Клінічна фармація: 20 років в Україні,* м. Харків, 21-22 березня 2013. – С. 17-18.

13. Вороніна Ю. В. Вплив хінокарбу на розвиток хлорамонійного набряку легень у щурів. Матеріали національного конгресу / Ю. В. Вороніна, О. І. Набока // *Клінічна фармація: 20 років в Україні*, м. Харків, 21-22 березня 2013. – С. 47-48.

14. Вороніна Ю. В., Набока О. І., Мигаль А. В. Вивчення дегідратаційної дії хінокарбу // *Актуальні питання створення нових лікарських засобів.* Матеріали всеукраїнської науково-практичної конференції студентів та молодих вчених, м. Харків, 19-20 квітня 2012 р. – С. 317.

15. Voronina Yu. V. Influense of quinocarb on development of chlorammonium pulmonary edema in rats / Yu. V. Voronina, O. I. Naboka // *Актуальні питання створення нових лікарських засобів.* Матеріали всеукраїнської науково-практичної конференції студентів та молодих вчених, м. Харків, 19-20 квітня 2012 р. – С. 314.

16. Voronina Yu. V. Effect of quinocarb substance on blood pressure and heart rate in rats after a single dosing / Yu. V. Voronina, O. I. Naboka // *Topical issues of new drugs development* (April 23, Kharkiv, 2015, Ukraine). – Kharkiv, NUPh, 2015. – P. 343-344.

17. Voronina Yu. V. Effect of quinocarb substance on blood pressure and heart rate in rats after 7-day dosing / Yu. V. Voronina, O. I. Naboka // *Topical issues of new drugs development* (April 23, Kharkiv, 2015, Ukraine). – Kharkiv, NUPh, 2015. – P. 345-346.

18. Voronina Yu. V. Correction with quinoline-2-carboxylic acid derivatives of water-electrolyte imbalance metabolism in experimentally hypertensive rats / Yu. V. Voronina, O. I. Naboka // *Topical issues of new drugs development,* Vol. 2 (April 21, Kharkiv, 2016, Ukraine). – Kharkiv, NUPh, 2016. – P. 26.

19. Вороніна-Тузовських Ю.В. Вплив хінокарбу на екскреторну функцію нирок у щурів за умов спонтанного та індукованого водного діурезу /Ю. В. Вороніна-Тузовських, О. І. Набока //*Актуальні питання експериментальної та клінічної біохімії.* Матеріали науково-практичної конференції з міжнародною участю, м. Харків, 2 жовтня 2020 р. – С. 7.

20. Вороніна-Тузовських Ю. В. Вплив хінокарбу на натрійуретичну активність плазми крові у щурів / Ю. В. Вороніна-Тузовських, О. І. Набока //*Актуальні питання експериментальної та клінічної біохімії.* Матеріали науково-практичної конференції з міжнародною участю, м. Харків, 2 жовтня 2020 р. – С. 8.

21. Набока О. І. Похідні хінолін-2-карбонової кислоти як потенційні антигіпертензивні засоби з діуретичною дією / О. І. Набока, Ю. В. Вороніна, С. М. Бородай // Інформ. лист № 295. – 2013. – Укрмедпатентінформ МОЗ України. – Випуск про нововведення в системі охорони здоров'я. – К, 2013. – 4 с. *(Особистий внесок: участь в розробці дизайну та проведенні експерименту, узагальнення результатів, написання та підготовка інформаційного листа до видання).*

АНОТАЦІЯ

Вороніна-Тузовських Ю. В. Похідні хінолін-2-карбонової кислоти як потенційні антигіпертензивні засоби з діуретичною дією (експериментальне дослідження). – На правах рукопису.

Дисертація на здобуття наукового ступеня кандидата фармацевтичних наук зі спеціальності 14.03.05 – фармакологія. – Національний фармацевтичний університет МОЗ України, Харків, 2021.

Дисертація присвячена дослідженню похідних анілідів хінолін-2-карбонової кислоти як потенційних антигіпертензивних засобів з діуретичною дією. Виділена найактивніша сполука 2-карбоксианілід 1-гідрокси-5-метил-3-оксо-5,6-дигідро-3Н-піроло[3,2,1-ij]хінолін-2-карбонової кислоти (умовна назва "хінокарб"), яка в дозі 10 мг/кг виявила виразну діуретичну активність ($p<0,05$), перевершуючи гідрохлортіазид в еквівалентній дозі в 1,4 разу ($p<0,05$). З'ясовано, що механізми діуретичної дії хінокарбу зумовлені стимулювальною дією на дофамінові рецептори нирки з підвищенням клубочкової фільтрації. Хінокарб виявляє найбільш виразний натрійуретичний і діуретичний ефекти в умовах об'ємної стимуляції, що, ймовірно, є результатом стимуляції натрійуретичного гормону. Хінокарб виявляє протинабрякову дію на моделях набряків мозку та легень. Антигіпертензивна дія хінокарбу підтверджена *in vivo* на моделі індометацинової артеріальної гіпертензії, у SHR та *in vitro* на ізольованих кільцях аорти і ниркової артерії щурів. На тлі уведення хінокарбу в дозі 10 мг/кг протягом 7 діб у SHR знижувався артеріальний тиск, відновлювався електролітний склад, поліпшувалася клубочкова фільтрація, зменшувалася виразність неспецифічного запалення (за зниженням рівня циркулюючих імунних комплексів). За виразністю антигіпертензивної дії хінокарб не поступався препаратам порівняння еналаприлу (0,5 мг/кг) і гідрохлортіазиду (10 мг/кг; 25 мг/кг), а за здатністю відновлювати клубочкову фільтрацію перевершував їх ($p<0,05$).

Ключові слова: аніліди хінолін-2-карбонової кислоти, діуретики, хінокарб, артеріальна гіпертензія, водно-електролітний обмін, SHR.

АННОТАЦИЯ

Воронина-Тузовских Ю.В. Производные хинолин-2-карбоновой кислоты как потенциальные антигипертензивные средства с диуретическим действием (экспериментальное исследование). – На правах рукописи.

Диссертация на соискание ученой степени кандидата фармацевтических наук по специальности 14.03.05 – фармакология. – Национальный фармацевтический университет МЗ Украины, Харьков, 2021.

Диссертация посвящена исследованию нового ряда соединений – анилидов хинолин-2-карбоновой кислоты как потенциальных антигипертензивных средств с диуретическим действием. Выделена наиболее активная субстанция 2-карбоксианилид 1-гидрокси-5-метил-3-оксо-5,6-дигидро-3Н-пирроло[3,2,1-ij]хинолин-2-карбоновой кислоты (условное название "хинокарб"), которая в дозе 10 мг/кг проявила выраженную диуретическую активность и по выраженности действия превышала гидрохлортиазид в эквивалентной дозе в 1,4 раза ($p<0,05$). Установлено, что механизм

диуретического действия хинокарба обусловлен стимуляцией дофаминовых рецепторов почки с повышением клубочковой фильтрации. Хинокарб проявляет найболее вираженный натрийуретический и диуретический эффекты в условиях объёмной стимуляции, что, вероятно, является результатом стимуляции натрийуретического гормона. Хинокарб проявляет противоотёчное действие на моделях отека мозга и легких. Антигипертензивное действие хинокарба подтверждено *in vivo* на модели индометациновой артериальной гипертензии, у SHR и *in vitro* на изолированных кольцах аорты и почечной артерии крыс. При введении хинокарба в дозе 10 мг/кг на протяжении 7 суток у SHR снижалось артериальное давление, восстанавливался электролитный состав крови, улучшалась клубочковая фильтрация, уменьшалась выраженность неспецифического воспаления (по снижению уровня циркулирующих иммунных комплексов). По выраженности антигипертензивного эффекта хинокарб не уступал референтным препаратам эналаприлу (0,5 мг/кг) и гидрохлортиазиду (10 мг/кг; 25 мг/кг), а по способности восстанавливать фильтрационную функцию почек превосходил их ($p<0,05$).

Ключевые слова: анилиды хинолин-2-карбоновой кислоты, диуретики, хинокарб, артериальная гипертензия, водно-электролитный обмен, SHR.

SUMMARY

Voronina-Tuzovskykh Yu. V. Quinoline-2-carboxylic acid derivatives as potential antihypertensive drugs with diuretic effect (experimental study). – Manuscript copyright.

The thesis work for scientific degree of the pharmaceutical sciences candidate in pharmacology 14.03.05. – The National University of Pharmacy under the Ministry of Health of Ukraine, Kharkiv, 2021.

The thesis work is devoted to the research of quinoline-2-carboxylic acid anilide derivatives as potential antihypertensive drugs with diuretic effect. The most active compound 2-carboxyanilide 1-hydroxy-5-methyl-3-oxo-5,6-dihydro-3H-pyrrolo [3,2,1-ij] quinoline-2-carboxylic acid was isolated as a representative of quinoline-2-carboxylic acid anilides acid (conditional name “quinocarb”), which at a dose of 10 mg/kg showed a pronounced diuretic activity ($p<0.05$) and the severity of the effect exceeded the hydrochlorothiazide in the equivalent dose by 1.4 ($p<0.05$). Upon intragastric administration to rats, the ED_{50} of the leader substance is 10 mg/kg, the LD_{50} upon intraperitoneal administration to mice and rats is 4042±735 and 3708±434 mg/kg, respectively, when administered intragastrically, it exceeds 5000 mg/kg (toxicity class VI). In a subchronic experiment, quinocarb with oral daily administration at a dose of 10 ED_{50} (100 mg/kg) to white rats during 1 month does not have a negative effect on the body weight of animals, does not change the functional state of the cardiovascular system, blood system, antitoxic and metabolic functions of the liver and kidneys. It has been proven that changes in the functional activity of kidneys under the influence of the leading substance depend on the dose, duration of use and the hydration degree of the body. With long-term (7-day) administration of quinocarb in a dose of 10 mg/kg, a pronounced diuretic effect persists for 7 days. It was found that the mechanisms of the diuretic effect of quinocarb are stipulated by a stimulating effect on the kidney dopamine receptors ($p<0.05$), an increase in

glomerular filtration ($p<0.05$), relaxation of the vascular wall, leading to an increase in the diuretic effect. Quinocarb exposes natriuretic and diuretic effects most pronounced under the terms and conditions of volumetric stimulation, which is probably the result of natriuretic hormone activation. On different models of edematous conditions (adrenaline and chloramonic pulmonary edema, osmotic cerebral edema), quinocarb at a dose of 10 mg/kg exposes pronounced decongestant properties, significantly reduces or prevents the development of pulmonary and cerebral edema, and increases the survival rate of experi-mental animals. According to the results of morphological studies on the model of hemo-dynamic pulmonary edema in rats, quinocarb at a dose of 10 mg/kg exposes a distinct anti-edematous effect at the level of the reference drug of hydrochlorothiazide at a dose of 50 mg/kg. The antihypertensive effect of quinocarb was confirmed in vivo in the model of indomethacin arterial hypertension in rats, in SHR and in vitro on isolated rings of the aorta and renal artery of rats. Upon the terms and conditions of spontaneous hypertension, there is a significant violation of the electrolyte composition of the blood and the filtration function of the kidneys, reflected by the accumulation of urea and creatinine in the SHR blood serum. Against the background of the quinocarb administration at a dose of 10 mg/kg during 7 days in the SHR, blood pressure decreased, the electrolyte composition was restored, the filtration function of the kidneys improved, severity of nonspecific inflammation decreased. By expressiveness of the antihypertensive effect, quinocarb was not undergone to the reference drugs of enalapril (0.5 mg/kg) and hydrochlorothiazide (25 mg/kg), and by the ability to restore the filtration function of the kidneys, it exceeded their effect ($p<0.05$). In experiments *in vitro*, the substance of quinocarb relieved the spasm of the thoracic aorta vessels and the renal artery of rats, initiated by phenylephrine at the level of the reference drug of drotaverine. Therefore, the studied newly synthesized series of chemical compounds – quinoline-2-carboxylic acid anilides is prospective for the targeted synthesis of new effective drugs with diuretic, antihypertensive and decongestant effects. The results substantiate the expediency of further study of 1-hydroxy-5-methyl-3-oxo-5,6-dihydro-3H-pyrrolo [3,2,1-ij] quinoline-2-carboxylic acid 2-carboxyanilide and the prospects for its clinical trials as an antihypertensive agent with diuretic effect for the treatment of arterial hypertension and edema of various origins.

Key words: quinoline-2-carboxylic acid anilides, diuretics, quinocarb, arterial hypertension, water-electrolyte metabolism, SHR.

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ

АГ – артеріальна гіпертензія
АЛТ – аланінамінотрансфераза
АСТ – аспартатамінотрансфераза
АТ – артеріальний тиск крові, мм рт.ст.
БАР – біологічно активні речовини
дАТ – діастолічний артеріальний тиск
ЗБ – загальний білок
НУГ – натрійуретичний гормон
САТ – середній рівень артеріального тиску
сАТ – систолічний артеріальний тиск
ЦІК – циркулюючі імунні комплекси
ЦНДЛ – центральна науково-дослідна лабораторія
ЧСС – частота серцевих скорочень
ШКФ – швидкість клубочкової фільтрації
ED_{50} – середня ефективна доза
LD_{50} – середня летальна доза
SHR – спонтанно гіпертензивні щури