

Національний фармацевтичний університет  
Міністерство охорони здоров'я України

Національний фармацевтичний університет  
Міністерство охорони здоров'я України

Кваліфікаційна наукова  
праця на правах рукопису

**Маркіна Анна Юрїївна**

УДК:615.251.1:615.22:615.276:615.281.9:547.757

## **ДИСЕРТАЦІЯ**

**Фармакологічне дослідження  
естерів N-[(2-оксоіндолініліден-3)-2-оксіацетил]-амінокислот  
як потенційних діуретичних засобів**

14.03.05 – фармакологія

22 – охорона здоров'я

Подається на здобуття наукового ступеня кандидата фармацевтичних наук

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

\_\_\_\_\_ А. Ю. Маркіна

Науковий керівник Міщенко Оксана Яківна

доктор фармацевтичних наук, професор

Харків –2019

## АНОТАЦІЯ

*Маркіна А. Ю.* Фармакологічне дослідження естерів N-[(2-оксоіндолініліден-3)-2-оксіацетил]-амінокислот як потенційних діуретичних засобів. – Кваліфікаційна наукова праця на правах рукопису.

Дисертація на здобуття наукового ступеня кандидата фармацевтичних наук (доктора філософії) за спеціальністю 14.03.05 «Фармакологія» (22 – охорона здоров'я). – Національний фармацевтичний університет, МОЗ України, Харків, 2019.

У дисертації Маркіної А. Ю. наведено результати вивчення діуретичної активності 12 естерів N-[(2-оксоіндолініліден-3)-2-оксіацетил]-амінокислот та дослідження пропілового естеру N-[(2-оксоіндолініліден-3)-2-оксіацетил]-валіну, який було відібрано як сполуку-лідера за діуретичною активністю серед вказаних похідних за результатами фармакологічного скринінгу, її ефективності на експериментальних моделях гострого пошкодження нирок гліцеролом та гемодинамічного набряку легенів, окремі особливості та механізми її діуретичної дії та супутні фармакологічні властивості. Отримані в роботі дані обґрунтовують перспективність застосування субстанції-лідера як нового діуретичного засобу. Робота розширює та поглиблює знання про фармакологічні властивості похідних 2-оксоіндоліну, а саме естерів N-[(2-оксоіндолініліден-3)-2-оксіацетил]-амінокислот.

Отримані на кафедрі аналітичної хімії НФаУ під керівництвом проф. Колісника С. В. естери N-[(2-оксоіндолініліден-3)-2-оксіацетил]-амінокислот за фізико-хімічними характеристиками – це жовті кристалічні порошки, нерозчинні у воді та добре розчинні у спирті, діоксані, диметилформаміді, температура плавлення яких складає від 115 до 185°C. У ході експериментальних фармакологічних досліджень сполуки використовували у вигляді тонкодисперсної водної суспензії, стабілізованої твіном-80.

За результатами комп'ютерного прогнозу фармакологічної активності 12

нових похідних N-[(2-оксоіндолініліден-3)-2-оксіацетил]-амінокислоти серед імовірних видів активності була спрогнозована діуретична у 8 з 12 субстанцій.

На етапі скринінгу встановлено, що діуретична активність на рівні 15; 44; 68 та 98 % притаманна чотирьом сполукам.

Аналіз залежності «структура-діуретична дія» у ряді ацильованих похідних – естерів N-[(2-оксоіндолініліден-3)-2-оксіацетил]-амінокислоти, показав, що діуретична активність притаманна сполукам, що містять залишки валіну та аспарагінової кислоти, а не лейцину та глютамінової кислоти. Серед сполук з діуретичним ефектом підвищення останнього залежить від естерного залишку, найбільш прийнятними є метиловий та пропіловий. Найвиразнішу діуретичну активність на рівні 98 % виявила сполука під шифром 6.3 – пропіловий естер N-[(2-оксоіндолініліден-3)-2-оксіацетил]-валіну, якій було надано умовну назву «індолінорен». За величиною ефекту ця сполука перевершувала препарат порівняння – тiazидний діуретик гідрохлоротіазид (70 %) у 1,2 разу ( $p < 0,05$ ) та поступалася ( $p < 0,05$ ) петльовому діуретику фуросеміду, активність якого склала 246 %.

За умов водного навантаження (діурез, визначений за 4 години) була встановлена умовно-ефективна доза індолінорену 29,5 мг/кг, яка є ізоефективною дозі препарату порівняння фуросеміду 5 мг/кг.

З метою визначення добової динаміки діуретичної активності було досліджено вплив індолінорена на видільну функцію нирок в умовно-ефективній дозі 29,5 мг/кг протягом доби за умов водного навантаження. Діуретична активність сполуки виявлялась протягом доби з максимумом між другою та четвертою годиною, за вираженістю якої індолінорен протягом перших двох годин поступається фуросеміду (діурез  $2,95 \pm 0,11$  мл проти  $5,80 \pm 0,14$ ,  $p < 0,05$ ) та перевершує індапамід (діурез  $2,95 \pm 0,11$  мл проти  $1,50 \pm 0,11$ ,  $p < 0,05$ ) і, відповідно, перевершує обидва препарати порівняння з другої по четверту годину (діурез  $5,45 \pm 0,14$  мл проти  $2,45 \pm 0,06$  та  $1,80 \pm 0,07$ ,  $p < 0,05$ ) та поступається індапаміду на двадцяту годину (діурез  $2,05 \pm 0,13$  мл проти  $3,45 \pm 0,16$ ,  $p < 0,05$ ), що характеризує індолінорен як діуретик помірної сили та середньої тривалості дії.

У результаті дослідження гострої токсичності встановлено, що середньосмертельна доза індолінорену при внутрішньоочеревинному введенні мишам та щурам складає  $4000 \pm 380,7$  та  $3167 \pm 409,0$  мг/кг відповідно; при внутрішньошлунковому введенні – більше 8000 мг/кг та 11000 мг/кг відповідно (VI клас токсичності за класифікацією К. К. Сидорова).

Подальше фармакологічне дослідження індолінорену передбачало вивчення особливостей його діуретичної дії при одноразовому та багаторазовому введенні за умов спонтанного діурезу, водного і сольового навантаження та з'ясування окремих можливих його механізмів.

За умов спонтанного діурезу при одноразовому введенні індолінорену встановлено підвищення діурезу, екскреції іонів натрію, калію та  $\text{Na}^+/\text{K}^+$  коефіцієнту сечі відповідно в 2,7; 3; 2,8 та 1,1 разу порівняно з інтактним контролем ( $p < 0,05$ ). Відмічено незначне (недостовірне,  $p > 0,05$ ) підвищення екскреції білка та сечової кислоти з сечею.

Доведено, що індолінорен при багаторазовому введенні за умов спонтанного діурезу сприяє підвищенню діурезу, екскреції іонів натрію, калію та  $\text{Na}^+/\text{K}^+$  коефіцієнту сечі в 4; 2,5; 2,1 та 1,3 разу ( $p < 0,05$ ) відповідно порівняно з інтактним контролем на п'яту добу. Встановлено гіпоазотемічну та урикозуричну дію індолінорену, про що свідчить достовірне зменшення на сьому добу вмісту креатиніну в крові щурів у 1,7 разу ( $p < 0,05$ ) та підвищення екскреції сечової кислоти в 2,1 разу ( $p < 0,05$ ).

На тлі багаторазового введення індолінорену за умов водного навантаження встановлено достовірне підвищення діурезу, екскреції іонів натрію та калію в 1,5, 3 та 2,4 разу ( $p < 0,05$ ) відповідно відносно інтактного контролю. Підвищення ШКФ та реабсорбції води не було достовірним.

За умов сольового навантаження сполука-лідер підвищує виділення сечі, екскрецію натрію, відповідно, в 4,8; 2,3 та 2,1 разу ( $p < 0,05$ ) та сприяє підвищенню  $\text{Na}^+/\text{K}^+$  коефіцієнту сечі в 2,1 разу ( $p < 0,05$ ). Не відмічено достовірної різниці показників екскреції креатиніну. За величиною діуретичної активності індолінорен перевершує ( $p < 0,05$ ) препарат порівняння фуросемід.

Зважаючи на виразну діуретичну та натрійуретичну активність сполуки-лідера за різних режимів та умов уведення, наступним завданням було вивчення впливу індолінорену на основні показники функції нирок за умов блокади альдостеронових та дофамінових рецепторів. Встановлено посилення діуретичного ефекту індолінорену за умов пригнічення альдостеронових рецепторів спіронолактоном та його зниження за умов блокади дофамінових рецепторів домперидоном.

Вперше теоретично обґрунтовано та експериментально доведено наявність антиексудативної, антиоксидантної, антигіпоксичної та антимікробної активностей індолінорену в модельних системах *in vivo* та *in vitro*.

На моделі карагенінового набряку у щурів встановлена антиексудативна активність сполуки-лідера у дозі 29,5 мг/кг, що виявлялась протягом перших двох годин та становила 45,5 та 57,1 % відповідно ( $p < 0,05$ ). За виразністю антиексудативної активності індолінорен поступався препарату порівняння натрію диклофенаку в дозі 8 мг/кг протягом усього періоду експерименту.

Враховуючи отримані дані та дані відносно динаміки вивільнення медіаторів запалення, можна припустити, що індолінорен не впливає на вивільнення простагландинів, які, в свою чергу, впливають на терапевтичний ефект діуретичних засобів.

Методом дифузії субстанції в агар встановлено, що індолінорен виявляє помірну антимікробну активність відносно основних штамів мікроорганізмів, зокрема тих, що інфікують сечовидільну систему: *Staphylococcus aureus* (зона затримки росту (ЗЗР) – 22 мм; МПК – 50 мг/мл); *Escherichia coli* та *Bacillus subtilis* (ЗЗР – 21 мм; МПК – 50 мг/мл); *Pseudomonas aeruginosa* (ЗЗР – 20 мм; МПК – 75 мг/мл); *Proteus vulgaris* (ЗЗР – 18 мм; МПК – 100 мг/мл). По відношенню до *Candida albicans* індолінорен виявив найменшу активність (ЗЗР – 12 мм; МПК – 100 мг/мл).

За даними досліджень *in vitro* встановлено виражену антиоксидантну (антирадикальну) активність сполуки-лідера, про що свідчить зниження рівня ТБК-активних продуктів у системі  $Fe^{2+}$ -індукованого ПОЛ жовткових

ліпопротеїдів на 69,1 % в концентрації 50 мг/мл середовища; на 77,9 % та 83,6 % в концентрації 100 мг/мл та 200 мг/мл, відповідно.

Встановлено, що на моделі гіпоксії з гіперкапнією сполука-лідер подовжувала тривалість життя тварин у 2 рази ( $p < 0,05$ ), що свідчить про наявність антигіпоксичної дії, за виразністю якої індолінорен не поступався препарату порівняння мексидолу, активність якого становила 215 %.

Враховуючи наявність у індолінорену діуретичної активності та супутніх фармакологічних властивостей, які доповнюють його фармакодинаміку, з метою визначення перспектив можливого клінічного застосування було досліджено його ефективність на експериментальних модельних патологіях: гемодинамічному набряку легень (ГНЛ) та гострому пошкодженні нирок гліцеролом (ГПНГ).

За умов експериментального ГНЛ, викликаного введенням адреналіну гідротартрату, встановлено, що індолінорен подовжував тривалість життя піддослідних тварин у 1,8 разу відносно групи контрольної патології ( $p < 0,05$ ) та не має достовірної різниці з тривалістю життя тварин, яким вводили фуросемід ( $p > 0,05$ ). Підтвердженням зменшення набряку легень під впливом індолінорену є зниження коефіцієнту маси легень у 2,1 разу ( $p < 0,05$ ) та збільшення сухого залишку легеневої тканини в 1,3 разу ( $p < 0,05$ ) відносно контрольної патології. Достовірної різниці в показниках сухого залишку легеневої тканини та коефіцієнту маси легень у групі індолінорену та групі фуросеміду не відмічено.

Встановлено, що індолінорен чинив позитивний вплив на структуру легеневої паренхіми: набряк мав гніздовий характер та локалізувався практично тільки у верхівкових ділянках легневих часток. На відміну від тварин, яким вводили фуросемід, мікроциркуляторні порушення на тлі застосування сполуки-лідера були практично відсутні. Напівкількісна оцінка стану легеневої тканини свідчить, що індолінорен знижував виразність альвеолярного набряку в 2 рази ( $p < 0,05$ ) по відношенню до групи контрольної патології та не мав достовірної різниці відносно групи щурів, яким вводили фуросемід.

За умов експериментального ГПНГ індолінорен сприяв підвищенню

діурезу та виявляв виражені нефропротекторні властивості, про що відповідно свідчить збільшення діурезу в 4 рази ( $p < 0,05$ ) на другу добу; зменшення вираженості гіперазотемії (зниження вмісту креатиніну сироватки крові у 2 рази ( $p < 0,05$ ) та концентрації сечовини в крові в 3 рази ( $p < 0,05$ )); протеїнурії (зниження рівня білка в сечі в 1,7 разу ( $p < 0,05$ )), попередження анурії (на другу добу ГПНГ кількість щурів без анурії/з анурією на тлі дії індолінорену – 8/0 проти 6/2 у групі контрольної патології ( $p < 0,05$  за критерієм Фішера)).

За умов ГПНГ встановлено позитивний вплив індолінорену на стан системи ПОЛ/АОЗ, що виразився в посиленні антиоксидантного захисту (підвищення активності ВГ в еритроцитах відповідно в 1,6 разу,  $p < 0,05$ ) та гальмуванні процесів ПОЛ у сироватці крові (зниження ТБК-АП на 34 %,  $p < 0,05$ ). За виразністю антиоксидантної дії досліджуваний засіб індолінорен перевершував препарат порівняння фуросемід.

Гістологічно встановлено, що індолінорен виявляє потужну нефропротекторну дію, суттєво знижуючи патологічні прояви у системі каналців нефронів: дезорганізацію та дистрофію нефроцитів дистальних та проксимальних частин каналців нефронів, кількість каналців у кортико-медулярній зоні та мозковому шарі, зупиняючи прояви гострого ураження переважно на рівні кори нирки. Виразність некрозу нефронів склала 2,05 балів, що було достовірно нижче за аналогічну у тварин контрольної патології ( $p < 0,05$ ), були знижені дезорганізація та вакуольна дистрофія нефроцитів (1,30 балів проти 2,19 балів,  $p < 0,05$ ), дистальних та проксимальних частин каналців нефронів, виразно зменшена кількість каналців (1,83 проти 3,18 балів,  $p < 0,05$ ) у кортико-медулярній зоні та мозковому шарі, просвіт яких було закупорено циліндрами. Достовірних відмінностей між показниками групи індолінорену та фуросеміду не встановлено.

Отримані результати обґрунтовують рекомендації хімікам-синтетикам щодо цілеспрямованого синтезу потенціальних діуретичних засобів серед естерів N-[(2-оксоіндолініліден-3)-2-оксіацетил]-амінокислот та доцільність подальшого вивчення індолінорену (пропілового естеру N-[(2-оксоіндолініліден-

3)-2-оксіацетил]-валіну) і перспективність проведення його клінічних досліджень як діуретика.

*Ключові слова:* естери N-[(2-оксоіндолініліден-3)-2-оксіацетил]-амінокислот, сполука-лідер (індолінорен) – пропіловий естер N-[(2-оксоіндолініліден-3)-2-оксіацетил]-валіну, діуретична активність, гемодинамічний набряк легенів, гостре пошкодження нирок, антиоксидантна активність, антигіпоксична активність, антиексудативна активність.

*Список публікацій здобувача:*

1. Маркіна А. Ю., Тюпка Т. І., Лар'яновська Ю. Б., Нессонова М. Н. Вплив індолінорену на морфофункціональний стан легеневої тканини при експериментальному гемодинамічному набряку легенів. *Здобутки клінічної і експериментальної медицини*. 2011. № 2 (13). С. 77-80. (Особистий внесок – огляд та аналіз літературних джерел, моделювання гемодинамічного набряку легенів, відбір та підготовка біоматеріалу для гістологічного дослідження, аналіз та узагальнення результатів, оформлення статті до друку).
2. Маркіна А. Ю. Тюпка Т. И. Экспериментальное подтверждение эффективности нового производного 2-оксоиндолина – потенциального диуретического средства. *Вестник КАЗНМУ*. 2013. № 5 (1). С. 163-165. (Особистий внесок – огляд та аналіз літературних джерел, складання плану експерименту, підготовка та проведення експерименту, аналіз та узагальнення результатів, статистична обробка даних, оформлення статті до друку).
3. Маркіна А. Ю., Міщенко О. Я. Експериментальне вивчення антигіпоксичної та антиоксидантної активності індолінорену. *Український біофармацевтичний журнал*. 2017. № 3 (50). С. 22-25. (Особистий внесок – огляд та аналіз літературних джерел, підготовка та проведення експерименту, аналіз та узагальнення результатів, статистична обробка даних, оформлення статті до друку).
4. Маркіна А. Ю., Мищенко О. Я. Скрининговые исследования новых производных 2-оксоиндолина. *Фармакологія та лікарська токсикологія*.



2017. №3 (54). С. 69-73. (Особистий внесок – огляд та аналіз літературних джерел, підготовка та проведення експерименту, аналіз та узагальнення результатів, статистична обробка даних, оформлення статті до друку).
5. Markina A., Mishchenko O., Laryanovska Yu. The impact of indolinoren on histostructure of kidney on the glixerroid acute renal failure model. *ScienceRise: Pharmaceutical Science*. 2017. Vol. 5 (9). P. 10-14. (Особистий внесок – огляд та аналіз літературних джерел, моделювання гострого пошкодження нирок, відбір та підготовка біоматеріалу для гістологічного дослідження, аналіз та узагальнення, статистична обробка даних, оформлення статті до друку).
  6. Markina A., Mishchenko O. The influence of indolinoren on kidney function in conditions of water and salt load. *ScienceRise: Pharmaceutical Science*. 2018. Vol. 4 (14). P. 20-23. (Особистий внесок – огляд та аналіз літературних джерел, постановка експерименту, проведення біохімічних досліджень, аналіз та узагальнення результатів, статистична обробка даних, оформлення статті до друку).
  7. Markina A. Yu., Mishchenko O. Ya. The study of the peculiarities of the diuretic action of 2-oxoindoline acylated derivative – N-[(2-oxoindoliniliden-3)-2-oxuacetyl]-valine propyl ester. *Клінічна фармація*. 2018. Vol. 3 (22). P. 17-21. (Особистий внесок – огляд та аналіз літературних джерел, постановка експерименту, проведення біохімічних досліджень, аналіз та узагальнення результатів, статистична обробка даних, оформлення статті до друку).
  8. Застосування пропілового естеру N-[(2-оксоіндолініліден-3)-2-оксіацетил]-валіну як діуретичного засобу: пат. на корисну модель 63373 України, МПК А61К 31/197 (2006.01) А61Р 7/10 (2006.01). № u 201102236; заявл. 25.02.2011; опубл. 10.10.2011; Бюл. № 19. (Особистий внесок – аналіз джерел літератури, постановка експерименту, відбір та підготовка матеріалу, статистична обробка даних, аналіз та узагальнення результатів).
  9. Застосування пропілового естеру N-[(2-оксоіндолініліден-3)-2-оксіацетил]-валіну як діуретичного засобу: пат. на винахід 101844 України, МПК А61К 31/404 (2006.01), А61К 31/198 (2006.01), А61Р 7/10 (2006.01) № а 2011 02237;

- заявл. 25.02.2011; опубл. 13.05.2013, Бюл. № 9. (Особистий внесок – аналіз джерел літератури, постановка експерименту, відбір та підготовка матеріалу, статистична обробка даних, аналіз та узагальнення результатів).
10. Маркіна А. Ю., Тюпка Т. І. Вплив одноразового введення індолінорену на функціональний стан нирок. *Ліки – людині. Сучасні проблеми створення, вивчення та апробації лікарських засобів: тези ХХІХ Всеукраїнської наук.-практ. конф. з міжнар. участю, м. Харків, 15 березня, 2012 р. Х. : Вид-во НФаУ, 2012. С. 108.*
  11. Markina A. Yu., Astarova N. N., Kononenko N. N., Tyupka T. I. Effects of indolinoren on renal excretory function in rats with acute renal failure. *Actual questions of development of new drugs: book of abstracts XX Internat. scient. and pract., conference of young scientists and students, devoted to the 90th anniversary of doctor of science in pharmacy, prof. Dmitri Pavlovich Salo, Kharkiv, Apr. 25-26, 2013. X. : Вид-во НФаУ, 2013. Р. 167.*
  12. Маркіна А. Ю., Міщенко О. Я. Вивчення впливу індолінорену на сечовидільну функцію нирок за умов блокади дофамінових рецепторів. *Актуальні питання біології та медицини: тези ХІV міжрегіональної наукової конференції, м. Старобільськ, 22-23 грудня, 2016 р. м. Старобільськ. С. : Вид-во ДЗ «ЛНУ імені Тараса Шевченка», 2017. С. 104-105.*
  13. Маркіна А. Ю. Исследование антигипоксической активности нового производного 2-оксоиндолина. *Актуальные вопросы современной медицины и фармации: тез. докл. 69-ой научно-практ. конф. студентов и молодых ученых, г. Витебск, 19-20 апреля 2017 г. Витебск. В. : ВГМУ, 2017. С. 204-205.*
  14. Markina A. Y. Indolinoren impact on urinary function of kidneys with terms of aldosterone receptor blockade. *Topical issues of new drugs development: abstracts XXIV International scientific and practical conference of young scientists and student, Kharkiv, April 20, 2017. X. : Вид-во НФаУ, 2017. Р. 57.*
  15. Маркіна А. Ю., Міщенко О. Я. Вивчення діуретичної активності нових ацильованих похідних 2-оксоіндоліну. *V національний з'їзд фармакологів України: тези допов. V національного з'їзду фармакологів України,*

- м. Запоріжжя, 18-20 жовтня 2017 р. З. : ЗДМУ, 2017. С. 88.
16. Маркіна А. Ю., Міщенко О. Я. Визначення умовноефективної дози за діуретичною активністю нового ацильованого похідного 2-оксоіндоліну. *Вплив науково-технічного прогресу на розвиток медичної науки та практики: реалії сьогодення: мат. міжн. наук-практ. конф., м. Київ, 13-14 липня, 2018. К. : «Київський медичний науковий центр», 2018. С. 96-99.*
17. Маркіна А. Ю., Міщенко О. Я. Діуретична активність нового ацильованого похідного 2-оксоіндоліну: *інформаційний лист Укрмедпатентінформу МОЗ України*. Вип. 6 з проблеми «Фармація» № 189-2017. К., 2017. 3 с. (Особистий внесок – постановка експерименту, відбір та підготовка матеріалу, статистична обробка даних, аналіз результатів, оформлення матеріалів до друку).

#### ANNOTATION

*Markina A. Yu.* Pharmacological research of esters of N-[2-oxoindoliniliden-3)-2-oxyacetyl]-amino acid as a potential diuretic. – Qualification scientific work with the manuscript copyright.

The thesis for a candidate of pharmaceutical sciences degree (PhD) in speciality 14.03.05 «Pharmacology» (22 – healthcare). – National University of Pharmacy, Ministry of Healthcare of Ukraine, Kharkiv, 2019

The thesis of A.Yu. Markina presents the findings of diuretic activity study of 12 esters of N-[(2-oxoindoliniliden-3)-2-oxyacetyl]-amino acid and of N-[(2-oxoindoliniliden-3)-2-oxyacetyl]-valine propyl ester, which was selected as a lead-compound by its diuretic activity among the specified derivatives according to the pharmacological screening results, its efficacy in test models of acute kidney injury by glycerol and hemodynamic pulmonary edema, and certain peculiarities and mechanisms of its diuretic action and concomitant pharmacological properties. The obtained findings substantiate the prospects of application of the lead-compound as a new diuretic agent. The thesis increases and deepens knowledge of 2-oxoindoline

derivatives particularly esters of N-[2-oxoindoliniliden-3)-2-oxyacetyl]-amino acid pharmacological properties.

The thesis studies N-[(2-oxoindoliniliden-3)-2-oxyacetyl]-amino acid esters, derived in the Department of Analytical Chemistry of the National University of Pharmacy under the supervision of S.V. Kolisnyk. The physical and chemical characteristics: these are yellow crystalline powders, insoluble in water and highly soluble in alcohol, dioxane, dimethylformamide, the melting point of which is between 115 and 185 °C. In the course of experimental pharmacological studies, the compounds were used in the form of fine water suspension stabilized with a tween-80.

According to the results of the computer prediction of pharmacological activities of 12 new derivatives of N-[(2-oxoindoliniliden-3)-2-oxyacetyl]-amino acid, among the probable types of activities, the diuretic effect was predicted in 8 of 12 substances.

The screening stage determined that the diuretic activity at the level of 15; 44; 68 and 98 % is peculiar to four compounds.

The structure-diuretic effect relationship analysis in a variety of acylated derivatives – esters of N-[(2-oxoindoliniliden-3)-2-oxyacetyl]-amino acid – demonstrated, that diuretic activity is peculiar to the compounds, containing residues of valine and aspartic acids, and not of leucine and glutamic acids. Among compounds with diuretic effect, the increase of the latter depends on the ester residue; the most acceptable are methyl and propyl. The most significant diuretic activity at the level of 98 % was observed for the compound, ciphered as “6.3” – it was a propyl ester of N-[(2-oxoindoliniliden-3)-2-oxyacetyl]-valine, which was called by the conventional name “Indolinoren”. The magnitude of effect of this compound was superior to the comparator – thiazide diuretic hydrochlorothiazide (70 %) to 1.2 times ( $p < 0.05$ ) and was inferior ( $p < 0.05$ ) to loop diuretics Furosemide, the activity of which was 246 %.

In terms of water load (diuresis determined in 4 hours), the conventionally effective dose of Indolinoren was 29.5 mg/kg, which is isoeffective to the dose of comparator Furosemide – 5 mg/kg.

In order to determine the 24-hour dynamics of diuretic activity, the effect of Indolinoren on the excretory function of the kidneys in a conventionally effective dose

of 29.5 mg/kg within 24 hours in conditions of the water load was studied. Diuretic activity of the compound is determined within 24 hours with a maximum between the second and the fourth hours; the intensity of diuretic activity of Indolinoren was inferior to Furosemide within the first two hours (diuresis was  $2.95 \pm 0.11$  ml vs.  $5.80 \pm 0.14$ ,  $p < 0.05$ ) and is superior to Indapamide (diuresis was  $2.95 \pm 0.11$  ml vs.  $1.50 \pm 0.11$ ,  $p < 0.05$ ), and respectively is superior to both comparators between the second and the fourth hour (diuresis was  $5.45 \pm 0.14$  ml vs.  $2.45 \pm 0.06$  and  $1.80 \pm 0.07$ ,  $p < 0.05$ ) and is inferior to Indapamide at the twentieth hour (diuresis was  $2.05 \pm 0.13$  ml vs.  $3.45 \pm 0.16$ ,  $p < 0.05$ ), which specifies Indolinoren as the moderate intermediate-acting diuretic.

The results of acute toxicity study showed, that the median lethal dose of Indolinoren in intraperitoneal injection to mice and rats is  $4000 \pm 380.7$  and  $3167 \pm 409.0$  mg/kg respectively; the median lethal dose in intragastric injection is more than 8000 mg/kg and more than 11000 mg/kg respectively (VI toxicity class according to classification n.a. Sidorov K.K.).

Further pharmacological research of Indolinoren included the study of its diuretic effect peculiarities in single and multiple administration under conditions of spontaneous diuresis, water and salt load, and determination of certain possible mechanisms thereof.

In conditions of spontaneous diuresis, with single administration of Indolinoren, increased diuresis and increased excretion of ions of sodium, potassium and  $\text{Na}^+ / \text{K}^+$  urine ratio, respectively, in 2.7; 3; 2.8 and 1.1 times compared to intact control arm ( $p < 0.05$ ) were observed. Negligible (uncertain,  $p > 0.05$ ) increase of protein and uric acid excretion with urine.

It has been shown that Indolinoren in multiple administration under conditions of spontaneous diuresis promotes increased diuresis, and increase of excretion of ions of sodium, potassium and  $\text{Na}^+ / \text{K}^+$  urine ratio in 4; 2.5; 2.1 and 1.3 times ( $p < 0.05$ ), respectively, compared to intact control arm on the fifth day. Hypoazotemic and uricosuric effects of Indolinoren were determined; this was evidenced by a significant decrease of blood creatinine in rats in 1.7 times ( $p < 0.05$ ) and increase of uric acid

excretion in 2.1 times ( $p < 0.05$ ) on the seventh day.

In the setting of the repeated administration of Indolinoren in terms of the water load, significant increase of diuresis and excretion of sodium and potassium ions in 1.5, 3 and 2.4 times ( $p < 0.05$ ) was found, respectively, in relation to intact control arm. The increase in GFR and water reabsorption was not reliable.

In conditions of salt load, the lead-compound increases urination and excretion of sodium, respectively, in 4.8; 2.3 and 2.1 times ( $p < 0.05$ ) and promotes increase of  $\text{Na}^+/\text{K}^+$  urine ration in 2.1 times ( $p < 0.05$ ). There was no significant difference in the rates of creatinine excretion. By the value of diuretic activity, Indolinoren is superior ( $p < 0.05$ ) to the comparator Furosemide.

In view of the distinct diuretic and natriuretic activity of the lead-compound under different regimens and conditions of values of renal function under blockade of aldosterone and dopamine receptors. The following was observed: enhancement of the diuretic effect of Indolinoren in terms of aldosterone receptors inhibition by spironolactone and its decrease in terms of dopamine receptors blockade by domperidone.

The thesis has theorized and showed by experiments the presence of antiexudative, antioxidant, antihypoxic and antimicrobial activities of Indolinoren *in vivo* and *in vitro*.

The model of carrageenan-induced edema in rats showed antiexudative activity of lead-compound in dose of 29.5 mg/kg, which was determined within the first two hours and was 45.5 and 57.1 %, respectively ( $p < 0.05$ ). Indolinoren was inferior to diclofenac sodium in antiexudative activity intensity within all the experimental period. In view of the obtained findings and findings related to release of inflammatory mediators, it may be assumed, that Indolinoren produces antiexudative effect by means of diuresis increase and does not affect release of prostaglandins, which in their turn indirectly influence on therapeutic effect of diuretic agents.

The method of agar diffusion determined, that Indolinoren shows a moderate antimicrobial activity against the main strains of microorganisms, in particular those infecting the urinary system: *Staphylococcus aureus* (inhibition zone (IZ) – 22 mm;

MIC – 50 mg/ml; *Escherichia coli* and *Bacillus subtilis* (IZ – 21 mm; MIC – 50 mg/ml); *Pseudomonas aeruginosa* (IZ – 20 mm; MIC – 75 mg/ml); *Proteus vulgaris* (IZ – 18 mm; MIC – 100 mg/ml). Indolinoren showed the lowest activity in relation to *Candida albicans* (IZ – 12 mm; MIC – 100 mg/ml).

The findings of *in vitro* studies demonstrated significant antioxidant (antiradical) activity of the lead-compound, evidenced by the decrease of the level of TBA-reactive substances in the system of  $\text{Fe}^{2+}$ -induced lipid peroxidation of vitelline lipoproteins by 69.1 % at concentration of 50 mg/ml of the medium; by 77.9 % and 83.6 % at concentrations of 100 mg/ml and 200 mg/ml, respectively.

The study on the model of hypoxia with hypercapnia showed that the lead-compound in dose of 29.5 mg/kg prolonged animals' survival in two times ( $p < 0.05$ ), evidencing the antihypoxic action. Indolinoren was inferior to comparator – Mexidol – by antihypoxic action intensity, activity of which was 215%.

Considering the diuretic activity and related pharmacological properties of Indolinoren, enhanced by its pharmacodynamics, in order to determine the prospects of possible clinical application, its efficacy was studied on test model pathologies: hemodynamic pulmonary edema (HPL) and acute kidney injury by glycerol (AKIG).

In terms of the test HPL induced by adrenaline hydrochloride administration, it has been determined that Indolinoren prolongs the life of experimental animals in 1.8 times compared to the control group ( $p < 0.05$ ) and does not have significant difference in the life expectancy of animals, which received Furosemide ( $p > 0.05$ ). The confirmation of pulmonary edema reduction under exposure to Indolinoren was decrease in lungs weight by 2.1 times ( $p < 0.05$ ) and increase in pulmonary tissue solids by 1.3 times ( $p < 0.05$ ) relative to the control pathology. There was no significant difference between the rates of pulmonary tissue solids and lung weight ratio in Indolinoren arm and Furosemide arm.

Determined that administration of Indolinoren had positive effect on lung parenchyma structure: edema was nested and localized almost only in pulmonary lobules of apical bronchopulmonary segments. Compared to animals, which received Furosemide the microcirculatory disorders in administration of lead-compound were

negligible. Semi-quantitative assessment of pulmonary tissue condition evidenced, that Indolinoren had decreased intensity of alveolar edema in 2 times compared to the group of control pathology and had no significant difference compared to group of rats, to which Furosemide was administered.

In terms of the test AKIG, Indolinoren promotes increased diuresis and shows significant nephroprotective properties, which is evidenced by increase in diuresis by 4 times ( $p < 0.05$ ) on the second day; decrease in hyperazotemia severity (decrease of serum creatinine by 2 times ( $p < 0.05$ ) and concentration of blood urea by 3 times ( $p < 0.05$ )); proteinuria (decrease of protein urine level by 1.7 times ( $p < 0.05$ )), prevention of anuria (on the second day the number of rats with no anuria/ with anuria associated with Indolinoren was – 8/0 versus 6/2 in the control pathology arm ( $p < 0.05$  according to F-test)).

In terms of the AKIG, the positive influence of Indolinoren on condition of lipid peroxidation – antioxidant system was established, which was expressed in enhancement of antioxidant protection (increase of activity of reduced glutathione in RBC, respectively, by 1.6 times,  $p < 0.05$ ) and inhibition of lipid peroxidation processes in serum (decrease of TBA-reactive substances by 34 %,  $p < 0.05$ ). According to the expressiveness of antioxidant activity, the investigated product Indolinoren is superior to the comparator Furosemide.

Morphological study demonstrated that Indolinoren has potent nephroprotective action and significantly decreases pathologic evidences in nephron tubules system: it reduces disorganization and dystrophy of nephrocytes of distal and proximal parts of nephron tubules and decreases amount of tubules in corticomedullary region and medulla, suppressing manifestations of acute lesion predominantly at the level of renal cortex. The severity of necrosis of nephrons was 2.05 scores, which was significantly lower than those in animals with control pathology ( $p < 0.05$ ), disorganization and hydropic degeneration of nephrocytes (1.30 scores versus 2.19 scores,  $p < 0.05$ ), distal and proximal parts of nephron tubule were reduced, the number of tubules (1.83 vs. 3.18 scores,  $p < 0.05$ ) in the cortical-medullary region and medulla, the lumen of which was blocked by cylinders, was clearly reduced. There were no observed differences



between values of Furosemide and Indolinoren groups.

The obtained findings substantiate the recommendations to synthetic chemists regarding the targeted synthesis of potential diuretic agents among esters of N-[(2-oxoindoliniliden-3)-2-oxyacetyl]-amino acid and the appropriateness of further study of Indolinoren (N-[(2-oxoindoliniliden-3)-2-oxyacetyl]-valine propyl ester and the prospect of its clinical study as a diuretic product.

*Key words:* N-[(2-oxoindoliniliden-3)-2-oxyacetyl]-amino acid esters, lead-compound (Indolinoren) – N-[(2-oxoindoliniliden-3)-2-oxyacetyl]-valine propyl ester, diuretic activity, hemodynamic pulmonary edema, acute kidney injury, antioxidant activity, antihypoxic action, antiexudative activity.

## ЗМІСТ

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ.....	21
ВСТУП.....	23
РОЗДІЛ 1 ФАРМАКОЛОГІЧНА ХАРАКТЕРИСТИКА ДІУРЕТИЧНИХ ЗАСОБІВ ТА ПЕРСПЕКТИВИ ПОШУКУ НОВИХ ДІУРЕТИКІВ СЕРЕД АЦИЛЬОВАНИХ ПОХІДНИХ 2-ОКСОІНДОЛІНУ – ЕСТЕРІВ N-[(2- ОКСОІНДОЛІНІЛІДЕН-3)-2-ОКСІАЦЕТИЛ]-АМІНОКИСЛОТ (огляд літератури).....	31
1.1 Сучасна номенклатура та класифікація діуретичних засобів.....	31
1.2 Регуляція сечовидільної функції нирок та механізми дії діуретичних засобів.....	38
1.3 Застосування діуретиків у медицині, їх побічні ефекти та супутні види фармакологічної дії.....	47
1.4 Фармакологічні властивості похідних 2-оксоіндоліну та перспективи їх застосування в медицині.....	56
РОЗДІЛ 2 МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ.....	60
РОЗДІЛ 3 СКРИНІНГОВІ ДОСЛІДЖЕННЯ ДІУРЕТИЧНОЇ АКТИВНОСТІ НОВИХ АЦИЛЬОВАНИХ ПОХІДНИХ 2-ОКСОІНДОЛІНУ, ВСТАНОВЛЕННЯ ЗАЛЕЖНОСТІ «СТРУКТУРА – ДІЯ», ВИЯВЛЕННЯ СПОЛУКИ-ЛІДЕРА ТА ВИЗНАЧЕННЯ ЇЇ ГОСТРОЇ ТОКСИЧНОСТІ.....	76
3.1 Результати комп'ютерного прогнозу можливих видів фармакологічної активності ацильованих похідних 2-оксоіндоліну.....	76
3.2 Вивчення діуретичної активності ацильованих похідних – естерів N-[(2-оксоіндолініліден-3)-2-оксіацетил]-амінокислот та визначення сполуки-лідера.....	79
3.3 Визначення умовно-ефективної дози сполуки-лідера за діуретичною активністю за умов водного навантаження.....	82
3.4 Дослідження діуретичної дії індолінорену в умовно-ефективній	

	19
дозі протягом доби.....	84
3.5 Визначення гострої токсичності індолінорену.....	85
<b>РОЗДІЛ 4 ВИВЧЕННЯ ОСОБЛИВОСТЕЙ ТА ОКРЕМИХ МЕХАНІЗМІВ</b>	
<b>ДІУРЕТИЧНОЇ ДІЇ ІНДОЛІНОРЕНУ.....</b>	<b>91</b>
4.1 Вплив індолінорену на функціональний стан нирок при	
одноразовому та багаторазовому введенні за умов спонтанного діурезу...	91
4.1.1 Вплив одноразового введення індолінорену на	
функціональний стан нирок за умов спонтанного діурезу...	91
4.1.2 Вплив багаторазового введення індолінорену на	
функціональний стан нирок за умов спонтанного діурезу...	93
4.2 Вплив багаторазового введення індолінорену на	
функціональний стан нирок за умов водного навантаження.....	95
4.3 Вплив індолінорену на видільну функцію нирок за умов	
сольового навантаження.....	97
4.4 Вплив індолінорену на видільну функцію нирок за умов блокади	
альдостеронових рецепторів.....	100
4.5 Вплив індолінорену на видільну функцію нирок за умов блокади	
дофамінових рецепторів.....	101
<b>РОЗДІЛ 5 ДОСЛІДЖЕННЯ ЕКСТРАРЕНАЛЬНИХ</b>	
<b>ФАРМАКОЛОГІЧНИХ ВЛАСТИВОСТЕЙ ІНДОЛІНОРЕНУ.....</b>	<b>106</b>
5.1 Визначення антиексудативної активності індолінорену на	
моделі карагенінового набряку у щурів.....	106
5.2 Оцінка антимікробних властивостей індолінорену.....	108
5.3 Вивчення антиоксидантних властивостей індолінорену за умов	
Fe <sup>2+</sup> -індукованого ПОЛ у системі жовткових ліпопротеїдів.....	110
5.4 Визначення антигіпоксичної активності індолінорену.....	112
<b>РОЗДІЛ 6 ДОСЛІДЖЕННЯ ЕФЕКТИВНОСТІ ІНДОЛІНОРЕНУ ПРИ</b>	
<b>ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМУ ГЕМОДИНАМІЧНОМУ НАБРЯКУ ЛЕГЕНІВ</b>	
<b>ТА ГОСТРОМУ ПОШКОДЖЕННІ НИРОК.....</b>	<b>115</b>
6.1 Ефективність індолінорену при експериментальному набряку	

	20
легенів, викликаному введенням адреналіну гідротартрату.....	115
6.1.1 Вплив індолінорену на тривалість життя тварин з гемодинамічним набряком легень .....	115
6.1.2 Вплив індолінорену на сухий залишок легеневої тканини та коефіцієнт маси легень за умов гемодинамічного набряку.....	116
6.1.3 Вплив індолінорену на гістоструктуру легеневої тканини щурів з гемодинамічним набряком легень.....	118
6.2 Ефективність індолінорену при експериментальному гострому пошкодженні нирок гліцеролом.....	125
6.2.1 Вплив індолінорену на стан видільної функції нирок щурів з гострим пошкодженням нирок.....	125
6.2.2 Вплив індолінорену на прооксидантно-антиоксидантний дисбаланс на моделі гострого пошкодження нирок.....	128
6.2.3 Вплив індолінорену на гістоструктуру тканини нирок щурів з гострим пошкодженням нирок.....	130
АНАЛІЗ ТА УЗАГАЛЬНЕННЯ РЕЗУЛЬТАТІВ.....	144
ВИСНОВКИ.....	163
СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ.....	166
ДОДАТКИ.....	195

**ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ**

- АГ – артеріальна гіпертензія;  
АДГ – антидіуретичний гормон;  
АКТГ – адренкортикотропний гормон;  
АлАТ – аланінамінотрансфераза;  
АОА – антиоксидантна активність;  
АОЗ – антиоксидантний захист;  
АПФ – ангіотензинперетворюючий фермент;  
АсАТ – аспартатамінотрансфераза;  
БАР – біологічно активні речовини;  
ВГ – відновлений глутатіон;  
в/м – внутрішньом’язово;  
ВН – водне навантаження;  
ВООЗ – Всесвітня Організація Охорони Здоров’я;  
в/ш – внутрішньошлунково;  
ГПНГ – гостре пошкодження нирок гліцеролом;  
ГНЛ – гемодинамічний набряк легенів;  
ГТФ – гуанозинтрифосфат;  
ДУ – державна установа;  
ЖЛП – жовточні ліпопротеїди;  
ЗЗР – зона затримки росту;  
КП – контрольна патологія;  
ЛР – лікарська рослина;  
ЛФ – лужна фосфатаза;  
МПК – мінімальна пригнічувальна концентрація;  
НПЗЗ – нестероїдні протизапальні засоби;  
НУГ – натрійуретичний гормон;  
ПОЛ – перекисне окиснення ліпідів;  
РААС – ренін-ангіотензин-альдостеронова система;  
СН – сольове навантаження;

таб. – таблетки;

ТБК-АП – ТБК-активні продукти;

ТН – торгова назва;

цАМФ – циклічний аденозинмонофосфат;

цГМФ – циклічний гуанінмонофосфат;

ЦНДЛ – центральна науково-дослідна лабораторія;

ШКФ – швидкість клубочкової фільтрації;

LD<sub>50</sub> – середня летальна доза.

## ВСТУП

**Обґрунтування вибору теми дослідження.** Широке застосування діуретичних засобів у фармакотерапії серцево-судинних захворювань [44, 256, 269], гострих пошкоджень нирок [106, 171, 233], набряку легень визначає їх значну роль у клініці внутрішніх хвороб [231, 279]. Вони застосовуються при лікуванні хворих з артеріальною гіпертензією (АГ) як у плановій терапії [242], так і для фармакокорекції гіпертонічних кризів [211], як базові лікарські засоби в терапії хворих на хронічну серцеву недостатність [29, 73, 210], а також при її декомпенсації (кардіальна астма, набряк легенів) [20, 68, 129, 141]. Діуретики застосовують для лікування хворих з асцитом при цирозі печінки [23, 281]. Потужні діуретики, особливо петльові та осмотичні, завдяки підвищенню екскреції нирками ксенобіотиків, ефективні в лікуванні отруень водорозчинними речовинами [307].

Проте, застосування діуретиків нерідко супроводжується побічними реакціями, які, насамперед, стосуються порушень водно-електролітного гомеостазу, кислотно-лужної рівноваги, обміну ліпідів та вуглеводів [40, 150, 308]. Відомі також такі специфічні види побічної дії, як ендокринні порушення при лікуванні спіронолактоном; ототоксична дія петльових діуретиків; порушення з боку центральної нервової системи у вигляді інсомній, запаморочень, депресії, парестезії при застосуванні інгібіторів карбоангідрази; порушення еректильної функції у чоловіків при використанні тіазидних діуретиків [40, 177].

Протягом останніх років асортимент діуретичних засобів в Україні практично не змінюється [164]. Натепер на вітчизняному фармацевтичному ринку зареєстровано 71 діуретичний засіб під різними торговими назвами на основі 10 діючих речовин, з них 62 % – іноземного виробництва і лише 38 % – вітчизняного, зокрема, засоби рослинного походження. Аналіз даних свідчить про обмежений асортимент діуретичних засобів вітчизняного виробництва [144].

Враховуючи обмежений асортимент та дані щодо побічної дії діуретичних

засобів, актуальним є пошук нових ефективних і безпечних діуретиків з супутніми видами фармакологічної активності.

Останнім часом похідні оксіндолу привертають значну увагу як перспективні сполуки, які мають широкий спектр фармакологічної активності: протизапальну, ноотропну, антигіпоксичну, спазмолітичну, антиоксидантну [32, 50, 151]. Серед похідних 2-оксоіндоліну впроваджено в медичну практику ряд лікарських засобів, зокрема ропінірол, зафірлукаст та індометацин [59, 230].

Діуретична дія ацильованих похідних 2-оксоіндоліну – естерів N-[(2-оксоіндолініліден-3)-2-оксіацетил]-амінокислот, синтезованих на кафедрі аналітичної хімії Національного фармацевтичного університету д. фарм. н., професором Колісником С. В., дотепер не досліджувалась, тому актуальним є фармакологічне дослідження їх діуретичної активності.

#### **Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами, грантами.**

Дисертація є фрагментом науково-дослідних робіт Національного фармацевтичного університету «Фармакологічні дослідження біологічно активних речовин і лікарських засобів синтетичного і природного походження» (номер держреєстрації 0103U000478) та «Фармакологічне вивчення біологічно активних речовин та лікарських засобів» (номер держреєстрації 0114U000956), у яких автор є співвиконавцем.

**Мета і завдання дослідження.** Метою дисертаційного дослідження було експериментальне обґрунтування доцільності пошуку нових діуретичних засобів серед нових ацильованих похідних 2-оксоіндоліну – естерів N-[(2-оксоіндолініліден-3)-2-оксіацетил]-амінокислот та доклінічного дослідження сполуки-лідера як ефективного та безпечного діуретичного засобу.

Для досягнення поставленої мети необхідно було вирішити такі завдання:

1. За результатами комп'ютерного прогнозу фармакологічної активності та скринінгових досліджень діуретичної активності естерів N-[(2-оксоіндолініліден-3)-2-оксіацетил]-амінокислот обрати сполуку-лідера.
2. Встановити залежність «структура-діуретична активність» у ряду естерів N-[(2-оксоіндолініліден-3)-2-оксіацетил]-амінокислот.



3. Визначити умовно-ефективну дозу сполуки-лідера (пропілового естеру N-[(2-оксоіндолініліден-3)-2-оксіацетил]-валіну) за діуретичною активністю за умов водного навантаження та її діуретичну активність протягом доби за умов водного навантаження.
4. Визначити гостру токсичність сполуки-лідера при внутрішньошлунковому та внутрішньоочеревинному введенні щурам та мишам.
5. Встановити особливості та основні механізми діуретичної дії обраної сполуки: за умов спонтанного діурезу при одноразовому та багаторазовому введенні, в умовах водного та сольового навантаження, блокади альдостеронових та дофамінових рецепторів.
6. Визначити можливі екстраренальні фармакологічні властивості сполуки-лідера: антиексудативні та антигіпоксичні *in vivo* на щурах; антимікробні та антиоксидантні *in vitro*.
7. Дослідити ефективність сполуки-лідера на експериментальній моделі гемодинамічного набряку легень у щурів, викликаного введенням адреналіну гідротартрату.
8. Дослідити ефективність сполуки-лідера на експериментальній моделі гострого пошкодження нирок гліцеролом у щурів.

*Об'єкт дослідження* – фармакологічна корекція сечовидільної функції нирок.

*Предмет дослідження* – фармакологічна (діуретична, антиексудативна, антигіпоксична, антимікробна, антиоксидантна) активність та безпека естерів N-[(2-оксоіндолініліден-3)-2-оксіацетил]-амінокислот.

**Методи дослідження.** Фармакологічні (вивчення діуретичної активності при одноразовому, багаторазовому введенні за умов спонтанного діурезу, водного та сольового навантаження; визначення середньої летальної дози, встановлення умовно-ефективної дози, вивчення антигіпоксичної активності, моделювання набряку лапи у щурів; моделювання гострого пошкодження нирок гліцеролом (ГПНГ) та гемодинамічного набряку легень (ГНЛ); біохімічні (визначення вмісту креатиніну, білка, сечової кислоти, сечовини, відновленого глутатіону

(ВГ), ТБК-активних продуктів (ТБК-АП)); метод фотометрії полум'я (визначення вмісту натрію та калію); гістологічні (дослідження структури тканини нирок, легень); *in vitro* (дослідження гальмування перекисного окиснення ліпідів (ПОЛ) в системі жовточних ліпопротеїдів (ЖЛП)); мікробіологічні (дослідження антимікробної активності та мінімальної пригнічувальної концентрації (МПК)); статистичні методи.

**Наукова новизна отриманих результатів.** У дисертаційній роботі вперше теоретично та експериментально обґрунтовано доцільність пошуку діуретичних засобів серед 12 нових ацильованих похідних 2-оксоіндоліну – естерів N-[(2-оксоіндолініліден-3)-2-оксіацетил]-амінокислот та підтверджено діуретичну, нефропротекторну активність, наявність супутніх фармакологічних властивостей та безпечність пропілового естеру N-[(2-оксоіндолініліден-3)-2-оксіацетил]-валіну як перспективного діуретичного засобу.

У дисертаційній роботі вперше підтверджено наявність діуретичної активності серед естерів N-[(2-оксоіндолініліден-3)-2-оксіацетил]-амінокислот. Доведено, що діуретична активність притаманна сполукам, які містять залишки амінокислоти валіну та аспарагінової кислоти на рівні 68, 98 та 44% відповідно. Уперше встановлена залежність «структура–діуретична активність», підвищення якої відбувається з подовженням ланцюга естерного залишку від метилу до пропілу.

За даними скринінгу для подальших досліджень обрана сполука-лідер – пропіловий естер N-[(2-оксоіндолініліден-3)-2-оксіацетил]-валіну (умовна назва «Індолінорен»), яка у дозі 5 мг/кг, еквівалентній дозі фуросеміду, за значенням діуретичного ефекту (98 %) перевершує гідрохлоротіазид (70 %), доза якого у п'ять разів вища – 25 мг/кг. Для індолінорену визначена умовно-ефективна доза 29,5 мг/кг та належність до VI класу токсичності – відносно нешкідливі речовини за класифікацією К. К. Сидорова.

Встановлена добова динаміка діуретичної активності індолінорену у дозі 29,5 мг/кг з максимумом між другою та четвертою годиною після введення, за виразністю якої індолінорен протягом перших двох годин поступається

фуросеміду та перевершує індапамід у 2 рази відповідно ( $p < 0,05$ ); перевершує обидва препарати порівняння з другої по четверту годину в 2,2 та 3 рази відповідно ( $p < 0,05$ ); поступається індапаміду через 24 год після введення в 1,7 разу ( $p < 0,05$ ).

Отримано додаткові дані, які поглиблюють уявлення про особливості діуретичної дії індолінорену при одноразовому і багаторазовому (7 діб) введенні в умовах спонтанного діурезу, а також за умов водного та сольового навантаження. Встановлено здатність індолінорену знижувати мінералокортикоїдний контроль функції нирок, про що свідчить підвищення ( $p < 0,05$ ) екскреції іонів натрію, калію та  $\text{Na}^+/\text{K}^+$  коефіцієнту сечі (в 3; 2,8 та 1,1 разу в умовах спонтанного діурезу при одноразовому та в 2,5; 2,1 та 1,3 разу при багаторазовому введенні). Встановлено посилення діуретичного ефекту індолінорену за умов пригнічення альдостеронових рецепторів спіронолактоном та його зниження в умовах блокади дофамінових рецепторів. Уперше встановлено гіпоазотемічну та урикозуричну дію індолінорену: достовірне ( $p < 0,05$ ) зниження на сьому добу вмісту креатиніну в крові щурів у 1,7 разу та підвищення ( $p < 0,05$ ) екскреції сечової кислоти в 2,1 разу.

Розширено уявлення про фармакодинамічні властивості індолінорену. Вперше встановлено широкий спектр екстраренальних фармакологічних ефектів: антиексудативний (57,1% на другу годину на моделі карагенінового набряку), антимікробний (МПК для *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis*, *Escherichia coli* – 50 мг/мл, для *Pseudomonas aeruginosa* – 75 мг/мл, антиоксидантний (зниження рівня ТБК-АП на 83,6 % in vitro в системі ЖЛП), антигіпоксичний (199% на моделі гіпоксії з гіперкапнією у щурів).

Підтверджено дані щодо наявності діуретичної та супутніх видів активності індолінорену на моделі гемодинамічного набряку легенів, викликаного введенням адреналіну гідротартрату, про що свідчить подовження тривалості життя тварин у 1,8 разу ( $p < 0,05$ ), зниження коефіцієнта маси легенів щурів у 2,1 разу ( $p < 0,05$ ), збільшення маси сухого залишку легеневої тканини в 1,3 разу ( $p < 0,05$ ), зниження виразності альвеолярного набряку та збільшення

виразності нормального альвеолярного рисунку відповідно в 2 рази ( $p < 0,05$ ).

Підтверджена діуретична та нефропротекторна ефективність індолінорену на моделі гострого пошкодження нирок гліцеролом, що визначено за підвищенням діурезу на другу добу в 4 рази, на третю – в 12 разів ( $p < 0,05$ ); зниженням вмісту креатиніну та сечовини в крові відповідно в 2 та 3 рази; зниженням рівня білка сечі в 1,7 разу ( $p < 0,05$ ); посиленням антиоксидантного захисту (підвищення рівня ВГ ( $p < 0,05$ ) в еритроцитах у 1,6 разу) та гальмуванням процесів ПОЛ (зниження вмісту ТБК-АП у сироватці крові на 34 % ( $p < 0,05$ )), а також зменшенням вираженості некрозу, вакуольної дистрофії та обструкції просвіту каналців циліндрами відповідно в 1,7 разу ( $p < 0,05$ ).

Отримані результати обґрунтовують доцільність подальшого вивчення індолінорену як препарату із сечогінною дією, зокрема при патології серцево-судинної системи, нирок і набряку легень.

**Практичне значення отриманих результатів.** Впровадження в практичну медицину нового вітчизняного діуретика сприятиме оптимізації лікування хворих з патологією серцево-судинної системи, нирок і набряком легень.

Запропоновано застосування пропілового естеру N-[(2-оксоіндолініліден-3)-2-оксіацетил]-валіну як діуретичного засобу (патенти України №и 201102236 та №и 201102237, 2011 р.; інформаційний лист МОЗ України про нововведення в сфері охорони здоров'я № 189-2017, 2017 р.).

Результати роботи впроваджено у науково-педагогічний процес кафедр вищих медичних (фармацевтичного) навчальних закладів України: фармакології з клінічною фармакологією ДВНЗ «Тернопільський державний медичний університет ім. І. Я. Горбачевського МОЗ України» (протокол № 1 від 03.01.2018 р.); загальної та клінічної фармації ДЗ «Дніпропетровська медична академія МОЗ України» (протокол № 6 від 16.01.2018 р.); фармації ДВНЗ «Буковинський державний медичний університет» (протокол № 10 від 23.01.2018 р.); експериментальної та клінічної фармакології з клінічною імунологією та алергологією ВДНЗ «Українська медична стоматологічна

академія» (протокол № 12 від 14.02.2018 р.); організації та економіки фармації і технології ліків ДВНЗ «Івано-Франківський національний медичний університет» (протокол № 3 від 12.03.2018 р.); фармакології Національного медичного університету ім. О. О. Богомольця (протокол № 27 від 14.05.2018 р.). До дисертації додаються акти впровадження.

**Особистий внесок здобувача.** Безпосередньо автором здійснено інформаційний пошук та аналіз джерел за темою дисертації; поставлено експерименти, проведена статистична обробка, аналіз та систематизація отриманих результатів дослідження з оформленням їх у вигляді таблиць та рисунків; написана та оформлена дисертація та автореферат, сформульовано висновки. Разом з науковим керівником сформульовано мету, завдання та загальний план дослідження. Гістологічні дослідження проведено на базі ЦНДЛ НФаУ за консультативної допомоги та участі к. біол. н., ст. н. сп., Ю. Б. Лар'яновської. Мікробіологічні дослідження проведено в лабораторії біохімії мікроорганізмів і живильних середовищ ДУ «ІМП ім. І. І. Мечникова НАМНУ» за консультативної допомоги та участі к. біол. н., ст. н. сп. Т. П. Осолодченко. Співавторами наукових праць є науковий керівник О. Я. Міщенко та науковці, спільно з якими проведено окремі дослідження: С. В. Колісник, Т. І. Тюпка, Н. Н. Астапова, Н. М. Кононенко, Ю. Б. Лар'яновська, М. Н. Нессонова. У наукових працях, опублікованих у співавторстві, дисертанту належить фактичний матеріал і основний творчий доробок. Автором об'єктів дослідження професором Колісником С. В. захищена докторська дисертація «Синтез, властивості та біологічна активність похідних 2-(2-оксоіндолін-3-іліден) оцтових кислот» (Харків, 2012), яка не містить матеріалів та результатів досліджень, включених до дисертаційної роботи Маркіної А. Ю.

**Апробація результатів дисертації.** Основний зміст дисертаційної роботи викладено та обговорено на науково-практичних конференціях різного рівня: ХХІХ Всеукраїнській науково-практичній конференції з міжнародною участю «Ліки – людині. Сучасні проблеми створення, вивчення та апробації лікарських

засобів» (м. Харків, 15 березня, 2012 р.); XX International scientific and practical conference of young scientists and students, devoted to the 90-th anniversary of doctor of science in pharmacy, professor Dmitri Pavlovich Salo «Actual questions of development of new drugs» (Kharkiv, April 25-26, 2013); XIV міжрегіональній науковій конференції «Актуальні питання біології та медицини» (м. Старобільськ, 22-23 грудня, 2016 р.); 69-й науково-практичній конференції студентів і молодих вчених «Актуальные вопросы современной медицины и фармации» (м. Вітебськ, 19-20 квітня 2017 р.); XXIV International scientific and practical conference of young scientists and students «Topical issues of new drugs development» (Kharkiv, April 20, 2017); V національному з'їзді фармакологів України (м. Запоріжжя, 18-20 жовтня 2017 р.); міжнародній науково-практичній конференції «Вплив науково-технічного прогресу на розвиток медичної науки та практики: реалії сьогодення» (м. Київ, 13-14 липня, 2018 р.).

**Обсяг і структура дисертації.** Дисертаційна робота викладена на 221 сторінці машинописного тексту, складається з анотацій українською та англійською мовами, вступу, 4 розділів власних досліджень, розділу «Аналіз та узагальнення результатів», загальних висновків, списку використаних джерел та додатків. Обсяг основного тексту дисертації складає 156 сторінок друкованого тексту. Робота ілюстрована 25 таблицями, 24 рисунками. Список використаних джерел містить 316 найменувань, з них 164 кирилицею та 152 латиницею.

## РОЗДІЛ 1

# ФАРМАКОЛОГІЧНА ХАРАКТЕРИСТИКА ДІУРЕТИЧНИХ ЗАСОБІВ ТА ПЕРСПЕКТИВИ ПОШУКУ НОВИХ ДІУРЕТИКІВ СЕРЕД АЦИЛЬОВАНИХ ПОХІДНИХ 2-ОКСОІНДОЛІНУ – ЕСТЕРІВ N-[(2- ОКСОІНДОЛІНІЛІДЕН-3)-2-ОКСІАЦЕТИЛ]-АМІНОКИСЛОТ (огляд літератури)

### 1.1 Сучасна номенклатура та класифікація діуретичних засобів

Діуретики (лат. *diuretica* < грец. *diurḗō* – виділяю сечу), або сечогінні препарати викликають посилене виведення солей (насамперед натрію) і води з організму [158, 186]. Підкреслюючи первинність впливу справжніх діуретиків на екскрецію солей (вода пасивно рухається за натрієм та іншими осмотично активними речовинами), ці препарати іноді називають салуретиками. Основна мета застосування діуретиків — посилення електроліто- і водовидільної функцій нирок. Тому вони призначені, в основному, для лікування набряків, артеріальної гіпертензії й отруень [202, 214, 289]. Однак, у зв'язку з широким спектром ренальних і екстраренальних ефектів діуретиків наведеними станами показання до їх застосування не обмежуються [20, 55, 59, 74, 287].

Перші високоактивні діуретичні препарати були впроваджені в медичну практику близько 60 років тому. Спочатку сечогінні властивості виявляли випадково в ліках, які застосовували за іншими показами: у 20-х роках – у ртутних препаратах, що використовували для лікування сифілісу (зважаючи на високу токсичність, морально застарілі ртутні сечогінні засоби сьогодні вже не використовують) [158]; у 50-х роках – у сульфаніламідів, що застосовують і тепер як антимікробні засоби. Застосування діуретичних препаратів у клінічній практиці для лікування серцево-судинних захворювань почалося в середині минулого століття, коли в 1952 році був синтезований хлортіазид. Він став основою для створення ряду його похідних, у тому числі, гіпотіазиду [158].

У даний час діуретики міцно посіли провідні позиції в лікуванні АГ та

серцевої недостатності; без них у сучасних умовах практично неможливо досягти цільового рівня артеріального тиску (АТ) у більшості пацієнтів [7, 51, 58, 62, 68, 170, 206]. Традиційно діуретики застосовують у лікуванні ізольованої систолічної гіпертензії [211, 300], особливо в людей похилого віку, для купування гіпертензивних кризів, для профілактики повторних інсультів [211, 216, 222, 223], при прогресуванні серцевої недостатності та при гострих її проявах [13, 80, 125, 166, 199, 229]. Тіазиди застосовують у постменопаузальний період для зменшення демінералізації при остеопорозі [205]. Діуретики використовують при гострій і хронічній нирковій недостатності [48, 150, 171, 194]. Разом із добре відомою ефективністю гідрохлоротіазиду при нецукровому діабеті дедалі більшу увагу привертають до себе такі незвичні для фармакологів і лікарів сфери застосування екстраренальних ефектів сечогінних препаратів, як лікування синдрому бронхіальної обструкції (петльові діуретики), муковісцидозу (амілорид), онкологічних захворювань (етакринова кислота) [28, 55, 221, 302]. Етакринова кислота, фуросемід і гідрохлоротіазид мають виражену протизапальну активність, ацетазоламід ефективний при гірській хворобі, а також у пацієнтів із синдромом нічного апное, атаксією [55, 140, 158]. Тобто з позицій сучасного розуміння механізму фармакологічної дії діуретиків, їх використання не обмежується вищенаведеними фактами; інші їх ефекти знаходяться на стадії відкриття або ще зовсім не відкриті.

Загальноприйнятої класифікації діуретиків на сьогодні немає через складність і багатогранність їх механізму дії, фармакодинаміки, фармакокінетичних параметрів. Окремі класифікації, які доповнюють одна одну, мають свої недоліки. Деякі з них базуються на переважному впливі діуретиків на основні процеси утворення сечі — клубочкову фільтрацію і канальцеву реабсорбцію (вплинути на кожний з цих процесів, не торкаючись іншого, фізіологічно неможливо), а також на переважній локалізації та особливостях механізму дії діуретиків у нефроні; інші класифікації — на силі й тривалості дії, хімічній будові препаратів. За швидкістю настання і тривалістю ефекту виділяють діуретики екстреної дії (фуросемід, етакринова кислота, буметанід, піретанід,



торасемід, манітол, сечовина, сорбіт) з початком ефекту від декількох хвилин до 1 год з моменту введення і тривалістю дії 2–8 год (до 24 год у торасеміду); діуретики середньої швидкості і тривалості дії (тіазидові та тіазидоподібні препарати, амілорид, триамтерен, ацетазоламід та ін.). За силою дії діуретики поділяють на потужні, або найвищого рівня (фуросемід, етакринова кислота, буметанід, піретанід, торасемід, клопамід, манітол, сечовина), які гальмують реабсорбцію натрію на 10–25 %; препарати середньої сили дії (гідрохлоротіазид, циклометіазид, хлорталідон, індапамід та ін.), які гальмують реабсорбцію натрію на 5–10 %; слабкі (спіронолактон, амілорид, триамтерен, ацетазоламід), які гальмують реабсорбцію натрію не більше ніж на 3%. Класифікація діуретиків за локалізацією і механізмом дії в нефроні особливо важлива, оскільки сприяє раціональному застосуванню препаратів. Однак, дія різних діуретиків не обмежується однією ділянкою нефрону.

Професор А. А. Лебедев виділяє діуретики, які викликають максимальний натрійурез через блокаду транспорту натрію і хлору у висхідному відділі петлі Генле (фуросемід, буметанід, торасемід та ін.) [74, 158] і через збільшення проникності міжклітинних сполучень у стінці нефрону (етакринова кислота) [158]; бензотіадіазини, які блокують активний транспорт натрію і хлору в кортикальному відділі петлі Генле (гідрохлоротіазид та ін.) [37, 150]; осмотичні діуретики, які підвищують проникність міжклітинних сполучень у нефроні (манітол) [40, 66, 150]; калійзберігаючі діуретики, які блокують обмін натрію на калій у дистальному відділі нефрону шляхом взаємодії з люменальною мембраною дистального каналця [40, 75, 150].

Запропонована класифікація (Бранчевський Л. Л., 1998; Штриголь С. Ю., Гришина Т. Р., 2002), не претендуючи на досконалість, відображає вплив діуретиків на фізіологічні механізми сечоутворення [158, 160]. Препарати, які переважно підсилюють клубочкову фільтрацію: метилксантини (амінофілін, теобромін, кофеїн), серцеві глікозиди; препарати, які переважно пригнічують каналцеву реабсорбцію — діуретики, які гальмують активний транспорт натрію: інгібітори карбоангідрази (ацетазоламід), тіазидові (бензотіадіазинові) і

тіазидоподібні діуретики (гідрохлоротіазид, циклометіазид, хлорталідон, клопамід, індапамід та ін.) [150], петльові діуретики (фуросемід, буметанід, торасемід, етакринова кислота) [40, 150]; діуретики, які гальмують пасивний транспорт натрію: осмотичні діуретики (манітол, сечовина), кислотоутворювальні діуретики (амонію хлорид) [158]; калійзберігаючі діуретики: спіронолактон (конкурентний антагоніст альдостерону) [18, 160], триамтерен, амілорид (неконкурентні антагоністи альдостерону) [160]. Відокремлення калійзберігаючих діуретиків, які пригнічують каналцеву реабсорбцію, зумовлене їх особливим практичним значенням. Для компенсації калійуретичної дії їх комбінують з потужними діуретиками (так, до складу триампуру входять триамтерен і гідрохлоротіазид, модуретик поєднує амілорид і гідрохлоротіазид) [66, 75, 150, 158].

Крім того, до препаратів зі слабкою діуретичною дією можна віднести препарати рослинного походження, які, зазвичай, не входять до класифікації і мають не лише сечогінну (листя ортосифону тичинкового та брусниці звичайної, трава хвоща польового, плоди ялівця звичайного, квітки волошки синьої, бруньки берези), але й гіпоазотемічну дію (плоди акації білої та артишока польового, трава звіробоя продирявленого), антимікробну активність (листя мучниці звичайної, бруньки берези бородавчатої, трава звіробоя продирявленого, плоди сосни звичайної) [56, 69, 71, 79]. На рослинній основі створені такі лікарські засоби як ренель Н, тутукон, леспенефрил, леспефлан, фітоуросепт, урокам, нефрофіт, канефрон Н та інші [38, 66, 109].

Згідно з загальноприйнятими даними, рослинні діуретики, багато з яких застосовують лише в народній медицині, відрізняються м'якою та відносно високою безпечністю дії, низькою вірогідністю порушень кислотно-лужної рівноваги, електролітного балансу та іншої побічної дії, а також можливістю призначення у разі протипоказань до застосування синтетичних діуретичних засобів [112, 158].

Проте, в медичній літературі діуретичним засобам рослинного походження приділяють відносно мало уваги, особливо слід відзначити малочисельні

відомості відносно механізмів діуретичної дії рослинних препаратів [161]. У фундаментальних роботах ведучих спеціалістів з фармакології нирок, зокрема, в монографіях О. О. Лебедєва [74], Г. А. Глезера [33]; В. М. Брюханова і Я. Ф. Зверева [22] препарати рослинного походження взагалі не розглянуті. В енциклопедичному словнику під редакцією Г. П. Яковлева та К. Ф. Блінової наведено перелік понад 90 видів лікарських рослин (ЛР) з діуретичною дією, 9 – з нефропротекторною. В обзорі Wright С. І. [314], присвяченому оцінці клінічної значущості фітодіуретиків, розглянуто 112 ЛР, діуретична дія яких доведена тільки експериментально. В монографії С. Ю. Штриголя, О. В. Товчиги та ін. “Лекарственные растения, почки и обмен мочевой кислоты” (2014) [161] проаналізовано 693 види ЛР, що належать до 129 родин, для яких існує доказова база діуретичної активності (підтвердження в експерименті та/або в клініці, включення до фармакопей). Найбільша кількість відомих видів ЛР з діуретичними властивостями належать до родини Asteraceae (74 види), Rosaceae (61 вид), Fabaceae (42 види), Lamiaceae (37 видів), Apiaceae (31 вид) [118, 172, 192, 236, 275, 285].

Помірну сечогінну дію можуть виявляти лікарські препарати, які належать до різних груп, особливо вазоактивні [239], оскільки видільна функція нирок тісно пов'язана зі станом кровобігу, тонусом судин, балансом між об'ємом циркулюючої крові й ємністю судинного русла [158]. Так, діуретичну активність виявляють інгібітори ангіотензинперетворювального ферменту (каптоприл, еналаприл та ін.) [66], блокатори кальцієвих каналів (верапаміл та ін.) [16, 66, 183, 207], агоністи імідазолінових рецепторів (моксонідин, рилменідин) [66], блокатори  $\beta$ -адренорецепторів (пропранолол та ін.) [108], причому цей ефект може брати участь у реалізації інтегральної гіпотензивної дії. Діуретики входять до складу комбінованих гіпотензивних препаратів (адельфан, капозид, ліпразид та ін.) [66, 207, 216, 306]. Сечогінну властивість має дофамін. Дофамін збуджує альфа і бета-адренорецептори, покращує системну гемодинаміку, що призводить до діуретичного ефекту. У низьких дозах дофамін впливає на дофамінові рецептори, викликаючи розширення мезентеріальних (кишкових), мозкових,

ниркових, коронарних судин. У високих дозах дофамін викликає збільшення периферичного загального опору судин, частоти скорочень серця, звуження судин нирок (може зменшити діурез і нирковий кровотік) [24, 104, 106].

До справжніх діуретиків не слід відносити так звані гідроуретики, або акваретики — лікарські препарати (демеклоциклін, солі літію, антагоністи антидіуретичного гормону), етиловий спирт, питну воду і різні види мінеральних вод. Збільшуючи кількість сечі, вони збільшують виділення води непропорційно більшою мірою порівняно з електролітами, тобто підвищують кліренс осмотично вільної води [158].

На сьогодні на фармацевтичному ринку України представлена 71 торгова назва (ТН) діуретичних засобів на основі 10 діючих речовин, включно засоби рослинного походження [109]. Найбільша кількість ТН належить індапамід (16 ТН). Друге місце займає торасемід (10 ТН), третє – фуросемід (9 ТН). Кількість препаратів з діючою речовиною еплеренон нараховує 7 ТН; ацетазоламід та гідрохлоротіазид – 3 ТН, маніт та спіронолактон – 5 ТН; етакринова кислота та ксипамід – 1 ТН. Відсутні на фармацевтичному ринку України діуретики з такими діючими речовинами: хлорталідон, циклометіазид, клопамід, амілорид. Зареєстровано 1 комплексний препарат під ТН «Триампур», який включає триамтерен та гідрохлоротіазид [109].

44 ТН препаратів представлені іноземними виробниками, що становить 62 %. Частка вітчизняних виробників – 38 % відповідно, зокрема за рахунок діуретичних засобів рослинного походження. Серед закордонних виробників за кількістю зареєстрованих в Україні діуретичних лікарських засобів лідерами є Індія – 7 пропозицій, Німеччина та Польща – 6 пропозицій [109].

Окрім раніше згадуваних діуретиків, використовується ряд нових сечогінних засобів, номенклатура яких постійно розширюється. До них можна віднести уларитид (уродилактин) – продукт розщеплення передсердного натрійуретичного пептида в нирках [163]. Клінічні дослідження свідчать, що у хворих з декомпенсованою серцевою недостатністю внутрішньовенне введення уларитида значно покращувало показники центральної гемодинаміки,

збільшувало серцевий викид, натрійурез та діурез, що сприяло швидкому покращенню стану хворих. Дані останніх клінічних досліджень свідчать, що уларитид не знижує ризик смерті від серцево-судинних захворювань у пацієнтів з гострою серцевою недостатністю, проте має позитивний ефект в короткотривалій перспективі [217, 220].

Відносно новим класом препаратів є аналоги мозкового натрійуретичного пептида (несиритид) [268] та антагоністи  $V_2$ -рецепторів вазопресину (ваптани). Встановлено, що блокада  $V_2$ -рецепторів вазопресину сприяє підвищенню діурезу (переважно за рахунок води–акварезіс) без супутньої негативної активації ренін-ангіотензинової та симпато-адреналової систем, гіпотензії, гіпокаліємії та вираженої спраги [65, 100, 193, 198, 208]. Антагоністи  $V_2$ -рецепторів вазопресина можуть розглядатися як новий клас діуретиків – «акваретики» на відміну від фуросеміда – «салуретика» [226, 255, 257].

Найбільш вивченим серед даної групи препаратів є толваптан – пероральний непептидний селективний антагоніст  $V_2$ -рецепторів вазопресину [208, 270, 303] та коніваптан, який є антагоністом  $V_{1\alpha}$  та  $V_2$ -рецепторів. Вибіркові антагоністи  $V_{1\alpha}$ -рецепторів блокують судинозвужуючу дію аргінін-вазопресину в гладком'язових клітинах периферичних судин, у той час, як вибіркові антагоністи  $V_2$ -рецепторів блокують вхід водяних каналів аквапоринів в апікальні мембрани клітин епітелія збирального протоку, знижуючи тим самим його здатність до реабсорбції води. Комбіновані антагоністи  $V_{1\alpha}$  та  $V_2$ -рецепторів викликають зниження системного судинного опору та попереджують розвиток дилюційної гіпонатріємії у пацієнтів з серцевою недостатністю [220, 228].

Новими діуретичними засобами є також група інгібіторів нейтральної ендопептидази, що запобігають інактивації передсердного натрійуретичного пептиду (кандоксатрил), а також комбіновані препарати, які включають окрім інгібітора нейтральної ендопептидази, інгібітор ангіотензинперетворювального фермента (омапатрилат, сампатрилат, фазидотрил). Блокада нейтральної ендопептидази сприяє подовженню життя натрійуретичного пептида, який виявляє вазодилатуючу, діуретичну дію; гальмує клітинний ріст і розвиток

фіброзу [244, 262].

Отже, на сьогодні сучасна медицина нараховує достатньо велику кількість діуретичних засобів, проте кількість нових препаратів є малочисельною. Проблема корекції водно-електролітного обміну та кислотно-лужної рівноваги при лікуванні таких захворювань, як АГ, різних видів нефропатій, набряку легень та мозку, при яких широко застосовуються діуретики, вченими сьогодні остаточно не вирішена, а препарати, які мають діуретичну і гіпотензивну дію, а також здатні коригувати метаболічний ацидоз і метаболічний алкалоз, є малочисельними, що актуалізує пошук нових ефективних і безпечних діуретиків.

## 1.2 Регуляція сечовидільної функції нирок та механізми дії діуретичних засобів

Тісний взаємозв'язок між водно-сольовим обміном та системою кровообігу визначений еволюцією живих організмів.

Фізіологічні механізми, які регулюють виділення натрію та води, можна умовно поділити на дві групи:

- антидіуретичні – ренін-ангіотензин-альдостеронова система (РААС), симпатоадреналова система, вазопресин, естрогени тощо;
- діуретичні – натрійуретичні пептиди, опіоїдні пептиди, дофамін, глюкокортикостероїдні гормони та інші [24, 101, 104, 106, 158, 204].

У механізмах гомеостатичних реакцій нирок при змінах гемодинаміки важливу роль відіграють зсуви внутрішньониркового кровообігу, катехоламіни та РААС [143, 200, 218, 294]. Основні ефекти пов'язані з дією ангіотензину II, який є продуктом біохімічного каскаду, що запускається реніном [5, 143, 252, 294]. Ренін, що секретується юктагломерулярними клітинами аферентних артеріол, перетворює ангіотензиноген ( $\alpha_2$ -глобулін плазми крові) в ангіотензин I, який потім трансформується в ангіотензин II [74]. Рецептори до ангіотензину II знайдені в кровоносних судинах, серці, нирках, надниркових залозах, гіпофізі, що пояснює численні ефекти цієї речовини [106]. Ангіотензин II має здатність

звужувати артеріоли, підвищуючи системний артеріальний тиск і зменшуючи клубочкову фільтрацію в нирках. Ангіотензин II та його метаболіт (ангіотензин III) стимулюють синтез мінералокортикостероїдних гормонів у клітинах клубочкової зони коркової речовини надниркових залоз, таким чином посилюючи антидіуретичний ефект. Окрім цього, ангіотензин II посилює секрецію аргінінового вазопресину, стимулює центр спраги у гіпоталамусі, підвищує тонус симпатичної нервової системи через сприяння секреції норадреналіну в синапсах [74].

У процесі регуляції функції нирок істотна роль належить антидіуретичному гормону (АДГ), який продукується в супраоптичному та паравентрикулярному ядрах гіпоталамуса та секретується нейрогіпофізом [74, 91]. Вплив АДГ призводить до активації реабсорбції нирками води,  $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{Mg}^{2+}$ , звуження артеріол, сповільнення серцевих скорочень і зменшення серцевого викиду [24, 57, 148, 286]. Взаємодія АДГ з  $V_2$ -рецепторами мембран епітеліоцитів збиральних трубок призводить до активації аденілатциклази і збільшення утворення внутрішньоклітинного месенджера циклічного аденозинмонофосфата (цАМФ), що дифундує до апікальної мембрани і разом із іонами  $\text{Ca}^{2+}$  активує проникність клітини для води, стимулюючи систему трансмембранних білків аквапоринів [148, 266]. Підвищення внутрішньоклітинного вмісту  $\text{Ca}^{2+}$  відбувається внаслідок впливу вазопресину завдяки двом механізмам: його посиленого притоку із позаклітинного простору (цей процес пов'язаний зі змінами обміну фосфатидилінозиту) і вивільненням  $\text{Ca}^{2+}$  з мітохондрій у цитозоль (результат дії цАМФ-залежних протеїназ) [24]. Здійснення внутрішньоклітинних ефектів  $\text{Ca}^{2+}$  тісно пов'язане з функціонуванням специфічного  $\text{Ca}^{2+}$ -зв'язуючого білка кальмодуліну, однією з функцій якого є активація фосфодіестерази, що розщеплює цАМФ. Зростання внутрішньоклітинної концентрації  $\text{Ca}^{2+}$  також супроводжується збільшенням внутрішньоклітинного вмісту циклічного гуанозинмонофосфату (цГМФ), що гальмує надходження  $\text{Ca}^{2+}$  у клітину [24]. У дистальних каналцях під впливом АДГ відбувається вихід із клітини гіалуронідази, яка розщеплює гіалуронову

кислоту міжклітинного простору, стимулює підвищення проникності епітелію каналців і збиральних трубок для води та пасивний транспорт її з фільтрату до паренхіми нирки згідно осмотичного градієнту [24]. Взаємодія АДГ із  $V_1$ -рецепторами призводить до утворення всередині клітин інозитолтрифосфату і діацилгліцеролу, які є інгібіторами синтезу внутрішньоклітинного цАМФ [24]. Зниження внутрішньоклітинної концентрації месенджера цАМФ найважливіше для ниркових артеріол, які звужуються, що веде до зменшення клубочкової ультрафільтрації [24]. АДГ у крові швидко руйнується, що обумовлює необхідність постійної секреції. Стимулами для утворення АДГ у супраоптичному та паравентрикулярному ядрах гіпоталамуса є підвищення осмотичного тиску плазми, зниження артеріального тиску, зменшення об'єму внутрішньосудинної рідини [24].

Важливими гуморальними факторами, які стимулюють реабсорбцію  $\text{Na}^+$  і води в дистальному відділі нефрону і збиральних трубках, є гормони клубочкової зони кори надниркових залоз – альдостерон, дезоксикортикостерон, 18-оксикортикостерон, 18-оксидезоксикортикостерон, найактивнішим з яких є альдостерон [74, 252]. Стимулами для секреції альдостерону є ангіотензин II, ангіотензин III, зниження концентрації іонів  $\text{Na}^+$ , надлишок іонів  $\text{K}^+$  та меншою мірою – концентрація адренкортикотропного гормону в крові. Альдостерон знижує втрати натрію з сечею, активує всмоктування його в кишківнику та стимулює «сольовий апетит» [12, 200]. Вплив альдостерону здійснюється через геномні та негеномні механізми [218]. Під геномними ефектами розглядають зв'язок гормону з цитозольними рецепторами, транспортування в клітинне ядро, де він викликає експресію відповідних генів і активацію синтезу  $\text{Na}^+/\text{K}^+$ -АТФ-ази та інших білків, що беруть участь у транспорті іонів внаслідок відкриття каналів в апікальній мембрані. Негеномні ефекти включають стимуляцію транспорту  $\text{Na}^+/\text{K}^+$  і існуючих молекул  $\text{Na}^+/\text{K}^+$ -АТФ-ази внаслідок збільшення внутрішньоклітинної концентрації  $\text{Na}^+$  [24]. Геномні та негеномні ефекти альдостерону аддитивні та спрямовані на збільшення внутрішньоклітинної концентрації іонів  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$  і  $\text{Ca}^{2+}$ . Енергетичне забезпечення клітинних ефектів



альдостерону здійснюється за рахунок підвищення активності  $\text{Na}^+/\text{K}^+$ -АТФ-ази базолатеральної мембрани [24]. Очевидно, альдостерон бере участь також і у швидкій регуляції активності іонного транспорту внаслідок активації протеїнкінази С та фосфорилування  $\alpha$ -субодиниці натрієвого насосу [24, 200]. Встановлено існування власної аутокринної альдостеронової системи міокарда, яка відіграє важливу роль у розвитку хронічної серцевої недостатності та кардіосклерозу [200].

Інгібітором секреції альдостерону в клітинах клубочкової зони надниркових залоз є дофамін [194], який відіграє важливу роль у регуляції водно-сольового обміну. Рецептори до дофаміну розташовані в судинах, кишківнику, нирках, головному мозку, гіпофізі [148], парашитоподібних та надниркових залозах, підшлунковій залозі, на норадренергічних нервових закінченнях [24]. Взаємодія дофаміну з  $D_1$ -рецепторами плазматичної мембрани клітин призводить до активації аденілатциклази, збільшення утворення цАМФ, що спричиняє фосфорилування  $\alpha$ -субодиниці  $\text{Na}^+/\text{K}^+$ -АТФ-ази [148]. Активація  $D_2$ -рецепторів гальмує активність аденілатциклази ГТФ-залежним чином [24]. З активацією  $D_1$ -рецепторів пов'язане розслаблення гладких м'язів судин нирок, кишківника, мозку, серця. Дофамін знижує артеріальний тиск за рахунок вазодилатації, стимулюючи постгангліонарні  $D_1$ -рецептори та пресинаптичні  $D_2$ -рецептори, які викликають релаксацію артеріол шляхом накопичення цАМФ і зменшення симпатичного судинозвужуючого впливу (пригнічення виділення норадреналіну) [24]. Дофамін також підвищує об'ємний коронарний кровобіг через активацію пресинаптичних  $D_2$ -рецепторів і постсинаптичних  $D_1$ -рецепторів вінцевих судин, виявляючи кардіопротекторну дію. Збуджуючи  $D_1$ -рецептори гладком'язових клітин ниркових артерій та  $D_2$ -рецептори постсинаптичної мембрани в судинах нирок, дофамін розширює артеріоли, посилює нирковий кровобіг та підвищує клубочкову ультрафільтрацію [24]. Активація  $D_1$ -рецепторів епітеліоцитів каналців викликає пригнічення  $\text{Na}^+/\text{H}^+$ -обміну та активності  $\text{Na}^+/\text{K}^+$ -АТФ-ази, взаємодія з  $D_2$ -рецепторами викликає стимулювання  $\text{Na}^+/\text{K}^+$ -обміну в проксимальних каналцях нирок [148]. Зазначені

зміни призводять до підвищеного виведення із сечею натрію та води. Дофамінові рецептори клітин клубочкової зони кори надниркових залоз, не сполучені з аденілатциклазою, беруть участь у пригніченні секреції альдостерону, таким чином попереджаючи антидіуретичні ефекти цього гормону.

Важливими складовими ниркового кровотоку та реабсорбції іонів натрію є натрійуретичні пептиди: передсердний натрійуретичний пептид (ПНП) [163, 184, 204, 217, 220, 310], що синтезується, в основному, в передсердях, та мозковий натрійуретичний пептид [191, 196, 217, 232, 261], що синтезується, головним чином, у міокарді шлуночків, а також натрійуретичний пептид С, який секретується судинним ендотелієм та епітелієм каналців і збиральних трубок нирок. Передсердний і мозковий натрійуретичні пептиди зв'язуються з А-рецепторами та знімають блокаду внутрішньоклітинної гуанілатциклази, в результаті чого з ГТФ утворюється цГМФ, дії якого опосередковують натрійурез, вазодилатацію та посилення клубочкової фільтрації, блокаду вазопресину та адренкортикотропного гормону, гальмування секреції реніну, альдостерону та синтезу в плазмі ангіотензину II, гальмування росту мезангіальних клітин, судинних гладком'язових клітин, серцевих фіброblastів і ендотеліальних клітин [24, 313]. С-пептид, зв'язуючись з  $\beta$ -рецепторами, через дію гуанілатциклази і цГМФ здійснює вазодилатуючу дію і пригнічує ріст гладком'язових клітин судин. С-рецептори є кліренс-рецепторами для натрійуретичних пептидів [24, 313]. Одним з механізмів інактивації всіх натрійуретичних пептидів є протеоліз за участю ферменту нейтральної ендопептидази, яка зосереджена головним чином в епітелії проксимальних каналців нефрону, легень та ендотелії. Активність цього ферменту регулює рівень натрійуретичних пептидів у крові [261, 310].

Відомо, що у терапевтичних концентраціях глюкокортикоїди виявляють антидіуретичну активність, у фізіологічних концентраціях – сприяють підсиленню сечовиділення [24].

Регуляторами діяльності нирок виступають також кініни та простагландини. Брادیкінін є активним вазодилататором і підвищує діурез,

розширюючи ниркові артеріоли та збільшуючи клубочкову фільтрацію [19]. Простагландини, передусім з групи  $E_2$ , стимулюють діурез внаслідок розширення артеріол та посилення ниркового кровотоку, зниження реабсорбції сечовини та пригнічення реабсорбції  $Na^+$  на рівні висхідної частини петлі Генле та збиральних трубок кіркової речовини нирок [19].

Адреналін у фізіологічних умовах звужує виносні артеріоли нирок, внаслідок чого збільшуються гломерулярна фільтрація та діурез. У великих дозах за умов стресу він звужує не лише виносні, але й приносні артеріоли, що веде до падіння клубочкової фільтрації і зниження діурезу [24].

За даними літератури, естрогени збільшують реабсорбцію води в проксимальних відділах звитих каналців, що, очевидно, пов'язане зі здатністю посилювати продукцію АДГ. Необхідно також відмітити, що у сучасній науковій літературі зустрічаються суперечливі повідомлення щодо впливу на діурез тиреоїдних гормонів [235]. Деякі автори повідомляють про натрійзатримуючу дію тироксину та тетраїодтироніну [272]. Інші джерела свідчать про діуретичний ефект тироксину внаслідок збільшення клубочкової фільтрації та зростання концентрації в сечі осмотично активних, зокрема, азотистих речовин у результаті активації метаболічних процесів. Припускається, що тироксин діє як інгібітор АДГ [272].

Механізми сечогінної дії сучасних діуретиків різних груп.

Посилення сечоутворення шляхом збільшення клубочкової фільтрації, наприклад, з використанням теофіліну, малопродуктивне порівняно з гальмуванням каналцевої реабсорбції. Тому найбільш ефективно підсилюють видільну функцію нирок препарати, які пригнічують каналцевий транспорт натрію [158].

Діуретичні засоби, які гальмують активний транспорт натрію в каналцевому епітелії: інгібітори карбоангідрази, тіазидові та тіазидоподібні, петльові діуретики. Ацетазоламід інгібує фермент карбоангідразу, особливо в проксимальних каналцях. Цей фермент каталізує утворення вугільної кислоти з  $CO_2$  і  $H_2O$  з її подальшою дисоціацією на  $H^+$  і  $HCO_3^-$ . В умовах пригнічення карбоангідрази кількість іонів  $H^+$  та їх обмін на іони  $Na^+$  зменшується, натрій

виводиться із сечею у вигляді бікарбонату, паралельно підсилюється екскреція іонів  $K^+$  [18, 40]. Сеча стає лужною, у крові через нестачу бікарбонату виникає ацидоз, що знижує сечогінний ефект препарату, тому його призначають не частіше 2 разів на добу з перервою через 4–5 днів і комбінують з питтям розчину бікарбонату натрію. Сечогінний ефект ацетазоламіду чітко виявляється при серцево-легеневій недостатності [56]. Пригнічення карбоангідрази у циліарному тілі ока зменшує продукцію внутрішньоочної рідини, що використовується при глаукомі та перед операціями на очному яблуці (видалення катаракти, операції на сітківці). Пригнічення карбоангідрази в головному мозку зменшує продукцію ліквору та знижує внутрішньочерепний тиск, послаблює активність епілептогенного вогнища, тому ацетазоламід застосовують при епілепсії [14, 40].

Сечогінний ефект тіазидових та тіазидоподібних діуретиків обумовлений пригніченням реабсорбції  $Na^+$ ,  $Cl^-$  та  $H_2O$ , в меншій мірі іонів  $K^+$  та  $Mg^{2+}$  в проксимальній і дистальній частині звивистих каналців і кіркової частини товстого сегменту висхідного коліна петлі Генле. Діуретики даної групи знижують гломерулярну ультрафільтрацію та екскрецію  $Ca^{2+}$  [158].

Петльові діуретики (фуросемід, торасемід та ін.) — одні з найбільш потужних сечогінних препаратів. В основному вони діють у висхідному коліні петлі Генле, де порушують осмотичне концентрування сечі за рахунок пригнічення котранспорту іонів  $Na^+$  і  $Cl^-$ . Під впливом петльових діуретиків значно підвищується виведення іонів  $Na^+$ ,  $K^+$ ,  $Cl^-$ ,  $Mg^{2+}$  [8, 33, 40, 66, 92, 307]. Крім того, петльові діуретики гальмують проксимальну реабсорбцію натрію [75, 40, 59, 150, 180]. Рецептори до фуросеміду знаходяться на люменальному боці ниркового епітелію. Етакринова кислота, крім того, порушує селективний міжклітинний транспорт іонів шляхом розширення міжклітинних сполучень у стінці каналців, де знаходяться фіксовані заряди [150, 158], тому препарат перешкоджає і пасивній реабсорбції  $Na^+$ . Петльові діуретики збільшують нирковий кровобіг і швидкість клубочкової фільтрації в основному за рахунок посилення дії простагландинів; викликають масивне ниркове скидання внутрішньосудинної рідини, що при неправильному дозуванні може призвести

до небезпечної гіповолемії [55].

Осмотичні діуретики фільтруються крізь клубочкові мембрани, не реабсорбуються повністю у ниркових каналцях і екскретуються із осмотично еквівалентною кількістю води. Частіше використовують манітол (маніт), іноді — 20–40% розчини глюкози, гліцерин, сорбіт [150, 158]. Вони починають діяти в крові: підвищення осмотичного тиску викликає вихід рідини з інтерстицію різних органів у судини (дегідратуючий ефект) і збільшує об'єм внутрішньосудинної рідини, що стимулює утворення натрійуретичного гормону. Підсилюється нирковий кровобіг, клубочкова фільтрація зазвичай підвищується. Високий осмотичний тиск у каналцях викликає приплив рідини з інтерстицію через міжклітинні сполучення, що шунтує реабсорбцію води і різних іонів. Збільшується ниркова екскреція іонів  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ ,  $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{Mg}^{2+}$ ,  $\text{HCO}_3^-$ . Осмотичні діуретики діють по всій довжині нефрону. У механізмі їхньої дії має значення збільшення об'єму каналцевої рідини та швидкості її проходження у петлі Генле, оскільки не встигає спрацьовувати механізм осмотичного концентрування сечі [14, 158, 267]. Виділяється велика кількість гіпотонічної сечі. Цей потужний ефект є швидкоплинним — він триває, поки осмотичний діуретик проходить каналцями нирок. Манітол вводиться тільки внутрішньовенно крапельно, не всмоктується із шлунково-кишкового тракту, тому при прийомі всередину викликає осмотичну діарею. Гліцерин призначають усередину. Сечовину сьогодні майже не застосовують, оскільки вона реабсорбується в нирках, підвищує залишковий азот крові, проникає в клітини і тому притягує воду з кровоносного русла («ефект рикошету»), має подразливу дію [158].

Калійзберігаючі діуретики мають малу силу сечогінної дії. Основне місце дії калійзберігаючих діуретиків — дистальний каналець нефрону. Спіронолактон конкурентно зв'язується з альдостероновими рецепторами і порушує синтез білків, відповідальних за реабсорбцію  $\text{Na}^+$  в обмін на секрецію  $\text{K}^+$  із крові в каналець; виведення  $\text{K}^+$  і  $\text{H}^+$  зменшується [18, 24, 33, 158, 180, 274]. Триамтерен та амілорид гальмують вхід  $\text{Na}^+$  у клітину крізь люменальну мембрану та їх реабсорбцію в обмін на  $\text{K}^+$ , тому можуть викликати гіперкаліємію

[18]. Поряд з калієм у крові затримується і магній. Екскреція  $Cl^-$  підвищується незначно. Ефект цих препаратів розвивається поступово і зберігається довгостроково. Вони помірно знижують артеріальний тиск (АТ). Гіпотензивна дія найбільш виражена у спіронолактону [18, 212]. У її складному механізмі має значення усунення активації РААС, включаючи зменшення синтезу альдостерону, посилення екскреції натрію, порушення надходження кальцію до клітин гладких м'язів судин, блокада мінералокортикоїдних рецепторів у міокарді і в шлуночках головного мозку внаслідок чого зменшуються пресорні впливи на судини [158].

Механізм ренальних ефектів біологічно активних речовин (БАР) лікарських рослин (ЛР) є багатокомпонентним [26, 63, 70, 145]. Так, флювоніди, які є одними з провідних діючих речовин сечогінних ЛР, здатні розширювати ниркові судини, збільшувати нирковий кровобіг та ШКФ, знижувати реабсорбцію  $Na^+$  та  $K^+$ . Вони інгібують ряд ферментів (гіалуронідаза, холінестераза, ліпооксигеназа, протеїназа С, транспортна АТФаза), багато з яких беруть участь у механізмах сечоутворення [63].

Доказана також діуретична активність дитерпеноїдів, які зменшують реабсорбцію іонів натрію та калію в дистальних канальцях нефрону [63]. Тритерпеноїди підвищують натрій та калійурез, знижують реабсорбцію в дистальних канальцях нирок [3, 145].

Окрім вище розглянутих сполук, діуретична дія встановлена для таких груп БАР: похідні простих фенолів [26, 63, 64]; фенолкарбонові кислоти та їх похідні [63, 64, 118, 285, 315]; кумарини; ксантони [63, 64]; антраценпохідні; алкалоїди [63, 64]; полісахариди; макроелементи (сполуки калію та кремнію), похідні моносахаридів (циклітоли) [63, 63]; іридоїди; серцеві глікозиди [63].

Комплексні рослинні препарати являють собою складні фітохімічні композиції. За таких умов завжди маємо справу з одночасним застосуванням різних БАР та їхньою взаємодією, яка може мати різну спрямованість. Можлива адитивна дія речовин, потенціювання (наприклад, синергізм флавоноїдів та сапонінів) або посилення транспортних процесів (розширення капілярів під

впливом флованоїдів) [145, 285].

Вплив деяких фітопрепаратів спрямований на декілька механізмів сечоутворення. Так, екстракт *Asmella oleracea* перешкоджає процесам концентрування сечі на рівні петлі нефрону та виявляє антагонізм із АДГ [285]. Можливий також і дофамінергічний механізм впливу фітопрепаратів на гідро- та салурез [161]. Також встановлена стимулююча дія рослинних препаратів на  $\text{Na}^+/\text{K}^+$ -АТФ-ази [161]. Дані властивості виявлені у ефірної олії анісу звичайного. Діуретична дія деяких фітопрепаратів пов'язана з системою простагландинів (квітки волошки синьої) [26, 161].

У ренальних ефектах ЛР може бути відсутнім паралелізм впливу на гідро- та салурез. Неприклад, екстракт бегонії червонолистої сприяє підвищенню натрійурезу, проте об'єм сечовиділення не змінюється; препарати з рослинної сировини марени красильної переважно впливають на реабсорбцію води в ниркових каналцях і посилюють діурез, не змінюючи екскрецію іонів  $\text{Na}^+$  [161].

Отже, ренальний механізм діуретичної дії рослинних препаратів досить складний та залежить від хімічної структури БАР ЛР, різновиду сировини, від дози та режиму введення, технологічних факторів виробництва.

Таким чином, головними механізмами діуретичної дії різних засобів рослинного і синтетичного походження є вплив на швидкість клубочкової фільтрації та активність реабсорбційних процесів у нефроні нирок, що визначає доцільність вивчення цих процесів при пошуку нових перспективних діуретиків.

### 1.3 Застосування діуретиків у медицині, їх побічні ефекти та супутні види фармакологічної дії

Сфера застосування різних груп діуретичних засобів істотно відрізняється. Вибір групи чи конкретного діуретичного препарату залежить від патогенезу захворювання, ступеня тяжкості стану хворого, фармакодинаміки та фармакокінетики лікарського засобу [15, 124, 156, 224].

*Інгібітори карбоангідрази.* Сечогінний ефект ацетазоламідіду чітко

виявляється при серцево-легеневій недостатності [296]. Пригнічення карбоангідази у циліарному тілі ока зменшує продукцію внутрішньоочної рідини, що дає змогу використовувати даний препарат при глаукомі та перед операціями на очному яблуці. На сьогоднішній день створено інгібітори карбоангідази для місцевого застосування в офтальмології — дорзоламід (трусопт) і його комбінація з тимололом (косопт), комбінація ацетазоламід з аналогом простагландину F<sub>2α</sub> латанопростом (ксалатан) [40, 66]. Пригнічення карбоангідази в головному мозку зменшує продукцію ліквору і знижує внутрішньочерепний тиск, послаблює активність епілептогенного вогнища, тому ацетазоламід застосовують при епілепсії [158]. У зв'язку зі збільшенням утворення CO<sub>2</sub> і протидією алкалозу ацетазоламід використовують для профілактики і лікування гірської хвороби — нудоти, слабкості, запаморочень, набряку легень і мозку при сходженні на висоту 2500–4000 м, при синдромі нічного апное — затяжних дихальних пауз уві сні [140].

*Тіазидові та тіазидоподібні діуретики* широко застосовуються як сечогінні засоби при серцево-судинній недостатності із застійними явищами у малому та великому колах кровобігу [103, 134, 141, 142, 181, 154, 215, 316], інфаркті міокарда. Спіронолактон призначають при цирозі печінки (при цьому захворюванні порушується руйнування альдостерону в печінці і розвивається вторинний альдостеронізм), первинному альдостеронізмі (синдромі Кона) [158, 309]. Тіазиди застосовують при захворюваннях нирок (нефрозах та нефритах), окрім прогресуючих форм зі зменшенням швидкості клубочкової фільтрації, загрози утворення каменів у сечовому тракті, токсикозах вагітних [4, 31, 174, 205, 229, 278], передменструальних станах, які супроводжуються застійними явищами, набряках, викликаних застосуванням гормонів кори надниркових залоз і адренкортикотропних гормонів (АКТГ) [40]. Тіазидові діуретики не тільки знижують об'єм внутрішньосудинної рідини, але й значно зменшують чутливість судин до звужувального впливу, тому більше за інші діуретики знижують АТ [170, 305]. При нецукровому діабеті вони виявляють антидіуретичний ефект — зменшують кількість сечі внаслідок пригнічення



центру спраги і підвищення чутливості нирок до АДГ. Гідрохлоротіазид, дія якого триває 6–8 год, застосовують, в основному, при АГ, набряковому синдромі [113, 158, 277]. Лікування гідрохлоротіазидом сприяє підвищенню реабсорбції кальцію нирковими каналцями, зниженню активності загальної та кістково-специфічної лужної фосфатази, позитивним впливом на маркери утворення кістки (N–телопептид та остеокальцин). Встановлено, що гідрохлоротіазид підвищує щільність кістки гомілки та передпліччя [121]. В ряді випадків гідрохлоротіазид застосовують при глаукомі для зниження внутрішньоочного тиску, а також для профілактики та лікування бронхообструктивного синдрому [28]. Хлорталідон відрізняється більш тривалою дією (до 1 доби) [190, 273, 277, 290]. Проте на сьогоднішній день хлорталідон майже не використовується [169, 176]. Близький до тіазидових діуретиків індапамід має властивості блокатора кальцієвих каналів, тому виявляє виражену судинорозширювальну дію при помірному сечогінному ефекті, зменшує гіпертрофію міокарда і рекомендується при АГ [206, 216, 290, 305]. Також відома здатність тіазидових діуретиків потенціювати дію інших лікарських речовин, особливо дигіталісу, препаратів літію та вітаміну Д [40] та попереджати їх небажані ефекти (гіперкаліємію в комбінації з інгібіторами ангіотензинперетворюючого ферменту (АПФ), калійзберігаючими діуретиками) [182, 216]. Тіазидові діуретики перешкоджають дистальній гіпертрофії нефрону, яку здатні викликати петльові діуретики [117]. Тіазидоподібні діуретики також застосовуються при гіпоксичних та ішемічних станах, у випадку вираженої гіпертрофії міокарду лівого шлуночка для відновлення його фізіологічної конфігурації та попередження ускладнень [40].

*Петльові діуретики.* При введенні у вену петльові діуретики швидко («на голці») розслабляють судини великого і малого кола кровобігу [40, 150, 180, 241, 242, 243, 253, 293]. Основні показання до застосування петльових діуретиків: набряк легень та мозку, хронічна декомпенсація кровобігу з набряками [13, 18, 47, 165, 185, 189, 250], гостра і хронічна ниркова недостатність (ефективні при зниженні клубочкової фільтрації) [48, 171, 188], АГ (особливо при кризах) [211, 299], гострі отруєння (у комбінації з в/в введенням рідини — «форсований

діурез»)). Багато років поспіль єдиним петльовим діуретиком на українському фармацевтичному ринку був фуросемід, проте останнім часом з'явився інший препарат — торасемід [29, 30, 76, 107, 157, 167, 201]. У світовій медичній практиці торасемід застосовують з середини 80-х років двадцятого століття. Він включений до ряду міжнародних клінічних керівництв, Європейських рекомендацій з діагностики та лікування ХСН Європейської спілки кардіологів, до «Керівництва з діагностики та ведення дорослих хворих на хронічну недостатність кровобігу Американської колегії кардіологів» та до «Рекомендацій з діагностики та лікування хронічної серцевої недостатності Української асоціації фахівців з серцевої недостатності», «Клінічної настанови з лікування АГ (2012)» [125, 166, 210, 241].

Петльові діуретики мають здатність пригнічувати процес агрегації тромбоцитів внаслідок стимуляції утворення простацикліну та пригнічення дії тромбоксану  $A_2$  [55, 180]. Простациклін також бере участь у розвитку вазодилатуючого ефекту. Для фуросеміду притаманна здатність пригнічувати секрецію АКТГ, а також збільшувати екскрецію із сечею ниркових кінінів та експресію гена калікреїну в клітинах каналців [55].

З наукових джерел відомо, що петльові діуретики чинять найвиразнішу протизапальну дію у порівнянні з іншими діуретичними засобами. Експериментально доведено, що фуросемід виявляє істотну антиексудативну активність на моделі декстранового, серотонінового, овальбумінового та карагенінового набряку стопи у щурів [55, 283]. Серед механізмів протизапальної дії петльових діуретиків найбільше значення має пригнічення активуючого впливу рилізінг-фактору на вивільнення тиреотропіну клітинами передньої долі гіпофіза, зниження проникності для води та іонів мембран ендотеліальних клітин внаслідок їх стабілізації і порушення функції транспортних білків (зв'язок відбувається переважно з білковими компонентами біомембран) [55]. Петльові діуретики (фуросемід, торасемід) чинять також нефропротекторну дію: попереджують розвиток набряку епітелію ниркових каналців, викликаного ішемією, запобігають набряку гліальних клітин за умов

лактоацидозу [123, 144, 188].

Спазмолітична дія фуросеміду на гладкі м'язи дихальних шляхів, стабілізація мембран тканинних базофілів і запобігання виходу медіаторів бронхоспазму використовуються при бронхіальній астмі (інгаляційно в субдіуретичних дозах) [28, 55]. Етакринова кислота, крім протизапальної дії, зумовленої зниженням судинної проникності і стабілізацією мембран, викликає цитостатичний ефект, що застосовується при лікуванні злоякісних пухлин з метою потенціювання дії антибластомних препаратів. Етакринова кислота знижує внутрішньоочний тиск внаслідок поліпшення відтоку внутрішньоочної рідини, що застосовується при лікуванні глаукоми [150].

Петльові діуретики також застосовують при симптоматичних гіперкальцієміях (у випадку порушення діяльності щитоподібної, паращитоподібної залоз, при деяких злоякісних захворюваннях) [205].

*Осмотичні діуретики.* Осмотичні діуретики показані при набряку легень (крім пов'язаного з первинним зниженням скоротності лівого шлуночка, що збільшує об'єм крові в судинах та може прискорити розвиток набряку легень); набряку мозку (під час операцій зі штучним кровобігом), гострих отруєннях барбітуратами, саліцилатами, бромідами; іноді при глаукомі [40, 94]. Манітол, крім того, використовується для консервації крові та еритроцитів, перфузії донорських нирок. Манітол не всмоктується із шлунково-кишкового тракту (при прийомі всередину викликає осмотичну діарею), вводиться тільки внутрішньовенно крапельно [94].

*Кислотоутворювальні діуретики.* Зазвичай у клінічній практиці застосовують хлорид амонію, рідше — хлорид кальцію (з діуретичною метою тільки перорально). Їх слабкий сечогінний ефект самостійного значення не має. Використовуються ці препарати для корекції гіпохлоремічного алкалозу, іноді при епілепсії для зниження активності епілептогенного вогнища, при фосфатурії для поліпшення розчинності фосфатів і зменшення утворення каменів. Хлорид амонію у низьких дозах застосовують як відхаркувальний препарат [94].

*Калійзберігаючі діуретики* мають слабо виражену сечогінну дію [168].

Спіронолактон, як конкурентний антагоніст альдостерону, ефективний при альдостеронізмі, коли дія інших діуретиків ослаблена [40, 47, 94, 173]. Триамтерен та амілорид ефективні й при нормальному рівні альдостерону в крові. Вони помірно знижують АТ. Гіпотензивна дія найбільш виражена у спіронолактону [203, 215, 288, 300]. У її складному механізмі має значення усунення активації РААС, включаючи зменшення синтезу альдостерону, посилення екскреції натрію, порушення входу кальцію в клітини гладких м'язів судин, блокаду мінералокортикоїдних рецепторів у міокарді (завдяки цьому зменшується його гіпертрофія) і в шлуночках головного мозку (зменшуються пресорні впливи на судини) [173, 200]. Калійзберігаючі діуретики застосовують при серцевій недостатності [142, 254, 288], АГ (особливо спіронолактон), цирозі печінки (при цьому захворюванні порушується руйнування альдостерону в печінці і розвивається вторинний альдостеронізм), первинному альдостеронізмі (синдромі Кона) [158, 197, 281]. У зв'язку з антиандрогенними властивостями спіронолактон в останні роки використовують для лікування гіперандрогенії у жінок — гірсутизму, гіпертрихозу, себореї, акне, андрогенної алопеції. Амілорид у зв'язку з інгібуванням натрієвих каналів в епітелії дихальних шляхів застосовують при легеневій формі муковісцидозу (інгаляційно), поліпозі і хронічному риніті (інтраназально) [55]. Тривале застосування амілориду в умовах експериментальної кардіоміопатії запобігає розвитку гіпертрофії міокарду та дилатації лівого шлуночку [150]. Окрім того, застосування амілориду сповільнює розвиток апоптозу в умовах радіаційного ушкодження клітини. Для амілориду притаманна здатність блокувати стимульований вихід з лейкоцитів та тканинних моноцитів супероксидного аніона, арахідонової кислоти та гістаміну [158].

Калійзберігаючі діуретики часто комбінують з петльовими і тіазидовими діуретиками для корекції гіпокаліємічної дії [35, 189, 209, 311]. Створені препарати комбінованого складу (триампур, модуретик, фурезис) [66].

Привабливою є ідея синтезу речовини і створення на її основі препарату, який поєднує потужний натрійуретичний і калійзберігаючий ефекти. Однак за

сучасними уявленнями цього навряд чи можна досягти, оскільки ці ефекти формуються в різних відділах нефрону. Для вираженого діуретичного і натрійуретичного ефектів необхідне зв'язування лікарської речовини, яка має кислотні властивості, з рецепторами висхідного коліна петлі Генле, а для зменшення калійурезу — рецепція лігандів з основними властивостями в дистальних каналцях нирок [138, 158].

*Діуретичні препарати рослинного походження* мають м'яку діуретичну дію. Вони застосовуються в нетяжких випадках при набряках внаслідок ниркової та серцевої недостатності (листки ортосифону тичинкового, листки брусниці, трава хвоща польового, квітки волошки синьої, бруньки берези та ін.), при нирковій недостатності з явищами гіперазотемії (леспенефрил, леспефлан, робінін, тринефрон та ін.) [66, 94], при сечокам'яній хворобі та запальних захворюваннях сечовивідних шляхів (листки мучниці, листки брусниці, трава хвоща польового) [79, 63].

При ретенційній азотемії ефективний хофітол. На основі золотушника канадського розроблені препарати канафлазин та солідофлан, гіпоазотемічна дія яких переважно обумовлена нормалізацією видільної функції нирок та ниркової гемодинаміки [145]. Існують фрагментарні відомості щодо урикозуричної дії вовчуга польового та колючого, плюща звичайного [145]. Діуретичні препарати рослинного походження призначаються амбулаторно найчастіше дітям та людям похилого віку [158, 162]. Препарати з рослинної сировини більш активні у вигляді сечогінних зборів. Перевагою рослинних діуретиків є відсутність вираженого негативного впливу на електролітний баланс в організмі. Це дає змогу використовувати рослинні препарати тривалий час без вираженої побічної дії.

Звичайно, як і більшість лікарських засобів, діуретики не позбавлені побічних ефектів. Серед несприятливих ефектів при застосуванні діуретиків є наявність діуретикорезистентності [117, 152, 237, 308]. Резистентність до діуретиків визначається як клінічний стан, при якому діуретична відповідь зменшена. Вона асоціюється з поганим прогнозом і частіше відмічається у пацієнтів із хронічною серцевою недостатністю при тривалій терапії

діуретиками. Діуретична резистентність може бути обумовлена багатьма чинниками. Основними її причинами є: активація РААС (внаслідок гіповолемії відбувається компенсаторний спазм аферентної артеріоли), нейрогормональна активація, гіпертрофія дистального відділу нефрону, зниження каналцевої секреції (ниркова недостатність), рикошет натрію після втрати рідини, зниження ренальної перфузії, порушення абсорбції оральних діуретиків на рівні кишківника; відсутній комплаєнс із ліками або дієтою з високим вмістом натрію [308].

Лікування тiazидовими діуретиками протягом одного місяця призводить до зниження концентрації калію в плазмі крові в середньому на 0,7 ммоль/л [117]. Приблизно у третини хворих розвивається гіпокаліємія [92], особливо концентрація калію в плазмі знижується більшою мірою, ніж в клітинах. Також на тлі лікування даними діуретиками у хворих виникає м'язова слабкість, судоми, імпотенція, патологія вуглеводного обміну (порушення толерантності до глюкози), гіперхолестеринемія, гіпертриглицеридемія [174, 179]. Характерні також метаболічні порушення, такі як гіпонатріємія, гіпомагніємія, гіперурикемія, яка може призвести до загострення або навіть до виникнення подагри [179, 205, 234, 240, 259].

Осмотичні діуретики можуть викликати порушення водно-сольового обміну, гіпонатріємію, гіперазотемію, особливо у хворих з недостатністю нирок, печінки, кровобігу [117]. У зв'язку з тим, що сечовина частково реабсорбується (50 %) і здатна проникати всередину клітин, при набряку мозку вона може викликати повторну гідратацію клітин. За умов серцевої недостатності збільшення об'єму циркулюючої крові осмодіуретиками утруднює роботу серця і погіршує стан хворого [21, 75].

Небажані явища при застосуванні ацетазоламідів найчастіше спостерігаються на початку лікування і включають парестезію, порушення слуху або гудіння у вухах, втрату апетиту, зміну смакових відчуттів, нудоту, блювання, діарею та полакіурію (часте сечовипускання), іноді сонливість і дезорієнтацію. Можливі ацидоз і порушення електролітного балансу, минуча міопія [21, 117, 296]. Оскільки ацетазоламід є сульфонамідним дериватом, він може

спричинювати небажані явища, притаманні сульфонамідам, які включають агранулоцитоз, тромбоцитопенію, лейкопенію та апластичну анемію, недостатність кісткового мозку, панцитопенію, висип у формі мультиформної еритеми, синдром Стівенса-Джонсона, синдром Лаелла [177, 264].

Для петльових діуретиків характерною побічною дією є порушення електролітного балансу, виражена ототоксичність (особливо у етакринової кислоти) [21, 117]. Можуть мати місце розвиток гіпокальціємії (зменшення концентрації кальцію в сироватці крові нижче 2 ммоль/л), стимуляція остеопорозу [117] та нефрокальцинозу. Інколи спостерігаються порушення клітинного росту (гіпертрофія та дистрофія епітелію дистальних каналців) [117]. У новонароджених можливе відкриття боталової протоки після призначення фуросеміду [120, 229].

Найхарактернішим побічним ефектом для калійзберігаючих діуретиків є гіперкаліємія [282]. Ризик даного ускладнення значно зростає при комбінованому прийомі калійзберігаючих діуретиків з інгібіторами АПФ, нестероїдними протизапальними засобами та препаратами калію [150, 182]. Спіронолактон може призводити до гінекомастії, гіпертрофії передміхурової залози та зниження лібідо у чоловіків, порушення менструального циклу, набухання молочних залоз у жінок, зміна тембру голосу як у чоловіків, так і у жінок [109]. Застосування триамтерену іноді призводить до формування каменів у нирках та гіперглікемії [177, 181].

Таким чином, дані літератури свідчать про те, що діуретичні лікарські засоби завдяки різним механізмам дії широко застосовується у медичній практиці. Головні показання до їх застосування – гіпертонічна хвороба, хронічна серцева недостатність, патологія нирок, невідкладні стани (набряк мозку, легень тощо). Разом з тим численність та тяжкість побічних ефектів, а також відносно обмежена номенклатура існуючих діуретичних засобів диктують необхідність пошуку нових сполук, які б виявляли діуретичну дію, мали нескладну технологію виробництва та були б більш безпечними. Перспективними в цьому плані є похідні 2-оксоіндоліну.

#### 1.4 Фармакологічні властивості похідних 2-оксоіндоліну та перспективи їх застосування в медицині

Серед похідних 2-оксоіндоліну досліджено та впроваджено в практичну медицину цілий ряд лікарських засобів з різними видами активності [292, 297].

Оскільки фармакологічна активність похідних 2-оксоіндоліну залежить від замісників, синтез БАР проводиться великими фармацевтичними компаніями (Novartis, Pfizer, Hoffmann–La Roche та ін.) та інститутами в багатьох напрямках – уведення функціональних груп, хімічні перетворення функціональних похідних, окиснення, відновлення тощо [298].

Зацікавленість фармакологів та хіміків-технологів даною групою речовин привела до появи великої кількості потенційних лікарських засобів, які мають широкий спектр фармакологічної активності: протизапальну, протипухлинну, антимікробну, антидіабетичну, контрацептивну, проносну, кардіотропну, ноотропну, антигіпоксичну, діуретичну, спазмолітичну, антиоксидантну,  $\alpha$ -адреноблокуючу та інші [49, 51, 52, 133, 175].

Вченими Індії досліджено антибактеріальні та протигрибкові властивості спіроциклічних похідних оксіндолу. Спіроциклічні похідні оксіндолу також розглядаються як перспективні сполуки для створення препаратів протитуберкульозної дії [292].

Доведено здатність похідних оксіндолу чинити вплив на естрогенові рецептори та можливість їх використання у схемах гормонозамісної терапії при ендометріозі, полікістозі яєчників [155].

Похідним індолу є препарат зафірлукаст – антагоніст лейкотрієнових рецепторів, що використовують для лікування алергії, бронхіальної астми [66]. Відомий препарат – похідний індолу – суматриптан, розроблений компанією GlaxoSmithKline в 1989. Суматриптан є «золотим стандартом» лікування мігрені. У медичній практиці використовують препарат доласетрон для запобігання нудоти та блювання, пов'язаних з цитотоксичними ефектами хіміотерапії [263].



Дослідниками Стамбульського університету встановлено активність похідних 5-нітрозаміщеного 2-оксоіндоліну відносно вірусів жовтої лихоманки, гепатиту С, парагрипу, вірусу Коксакі, вірусу везикулярного стоматиту [295].

Останнім часом увагу привертають похідні оксіндолу як перспективні сполуки для лікування хворих на онкологічні захворювання. Так, у 1987 році з'явилися дані про їхню здатність селективно подавляти тирозинспецифічну протеїнкіназу, яка бере участь у механізмах канцерогенезу [155].

Одним із похідних 2-оксоіндоліну є препарат сутент, що виявляє високу протипухлинну активність у випадках, коли пухлинні клітини резистентні до традиційної цитотоксичної хіміотерапії [66].

Фармацевтична компанія Hoffmann–La Roche отримала патент на похідні циклопропаніндолінона як клас сполук для лікування ожиріння, дисліпідемії, гіперглікемії, цукрового діабету 1 та 2 типів [295].

Яскравим представником похідних індолоцтової кислоти є класичний нестероїдний протизапальний препарат – індометацин [66].

У медичній практиці використовують противірусний препарат метисазон для лікування захворювань, викликаних різними типами вірусу герпеса [66]. Він також є активним відносно збудника натуральної віспи. Серед похідних індолу зареєстрований противірусний та імуномодулюючий препарат арбідол [60, 150].

До ряду похідних оксіндолу належить препарат для лікування паркінсонізму та психічних порушень – ропінірол оріон та препарат зелдокс [230]. Доведено ефективність ропініролу у лікуванні хворих на шизофренію та синдром неспокійних ніг [230].

Нещодавно був відкритий новий клас аналгетиків, протиартритних та протизапальних засобів, найбільш активним з яких є препарат на основі діючої речовини тенідап [150, 156]. На відміну від багатьох нестероїдних протизапальних засобів, даний препарат стимулює репаративні процеси у хрящовій тканині та знижує концентрацію цитокінів у синовіальній рідині. Також встановлено здатність препарату позитивно впливати на іонний обмін в  $\beta$ -клітинах підшлункової залози [263].

На сьогоднішній день велика кількість субстанцій, похідних індолу, знаходяться на етапі доклінічного дослідження. Серед досліджуваних видів активності – ноотропна, анксиолітична, антигіпоксична, протизапальна, діуретична, анаболічна, церебропротекторна та ін [175, 177, 227, 271]. Деякі дослідження похідних 2-оксоіндоліну проведені співробітниками кафедр Національного фармацевтичного університету, зокрема, робота Гаман Д. В. присвячена вивченню антигіпоксичних та антиоксидантних властивостей похідних  $\alpha$ -ариламід- $\alpha$ -(2-оксоіндолініліден-3)-оцтової кислоти (2012) [32]; Маркіна П. М. – дослідженню 2-гідрокси-N-(5-гідрокси-1-нафтил)-2-(2-оксо-1,2-дигідро-3H-індол-3-іліден)ацетаміду, який виявляє протизапальну і антимікробну дію [1]; Шатілова О. В. – експериментальному вивченню ноотропних та церебропротекторних властивостей етилового естеру N-[(2-оксоіндолініліден-3)-2-оксіацетил]-амінооцтової кислоти [51]; Букатару Ю. С. – вивченню фенітиламід 2-(бензоїламіно)(1-метил-2-оксоіндолін-3-іліден) оцтової кислоти, який виявляє антигіпоксичну, церебропротекторну і ноотропну дії [151]; Стіхарного О. О. – застосуванню амідів 2-оксоіндолін-3-гліоксилової кислоти як засобів церебропротекторної дії [50]; Алтухова О. О. – дослідженню N-R,R<sub>1</sub>амідів (2Z)-(бензоїламіно)(2-оксо-1,2-дигідро-3H-індол-3-іліден)оцтової кислоти, що мають ноотропну активність [258].

Номенклатура похідних індолу з діуретичною дією досить обмежена. До похідних індолоцтової кислоти відноситься відомий тіазидоподібний діуретик – індапамід [31, 59, 66, 206].

Отже, проведений аналіз літературних джерел показав, що похідні 2-оксоіндоліну виявляють різноманітну фармакологічну активність, зокрема діуретичну, тому є перспективними для пошуку і створення на їх основі високоефективних і малотоксичних препаратів з діуретичною дією.

Висновки до розділу 1:

Проведений аналіз даних літератури відносно сфер застосування діуретичних засобів свідчить про високу значущість даної групи препаратів для

фармакотерапії хворих з серцево-судинною патологією та патологією нирок. Сучасний фармацевтичний ринок діуретичних засобів в Україні, який представлений великою кількістю препаратів, в основному, іноземного походження (71 ТН). Номенклатура препаратів вітчизняного виробництва досить обмежена (27 ТН), зокрема, відсутні представники етакринової кислоти, гідрохлоротіазиду, еплеренону, ксипаміду та комбінацій діуретиків.

Аналіз даних літератури вказує на велику кількість побічних реакцій засобів з діуретичною дією та, як наслідок, неможливість їх застосування при коморбідних захворюваннях. Наведені дані є підставою для пошуку нових ефективних та безпечних діуретичних засобів. Серед новосинтезованих похідних 2-оксоіндоліну досліджено та впроваджено в медичну практику ряд лікарських засобів з різними видами активності, зокрема протизапальною, противірусною, аналгетичною, антигіпоксичною та ноотропною. Діуретична дія похідних 2-оксоіндоліну, а саме естерів N-[(2-оксоіндолініліден-3)-2-оксіацетил]-амінокислот, дотепер не досліджувалась, тому актуальним є фармакологічне дослідження їх діуретичної активності.

## РОЗДІЛ 2

### МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ

У дисертаційній роботі було вивчено 12 похідних 2-оксоіндоліну – естери N-[(2-оксоіндолініліден-3)-2-оксіяцетил]-амінокислот (рис 2.1), що були синтезовані на кафедрі аналітичної хімії Національного фармацевтичного університету д. фарм. н., професором С. В. Колісником [83].

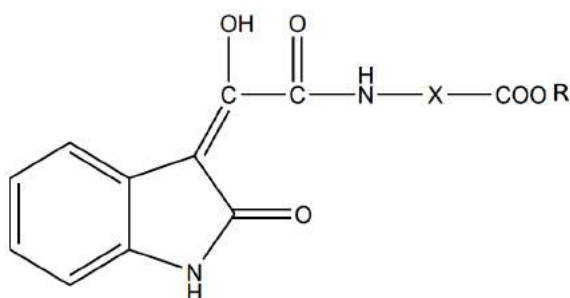


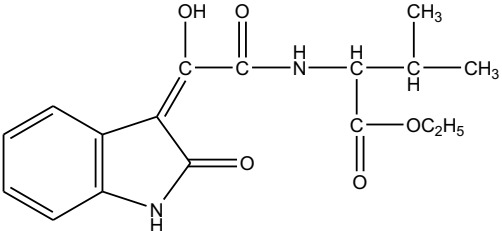
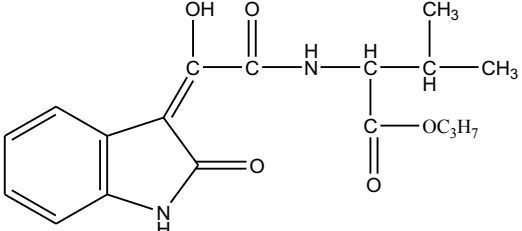
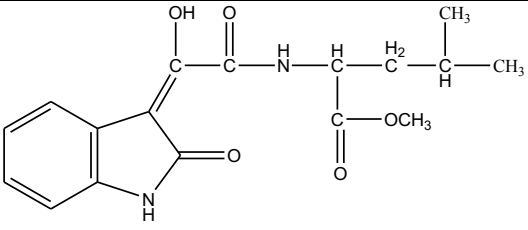
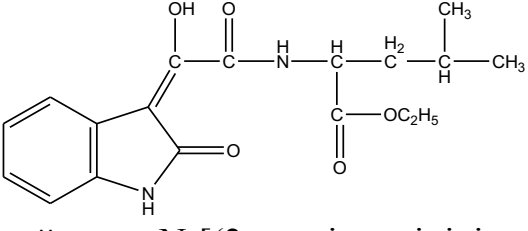
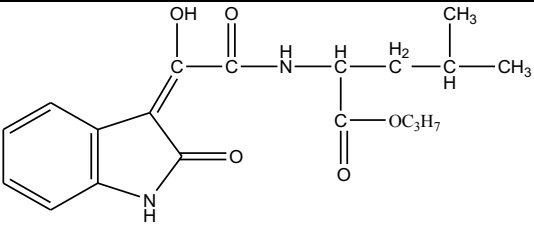
Рис 2.1. Хімічна структура естерів N-[(2-оксоіндолініліден-3)-2-оксіяцетил]-амінокислот. R – радикал естерного залишку.

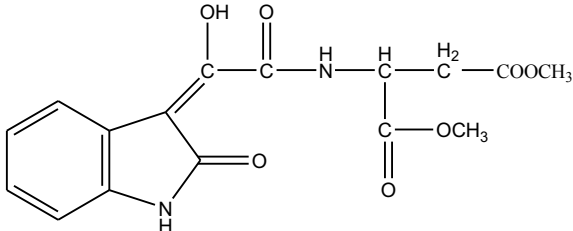
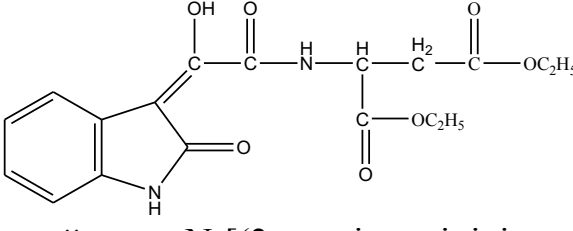
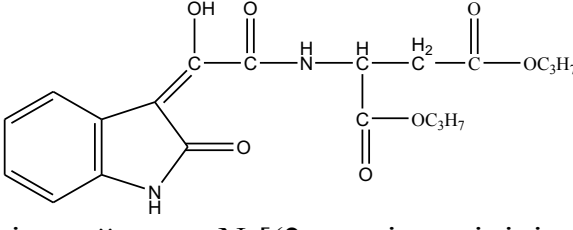
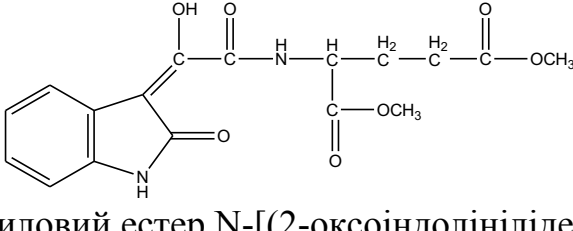
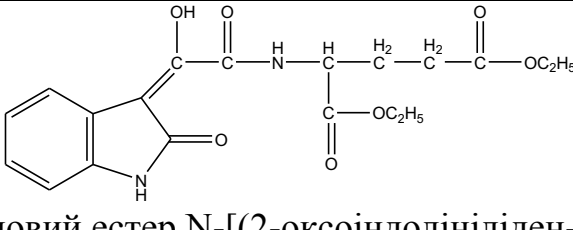
Структурні формули досліджуваних речовин наведено в таблиці 2.1.

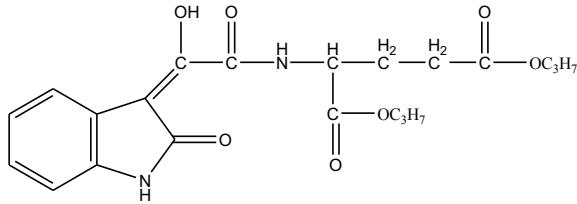
*Таблиця 2.1*

#### Хімічні назви, брутто- та структурні формули, молекулярна маса естерів N-[(2-оксоіндолініліден-3)-2-оксіяцетил]-амінокислот

Шифр речовини	Структурна формула та хімічна назва	Брутто-формула, молекулярна маса
1	2	3
6.1	<p style="text-align: center;">Метилловий естер N-[(2-оксоіндолініліден-3)-2-оксіяцетил]-валіну</p>	$C_{16}H_{18}N_2O_5$  318,3245

1	2	3
6.2	 <p data-bbox="403 481 1134 584">Етиловий естер N-[(2-оксоіндолініліден-3)-2-оксіяцетил]-валіну</p>	$C_{17}H_{20}N_2O_5$ 332,1372
6.3	 <p data-bbox="403 851 1134 954">Пропіловий естер N-[(2-оксоіндолініліден-3)-2-оксіяцетил]-валіну</p>	$C_{18}H_{22}N_2O_5$ 346,153
7.1	 <p data-bbox="403 1220 1134 1323">Метилловий естер N-[(2-оксоіндолініліден-3)-2-оксіяцетил]-лейцину</p>	$C_{17}H_{20}N_2O_5$ 332,137
7.2	 <p data-bbox="403 1579 1134 1682">Етиловий естер N-[(2-оксоіндолініліден-3)-2-оксіяцетил]-лейцину</p>	$C_{18}H_{22}N_2O_5$ 346,3777
7.3	 <p data-bbox="403 1926 1134 2029">Пропіловий естер N-[(2-оксоіндолініліден-3)-2-оксіяцетил]-лейцину</p>	$C_{19}H_{24}N_2O_5$ 418,174

1	2	3
8.1	 <p>Метилловий естер N-[(2-оксоіндолініліден-3)-2-оксіацетил]-аспарагінової кислоти</p>	$C_{16}H_{16}N_2O_5$ 348,096
8.2	 <p>Етиловий естер N-[(2-оксоіндолініліден-3)-2-оксіацетил]-аспарагінової кислоти</p>	$C_{18}H_{20}N_2O_7$ 376,127
8.3	 <p>Пропіловий естер N-[(2-оксоіндолініліден-3)-2-оксіацетил]-аспарагінової кислоти</p>	$C_{20}H_{24}N_2O_7$ 404,158
9.1	 <p>Метилловий естер N-[(2-оксоіндолініліден-3)-2-оксіацетил]-глутамінової кислоти</p>	$C_{17}H_{18}N_2O_7$ 362,3340
9.2	 <p>Етиловий естер N-[(2-оксоіндолініліден-3)-2-оксіацетил]-глутамінової кислоти</p>	$C_{19}H_{22}N_2O_7$ 390,3872

1	2	3
9.3	 <p data-bbox="395 483 1142 584">Пропіловий естер N-[(2-оксоіндолініліден-3)-2-оксіяцетил]-глутамінової кислоти</p>	$C_{21}H_{26}N_2O_7$ 418,44

Наведені сполуки є жовтими кристалічними речовинами, нерозчинними у воді та добре розчинними у спирті, діоксані, диметилформаміді. Температура плавлення становить від 115 до 185<sup>0</sup> С.

Нові похідні 2-оксоіндоліну – естери N-[(2-оксоіндолініліден-3)-2-оксіяцетил]-амінокислот вивчаються вперше та відрізняються від уже досліджених похідних даного ряду структурою ефірного радикалу.

У ході експериментальних фармакологічних досліджень використовували тонкодисперсні водні суспензії досліджуваних сполук, стабілізовані твіном-80.

Етапи дисертаційного дослідження наведено на рис. 2.2.

Експерименти виконано на 32 білих нелінійних мишах масою 18-20 г різної статі та 648 білих нелінійних щурах масою 180-220 г різної статі, які були вирощені у розпліднику віварію ЦНДЛ НФаУ, що атестована МОЗ України (посвідчення № 058/15 від 08.12.2015 р., чинне до 07.12.2019 р.). Догляд за тваринами (включаючи евтаназію) здійснювали згідно з Законом України №3447-IV «Про захист тварин від жорстокого поводження» [102, 122] і відповідно до Директиви Європейського Союзу 2010/10/63 EU про захист хребетних тварин, що використовуються для експериментальних та інших наукових цілей [213]. Дотримання біоетичних норм засвідчено висновком комісії з біоетики НФаУ (протокол № 2 від 20.02.2018 р.).

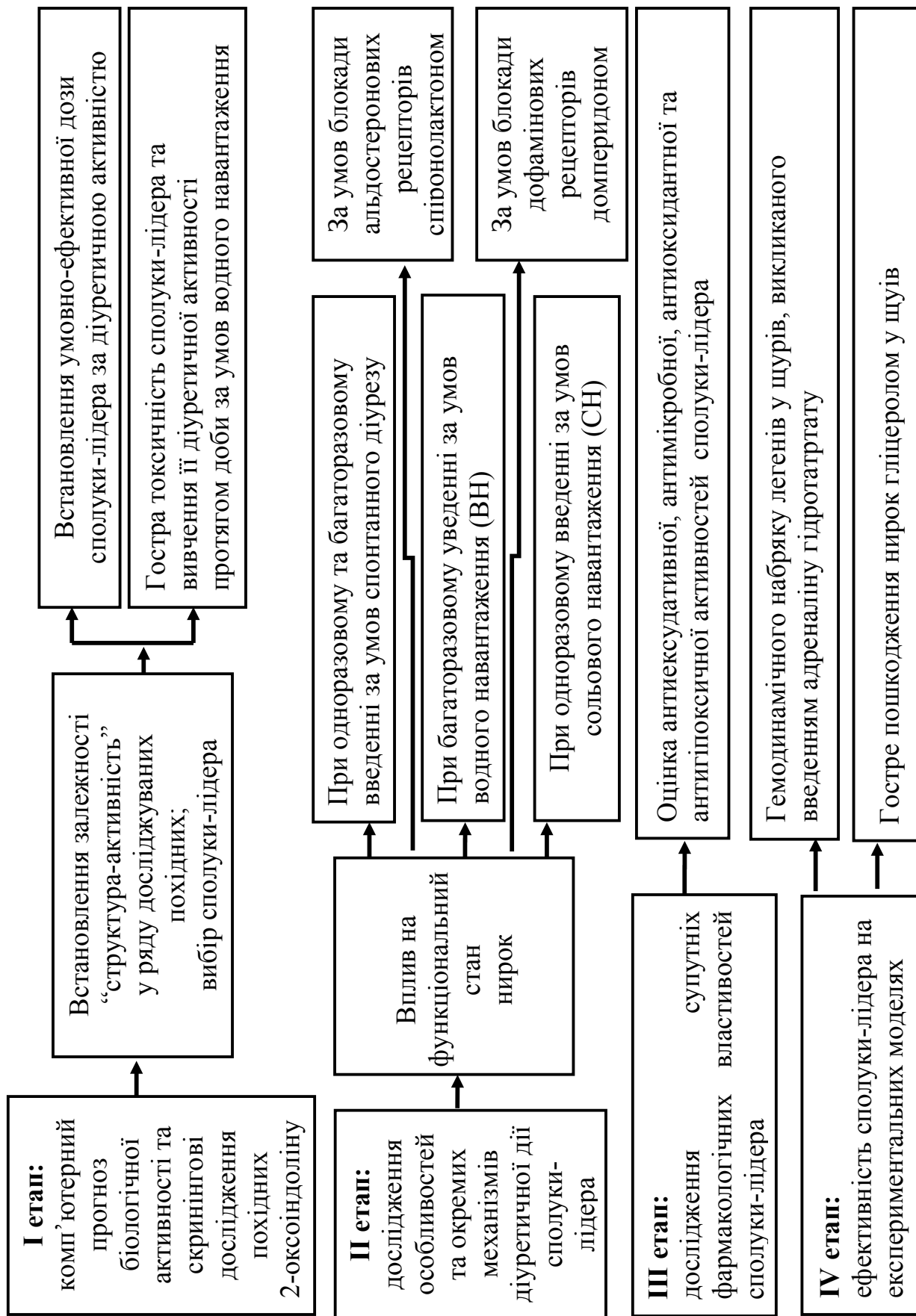


Рис. 2.2 Етапи дослідження нових похідних 2-оксоіндоліну



У дослідженні використано такі препарати:

- фуросемід (Фуросемід, таб. 40 мг, ЗАТ НВЦ «Борщагівський ХФЗ», Україна) в дозі 5 мг/кг внутрішньошлунково (в/ш) [159];
- гідрохлоротіазид (Гідрохлортіазид, таб. 25 мг, ЗАТ НВЦ «Борщагівський ХФЗ», Україна) в дозі 25 мг/кг в/ш [139];
- індапамід (Індапамід, таб. 2,5 мг, «Нemofarm», Сербія) в дозі 0,2 мг/кг в/ш [127];
- спіронолактон (Верошпірон, таб. 25 мг, «Gedeon Richter Plc.», Угорщина) в дозі 20 мг/кг в/ш [99];
- домперидон (Мотиліум, таб. 10 мг, Janssen Pharmaceutica N.V., Бельгія) в дозі 40 мг/кг в/ш [99];
- натрію диклофенак (Вольтарен, таб. 25 мг, «Novartis Pharma S.p.A.», Швейцарія) в дозі 8 мг/кг в/ш [46];
- бутилгідрокситолуол (Іонол, «Sigma», Німеччина) в дозах 50 мг/мл, 100 мг/мл, 200 мг/мл *in vitro* [32];
- етилметилгідроксипіридину сукцинат (Мексидол, таб. 125 мг «АЛСИ-Фарма», РФ) в дозі 100 мг/кг, в/ш [32];
- адреналіну гідротартрат (Адреналін-Здоров'я, 0,18% р-н для ін'єкцій 1 мл, «Здоров'я», Україна) в дозі 5 мг/кг, внутрішньом'язово (в/м) [130];
- гліцерол (Гліцерин дистильований, «Інтер-синтез», Україна) в дозі 10 мл/кг, в/м [96].

Дози препаратів було обрано як такі, які встановлено та досліджено іншими дослідниками [32, 46, 96, 99, 130, 127, 139, 159]. Доза препарату порівняння індапаміду була розрахована з перерахунку терапевтичної дози для людини на тварин із використанням коефіцієнту видової чутливості за Риболовлєвим Ю. Р. [127].

Для прогнозу спектра фармакологічної активності використана комп'ютерна програма PASS (Prediction Activity Spectra for Substances). Результати PASS-прогнозу для похідних естерів N-[(2-оксоіндолініліден-3)-2-оксіяцетил]-амінокислот дали підставу для експериментального підтвердження наявності діуретичної активності нових речовин.

Діуретичну активність похідних 2-оксоіндоліну визначали за умов водного навантаження [17]. Досліджувані речовини у вигляді тонкодисперсної водної суспензії, стабілізованої твіном-80, вводили у дозі 5 мг/кг, аналогічній дозі препарату порівняння фуросеміду в/ш одноразово на тлі водного навантаження (5 мл на 100 г маси тіла тварин). Другим препаратом порівняння був гідрохлоротіазид у дозі 25 мг/кг. Дію кожної досліджуваної речовини вивчали на 10 щурах. До початку експерименту у тварин усіх груп визначали масу тіла. Тварин поміщали в спеціальні обмінні клітки для забору сечі [17]. Оцінку діуретичної активності проводили за показником інтенсивності сечовиділення – кількості сечі, виділеної тваринами за 2 год у перерахунку на 100 г маси тіла. Кількість сечі, виділеної тваринами з групи інтактного контролю, брали за 100 %.

За результатами скринінгових досліджень була обрана сполука-лідер – пропіловий естер N-[(2-оксоіндолініліден-3)-2-оксіацетил]-валіну, що отримала умовну назву «індолінорен».

При виконанні наступного завдання з метою пошуку умовно-ефективної дози обраної сполуки-лідера, її вивчали у дозах 5, 15, 30 та 45 мг/кг. Оцінку діуретичної активності проводили за показником інтенсивності сечовиділення – кількості сечі, виділеної тваринами за 4 год у перерахунку на 100 г маси тіла тварин. Діуретичну активність індолінорену визначали через різні проміжки часу. Препаратами порівняння були діуретичні засоби: фуросемід та індапамід. Оцінку діуретичної активності проводили за показником інтенсивності сечовиділення – кількості сечі, виділеної тваринами за певний проміжок часу у перерахунку на 100 г маси тіла (на тлі водного навантаження 5 мл на 100 г маси тіла тварин).

Середню летальну дозу ( $LD_{50}$ ) індолінорену визначали на двох видах лабораторних тварин – нелінійних білих мишах масою 18-20 г та нелінійних білих щурах масою 180-200 г за умов внутрішньоочеревинного та внутрішньошлункового введення за методом Кербера [170]. Індолінорен вводили у вигляді тонкодисперсної водної суспензії, стабілізованої твіном-80, внутрішньоочеревинно мишам та щурам у дозах від 1000 до 6000 мг/кг;

внутрішньошлунково – мишам від 2000 до 11000 мг/кг, щурам – від 3000 до 10000 мг/кг маси тіла. Кожну дозу досліджували на 6 тваринах. Тривалість спостережень за станом тварин складала 14 днів.

Розрахунок  $LD_{50}$  проводили за формулою 2.1 [130]:

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

де  $LD_{100}$  – доза речовини, яка викликала смерть у 100% піддослідних тварин;

$d$  – інтервал між кожними двома суміжними дозами;

$z$  – середнє арифметичне з числа тварин двох суміжних груп, у яких спостерігалась досліджувана реакція;

$\sum(zd)$  – сума середньоарифметичних чисел, помножених на інтервал між дозами;

$n$  – кількість піддослідних тварин у кожній групі.

Оцінку класу гострої токсичності сполуки визначали за загальноновживаною класифікацією К. К. Сидорова [45].

Для вивчення можливих механізмів діуретичної дії проводили дослідження впливу індолінорену у визначеній умовно-ефективній дозі 29,5 мг/кг на стан нирок при одноразовому та багаторазовому уведенні за умов спонтанного діурезу та водного навантаження [22]. Попередньо проводили адаптацію тварин до умов експерименту. Для вивчення впливу індолінорену при одноразовому введенні на показники діяльності нирок за умов вільного доступу до води тварин поміщали в обмінні клітки, пристосовані для реєстрації кількості випитої води та виділеної сечі. Протягом доби реєстрували контрольні показники питної збудливості та виділеної сечі, визначали показники екскреції основних електролітів.

Для вивчення впливу досліджуваної субстанції при повторному введенні тваринам щоденно впродовж 7 діб індолінорен вводили в/ш (за умов вільного

доступу до води) і спостерігали за показниками діурезу (протягом 2 год), питної активності та екскрецією основних електролітів на 5-ту та 7-му добу досліду.

За умов водного навантаження (5 мл на 100 г маси тіла тварини) індолінорен вводили протягом 7 діб. Визначали показники діурезу, питної активності, ШКФ та екскрецію натрію та калію за 2 год.

Визначали вміст креатиніну та білка в крові та сечі, вміст сечової кислоти в сечі за допомогою лабораторних наборів «Філісіт-діагностика» (Україна); вміст сечовини в сироватці крові – з використанням набору «Філісіт. Сечовина-Д» (Україна) [61].

Концентрацію натрію та калію в сечі та плазмі крові вимірювали методом фотометрії полум'я [98].

Розрахунок швидкості клубочкової фільтрації (ШКФ) розраховували за формулою 2.2 [17]

$$F = (U_{cr}/P_{cr}) \times V, \quad (2.2)$$

де  $F$  – ШКФ, мл/хв на 100 г;

$U_{cr}$  – концентрація креатиніну в сечі, мкмоль/л;

$P_{cr}$  – концентрація креатиніну в сироватці крові, мкмоль/л;

$V$  – діурез, мл/хв. на 100 г.

Реабсорбцію води розраховували за формулою 2.3:

$$R_{H_2O} = (F - V) / F \times 100 \%, \quad (2.3)$$

де  $R_{H_2O}$  – реабсорбція води, %;

$F$  – ШКФ, мл/хв. на 100 г;

$V$  – діурез, мл/хв. на 100 г.

Екскрецію креатиніну розраховували за формулою 2.4:

$$E_{cr} = U_{cr} \times V, \quad (2.4)$$

де  $E_{cr}$  – екскреція креатиніну, мкмоль на 100 г за період досліду, %;

$U_{cr}$  – концентрація креатиніну в сечі, мкмоль/л;

$V$  – діурез, мл на 100 г за період досліду.

Екскрецію сечовини, натрію та калію визначали за аналогічною формулою 2.4.

Наступним завданням дослідження було вивчення впливу індолінорену на видільну функцію нирок за умов водного та сольового навантаження. Сольове навантаження відтворювали в/ш уведенням тваринам 0,45 % розчину натрію хлориду в кількості 3 % від маси тіла. Протягом 2 год після введення індолінорену та препарату порівняння фуросеміду тварини знаходилися в індивідуальних обмінних клітках. Визначали об'єм сечовиділення, показники екскреції натрію та калію [159].

Можливі механізми діуретичної дії індолінорену визначали на моделі блокади альдостеронових рецепторів шляхом введення відомого калійзберігаючого діуретика спіронолактону в дозі 20 мг/кг протягом 4 днів [99]. Індолінорен вводили в/ш в дозі 29,5 мг/кг через 2 год після введення спіронолактону. Усім тваринам одночасно в/ш вводили воду з розрахунку 5 мл на 100 г маси тіла тварини. На 4-ий день досліду визначали кількість виділеної сечі за 4 год в перерахунку на масу тіла тварини, екскрецію калію та натрію.

Взаємодію індолінорену з інгібіторами дофамінових рецепторів вивчали в експерименті з антагоністом дофаміну. Пригнічення дофамінових рецепторів відтворювали шляхом застосування прокінетичного препарату домперидону, який блокує периферичні дофамінові рецептори та виявляє слабку центральну дію [109]. Індолінорен вводили в/ш в дозі 29,5 мг/кг через 2 год після введення домперидону, домперидон – в/ш в дозі 40 мг/кг [99].

З метою вивчення супутніх видів фармакологічної активності

індолінорену було проведено оцінку його антиексудативної, антимікробної, антиоксидантної та антигіпоксичної активності.

Антиексудативну активність індолінорену вивчали на експериментальній моделі гострого карагенінового набряку, викликаного субплантарним уведенням в задню лапу щурів 0,05 мл 1% розчину карагеніну [46]. Як препарат порівняння використовували стандартний нестероїдний протизапальний засіб (НПЗЗ), неселективний інгібітор циклооксигенази – натрію диклофенак в середньоефективній дозі 8 мг/кг [46]. Оцінку інтенсивності запального процесу проводили онкометрично за величиною набряку, яку визначали в динаміці через 1, 2 год та в момент максимального розвитку набряку (через 3 год після введення флогогену) за методом А. С. Захаревського [46] та розраховували у відсотках відносно контрольної патології за формулою 2.5:

$$A = 100\% - (V_{нд} - V_{зд}) / (V_{нк} - V_{зк}) \times 100, \quad (2.5)$$

де А – антиексудативна активність, %;

$V_{нд}$  – об'єм набряклої стопи в дослідній групі;

$V_{зд}$  – об'єм здорової стопи в дослідній групі;

$V_{нк}$  – об'єм набряклої стопи в контролі;

$V_{зк}$  – об'єм здорової стопи в контролі.

Антимікробну активність індолінорену, приготованого у вигляді 10 % розчину, вивчали методом дифузії субстанції в агар (метод “колодязів”) [25]. Для дослідження використовували агар Мюллера-Хінтона (Дагестанський НДІ живильних середовищ). Згідно з рекомендаціями ВООЗ для оцінки активності субстанції використовували тест-штами *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Escherichia coli* ATCC 25922, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *Bacillus subtilis* ATCC 6633, *Proteus vulgaris* ATCC 4636, *Candida albicans* ATCC 885/653 [111]. Мікробне навантаження становило  $10^7$  мікробних клітин на 1 мл середовища і встановлювалося за стандартом McFarland. Для дослідження використовували 18-24 годинну культуру мікроорганізмів.

Про рівень антимікробної активності судили за діаметром зони затримки росту мікроорганізмів навколо лунки з субстанцією, використовуючи наступні критерії:

- відсутність зон затримки росту мікроорганізмів навколо лунки, а також зони затримки до 10 мм вказує на те, що мікроорганізм не чутливий до внесеної в лунку субстанції;
- зони затримки росту діаметром 10 – 15 мм вказують на малу чутливість культури відносно досліджуваної субстанції;
- зони затримки росту діаметром 15 – 25 мм розцінюються як показник чутливості мікроорганізму відносно досліджуваної субстанції;
- зони затримки росту, діаметр яких перевищує 25 мм, свідчить про високу чутливість мікроорганізмів відносно досліджуваної субстанції.

Для кількісної оцінки антимікробної активності індолінорену було визначено його мінімальну пригнічувальну концентрацію (МПК) за допомогою методу серійних розведень [95].

Мікробіологічні дослідження проведено в лабораторії біохімії мікроорганізмів і живильних середовищ ДУ «ІМП ім. І. І. Мечникова НАМНУ» за консультативної допомоги та участі к. біол. н., ст. н. сп. Т. П. Осолодченко.

Антиоксидантні властивості індолінорену визначали *in vitro* в модельній системі жовткових ліпопротеїдів (ЖЛП) за його здатністю гальмувати накопичення ТБК–активних продуктів порівняно з бутилгідрокситолуолом [32, 91]. Антиоксидантну активність (АОА) розраховували за формулою 2.6 та виражали у відсотках:

$$АОА = (E_k - E_0) / E_k \times 100, \quad (2.6)$$

де  $E_k$  – екстинція забарвленого продукту без препарату;

$E_0$  – екстинція забарвленого продукту з препаратом.

Антигіпоксичну активність індолінорену досліджували при моделюванні

гіпоксії з гіперкапнією (у замкненому просторі), яку відтворювали розміщенням щурів у скляні ємкості однакового об'єму (1000 мл), що герметично закривали [126]. Ємкості перевертали догори дном та ставили у кювету з водою для попередження надходження повітря. Для запобігання накопичення вуглекислого газу у банки розміщували натронне вапно. Препаратом порівняння був відомий в медичній практиці антигіпоксанти – етилметилгідроксипіридину сукцинат [32, 41, 58]. Реєстрували час втрати пози та тривалість життя тварин дослідної групи у порівнянні з контролем та дією референс препарату. Препарат порівняння та індолінорен вводили в/ш одноразово за 30 хв до початку експерименту в дозах 100 мг/кг та 29,5 мг/кг відповідно. Дію кожної речовини вивчали на 10 щурах. Щурам групи контрольної патології вводили ізотонічний розчин натрію хлориду [137].

Наступним завданням дослідження було визначення впливу індолінорену на стан нирок на 2-х експериментальних моделях: гострого пошкодження нирок гліцеролом (ГПНГ) і гемодинамічного набряку легенів (ГНЛ).

ГНЛ відтворювали шляхом в/м введення щурам адреналіну гідротартрату в дозі 5 мг/кг [130].

У механізмі розвитку набряку легенів лежить гостре підвищення гідростатичного тиску в капілярах малого кола кровообігу та підвищення проникності судинної стінки, що призводить до виходу рідкої частини крові в інтерстиціальну тканину та альвеоли. Транссудат, який багатий на білки, утворює в альвеолах стійку піну, яка зменшує дихальну поверхню легенів та призводить до розвитку тяжкої дихальної недостатності [146].

Піддослідні тварини були розподілені на 4 групи: I група – інтактний контроль; II група – щури з ГНЛ без лікування (контрольна група); III – щури з ГНЛ, яким вводили індолінорен в/ш у вигляді тонкодисперсної водної суспензії, стабілізованої твіном-80 в умовно-ефективній дозі 29,5 мг/кг; IV — щури з ГНЛ, яким вводили препарат порівняння фуросемід в/ш у дозі 5 мг/кг у вигляді водного розчину.

Тривалість життя тварин вимірювали з моменту введення адреналіну



гідротартрату за допомогою секундоміра.

Сухий залишок легеневої тканини та легеневий коефіцієнт визначали гравіметричним методом. Тварин групи інтактного контролю виводили з експерименту шляхом евтаназії під ефірним наркозом. Легені тварин зважували двічі: одразу після вилучення та через 48 год після висушування в термостаті при постійній температурі 95°C. Розраховували сухий залишок легеневої тканини — відсоткове співвідношення маси сухих легень до сирих, та коефіцієнт маси легень — відсоткове співвідношення маси сирих легень до маси тіла [146]. Контролем були показники тварин інтактної групи.

Гістологічному дослідженню піддавали зразки легеневої тканини з верхівкових та прикореневих ділянок легневих часток. Весь тканинний матеріал від евтаназованих щурів фіксували у 10 % розчині формаліну, зневоднювали у спиртах зростаючої міцності, заливали у целоїдин-парафін. Зрізи фарбували гематоксиліном та еозином [2]. Для зручності порівняння стану легеневої паренхіми тварин різних експериментальних груп на мікропрепаратах визначали ступінь виразності альвеолярного набряку та збереження альвеолярного рисунка за 5-бальною системою. За основу взято напівкількісну візуальну оцінку потужності забарвлення мікроструктур при гістохімічних реакціях за методом Соколовського [132]. Виразність альвеолярного набряку оцінювали таким чином: 0 балів – ознака набряку відсутня; 1 бал – набряк слабо виражений (набрякла рідина виявлена у  $\frac{1}{3}$  альвеол у мікропрепараті); 2 бали – набряк помірно виражений (набрякла рідина виявлена у  $\frac{1}{3}$  альвеол у полі зору мікроскопу); 3 бали – набряк виражений (набрякла рідина виявлена у  $\frac{2}{3}$  альвеол у полі зору мікроскопу); 4 бали – набряк дуже виразний (набрякла рідина виявлена майже у 100% альвеол у мікропрепараті). Ступінь збереження альвеолярного рисунка оцінювали наступним чином: 0 балів – гістоархітектоніка респіраторного відділу тканини зруйнована повністю; 1 бал – типовий рисунок тканини збережено на  $\frac{1}{3}$  площі мікропрепарату; 2 бали – типовий рисунок тканини збережено на 50% площі мікропрепарату; 3 бали – типовий рисунок тканини збережено на  $\frac{2}{3}$  площі мікропрепарату; 4 бали – типовий рисунок

тканини простежено на всій площі мікропрепарату.

ГПНГ у щурів відтворювали шляхом в/м одноразового введення 50 % розчину гліцеролу у дозі 10 мл/кг [96]. Препаратом порівняння був петльовий діуретик фуросемід, який включений до схеми лікування гострого пошкодження нирок в клініці [123, 194, 233]. Піддослідні тварини були розподілені на 4 групи: I група – інтактний контроль; II група – щури з ГПНГ без лікування (контрольна група); III – щури з ГПНГ, яким вводили індолінорен у вигляді тонкодисперсної водної суспензії, стабілізованої твіном-80 в умовно-ефективній дозі 29,5 мг/кг; IV — щури з ГПНГ, яким вводили фуросемід у дозі 5 мг/кг у вигляді водного розчину. Досліджувану сполуку та фуросемід вводили в/ш у лікувально-профілактичному режимі протягом 3 діб до моделювання ГПНГ та протягом наступних 2 діб на тлі патології. Знеживлення тварин усіх груп проводили через 72 год після ін'єкції гліцеролу.

Для дослідження антиоксидантних властивостей індолінорену визначали рівень відновленого глутатіону в еритроцитах [9] та ТБК-реактивів (ТБК-Р) у сироватці крові.

Була досліджена гістоструктура нирок щурів [92]. Зразки нирок фіксували у 10 % розчині формаліну, зневоднювали у спиртах зростаючої міцності, заливали у целоїдин-парафін. Зрізи фарбували гематоксиліном та еозином [2]. На зрізах проводили напівкількісну оцінку стану каналцевого апарату нефронів (найбільш вразливий при даній патології) за такими морфологічними показниками: ступенем виразності некрозу, вакуольної дистрофії нефротелію, наявності циліндрів у просвіті каналців. Оцінку проводили у полі зору мікроскопу (окуляр 10, об'єктив 25) при 8-9 повтореннях. Результати оцінки представляли у балах: 0 балів – відсутність змін; 1 бал – слабкі зміни (зачіпають до 10-15 % каналців); 2 бали – помірні зміни (зачіпають до 25 % каналців); 3 бали – виразні зміни (зачіпають до 50 % каналців); 4 бали – дуже виразні зміни (зачіпають до 90 % каналців) [249].

Мікроскопію і фотографування мікропрепаратів здійснено на мікроскопі Mikros 400 (Austria), доукомплектованого цифровим фотоапаратом

NikonCoolPix 4500. Фотографування проведено в системі AverMedia, фотознімки обробляли на комп'ютері Pentium з процесором 2,4GHz за допомогою програми NikonView 5.

Гістологічні дослідження проведено на базі ЦНДЛ НФаУ за консультативної допомоги та участі к. біол. н., ст. н. сп. Ю. Б. Лар'яновської.

Весь отриманий цифровий матеріал піддавали статистичній обробці, використовуючи параметричні (коефіцієнт Ст'юдента) та непараметричні методи статистики [72, 128]. Зважаючи на кількість спостережень, непараметричні аналоги порівняння центральних тенденцій у декількох групах (аналог однофакторного аналізу – критерій Крускала-Уоліса, критерій Мана-Вітні з поправкою Бонфероні, двовибірковий критерій Колмогорова-Смирнова та критерій серій Вальда-Вольфовіца), а також критерій Фішера.

## РОЗДІЛ 3

**СКРИНІНГОВІ ДОСЛІДЖЕННЯ ДІУРЕТИЧНОЇ АКТИВНОСТІ НОВИХ АЦИЛЬОВАНИХ ПОХІДНИХ 2-ОКСОІНДОЛІНУ, ВСТАНОВЛЕННЯ ЗАЛЕЖНОСТІ «СТРУКТУРА – ДІЯ», ВИЯВЛЕННЯ СПОЛУКИ-ЛІДЕРА ТА ВИЗНАЧЕННЯ ЇЇ ГОСТРОЇ ТОКСИЧНОСТІ**

3.1 Результати комп'ютерного прогнозу можливих видів фармакологічної активності ацильованих похідних 2-оксоіндоліну

Сьогодні актуальним є використання комп'ютерних програм, які дозволяють прогнозувати фармакологічні властивості нових сполук, виходячи з їх хімічної будови. Комп'ютерний прогноз фармакологічних ефектів перспективних сполук дозволяє збільшити ефективність вибору досліджуваних базових структур і знизити витрати на їх дослідження й розробку.

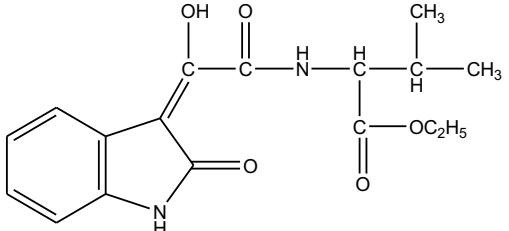
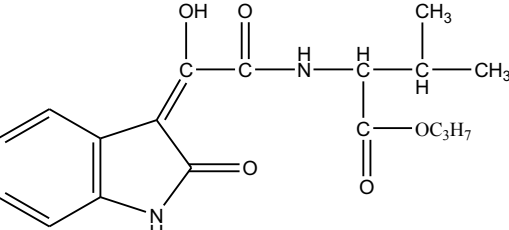
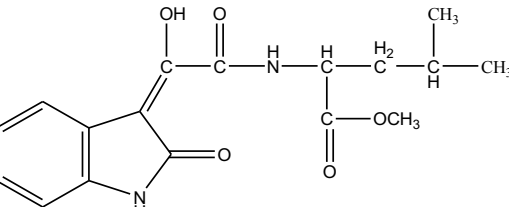
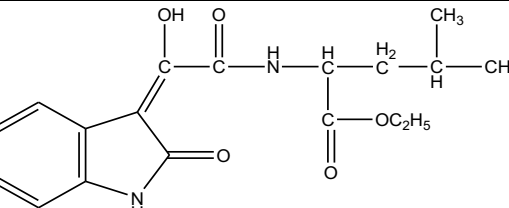
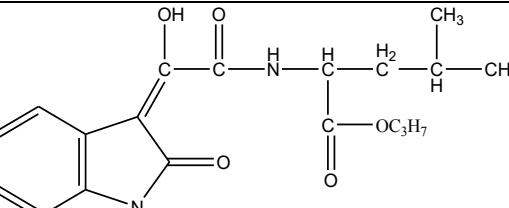
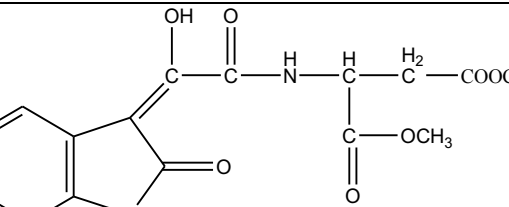
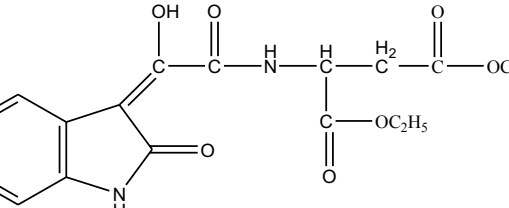
У зв'язку з цим, на першому етапі нашого дослідження було проведено комп'ютерний прогноз можливої фармакологічної активності похідних (2-оксоіндолініліден-3)-2-оксіоцтової кислоти з використанням комп'ютерної програми PASS.

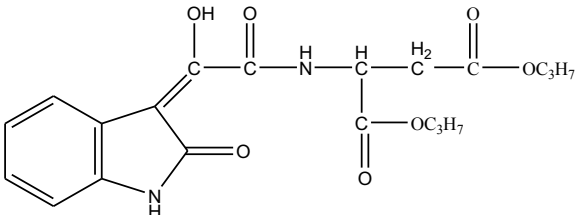
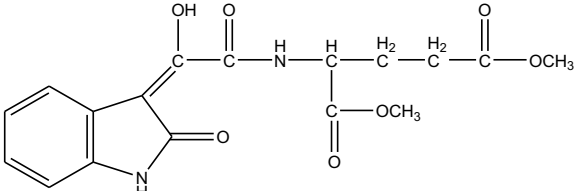
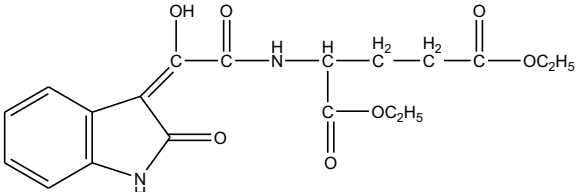
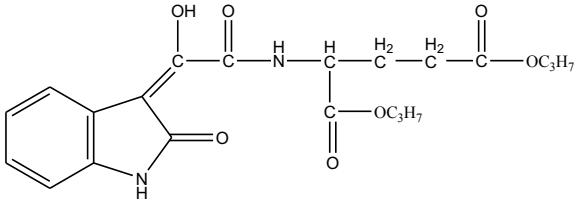
Результати PASS-прогнозу наведено в таблиці 3.1.

Таблиця 3.1

**Комп'ютерний прогноз фармакологічної активності ацильованих похідних N-[(2-оксоіндолініліден-3)-2-оксіацетил]-амінокислот за програмою PASS**

№ п/п	Шифр речовини	Структурна формула	Фармакологічна дія (ймовірність, %)
1	2	3	4
1	6.1		<p align="center">Діуретична (58) Антигіпоксична (50)</p>

1	2	3	4
2	6.2		<p>Діуретична (50) Антигіпоксична (52)</p>
3	6.3		<p>Діуретична (63) Антигіпоксична (60)</p>
4	7.1		<p>Інгібітор химозину(50) Антидепресивна (55)</p>
5	7.2		<p>Інгібітор химозину (53) Імуностимулювальна (60)</p>
6	7.3		<p>Антигіпоксична (51) Протизапальна (61)</p>
7	8.1		<p>Діуретична (50) Антидепресивна (52)</p>
8	8.2		<p>Діуретична (55) Протизапальна (56)</p>

1	2	3	4
9	8.3		Протизапальна (54) Інгібітор хімозину (63)
10	9.1		Діуретична (50) Антидепресивна (51)
11	9.2		Антигіпоксична (53) Діуретична (50)
12	9.3		Антипіретична (54) Діуретична (50)

З урахуванням даних PASS-прогнозу для похідних (2-оксоіндолініліден-3)-2-оксіоцтової кислоти виникла підстава для очікування декількох видів фармакологічної активності з вірогідністю вище 50 %, таких як протизапальна, антигіпоксична, імуностимулювальна, антидепресивна діуретична. Серед прогнозованих видів активності переважала діуретична (у 8 з 12 субстанцій) та меншою мірою протизапальна (у 3 з 12 субстанцій), антигіпоксична (у 5 з 12 субстанцій), антидепресивна (у 3 з 12 субстанцій) та інші види фармакологічної активності.

Таким чином, результати PASS-прогнозу для похідних (2-оксоіндолініліден-3)-2-оксіоцтової кислоти дають підставу для експериментального підтвердження наявності діуретичної активності нових речовин.

### 3.2 Вивчення діуретичної активності ацильованих похідних – естерів N-[(2-оксоіндолініліден-3)-2-оксіацетил]-амінокислот та визначення сполуки-лідера

Як показують дані літератури, хімічні речовини, що мають у своїй структурі гетероциклічну систему 2-оксоіндоліну, останнім часом привертають увагу хіміків-синтетиків та фармакологів завдяки притаманному їм широкому спектру фармакологічної дії [49, 51, 52, 133, 175, 179, 230, 292, 297].

У медичній практиці також широко застосовують препарати амінокислот, які характеризуються нешкідливістю, малою вираженістю побічних ефектів та відсутністю алергізуючої дії [40].

Спроба поєднання в структурі нової групи хімічних сполук фрагменту 2-оксоіндоліну та залишків  $\omega$ -амінокислот привела до вдалого синтезу речовин, які за результатами фармакологічного скринінгу показали наявність багатьох видів активності: ноотропної, анксиолітичної, протизипальної та ін. [49, 51, 52, 133]. Однак діуретична активність похідних N-[(2-оксоіндолініліден-3)-2-оксіацетил]-амінокислоти дотепер не вивчалася.

Метою нашого дослідження стало вивчення діуретичної дії нових похідних N-[(2-оксоіндолініліден-3)-2-оксіацетил]-амінокислот, виявлення серед них речовини з найбільш вираженою діуретичною активністю для подальшого вибору як потенційного діуретика.

Діуретичну активність сполук вивчали на білих щурах-самцях за умов водного навантаження [17]. Оцінку діуретичної активності проводили за показником інтенсивності сечовиділення – кількості сечі, виділеної тваринами за 2 год у перерахунку на 100 г маси тіла. Кількість сечі, виділеної тваринами з групи інтактного контролю, брали за 100 %

Результати вивчення діуретичної активності естерів N-[(2-оксоіндолініліден-3)-2-оксіацетил]-амінокислот у дозі 5 мг/кг за умов водного навантаження свідчать, що вона притаманна 4 із 12 сполук на рівні 15; 44; 68 та 98 % (табл. 3.2) [83, 87].

**Діуретична активність досліджуваних естерів N-[(2-оксоіндолініліден-3)-2-оксіяцетил]-амінокислот за умов водного навантаження ( $\bar{X} \pm S\bar{x}$ , n=10)**

Шифр досліджуваної субстанції	Діурез, мл/100 г за 2 год	Діуретична активність, %
Інтакtnий контроль	1,56±0,06	-
6.1	2,62±0,07*/**	68
6.2	1,64±0,02**/**	5
6.3	3,09±0,08*/**/**	98
7.1	1,20±0,15*/**/**	-
7.2	1,14±0,04*/**/**	-
7.3	1,28±0,07*/**/**	-
8.1	1,80±0,05*/**/**	15
8.2	2,25±0,06*/**/**	44
8.3	1,16±0,09*/**/**	-
9.1	1,40±0,02*/**/**	-
9.2	1,52±0,02**/**	-
9.3	1,55±0,09**/**	-
Фуросемід, 5 мг/кг	5,40±0,07*/**	246
Гідрохлоротіазид, 25 мг/кг	2,65±0,08*/**	70

Примітки:

1. \* – відхилення достовірні відносно інтактного контролю,  $p < 0,05$ ;
2. \*\* – відхилення достовірні відносно фуросеміду,  $p < 0,05$ ;
3. \*\*\* – відхилення достовірні відносно гідрохлоротіазиду,  $p < 0,05$ ;
4. n – кількість тварин у групі.

Найвиразнішу діуретичну активність виявляла сполука під шифром 6.3 – пропіловий естер N-[(2-оксоіндолініліден-3)-2-оксіяцетил]-валіну, застосування



якої у дозі 5 мг/кг збільшувало діурез у щурів на 98 % відносно інтактного контролю (табл. 3.2) [82, 85].

Також слід відзначити, що за показником діуретичної активності пропіловий естер N-[(2-оксоіндолініліден-3)-2-оксіацетил]-валіну в дозі 5 мг/кг за умов водного навантаження перевершував у 1,2 разу препарат порівняння гідрохлоротіазид, доза якого у п'ять разів вища – 25 мг/кг, проте поступався у 1,8 разу фуросеміду в дозі 5 мг/кг.

У результаті проведеного дослідження виявлена залежність діуретичної активності нових похідних N-[(2-оксоіндолініліден-3)-2-оксіацетил]-амінокислот від наявності в їх молекулі різних функціональних груп.

Порівняння діуретичної активності двох підгруп досліджуваних сполук, що містять у своїх молекулах залишок одноосновних амінокислот валіну та лейцину (відповідно сполуки під шифром 6.1-6.3 та 7.1-7.3) та сполук, що містять залишки двоосновних амінокислот аспарагінової (8.1-8.3) та глутамінової (9.1-9.3) свідчить, що в цих двох підгрупах виявлено по 2 активні сполуки. В цілому сполуки, що містять залишки одноосновної амінокислоти валіну (6.1 та 6.3), виявили вищу діуретичну активність (68; 98 %), ніж сполуки (8.1 та 8.2), що містять залишки двоосновних амінокислот. У підгрупі сполук, що містять радикали одноосновних амінокислот, діуретична активність притаманна тільки сполукам з наявністю амінокислоти валіну (6.1 та 6.3). У підгрупі сполук, що містять залишки двоосновних амінокислот аспарагінової та глутамінової, діуретична активність виявлена у 2 похідних із 3, що містять радикали аспарагінової кислоти (8.1 та 8.2). Сполуки – естери глутамінової кислоти (9.1-9.3), не виявили діуретичний ефект. У парах сполук з підгруп, що містять залишки одноосновної амінокислоти валіну та двоосновної аспарагінової кислоти, підвищення діуретичного ефекту відбувається з подовженням ланцюга естерного залишку від метилу до пропілу.

Таким чином, за результатами дослідження діуретичної активності виявлено сполуку-лідер – пропіловий естер N-[(2-оксоіндолініліден-3)-2-оксіацетил]-валіну (сполука під шифром 6.3), якій дали умовну назву «індолінорен».

### 3.3 Визначення умовно-ефективної дози сполуки-лідера за діуретичною активністю за умов водного навантаження

За результатами попередніх скринінгових досліджень обрано сполуку 6.3, що має найбільш виражений діуретичний ефект серед 12 нових похідних N-[(2-оксоіндолініліден-3)-2-оксіацетил]-амінокислоти. На етапі скринінгу використано дозу 5 мг/кг, у якій нова сполука виявила значний діуретичний ефект на рівні 98 %. Тому доцільно було визначити умовно-ефективну дозу індолінорену, для чого його вводили в дозах 5, 15, 30 та 45 мг/кг маси тіла тварин одночасно із водним навантаженням.

Отримані результати наведені у табл. 3.3.

Таблиця 3.3

#### Діуретична активність індолінорену у щурів з водним навантаженням

$$(\bar{X} \pm S\bar{x}, n=10)$$

Дослідна група	Доза, мг/кг	Діурез мл/100 г за 4 год	Діуретична активність, %
Інтактний контроль	-	1,85±0,06	-
Фуросемід	5	6,33±0,17*	344
Гідрохлоротіазид	40	3,15±0,15*	170
Індолінорен	5	5,08±0,25*/**/**	275
	15	5,55±0,30*/**	300
	30	6,43±0,21*/**	348
	45	6,30±0,21*/**	341

Примітки:

- \* – відхилення достовірні відносно інтактного контролю,  $p < 0,05$ ;
- \*\* – відхилення достовірні відносно фуросеміду,  $p < 0,05$ ;
- \*\*\* – відхилення достовірні відносно гідрохлоротіазиду,  $p < 0,05$ ;
- n – кількість тварин у групі.

У результаті проведеного експерименту встановлено дозозалежну діуретичну активність досліджуваної сполуки. Максимальну дію індолінорен виявляв у дозі 30 мг/кг (348 % відносно інтактного контролю). Підвищення дози сприяло незначному зниженню діуретичної активності. Також, слід зазначити, що за всіх режимів дозування нова сполука виявляла діуретичну активність [86].

Оскільки достовірної різниці відносно діуретичних ефектів при введенні доз 15, 30 та 45 мг/кг не встановлено, доцільно було побудувати графік розподілу «доза-активність» та визначити дозу сполуки, ізоефективну ефекту потужного діуретика фуросеміда (рис. 3.1).



Рис. 3.1 Графік розподілу «доза-активність».

За допомогою графіку встановлено ізоефективну дозу індолінорену – дозу, при введенні якої діуретичний ефект, еквівалентний ефекту препарату порівняння фуросеміду. Ця доза становила 29,5 мг/кг і була обрана як умовно-ефективна [86].

Отже, для подальших фармакологічних досліджень діуретичної активності та індолінорену була обрана умовно-ефективна доза 29,5 мг/кг [53, 54, 86].

### 3.4 Дослідження діуретичної дії індолінорену в умовно-ефективній дозі протягом доби

Враховуючи дані PASS-прогнозу та наявність виразної діуретичної дії субстанції 6.3 в попередньому експерименті, доцільно було провести дослідження її діуретичної активності в умовно-ефективній дозі 29,5 мг/кг [53, 54] за показником інтенсивності сечовиділення – кількості сечі, виділеної тваринами за різні проміжки часу в перерахунку на 100 г маси тіла за умов водного навантаження, за яких функціональна активність нирок підвищується [17]. Препаратами порівняння було обрано фуросемід та індапамід [158, 159].

Результати дослідження наведено в таблиці 3.4.

Таблиця 3.4

#### Діуретична активність індолінорену у дозі 29,5 мг/кг за умов спонтанного діурезу протягом доби ( $\bar{X} \pm S\bar{x}$ , n=10)

Умови досліджу	Діурез за перші 2 год досліджу, мл	Діурез за наступні 2 год досліджу, мл (через 4 год)	Діурез за наступні 20 год досліджу, мл
Інтакtnий контроль	1,00±0,02	1,14±0,09	1,11±0,05
Індолінорен, 29,5 мг/кг	2,95±0,11*/**/**	5,45±0,14*/**/**	2,05±0,13*/**/**
Фуросемід, 5 мг/кг	5,80±0,14*/**/**	2,45±0,06*/**/**	2,00±0,09*
Індапамід, 0,15 мг/кг	1,50±0,11*/**	1,80±0,07*	3,45±0,16*

Примітки:

- \* – відхилення достовірні відносно інтактного контролю,  $p < 0,05$ ;
- \*\* – відхилення достовірні відносно фуросеміду,  $p < 0,05$ ;
- \*\*\* – відхилення достовірні відносно індапаміду,  $p < 0,05$ ;
- n – кількість тварин у групі.

Одержані дані свідчать, що індолінорен у дозі 29,5 мг/кг виявляв діуретичну дію протягом усього періоду експерименту. Максимальний діурез зареєстровано у період між 2 та 4 год експерименту. Протягом наступних 20 год досліджу діуретична активність індолінорену знизилася.

Активність індолінорену, визначена через 2 год, перевищувала активність індапаміду майже в 2 рази, через наступні 2 год експерименту – у 3 рази. Встановлено, що індолінорен поступався фуросеміду впродовж перших 2 год експерименту, та перевищував його активність в 2,2 разу впродовж наступних 2 год досліджу (табл. 3.4).

Одержані дані відносно діуретичної дії препарату порівняння фуросеміду збігаються з даними літератури, які свідчать про пік активності препарату впродовж перших 2 год [59]. Максимальний діурез препарату порівняння індапаміду зареєстровано у період між 4 та 24 год експерименту, що також відповідає даним літератури [59].

Отже, одержані дані підтверджують наявність діуретичної дії індолінорену та дають підставу для подальшого його вивчення. Також вищенаведені дані дають змогу припустити, що нова субстанція відноситься до групи діуретиків середньої швидкості та тривалості дії.

### 3.5 Визначення гострої токсичності індолінорену

Однією з важливих характеристик нового лікарського препарату є його безпека для здоров'я людини. Визначення гострої токсичності, як правило, є першим етапом фармакологічного дослідження, на якому отримують інформацію про безпеку досліджуваного засобу за умов короткочасної дії. Вивчення гострої токсичності спрямовано на встановлення кількісних параметрів токсичності субстанції ( $LD_{50}$ ), вивчення характеру і специфічності токсичного ефекту, а також на визначення існуючих видових та статевих відмінностей в чутливості до токсичного агенту [45]. У зв'язку з цим, наступним етапом нашої роботи стало вивчення гострої токсичності індолінорену.

Середню летальну дозу ( $LD_{50}$ ) індолінорену визначали за методом Кербера на двох видах лабораторних тварин – нелінійних білих мишах різної статі масою 18-20 г та білих щурах різної статі масою 180-220 г за умов внутрішньоочеревинного та внутрішньошлункового введення.

Внутрішньошлунково індолінорен уводили мишам у дозах від 2000 до 8000 мг/кг, щурам – від 3000 до 11000 мг/кг маси тіла тварини.

Середню летальну дозу індолінорену при внутрішньошлунковому шляху введення встановити не вдалося, оскільки усі тварини залишилися живими, рухливими, з нормальним апетитом та блискучим смухом впродовж усього періоду дослідження.

Індолінорен уводили внутрішньоочеревинно мишам та щурам у дозах від 1000 до 6000 мг/кг у вигляді водної тонко-дисперсної суспензії, стабілізованої твіном-80. Кожну дозу досліджували на 6 тваринах.

Результати визначення гострої токсичності індолінорену на мишах наведено в таблиці 3.5.

*Таблиця 3.5*

**Середня летальна доза ( $LD_{50}$ ) індолінорену за умов  
внутрішньоочеревинного введення мишам (n=6)**

№ серії	Доза, мг/кг	Ефект, який спостерігається		$LD_{50}$ , мг/кг	Довірчі інтервали
		загибло тварин	вижило тварин		
1	1000	0	6	4000	3019÷4980
2	2000	1	5		
3	3000	1	5		
4	4000	2	4		
5	5000	5	1		
6	6000	6	0		

Примітка. n – кількість тварин у групі.

Встановлено, що середня летальна доза при внутрішньоочеревинному

шляху введення мишам склала  $4000 \pm 380,7$  мг/кг.

Внутрішньоочеревинне введення індолінорену щурам дозволило розрахувати середню летальну дозу для цього виду тварин (табл. 3.6).

Таблиця 3.6

**Середня летальна доза ( $LD_{50}$ ) індолінорену  
за умов внутрішньоочеревинного введення щурам (n=6)**

№ серії	Доза, мг/кг	Ефект, який спостерігається		$LD_{50}$ , мг/кг	Довірчі інтервали
		загинуло тварин	вижило тварин		
1	1000	0	6	3167	2115÷4218
2	2000	2	4		
3	3000	2	4		
4	4000	5	1		
5	5000	5	1		
6	6000	6	0		

Примітка. n – кількість тварин у групі.

Встановлено, що середня летальна доза ( $LD_{50}$ ) за умов внутрішньоочеревинного введення щурам становила  $3167 \pm 409,0$  мг/кг.

Таким чином, нова сполука індолінорен за класифікацією К. К. Сидорова [45] відноситься до VI класу токсичності, тобто є відносно нешкідливою речовиною.

Висновки до розділу 3:

1. За результатами комп'ютерного прогнозу фармакологічної активності 12 нових похідних N-[(2-оксоіндолініліден-3)-2-оксіацетил]-амінокислоти серед імовірних видів активності була спрогнозована діуретична у 8 з 12 субстанцій (сполуки під шифром 6.1; 6.2; 6.3; 8.1; 8.2; 9.1; 9.2; 9.3).

2. У результаті скринінгових фармакологічних досліджень встановлено,

що сполукам 8.1; 8.2; 6.1 та 6.3 у дозі 5 мг/кг притаманна діуретична активність на рівні 15; 44; 68 та 98 %, відповідно. Визначена сполука-лідер – пропіловий естер N-[(2-оксоіндолініліден-3)-2-оксіацетил]-валіну під шифром 6.3 отримала умовну назву «індолінорен», яка за виразністю діуретичного ефекту перевершує дію гідрохлоротіазиду в дозі 25 мг/кг у 1,2 разу ( $p < 0,05$ ), проте поступається фуросеміду в дозі 5 мг/кг у 1,8 разу.

3. Виявлена залежність діуретичної активності нових похідних N-[(2-оксоіндолініліден-3)-2-оксіацетил]-амінокислот від наявності в їх молекулі естерного залишку. Встановлено, що підвищенню діурезу сприяють сполуки, які містять у своїх молекулах залишок одноосновної амінокислоти валіну та двоосновної аспарагінової амінокислоти.

4. Визначена умовно-ефективна доза індолінорену. При внутрішньошлунковому шляху введення за умов діурезу з водним навантаженням щурам вона становила 29,5 мг/кг маси тіла.

5. При дослідженні впливу індолінорену на діурез протягом доби за умов водного навантаження встановлено, що індолінорен у дозі 29,5 мг/кг сприяє підвищенню діурезу у перші 2 год дослідження в 3 рази; у наступні 2 год – в 4,8 разу; через 20 год – в 1,8 разу відносно групи інтактного контролю. Максимальна діуретична активність індолінорену зареєстрована протягом перших 4 год від початку дослідження. За виразністю діуретичної активності індолінорен протягом перших двох год поступається фуросеміду та перевершує індапамід у 2 рази відповідно ( $p < 0,05$ ); перевершує обидва препарати порівняння з другої по четверту год в 2,2 та 3 рази відповідно ( $p < 0,05$ ); поступається індапаміду через 24 год після введення в 1,7 разу ( $p < 0,05$ ). Така динаміка характеризує індолінорен як діуретик помірної сили та середньої тривалості дії.

6. Середня летальна доза індолінорену при внутрішньоочеревинному введенні мишам та щурам склала  $4000 \pm 380,7$  та  $3167 \pm 409,0$  мг/кг відповідно; при внутрішньошлунковому введенні мишам  $LD_{50} > 8000$  мг/кг, щурам –  $LD_{50} > 11000$  мг/кг, що дозволяє віднести індолінорен до VI класу токсичності (відносно нешкідливі речовини) за класифікацією К. К. Сидорова.



*Результати експериментальних досліджень даного розділу наведено в таких публікаціях:*

1. Маркіна А. Ю. Тюпка Т. И. Экспериментальное подтверждение эффективности нового производного 2-оксоиндолина – потенциального диуретического средства. *Вестник КАЗНМУ*. 2013. № 5 (1). С. 163-165. (Особистий внесок – огляд та аналіз літературних джерел, складання плану експерименту, підготовка та проведення експерименту, аналіз та узагальнення результатів, статистична обробка даних, оформлення статті до друку).
2. Маркіна А. Ю., Мищенко О. Я. Скрининговые исследования новых производных 2-оксоиндолина. *Фармакологія та лікарська токсикологія*. 2017. №3 (54). С. 69-73. (Особистий внесок – огляд та аналіз літературних джерел, підготовка та проведення експерименту, аналіз та узагальнення результатів, статистична обробка даних, оформлення статті до друку).
3. Застосування пропілового естеру N-[(2-оксоіндолініліден-3)-2-оксіацетил]-валіну як діуретичного засобу: пат. на корисну модель 63373 України, МПК А61К 31/197 (2006.01) А61Р 7/10 (2006.01). № u 201102236; заявл. 25.02.2011; опубл. 10.10.2011; Бюл. № 19. (Особистий внесок – аналіз джерел літератури, постановка експерименту, відбір та підготовка матеріалу, статистична обробка даних, аналіз та узагальнення результатів).
4. Застосування пропілового естеру N-[(2-оксоіндолініліден-3)-2-оксіацетил]-валіну як діуретичного засобу: пат. на винахід 101844 України, МПК А61К 31/404 (2006.01), А61К 31/198 (2006.01), А61Р 7/10 (2006.01) № а 2011 02237; заявл. 25.02.2011; опубл. 13.05.2013, Бюл. № 9. (Особистий внесок – аналіз джерел літератури, постановка експерименту, відбір та підготовка матеріалу, статистична обробка даних, аналіз та узагальнення результатів).
5. Маркіна А. Ю., Мищенко О. Я. Вивчення діуретичної активності нових ацильованих похідних 2-оксоіндоліну. *V національний з'їзд фармакологів України: тези допов. V національного з'їзду фармакологів України*, м. Запоріжжя, 18-20 жовтня 2017 р. З. : ЗДМУ, 2017. С. 88.

6. Маркіна А. Ю., Міщенко О. Я. Визначення умовноефективної дози за діуретичною активністю нового ацильованого похідного 2-оксоіндоліну. *Вплив науково-технічного прогресу на розвиток медичної науки та практики: реалії сьогодення*: мат. міжн. наук-практ. конф., м. Київ, 13-14 липня, 2018. К. : «Київський медичний науковий центр», 2018. С. 96-99.
7. Маркіна А. Ю., Міщенко О. Я. Діуретична активність нового ацильованого похідного 2-оксоіндоліну: *інформаційний лист Укрмедпатентінформу МОЗ України*. Вип. 6 з проблеми «Фармація» № 189-2017. К., 2017. 3 с. (Особистий внесок – постановка експерименту, відбір та підготовка матеріалу, статистична обробка даних, аналіз результатів, оформлення матеріалів до друку).

## РОЗДІЛ 4

### ВИВЧЕННЯ ОСОБЛИВОСТЕЙ ТА ОКРЕМИХ МЕХАНІЗМІВ ДІУРЕТИЧНОЇ ДІЇ ІНДОЛІНОРЕНУ

4.1 Вплив індолінорену на функціональний стан нирок при одноразовому та багаторазовому введенні за умов спонтанного діурезу

Нирки, як одна з складових частин функціональної системи водно-сольового обміну, забезпечують підтримання основних констант внутрішнього середовища організму тварин і людей, модулюючи стан своїх функціональних резервів і механізмів [57, 106, 307]. Напруження роботи систем регуляції водно-сольового балансу створює передумови для розвитку ниркової недостатності. Важливою проблемою медицини є фармакологічна корекція регуляторних механізмів видільної функції нирок, яка спрямована на вирівнювання змін водно-електролітного балансу в організмі хворої людини [290, 293, 307].

4.1.1 Вплив одноразового введення індолінорену на функціональний стан нирок за умов спонтанного діурезу

Досліди проведені на білих нелінійних щурах масою  $200 \pm 20$  г. Досліджувані показники визначені через 24 год від початку експерименту.

У ході експерименту встановлено, що при одноразовому введенні індолінорену в дозі 29,5 мг/кг [53, 54, 89] за умов спонтанного діурезу відмічено збільшення діурезу в 2,7 разу ( $p < 0,05$ ). Протягом експерименту не відмічено достовірної різниці у групі інтактних тварин та групі щурів, яким вводили індолінорен відносно показників питної активності. Вміст креатиніну в крові щурів на тлі індолінорену не мав достовірної різниці відносно групи інтактного контролю (табл. 4.1). Відмічено збільшення екскреції білка та сечової кислоти з сечею, хоча відмінності не були статистично достовірними відносно групи інтактного контролю (табл. 4.1).

**Вплив індолінорену у дозі 29,5 мг/кг на видільну функцію нирок щурів при одноразовому введенні за умов спонтанного діурезу ( $\bar{X} \pm S\bar{x}$ , n=10)**

Досліджувані показники	Умови досліджу	
	Інтактний контроль	Індолінорен, 29,5 мг/кг
Добовий діурез, мл/100 г	2,87±0,24	7,61±0,35*
Питна активність, мл/100 г за добу	3,25±0,21	3,15±0,24
Вміст креатиніну в крові, мкмоль/л	50,09±2,80	50,01±2,81
Екскреція креатиніну, мкмоль/100 г за добу	12,60±1,65	13,90±1,27
Екскреція сечової кислоти, мкмоль/100 г за добу	9,40±0,93	10,05±0,81
Екскреція білка, мг/100 г за добу	0,77±0,02	0,85±0,02
Екскреція натрію, мкмоль/100 г за добу	106,1±8,3	329,0±8,4*
Екскреція калію, мкмоль/100 г за добу	80,4±8,02	221,15±15,1*
Коефіцієнт Na <sup>+</sup> /K <sup>+</sup> сечі	1,32±0,06	1,49±0,04*

Примітки:

1.\* – відхилення достовірні відносно показників інтактного контролю,  $p < 0,05$ ;

2. n – кількість тварин у групі.

Оскільки екскреція креатиніну достовірно не змінювалася, можна зробити висновок, що індолінорен суттєво не впливав на швидкість клубочкової фільтрації. Відмічено достовірне підвищення натрійурезу та калійурезу в 3 рази та в 2,8 разу відповідно. Привертає увагу достовірне зростання натрій-калієвого коефіцієнту сечі під впливом індолінорену, що може свідчити про послаблення мінералокортикоїдного контролю видільної функції нирок [159, 212, 304].

Одержані дані можуть свідчити, що діуретична активність індолінорену реалізується за рахунок підвищення екскреторної функції нирок – натрій- та калійурезу.

#### 4.1.2 Вплив багаторазового введення індолінорену на функціональний стан нирок за умов спонтанного діурезу

Дослідження було спрямоване на вивчення впливу індолінорену на видільну функцію нирок при багаторазовому введенні в дозі 29,5 мг/кг за умов спонтанного діурезу [53, 54]. Досліди проведені на білих нелінійних щурах.

За умов введення індолінорену протягом 7 днів при спонтанному діурезі та вільному доступі до води спостерігали достовірне збільшення діурезу у тварин дослідної групи протягом усього періоду експерименту [247].

Встановлено, що багаторазове введення індолінорену в дозі 29,5 мг/кг збільшує діурез на 5-ту добу – в 4 рази; на 7-му добу – в 2,6 разу ( $p < 0,05$ ) (табл. 4.2) [247].

Таблиця 4.2

#### Вплив багаторазового введення індолінорену в дозі 25 мг/кг на видільну функцію нирок щурів за умов спонтанного діурезу ( $\bar{X} \pm S\bar{x}$ , $n=10$ )

Досліджувані показники	Умови досліджу			
	Інтактний контроль		Індолінорен, 29,5 мг/кг	
	5 доба	7 доба	5 доба	7 доба
1	2	3	4	5
Діурез, мл/100 г за 2 год	1,26±0,24	2,07±0,32	5,10±0,54*	5,47±0,67*
Питна активність, мл	3,35±0,22	3,10±0,30	3,00±0,33	3,38±0,40
Вміст креатиніну в крові, мкмоль/л	55,33±2,70	56,30±3,20	40,25±2,90*	33,54±2,10*

1	2	3	4	5
Екскреція сечової кислоти, мкмоль/100 г за 2 год	2,41±0,23	2,00±0,36	4,17±0,14*	4,22±0,22*
Екскреція білка, мг/100 г за 2 год	0,12±0,02	0,13±0,02	0,10±0,03	0,09±0,03
Екскреція натрію, мкмоль/100 г за 2 год	41,84±5,13	38,40±4,03	104,60±5,6*	88,32±4,9*
Екскреція калію, мкмоль/100 г за 2 год	75,10±6,6	78,57±9,06	157,71±12,7*	146,43±10,83*
Коефіцієнт Na <sup>+</sup> /K <sup>+</sup> сечі	0,57±0,03	0,51±0,04	0,71±0,05*	0,64±0,04*

Примітки:

1.\* – відхилення достовірні відносно показників інтактного контролю на відповідну добу досліду,  $p < 0,05$ ;

2. n – кількість тварин у групі.

Аналізуючи динаміку показників питної збудливості, ми встановили, що після повторного введення індолінорену в дозі 29,5 мг/кг мало місце деяке збільшення даного показника, проте не було достовірної різниці відносно групи інтактного контролю. Максимальне зниження питної активності відмічено на 5-ту добу експерименту (табл. 4.2). Після відміни індолінорену суттєвих змін питної активності не спостерігали.

У ході експерименту встановлено, що індолінорен чинить гіпоазотемічну

дію, про що свідчить достовірне зменшення вмісту креатиніну в крові щурів в 1,4 разу на 5-ту добу досліду та в 1,7 разу на 7-му добу ( $p < 0,05$ ) (табл. 4.2). Суттєво підвищувалась екскреція сечової кислоти, що може свідчити про урикозуричну дію індолінорену.

На тлі застосування індолінорену не відмічено суттєвих змін у екскреції білка, що може свідчити про збереження реабсорційної функції нирок.

Максимальний калійурез відмічено на 5-ту добу досліду (збільшення виведення іонів калію в 2,1 разу порівняно з інтактним контролем) ( $p < 0,05$ ) (табл. 4.2). Натрійурез також мав динаміку до зростання. Збільшення натрійурезу в 2,5 разу та 2,3 разу відмічено на 5-ту та 7-му добу, відповідно, після введення індолінорену ( $p < 0,05$ ) (табл. 4.2).

Під впливом індолінорену відмічено достовірне зростання натрій-калієвого коефіцієнту сечі, який наближається до одиниці, що свідчить про більш виразний натрійурез, ніж калійурез і послаблення мінералокортикоїдного контролю видільної функції нирок на тлі дії сполуки [304].

Отже, аналіз одержаних даних дає змогу припустити, що механізм діуретичної дії індолінорену пов'язаний з пригніченням каналцевої реабсорбції, про що опосередковано свідчить підвищення натрійурезу та калійурезу на фоні одночасного підвищення сечовиділення. Підвищення екскреції сечової кислоти свідчить про урикозуричні властивості індолінорену.

#### 4.2 Вплив багаторазового введення індолінорену на функціональний стан нирок за умов водного навантаження

Індолінорен у даному досліді вводили в дозі 29,5 мг/кг протягом 7 днів на тлі водного навантаження [17]. Досліджувані показники визначали на 7 добу через 2 год після останнього введення індолінорену (табл. 4.3).

Відмічено достовірне підвищення діурезу в 1,5 разу при незмінній питній активності, що свідчить про відсутність негативного впливу засобу на водно-електролітний обмін [247].

**Вплив індолінорену у дозі 29,5 мг/кг на видільну функцію нирок щурів при багаторазовому введенні за умов водного навантаження ( $\bar{X} \pm S\bar{x}$ , n=10)**

Досліджувані показники	Умови досліджу	
	Інтактний контроль	Індолінорен, 29,5 мг/кг
Діурез, мл /100 г за 2 год	1,90±0,41	2,85±0,45*
Питна активність, мл	3,15±0,20	3,05±0,28
ШКФ, мл/хв. на 100 г	0,11±0,04	0,25±0,05
Сечовина в сечі, ммоль/л	26,8±2,53	37,20±1,51*
Реабсорбція води, %	92,70±8,50	98,15±8,30
Екскреція натрію, ммоль/100 г за 2 год	46,56±5,24	139,68±14,92*
Екскреція калію, ммоль/100 г за 2 год	80,20±7,12	192,48±6,5*
Коефіцієнт Na <sup>+</sup> /K <sup>+</sup> сечі	0,63±0,03	0,74±0,03*

Примітки:

1. \* – відхилення достовірні відносно інтактного контролю, p<0,05;
2. n – кількість тварин у групі.

Підвищення реабсорбції води та ШКФ не було достовірним, що свідчить про відсутність виразного впливу сполуки на процеси клубочкової фільтрації.

Підвищення концентрації сечовини в сечі в 1,4 разу свідчить про покращення виведення нирками азотовмісних речовин [247].

Натрійурез на тлі уведення індолінорену зростав в 3 рази, а калійурез тільки в 2,4 разу, що може бути пов'язано з відносно селективним гальмуванням реабсорбції натрію. Слід зазначити підвищення натрій-калієвого коефіцієнту сечі в 1,2 разу під впливом індолінорену, що може свідчити про зниження мінералокортикоїдного контролю видільної функції нирок [304].

Отже, індолінорен у дозі 29,5 мг/кг при багаторазовому введенні за умов водного навантаження, як і за умов спонтанного діурезу, виявляв діуретичну



активність, що може бути пов'язано з підвищенням екскреторної функції нирок – натрійурезу і, в меншій мірі, калійурезу. Слід зазначити, що максимальне підвищення діурезу на тлі уведення індолінорену відмічено при багаторазовому введенні за умов спонтанного діурезу, найвиразніший натрійурез (у 4 рази) – при багаторазовому введенні за умов водного навантаження.

Одержані дані дають змогу припустити збереження діуретичного ефекту засобу впродовж тривалого застосування індолінорену у клінічній практиці.

#### 4.3 Вплив індолінорену на видільну функцію нирок за умов сольового навантаження

Дані відносно модуляції діуретичного ефекту сечогінних лікарських засобів сольовим режимом досить суперечливі. Зокрема, R. Babini et al. [178] встановили, що діуретичний ефект петльового діуретика фуросеміду зростав у кролів при зниженні вмісту солі в раціоні харчування. Інші результати, одержані Н. Herken [159] в експерименті на щурах, свідчать, що гостре сольове навантаження сприяло підвищенню діуретичної дії фуросеміду.

Наступним завданням нашої роботи було вивчення впливу індолінорену в дозі 29,5 мг/кг на видільну функцію нирок за умов водного (5 мл на 100 г маси тіла тварин) та сольового навантаження, яке відтворювали в/ш уведенням 0,45 % розчину натрію хлориду в кількості 3 % від маси тіла [159]. Препарат порівняння фуросемід вводили в дозі 5 мг/кг [159].

Аналіз одержаних даних свідчить, що за умов водного навантаження індолінорен збільшував виділення сечі на 167% відносно інтактного контролю ( $p < 0,05$ ) (табл. 4.4) [248]. Індолінорен виявляв салуретичний ефект, який супроводжувався збільшенням екскреції із сечею натрію на 132 % і підвищенням екскреції калію на 2,4 %, що може свідчити про зменшення їх реабсорбції в канальцях нефронів (табл. 4.4).

**Вплив індолінорену в дозі 29,5 мг/кг на діурез та екскрецію  
електролітів за умов водного і сольового навантаження ( $\bar{X} \pm S\bar{x}$ , n=10)**

Умови досліджу	Діурез за 2 год, мл/100 г	Екскреція, мкмоль/100 за 2 год			Na <sup>+</sup> /K <sup>+</sup> коефіцієнт сечі
		креатинін	натрій	калій	
<b>Водне навантаження (5 мл на 100 г маси тіла тварин)</b>					
Інтактний контроль	1,95±0,56	3,65±0,19	53,95±2,10	80,56±3,15	0,67±0,06
Індолінорен, 29,5 мг/кг	5,20±0,50*	3,70±1,10	125,10±6,20*	82,50±2,40**	1,51±0,04*
Фуросемід, 5 мг/кг	5,80±0,30*	4,10±1,40	127,00±6,40*	89,40±2,10*	1,42±0,05*
<b>Сольове навантаження (0,45% розчин NaCl в кількості 3 % від маси тіла)</b>					
Інтактний контроль	1,85±0,32	3,61±0,14	61,95±1,25	80,45±3,10	0,77±0,05
Індолінорен, 29,5 мг/кг	8,90±0,8*/**/@	3,60±0,5	140,65±5,90*/@	86,05±2,94	1,63±0,04*
Фуросемід, 5мг/кг	6,10±0,41*	4,30±0,63	155,80±4,20*/@	89,80±3,10	1,73±0,05*

Примітки:

- \* – відхилення достовірні відносно інтактного контролю, p<0,05;
- \*\* – відхилення достовірні відносно фуросеміду, p<0,05;
- @ – відхилення достовірні відносно відповідного показника в групі водного навантаження, p<0,05;
- n – кількість тварин у групі.

Встановлено, що при водному навантаженні не відмічено достовірної відмінності підвищення діурезу у щурів на тлі введення індолінорену та препарату порівняння фуросеміду (табл. 4.4). Не відмічено достовірної різниці показників екскреції креатиніну, що може свідчити про відсутність впливу індолінорену на швидкість клубочкової фільтрації [248].

Встановлено достовірне зростання натрій-калієвого коефіцієнта сечі на тлі введення індолінорену і препарату порівняння фуросеміду відповідно в 2,3 та 2,1 разу відносно інтактного контролю ( $p < 0,05$ ), що свідчить про більш виразний натрійурез, ніж калійурез на тлі їх дії [304].

За умов сольового навантаження у групі інтактного контролю відмічено підвищення натрійурезу та не відмічено достовірних змін показника екскреції креатиніну. Виведення калію та води було майже таким, як і при водному навантаженні. Отримані дані співпадають з даними літератури, які свідчать про затримку діурезу у тварин на другу год після сольового навантаження 0,4 % розчином натрію хлориду [17].

За умов сольового навантаження індолінорен підвищував виділення сечі у 4,8 разу ( $p < 0,05$ ), посилював екскрецію натрію в 2,3 разу ( $p < 0,05$ ) та практично не впливав на екскрецію калію ( $p > 0,05$ ) [248].

Препарат порівняння фуросемід при гіпернатрієвому раціоні сприяв підвищенню калійурезу та натрійурезу в 2,5 та 1,1 разу, відповідно, та підвищенню діурезу в 3,3 разу ( $p < 0,05$ ) відносно інтактного контролю, тобто поступався індолінорену за діуретичною активністю ( $p < 0,05$ ). Не виявлено достовірних змін показника екскреції креатиніну (табл. 4.4). Відмічено достовірне збільшення відносно групи інтактного контролю натрій-калієвого коефіцієнта сечі в 2,1 разу під впливом індолінорену і в 2,3 разу на тлі дії фуросеміду, що свідчить про більш виразне зростання натрійурезу, ніж калійурезу, та віддзеркалює зниження мінералокортикоїдного контролю видільної функції нирок, тобто антиальдостероновий вплив [159].

Отже, за умов СН діуретична та салуретична активність індолінорену в дозі 29,5 мг/кг збільшувалася та переважала відповідні показники за умов ВН. Збільшення натрійурезу і меншою мірою калійурезу під впливом індолінорену за умов ВН та СН дає змогу припустити, що діуретичний ефект реалізується за рахунок пригнічення каналцевого транспорту і практично не впливає на клубочкову фільтрацію, оскільки показники екскреції креатиніну, які виступають маркером клубочкової фільтрації, залишались на рівні вихідних показників.

#### 4. 4 Вплив індолінорену на видільну функцію нирок за умов блокади альдостеронових рецепторів

Враховуючи дані про те, що похідні індолу можуть пригнічувати секрецію альдостерону та покращувати нирковий кровобіг [263], наступним етапом нашої роботи стало вивчення впливу індолінорену на основні показники діяльності нирок за умов блокади альдостеронових рецепторів. Зниження мінералокортикоїдної активності моделювали введенням конкурентного антагоніста альдостеронових рецепторів спіронолактону в дозі 20 мг/кг [99]. Індолінорен вводили в/ш у дозі 29,5 мг/кг.

За умов блокади альдостеронових рецепторів, що підтверджено збільшенням діурезу в 1,5 разу ( $p < 0,05$ ) на тлі застосування спіронолактону, встановлено підвищення діурезу на тлі введення індолінорену в 4 рази, зростання екскреції іонів натрію в 3,8 разу відносно інтактного контролю ( $p < 0,05$ ) (табл. 4.5) [245].

Таблиця 4.5

**Вплив індолінорену в дозі 29,5 мг/кг на діурез та екскрецію електролітів за умов блокади альдостеронових рецепторів спіронолактоном ( $\bar{X} \pm S\bar{x}$ ,  $n=10$ )**

Умови досліджу	Діурез, мл/100 г за 4 год	Екскреція, мкмоль/100 г за 4 год		Na <sup>+</sup> /K <sup>+</sup> коєфі- цієнт сечі
		натрію	калію	
1	2	3	4	5
Інтактний контроль	2,29±0,15	65,20±9,12	80,12±10,90	0,81±0,05
Індолінорен, 29,5 мг/кг	6,40±2,83*/**	234,72±28,18*/**	60,24±7,50*/**/****	1,47±0,06*

1	2	3	4	5
Спіронолактон, 20 мг/кг	3,42±0,14*/***	117,36±12,40*/***	113,77±5,61*	1,03±0,03*
Індолінорен, 29,5 мг/кг + спіронолактон, 20 мг/кг	9,12±3,87*/**	247,76±15,10*/**	125,05±5,94*	1,98±0,04*

Примітки:

1. \* – відхилення достовірні відносно інтактного контролю,  $p < 0,05$ ;
2. \*\* – відхилення достовірні відносно спіронолактону,  $p < 0,05$ ;
3. \*\*\* – відхилення достовірні відносно групи індолінорен + спіронолактон,  $p < 0,05$ ;
4. n – кількість тварин у групі.

За умов блокади альдостеронових рецепторів, що підтверджено збільшенням діурезу в 1,5 разу ( $p < 0,05$ ) на тлі застосування спіронолактону, встановлено підвищення діурезу на тлі введення індолінорену в 4 рази, зростання екскреції іонів натрію в 3,8 разу відносно інтактного контролю ( $p < 0,05$ ) (табл. 4.5) [245]. Слід відзначити, що показник натрій-калієвого коефіцієнту сечі зростав у 2,4 разу відносно інтактного контролю ( $p < 0,05$ ).

Одержані дані свідчать про високу діуретичну активність індолінорену за умов зниженої мінералокортикоїдної активності та про сумачію діуретичного ефекту, що є важливою особливістю з точки зору перспектив сумісного застосування сполуки з калійзберігаючим діуретиком у клінічній практиці.

4.5 Вплив індолінорену на видільну функцію нирок за умов блокади дофамінових рецепторів

Дофамінові рецептори відіграють важливу роль у регуляції водно-сольового балансу організму, оскільки їх активація впливає на тонус артеріол, реабсорбцію натрію та води епітелієм каналців нефрона, секрецію альдостерону

кірковою речовиною надниркових залоз [104, 106].

У зв'язку з цим, наступним етапом нашої роботи стало вивчення впливу індолінорену на сечовидільну функцію нирок за умов блокади дофамінових рецепторів.

Пригнічення дофамінових рецепторів відтворювали шляхом застосування препарату домперидону – антагоніста дофаміну, який блокує його периферичні рецептори, має незначну проникність через гематоенцефалічний бар'єр та дуже рідко викликає екстрапірамідні побічні ефекти [109]. Домперидон вводили в дозі 40 мг/кг [99]. Індолінорен вводили у дозі 29,5 мг/кг [84].

Результати дослідження наведено в табл. 4.6.

Таблиця 4.6

**Вплив індолінорену в дозі 29,5 мг/кг на діурез та екскрецію електролітів за умов блокади дофамінових рецепторів ( $\bar{X} \pm S\bar{x}$ , n=10)**

Умови досліджу	Діурез, мл/100 г	Екскреція, мкмоль/4 год	
		натрію	калію
Інтактний контроль	3,10±0,20	44,74±4,82	72,00±14,55
Індолінорен, 29,5 мг/кг	8,60±0,61*/**/**	281,86±24,31*/**/**	208,00±5,68*/**/**
Домперидон, 40 мг/кг	1,15±0,20*/**	15,43±4,13*/**	40,00±4,74*/**
Індолінорен, 29,5 мг/кг + домперидон, 40 мг/кг	6,17±0,85*/**	170,00±12,20*/**	136,80±5,98*/**

Примітки:

1. \* – відхилення достовірні відносно інтактного контролю,  $p < 0,05$ ;
2. \*\* – відхилення достовірні відносно домперидону,  $p < 0,05$ ;
3. \*\*\* – відхилення достовірні відносно групи індолінорен + домперидон,  $p < 0,05$ ;
4. n – кількість тварин у групі.

За умов блокади дофамінових рецепторів домперидоном відмічено зниження діурезу в 2,7 разу порівняно з групою інтактного контролю ( $p < 0,05$ ); екскреції іонів натрію – в 2,9 разу, калію – в 1,8 разу (табл. 4.6).

Уведення індолінорену в дозі 29,5 мг/кг за умов блокади дофамінових рецепторів призводило до зниження ( $p < 0,05$ ) діурезу в 1,4 разу, екскреції іонів натрію та калію в 1,7 та 1,5 разу, відповідно, відносно окремого введення індолінорену, що може свідчити про ймовірне залучення до реалізації його діуретичного ефекту дофамінергічного механізму (табл. 4.6) [74].

#### Висновки до розділу 4:

1. Індолінорен у дозі 29,5 мг/кг за умов вільного доступу до води та спонтанного діурезу підвищує добовий діурез в 2,7 разу ( $p < 0,05$ ), а також збільшує екскрецію іонів калію – в 2,8 разу, натрію – в 3 рази. Відмічено достовірне підвищення натрій-калієвого коефіцієнту сечі.

2. При багаторазовому введенні індолінорену за умов вільного доступу до води та спонтанного діурезу індолінорен підвищує добовий діурез на 5 та 7 добу в 4 та 2,6 разу відповідно ( $p < 0,05$ ); збільшує на 5 добу натрійурез у 2,5 разу і меншою мірою калійурез у 2,1 разу. Достовірне зменшення вмісту креатиніну в крові шурів у 1,4 та в 1,7 разу відповідно на 5 та 7 добу може свідчити про гіпоазотемічну дію індолінорену, а підвищення екскреції сечової кислоти – про урикозуричні властивості.

3. Багаторазове введення індолінорену шурам за умов водного навантаження збільшує діурез в 1,5 разу, натрійурез у 3 разу і калійурез у 2,4 разу. Відмічено підвищення натрій-калієвого коефіцієнту сечі в 1,2 разу під впливом індолінорену, що може свідчити про зниження мінералокортикоїдного контролю видільної функції нирок. Підвищення концентрації сечовини в сечі в 1,4 разу може свідчити про покращення виведення нирками азотовмісних речовин.

4. На тлі сольового навантаження індолінорен викликає достовірне

підвищення діурезу в 4,8 разу, натрійурезу в 2,3 разу та меншою мірою калійурезу. Встановлено збільшення  $\text{Na}^+/\text{K}^+$  коефіцієнта сечі в 2,1 разу відносно групи інтактного контролю.

5. За умов блокади альдостеронових рецепторів індолінорен сприяє підвищенню діурезу, натрійурезу та, в меншій мірі, калійурезу.

6. За умов пригнічення дофамінових рецепторів відмічено зниження діуретичної та салуретичної активності індолінорену, що може свідчити про ймовірне залучення до реалізації діуретичного ефекту індолінорену дофамінергічного механізму.

*Результати експериментальних досліджень даного розділу наведено в таких публікаціях:*

1. Markina A. Yu., Mishchenko O. Ya. The study of the peculiarities of the diuretic action of 2-oxoindoline acylated derivative – N-[(2-oxoindoliniliden-3)-2-oxuacetyl]-valine propyl ester. *Клінічна фармація*. 2018. Vol. 3 (22). P. 17-21. (Особистий внесок – огляд та аналіз літературних джерел, постановка експерименту, проведення біохімічних досліджень, аналіз та узагальнення результатів, статистична обробка даних, оформлення статті до друку).
2. Markina A., Mishchenko O. The influence of indolinoren on kidney function in conditions of water and salt load. *ScienceRise: Pharmaceutical Science*. 2018. Vol. 4 (14). P. 20-23. (Особистий внесок – огляд та аналіз літературних джерел, постановка експерименту, проведення біохімічних досліджень, аналіз та узагальнення результатів, статистична обробка даних, оформлення статті до друку).
3. Маркіна А. Ю., Тюпка Т. І. Вплив одноразового введення індолінорену на функціональний стан нирок. *Ліки – людині. Сучасні проблеми створення, вивчення та апробації лікарських засобів: тези ХХІХ Всеукраїнської наук.-практ. конф. з міжнар. участю, м. Харків, 15 березня, 2012 р. Х. : Вид-во НФаУ, 2012. С. 108.*



4. Маркіна А. Ю., Міщенко О. Я. Вивчення впливу індолінорену на сечовидільну функцію нирок за умов блокади дофамінових рецепторів. *Актуальні питання біології та медицини: тези XIV міжрегіональної наукової конференції*, м. Старобільськ, 22-23 грудня, 2016 р. м. Старобільськ. С. : Вид-во ДЗ «ЛНУ імені Тараса Шевченка», 2017. С. 104-105.
5. Markina A. Y. Indolinoren impact on urinary function of kidneys with terms of aldosterone receptor blockade. *Topical issues of new drugs development: abstracts XXIV International scientific and practical conference of young scientists and student*, Kharkiv, April 20, 2017. X. : Вид-во НФаУ, 2017. P. 57.

## РОЗДІЛ 5

### ДОСЛІДЖЕННЯ ЕКСТРАРЕНАЛЬНИХ ФАРМАКОЛОГІЧНИХ ВЛАСТИВОСТЕЙ ІНДОЛІНОРЕНУ

5.1 Визначення антиексудативної активності індолінорену на моделі карагенінового набряку у щурів

Похідні арахідонової кислоти (простагландини, лейкотрієни) широко відомі як медіатори запалення при ексудативних процесах. Крім того, деякі з простагландинів відіграють важливу роль у підтримці гомеостазу, а також у детермінації структурно-функціонального стану структур нирки і реалізації адаптаційних реакцій в органі як за базальних умов, так і за умов патогенезу нефропатій, індукованих екстраренальними факторами (шок, токсемія, ішемія, синдром системної відповіді на запалення) [46, 105].

Активація різними формами стресу ферменту ліпооксигенази-5 призводить до продукції лейкотрієнів з арахідонової кислоти, мішенню дії яких є в основному судинні клубочки і стромальні елементи нирки [115].

Запальна реакція в нирках реалізується через активацію і проліферацію фібробластів і структурних клітин нирки. Фібропроліферативні процеси через утворення своєрідного бар'єра відокремлюють осередок постійного ушкодження від оточуючої тканини. Проліферація згодом заміщується апоптозом, призводячи до фіброзування нирки [114, 115].

Існуючі на сьогодні НПЗЗ шляхом блокади простагландинів  $E_2$  і простацикліну викликають звуження судин, що веде до погіршення ниркового кровотоку, наслідком чого є зниження ШКФ та діурезу. В результаті можуть відбуватися порушення водно-електролітного обміну. Деякі НПЗЗ, зокрема індометацин, також можуть здійснювати прямий токсичний вплив на паренхіму нирок, викликаючи інтерстиційний нефрит [150].

У зв'язку з вищенаведеними даними, доцільним було дослідити антиексудативну активність індолінорену на експериментальній моделі гострого

карагенінового набряку. Препаратом порівняння обрано неселективний інгібітор циклооксигенази – натрію диклофенак у дозі 8 мг/кг [46].

У ході експерименту встановлено, що запальний процес у стопі щурів супроводжувався характерним збільшенням її об'єму, який зберігався у тварин з групи контрольної патології протягом усього терміну дослідження з максимумом виразності на третю годину після введення карагеніну (табл. 5.1).

Таблиця 5.1

**Антиексудативна активність індолінорену у дозі 29,5 мг/кг на моделі карагенінового набряку у щурів ( $\bar{X} \pm S\bar{x}$ , n=10)**

Умови досліджу	Термін дослідження					
	1 год		2 год		3 год	
	Приріст об'єму стопи, мм	A, %	Приріст об'єму стопи, мм	A, %	Приріст об'єму стопи, мм	A, %
Контрольна патологія	1,12±0,04	-	1,56±0,10	-	2,10±0,05	-
Індолінорен, 29,5 мг/кг	0,61±0,07*/**	45,5	0,67±0,06*/**	57,1	1,9±0,06*/**	9,5
Натрію диклофенак, 8 мг/кг	0,46±0,03*	58,9	0,52±0,04*	66,7	0,72±0,05*	65,7

Примітки:

1. \* – відхилення достовірні відносно контрольної патології,  $p < 0,05$ ;
2. \*\* – відхилення достовірні відносно натрію диклофенаку,  $p < 0,05$ ;
3. A – антиексудативна активність, %;
4. n – кількість тварин у групі.

Згідно з одержаними даними, досліджувана субстанція індолінорен виявляла виражену антиексудативну активність та достовірно зменшувала набряк стопи в порівнянні з контрольною групою тварин з першої по другу

години експерименту. Антиексудативна активність індолінорену на першу годину становила 45,5 %, на третю – 9,5 % відносно контролю. Пік активності припадав на другу годину дослідження (57,1 %). Антиексудативна активність препарату порівняння натрію диклофенаку протягом 3 годин дослідження складала 58,9 %; 66,7 % та 65,7 % відповідно (табл. 5.1).

Таким чином, на моделі карагенінового набряку у щурів встановлена антиексудативна активність нового похідного 2-оксоіндоліну, що виявлялась протягом перших двох годин, коли найбільший вплив на формування набряку мають такі медіатори запалення як гістамін та брадикінін [301]. Нова сполука не активна на третю годину набряку – пік активності простагландинів.

Отримані дані дають змогу припустити відсутність антипростагландинового механізму антиексудативної дії індолінорену й можливий його вплив на медіатори ранньої фази запалення – біогенні аміни та кініни.

## 5.2 Оцінка антимікробних властивостей індолінорену

Згідно з даними літератури, патологічні процеси, які потребують використання діуретиків (хвороби нирок, серця тощо), досить часто поєднуються з інфекційним процесом [147], тому наявність антимікробної активності у діуретичних засобів дуже важлива [14, 60].

У зв'язку з цим, наступним етапом нашого дослідження було вивчення імовірної антимікробної активності індолінорену, яке проводили *in vitro*.

Антимікробну активність 10 % розчину індолінорену вивчали методом дифузії субстанції в агар (метод «колодязів») [25]. Згідно з рекомендаціями ВООЗ для оцінки активності субстанції використовували тест-штами *Staphylococcus aureus* ATCC 26923, *Escherichia coli* ATCC 25922, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *Bacillus subtilis* ATCC 6633, *Proteus vulgaris* ATCC 4636, *Candida albicans* ATCC 885/653 [111].

Результати, одержані в ході дослідження, наведено в таблиці 5.2.

Таблиця 5.2

**Антимікробна активність 10% розчину індолінорену ( $\bar{X} \pm S\bar{x}$ , n=5)**

Тест-штами	Діаметр зони затримки росту мікроорганізмів, мм
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 26923	22,0±0,3
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	21,0±0,2
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27853	20,0±0,3
<i>Proteus vulgaris</i> ATCC 4636	18,0±0,3
<i>Bacillus subtilis</i> ATCC 6633	21,0±0,1
<i>Candida albicans</i> ATCC 885/653	12,0±0,3

Примітка. n – кількість повторів досліду.

Найбільша чутливість до індолінорену спостерігалась у культур: *Staphylococcus aureus* (зона затримки росту даних мікроорганізмів складала – 22 мм); *Escherichia coli* та *Bacillus subtilis* (зона затримки росту цих мікроорганізмів – 21 мм); *Pseudomonas aeruginosa* (зона затримки росту – 20 мм). Помірний антимікробний ефект індолінорену спостерігався по відношенню до *Proteus vulgaris* (зона затримки росту – 18 мм). По відношенню до *Candida albicans* індолінорен виявив найменшу (фонову) активність (зона затримки росту – 12 мм).

Результати, одержані в експерименті, показали, що досліджувана субстанція виявляє помірну антимікробну дію відносно штамів *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Bacillus subtilis*, *Proteus vulgaris* та не впливає на ріст *Candida albicans*.

Для кількісної оцінки антимікробної активності досліджуваної субстанції було визначено мінімальну пригнічувальну концентрацію індолінорену методом серійних розведень [95].

Результати, одержані в ході експерименту, наведено в таблиці 5.3.

**Мінімальна пригнічувальна концентрація індолінорену,  
визначена методом серійних розведень (n=5)**

Тест-штами	Мінімальна пригнічувальна концентрація, мг/мл
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 26923	50
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	50
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27853	75
<i>Proteus vulgaris</i> ATCC 4636	100
<i>Bacillus subtilis</i> ATCC 6633	50
<i>Candida albicans</i> ATCC 885/653	100

Примітка. n – кількість повторів досліду.

У ході експерименту встановлено, що мінімальна пригнічувальна концентрація індолінорену по відношенню до *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis* та *Escherichia coli* складає – 50 мг/мл, *Pseudomonas aeruginosa* – 75 мг/мл, *Candida albicans* та *Proteus vulgaris* – 100 мг/мл.

Таким чином, нами встановлено, що досліджувана субстанція індолінорен виявляє помірну антимікробну активність відносно основних штамів мікроорганізмів – збудників, які найчастіше є етіологічним фактором захворювань сечостатевої системи [115, 147]. Найменш чутливі до індолінорену *Proteus vulgaris* та *Candida albicans*.

### 5.3 Вивчення антиоксидантних властивостей індолінорену за умов Fe<sup>2+</sup>-індукованого ПОЛ у системі жовткових ліпопротеїдів

Окисний стрес і запалення – фактори, які нерозривно пов'язані між собою та є невід'ємною частиною у патогенезі захворювань нирок. Окисний стрес викликає запалення, яке, в свою чергу, посилює процеси ПОЛ [6, 32, 42, 77, 187]. Враховуючи, що основний субстрат ліпідної пероксидації є ненасичені жирні

кислоти (обов'язковий компонент біологічних мембран), негативні наслідки реакцій ПОЛ віддзеркалюються на стані всіх без виключення клітинних мембран, зокрема, мембранах нефроцитів [39, 108, 110, 116].

Антиоксидантну активність індолінорену визначали *in vitro* в модельній системі жовткових ліпопротеїдів (ЖЛП) за його здатністю гальмувати накопичення ТБК–активних продуктів [97].

Стан ПОЛ визначали за кількістю накопичених у зразку продуктів, що утворилися в результаті  $Fe^{2+}$  індукованого ПОЛ і реагують з 2-тіобарбітуровою кислотою з утворенням кольорової сполуки.

Результати експерименту наведено в таблиці 5.4.

Таблиця 5.4

**Вплив індолінорену на рівень ТБК-активних продуктів при  $Fe^{2+}$ -індукованому ПОЛ в суспензії ЖЛП ( $\bar{X} \pm S\bar{x}$ , n=6)**

Концентрація речовин, мг/мл	% гальмування ПОЛ,	
	Індолінорен	Бутилгідрокситолуол (мексидол)
50	69,1±2,1*	89,2±2,2
100	77,9±2,8*	98,8±2,8
200	83,6±3,9*	99,0±4,7

Примітки:

1. \* – відхилення достовірні відносно бутилгідрокситолуолу,  $p < 0,05$ ;
2. n – кількість повторів дослідження.

Враховуючи вищенаведені дані, можна зробити висновок про те, що досліджувана субстанція індолінорен здійснює гальмівний ефект на процеси ПОЛ, що призводить до зниження концентрації продуктів, які реагують з 2-тіобарбітуровою кислотою: ступінь інгібування в концентрації 50 мг/мл складає 69,1 %; в концентрації 100 мг/мл та 200 мг/мл – 77,9 % та 83,6 % відповідно [88].

Таким чином, індолінорен виявляє антиоксидантні властивості, проте

поступається препарату порівняння бутилгідрокситолуолу, який має потужніший антиокиснювальний потенціал і ступінь інгібування ПОЛ під його впливом в концентраціях 50, 100 та 200 мг/мл складає 89,2 %, 98,8 % та 99,0 % відповідно (табл. 5.4).

#### 5.4 Визначення антигіпоксичної активності індолінорену

Гіпоксія займає одне з провідних місць у патогенезі захворювань різного генезу і обумовлена, у першу чергу, порушенням кисневого гомеостазу [155, 187]. Вона являє собою типовий патологічний процес, що характеризується ланцюгом метаболічних, функціональних, структурних порушень, який починається на молекулярному, потім на клітинному рівні та викликає деструкцію тканини (органу) і, нарешті, дисбаланс на рівні систем та організму в цілому [155]. Гіпоксія визнана важливим фактором у патогенезі багатьох захворювань нирок [303]. Під впливом гіпоксії початкова поліурія змінюється подальшим глибоким порушенням функції нирок і водно-сольового гомеостазу [260].

Наступним етапом роботи було вивчення антигіпоксичної дії індолінорену на моделі гіпоксії з гіперкапнією на щурах [126]. Препарат порівняння етилметилгідроксипіридину сукцинат в ефективній дозі 100 мг/кг маси тіла [32] та досліджувану субстанцію в дозі 29,5 мг/кг вводили внутрішньошлунково разово за півгодини до експозиції гіпоксії [81, 88].

Антигіпоксичну дію оцінювали за тривалістю життя тварин дослідної групи у порівнянні з контролем.

У ході даного дослідження встановлено, що середня тривалість життя піддослідних тварин на моделі гіпоксії з гіперкапнією складала  $15,0 \pm 1,21$  хв. (контрольна патологія) (табл. 5.5). При введенні щурам індолінорену в дозі 29,5 мг/кг тривалість життя подовжувалася до 29,8 хв, що свідчить про наявність антигіпоксичної активності індолінорену на рівні 199 %.



**Антигіпоксична активність індолінорену у дозі 29,5 мг/кг на моделі гіпоксії з гіперкапнією на щурах ( $\bar{X} \pm S\bar{x}$ , n=10)**

Умови досліджу	Середня тривалість життя, хв.	Антигіпоксична активність, %
Контрольна патологія	15,0±1,02	-
Індолінорен, 29,5 мг/кг	29,8±1,23*	199
Етилметилгідроксипіридину сукцинат, 100 мг/кг	32,3±1,17*	215

Примітки:

1. \* – відхилення достовірні відносно контрольної патології,  $p < 0,05$ ;
2. n – кількість тварин у групі.

Препарат порівняння етилметилгідроксипіридину сукцинат дещо перевищував показники тривалості життя тварин, яким вводили індолінорен ( $32,3 \pm 1,17$  хв проти  $29,8 \pm 1,23$  хв,  $p > 0,05$ ), проте ці відмінності є недостовірними.

Отже, індолінорен виявляє антигіпоксичну активність, що відповідає ефекту препарату порівняння етилметилгідроксипіридину сукцинату [88].

Висновки до розділу 5:

1. Встановлена антиексудативна активність індолінорену на моделі гострого карагенінового набряку, що склала на першу годину 45,5 %, другу – 57,1 %, третю – 9,5 %. Така динаміка активності дає підставу припустити відсутність антипростагландинного механізму антиексудативної дії індолінорену й можливий його вплив на медіатори ранньої фази запалення – біогенні аміни та кініни.

2. Індолінорен виявляє помірну антимікробну активність по відношенню до штамів мікроорганізмів, зокрема тих, що інфікують сечовидільну систему:

*Staphylococcus aureus, Escherichia coli, Pseudomonas aeruginosa, Bacillus subtilis, Proteus vulgaris.*

3. У модельній системі  $Fe^{2+}$ -індукованого перекисного окиснення ліпідів у системі жовточних ліпопротеїдів встановлено, що індолінорен гальмує утворення ТБК-АП на 69,1; 77,9 та 83,6 % відповідно в концентрації 50, 100 та 200 мг/мл, що свідчить про його антиоксидантні властивості

4. Антигіпоксична активність індолінорену, визначена на моделі гіпоксії з гіперкапнією, складає 199 %, що відповідає активності препарату порівняння мексидолу (215 %).

*Результати експериментальних досліджень даного розділу наведено в таких публікаціях:*

1. Маркіна А. Ю., Міщенко О. Я. Експериментальне вивчення антигіпоксичної та антиоксидантної активності індолінорену. *Український біофармацевтичний журнал*. 2017. № 3 (50). С. 22-25. (Особистий внесок – огляд та аналіз літературних джерел, підготовка та проведення експерименту, аналіз та узагальнення, статистична обробка даних, оформлення статті до друку).
2. Маркина А. Ю. Исследование антигипоксической активности нового производного 2-оксоиндолина. *Актуальные вопросы современной медицины и фармации: тез. докл. 69-ой научно-практ. конф. студентов и молодых ученых, г. Витебск, 19-20 апреля 2017 г. Витебск. В. : ВГМУ, 2017. С. 204-205.*

**РОЗДІЛ 6**  
**ДОСЛІДЖЕННЯ ЕФЕКТИВНОСТІ ІНДОЛІНОРЕНУ**  
**ПРИ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМУ ГЕМОДИНАМІЧНОМУ НАБРЯКУ**  
**ЛЕГЕНІВ ТА ГОСТРОМУ ПОШКОДЖЕННІ НИРОК**

6.1 Ефективність індолінорену при експериментальному набряку легенів, викликаному введенням адреналіну гідротартрату

Сучасна медицина в терапії набряку легенів передбачає комплексне призначення лікарських препаратів, які впливають на його різні патогенетичні ланки [34, 146, 251]. Часто хворим з набряком легенів у схему лікування включають діуретики, які чинять позитивний вплив на перебіг даної патології [114, 124].

Враховуючи вищенаведені дані, наступним етапом нашої роботи було вивчення впливу індолінорену на тривалість життя піддослідних тварин, морфофункціональний стан тканини легень при експериментальному гемодинамічному набряку легень у щурів.

6.1.1 Вплив індолінорену на тривалість життя тварин з гемодинамічним набряком легень

Гемодинамічний набряк легенів у щурів моделювали шляхом введення адреналіну гідротартрату внутрішньом'язово у дозі 5 мг/кг [130]. Адреналін розширює великі артерії та вени, а також підвищує резистентність легенового русла за рахунок звуження дрібних судин. В експерименті адреналін викликає підвищення проникності легеневої мембрани, ознаки якої з'являються вже на першій хвилині введення ендогенної речовини.

Піддослідні тварини були розподілені на 4 групи: I група – інтактний контроль; II група – щури з ГНЛ без лікування (контрольна патологія); III – щури з ГНЛ, яким вводили індолінорен; IV — щури з ГНЛ, яким вводили препарат

порівняння фуросемід. Індолінорен та фуросемід вводили в/ш за 2 год до моделювання набряку в дозах 29,5 мг/кг та 5 мг/кг відповідно. Тривалість життя тварин визначали з моменту введення адреналіну гідротартрату.

Результати даного дослідження наведено в таблиці 6.1.

Таблиця 6.1

**Впливу індолінорену у дозі 29,5 мг/кг на тривалість життя щурів за умов гемодинамічного набряку легенів ( $\bar{X} \pm S\bar{x}$ , n=10)**

Умови досліджу	Тривалість життя, хв.
Інтактний контроль	-
Контрольна патологія	9,2±0,4
Індолінорен, 29,5 мг/кг	16,4±0,9*
Фуросемід, 5 мг/кг	13,6±1,3*

Примітки:

1. \* – відхилення достовірні відносно контрольної патології,  $p < 0,05$ ;
2. n – кількість тварин у групі.

Результати експерименту показали, що середня тривалість життя щурів з експериментальним адреналіновим набряком легень становила 9,2±0,4 хв.

Уведення піддослідним тваринам індолінорену в дозі 29,5 мг/кг подовжує тривалість життя щурів в 1,8 разу в порівнянні з контрольною групою тварин та не має достовірної різниці з тривалістю життя тварин, яким вводили фуросемід (16,4±0,9 проти 13,6±1,3,  $p > 0,05$ ).

6.1.2 Вплив індолінорену на сухий залишок легеневої тканини та коефіцієнт маси легень за умов гемодинамічного набряку

Для встановлення протинабрякової дії індолінорену при експериментальному ГНЛ оцінювали виразність набряку легень за коефіцієнтом маси легенів та сухим залишком, вираженими у відсотках [146].

Аналіз результатів дослідження показав, що у щурів з експериментальним набряком легень збільшувався коефіцієнт маси даних органів і знижувалась відносна маса сухого залишку їх тканин (табл. 6.2).

Таблиця 6.2

**Результати впливу індолінорену на коефіцієнт маси легень та сухий залишок легеневої тканини ( $\bar{X} \pm S\bar{x}$ , n=10)**

Умови досліджу	Коефіцієнт маси легень, %	Маса сухого залишку легеневої тканини, %
Інтактний контроль	0,67±0,04	20,75±0,74
Контрольна патологія	2,65±0,05*	14,05±0,46*
ГНЛ + Індолінорен, 29,5 мг/кг	1,25±0,02*/**	18,24±0,71*/**
ГНЛ + Фуросемід, 5 мг/кг	1,46±0,04*/**	16,58±0,39*/**

Примітки:

1. \* – відхилення достовірні відносно інтактного контролю,  $p < 0,05$ ;
2. \*\* – відхилення достовірні відносно контрольної патології,  $p < 0,05$ ;
3. n – кількість тварин у групі.

У тварин з ГНЛ коефіцієнт маси легень збільшився в 4 рази, а сухий залишок легеневої тканини зменшився в 1,5 разу відносно інтактного контролю. Отримані результати співпадають з даними літератури, згідно з якими, зменшення сухого залишку легеневої тканини є вірогідною ознакою накопичення в них рідини (тобто формування набряку) [231].

Аналіз результатів показав, що індолінорен у дозі 29,5 мг/кг зменшує набряк легень, про що свідчить зниження коефіцієнта маси легень в 2,1 разу та збільшення сухого залишку легеневої тканини в 1,3 разу відносно контрольної патології. У щурів, яким вводили фуросемід, відмічено зниження коефіцієнту

маси легень в 1,8 разу відносно контрольної патології та збільшення сухого залишку в 1,2 разу. Достовірної різниці в показниках сухого залишку легеневої тканини та коефіцієнту маси легень під впливом індолінорену та групи фуросеміду не відмічено.

Таким чином, введення індолінорену призводить до зменшення виразності набряку в легенях щурів з експериментальним ГНЛ. За виразністю впливу на досліджувані показники індолінорен відповідає активності препарату порівняння фуросеміду.

### 6.1.3 Вплив індолінорену на гістоструктуру легеневої тканини щурів з гемодинамічним набряком легень

Гістологічному дослідженню піддавали тканини легень щурів усіх груп. [10]. Для зручності порівняння стану легеневої паренхіми тварин різних експериментальних груп на мікропрепаратах визначали умовний ступінь виразності альвеолярного набряку та збереження альвеолярного рисунку за 5-бальною системою. За основу взято напівкількісну візуальну оцінку інтенсивності забарвлення мікроструктур при гістохімічних реакціях за методом В. В. Соколовського [132].

Результати дослідження свідчать, що у тварин інтактного контролю паренхіма респіраторного відділу легеневої тканини була з добре розвинутими альвеолярними ходами, альвеолярними мішечками та альвеолами, численними бронхіолами та дрібними бронхами. Чіткість альвеолярного рисунка не порушена, ознак альвеолярного набряку не помічено, проліферативних явищ з боку міжальвеолярних перегородок, розладів мікроциркуляції не відмічено (рис. 6.1, а). Лімфоцитарна реакція у стромі бронхіального дерева помірна. Стан епітелію бронхіол та дрібних бронхів відповідає нормі (рис. 6.1, б, в).

Внутрішньом'язове введення адреналіну гідротартрату викликає в легенях щурів з групи контрольної патології дифузний альвеолярний набряк. Рідина, що містилася у порожнині альвеол, розтягувала та спотворювала їх контури, мала

блідо-еозинофільне забарвлення, в ній видно великий домішок еритроцитів, а також нечисленних ядерних клітин крові та злущених клітин альвеолярного епітелію.

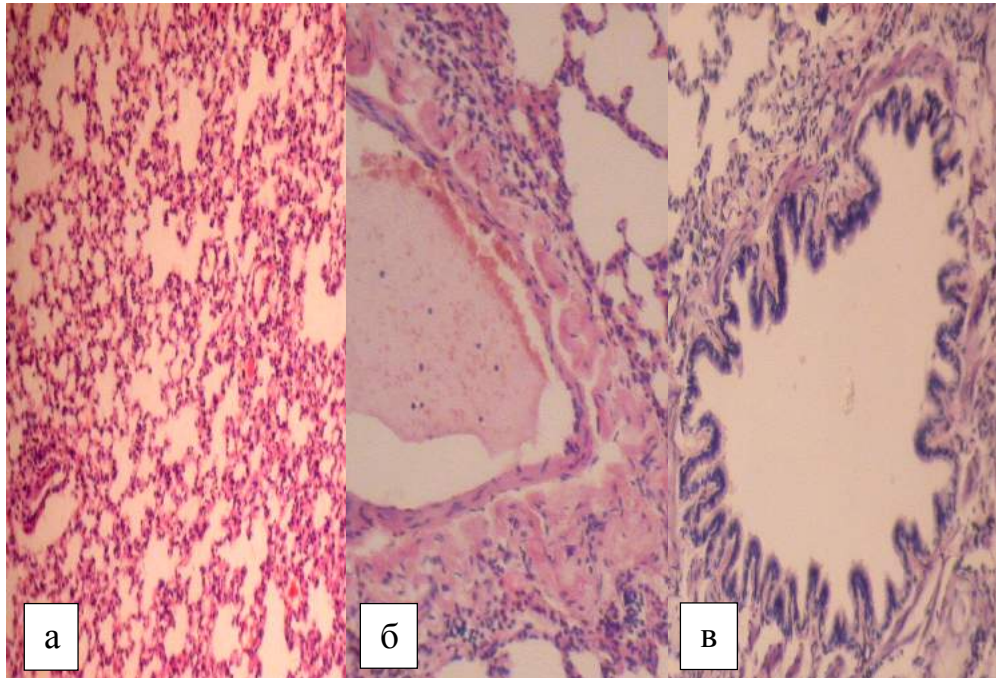


Рис. 6.1 Мікропрепарат легеневої тканини щура з групи інтактного контролю: а – нормальний стан альвеол; б – периваскулярної тканини; в – перибронхіальної стромі. Гематоксилін-еозин. а x100; б, в x200.

По краях або в середині випоту в альвеолах спостерігалися невеликі порожнини – міхурці повітря. Межа між альвеолами практично не визначалася внаслідок злиття між собою більшості альвеол, а самі міжальвеолярні перегородки мали вигляд безладного скупчення клітин. Іноді, на фоні суцільного альвеолярного набряку видні великі порожнини. Це окремі альвеоли, які дуже розтягнуті внаслідок явищ гострої емфіземи, що настає одночасно з набряком легень. Внаслідок всього цього альвеолярний рисунок легеневої паренхіми порушено, відмічено випіт у альвеоли (рис. 6.2).

Рідина була виявлена навіть у просвіті деяких бронхіол (рис. 6.3). До неї іноді примішувалися поодинокі злущені клітини епітелію. Гілочки легневих

судин різного калібру дуже часто виразно повнокровні (рис. 6.3).

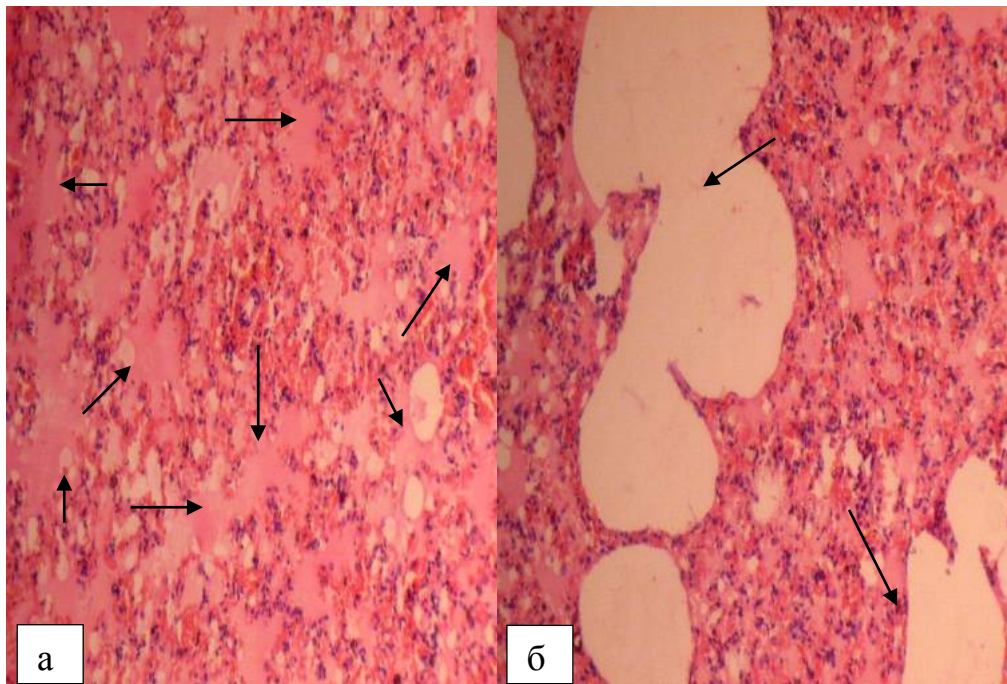


Рис. 6.2 Мікропрепарат легеневої тканини щура після введення адреналіну гідротартрату: а – порушення альвеолярного рисунку; б – явища гострої емфіземи на тлі альвеолярного набряку. Гематоксилін-еозин. х 200.

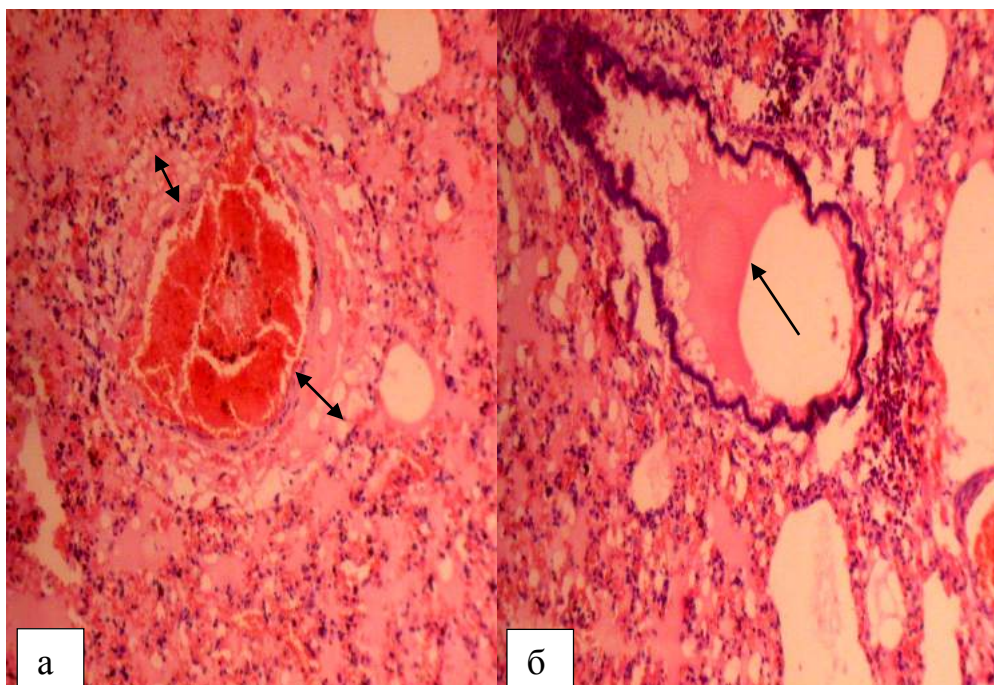


Рис. 6.3 Мікропрепарат легеневої тканини щура після введення адреналіну гідротартрату: а – периваскулярний набряк; б – випіт у просвіті бронхіоли. Гематоксилін-еозин. х 200.



Навколо судин чітко виділялася світла зона набряку. Ці перивазальні простори були різко розширені, просякнуті набряклою рідиною, сполучно-тканинні волокна розпушені, часті крововиливи, діapedез клітин крові. Відмічено плазматичне просякнення і самої судинної стінки (рис. 6.3)

У щурів, які отримували індолінорен, на відміну від щурів контрольної патології виразність альвеолярного набряку виразно зменшена. Набряк мав гніздовий характер та локалізувався практично тільки у верхівкових ділянках легеневих часток. У таких зонах набрякла рідина у частини альвеол не заповнювала цілком всю порожнину, а розміщувалася пристінково, тому альвеоли не були так розтягнуті, як у легенях тварин з групи контрольної патології. Місцями в альвеолах спостерігали не серозну набряклу рідину, а еритроцити. Навіть у таких зонах більш чіткі були міжальвеолярні перетинки. Вони часто були зорозво потовщені, містили розширені повнокровні капіляри. В цілому дихальна поверхня верхівкових ділянок була збільшена і, відповідно, меншими були ознаки гострої емфіземи (рис. 6.4).

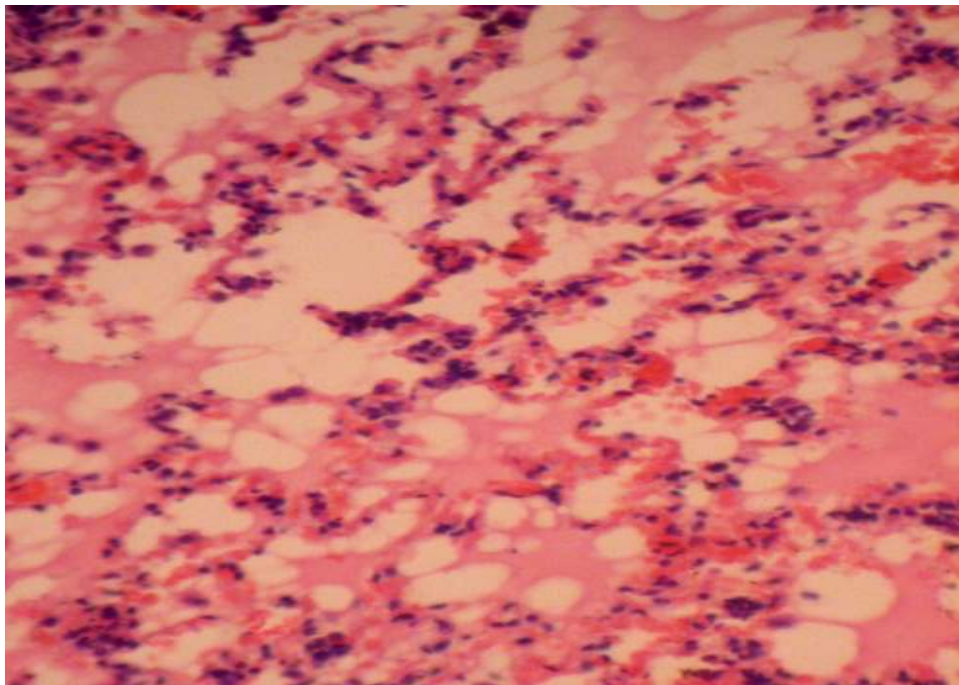


Рис. 6.4 Мікропрепарат легеневої тканини щура з групи індолінорену: верхівкова ділянка – гніздовий характер альвеолярного набряку. Гематоксилін-еозин. x 250.

Прикореневі ділянки та вільні від набряку верхівкові зони легеневої тканини зберігали досить типовий альвеолярний рисунок (рис. 6.5, а). Просвіт дрібних бронхів та бронхіол вільний, епітелій, що вистеляв їх стінку, не змінено (рис. 6.5, б).

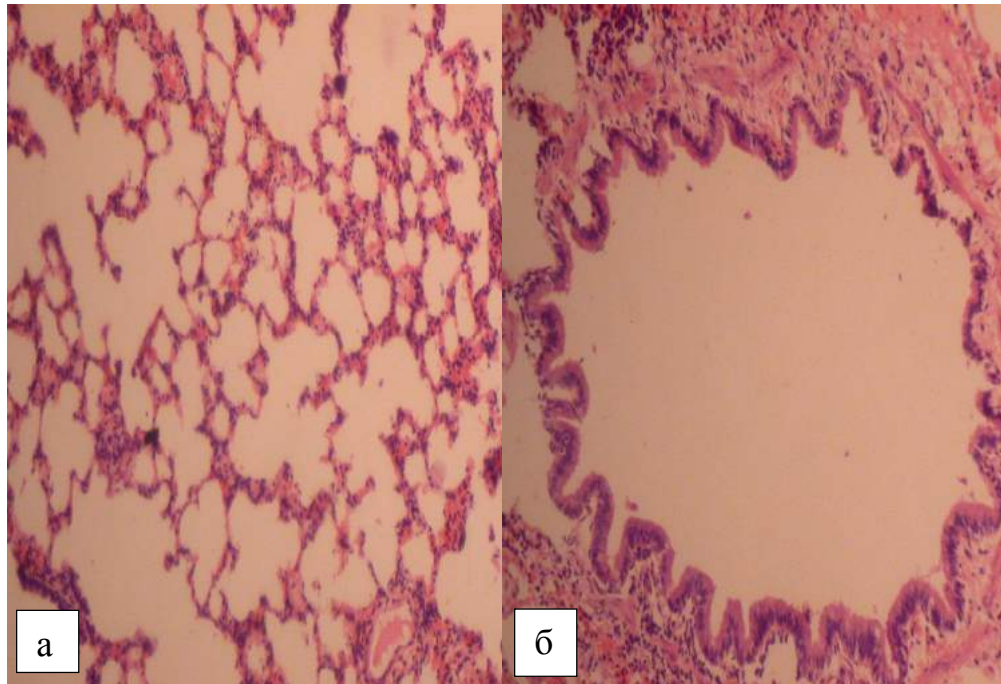


Рис. 6.5 Мікропрепарат легеневої тканини щура з групи індолінорену. Прикоренева ділянка: а – нормальний стан альвеол; б – нормальний стан дрібного бронху. Гематоксилін-еозин. х 200.

Щодо кровоносних судин, то у прикореневих ділянках легеневої частки судинна стінка не змінена, перивазально зон набряку не відмічено, а у верхівкових ділянках навколо частини судин вони ще виразні, судинна стінка розпушена (рис. 6.6).

У щурів, яким вводили фуросемід, альвеолярний набряк також мав гніздовий характер та переважно був виявлений у верхівкових ділянках легеневої частки. Набрякова рідина у альвеолах була з домішками еритроцитів. Дуже часто просвіт альвеол у верхівкових ділянках повністю заповнено тільки еритроцитами, що одночасно з крововиливами у міжальвеолярних перетинках і руйнуванням їх внаслідок цього, створювало вигляд суцільного «залиття» кров'ю цих ділянок паренхіми. Все це знижувало дихальну поверхню тканини (рис. 6.7).

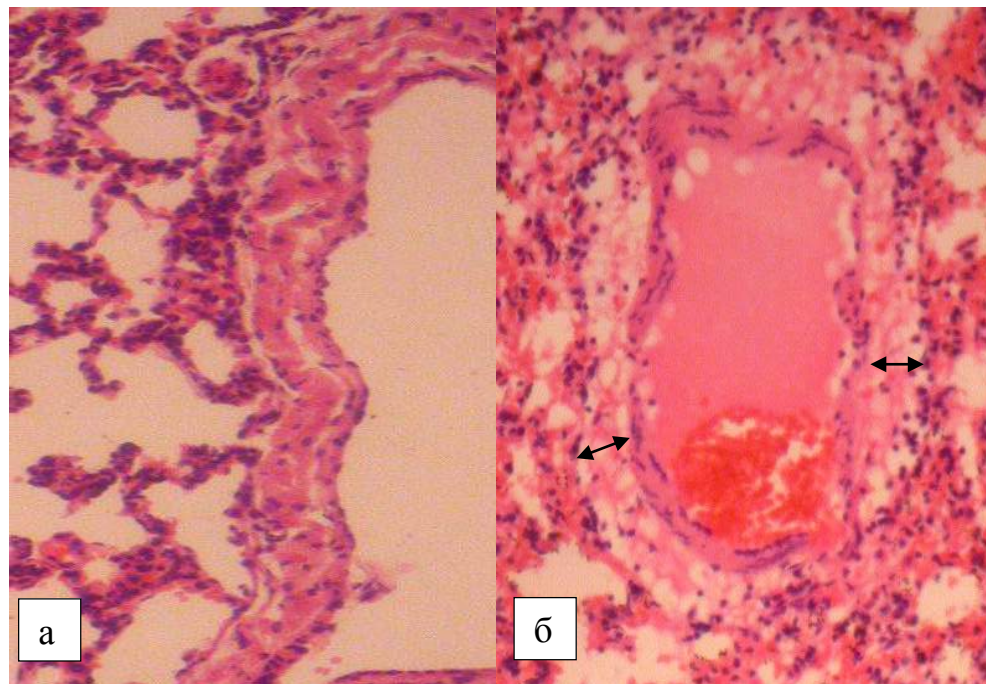


Рис. 6.6 Мікропрепарат легеневої тканини щура з групи індолінорену. Прикоренева ділянка: а – нормальний стан кровоносних судин, відсутність набряку; верхівкова ділянка: б – порушення судинної стінки, перивазальний набряк. Гематоксилін-еозин. х 250.

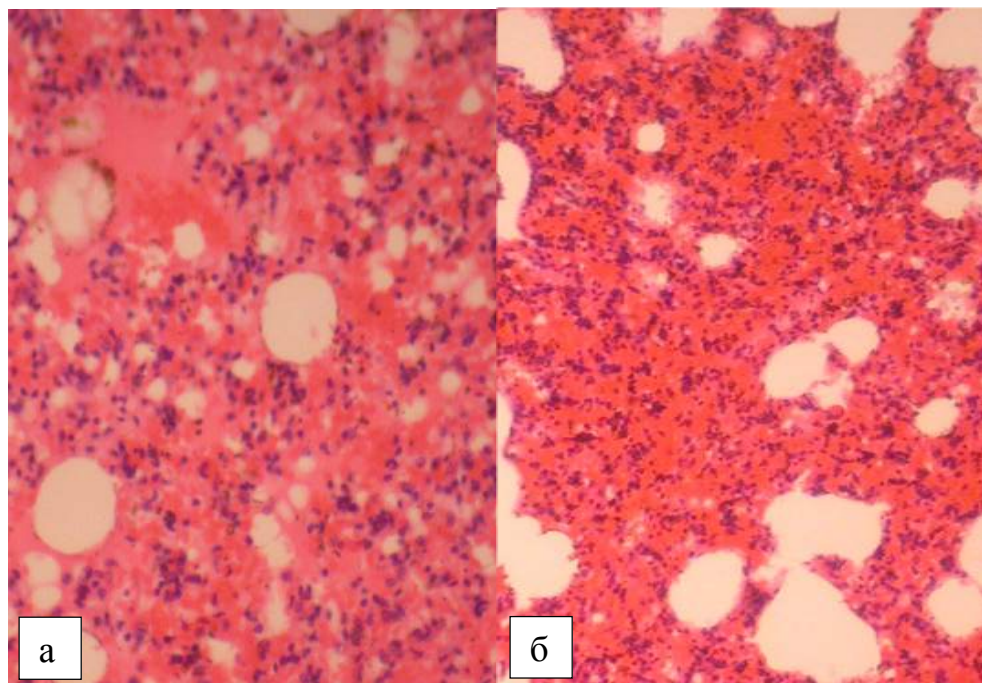


Рис. 6.7 Мікропрепарат легеневої тканини щура з групи фуросеміду. Верхівкова ділянка: а – діapedез еритроцитів; б – руйнація міжальвеолярних перетинок. Гематоксилін-еозин. х 200.

Для зручності порівняння виразності протинабрякової дії досліджуваних засобів була проведена напівкількісна оцінка стану легеневої тканини щурів різних груп експерименту (табл. 6.3).

Таблиця 6.3

**Напівкількісна оцінка стану легеневої тканини щурів  
з моделлю гемодинамічного набряку легенів, бали**

Групи експерименту	Ознаки	
	Виразність альвеолярного набряку (Me[LQ; UQ])	Виразність альвеолярного рисунку (Me[LQ; UQ])
Інтактний контроль	0,0 (0,0; 0,0)	4,0 (4,0; 4,0)
Контрольна патологія	4,0 (3,0; 4,0)*	0,0 (0,0; 1,0)*
Індолінорен, 29,5 мг/кг	2,0 (1,0; 2,0)*/**	2,0 (2,0; 3,0)*/**
Фуросемід, 5 мг/кг	2,0 (1,0; 2,0)*/**	2,0 (1,0; 2,0)*/**

Примітки:

1. \* – відхилення достовірні відносно інтактного контролю,  $p < 0,05$ ;
2. \*\* – відхилення достовірні відносно контрольної патології,  $p < 0,05$ .

Таким чином, результати мікроскопічного дослідження підтвердили протинабрякову дію досліджуваних препаратів на моделі гемодинамічного набряку легенів у щурів. Індолінорен достовірно знижував інтенсивність альвеолярного набряку у 2 рази відносно контрольної патології. Під його впливом типова гістоархітектоніка респіраторного відділу легеневої паренхіми спостерігалася на значно більших ділянках мікропрепаратів. Нормальний альвеолярний рисунок респіраторного відділу легеневої паренхіми спостерігали на ділянці мікропрепаратів, що у 2 рази перевищувала величину аналогічної ділянки у тварин з групи контрольної патології. Препарат порівняння фуросемід

знижував виразність альвеолярного набряку у 2 рази та не мав достовірної різниці відносно групи щурів, яким вводили індолінорен [82, 90].

Отже, встановлено, що за умов гемодинамічного набряку легень індолінорен чинить позитивний вплив, про що свідчить подовження тривалості життя тварин у 1,8 разу, зменшення коефіцієнту маси легенів в 2,1 разу, збільшення сухого залишку легенової тканини в 1,3 разу, зниження альвеолярного набряку та поліпшення виразності альвеолярного рисунку в 2 рази відповідно порівняно з контрольною патологією. За ефективністю на даній моделі індолінорен не поступався фуросеміду.

## 6.2 Ефективність індолінорену при експериментальному гострому пошкодженні нирок гліцеролом

### 6.2.1 Вплив індолінорену на стан видільної функції нирок щурів з гострим пошкодженням нирок

Одним з діагностичних критеріїв гострого пошкодження нирок є олігурія, усунення якої можливо досягти призначенням діуретиків [105, 123, 265]. Тому метою наступного завдання нашої роботи стало вивчення впливу індолінорену на стан видільної функції нирок щурів із гострим пошкодженням нирок гліцеролом (ГПНГ), яке відтворювали одноразовим внутрішньом'язовим введенням піддослідним тваринам 50 % розчину гліцеролу в дозі 10 мл/кг [96]. Дана модель патології є однією з найбільш різнобічно досліджених. Важливими чинниками патогенезу даної моделі гострим пошкодженням нирок є ішемія нирок, зменшення ниркового кровотоку, що зумовлені міоглобінурією, блокадою клубочків нефрону міоглобіном [96].

У даному дослідженні препаратом порівняння був діуретик фуросемід, який включають в схеми лікування гострого пошкодження нирок [123]. Індолінорен у дозі 29,5 мг/кг та фуросемід у дозі 5 мг/кг вводили внутрішньошлунково на фоні водного навантаження у лікувально-

профілактичному режимі протягом 3 діб до моделювання та 2 діб на тлі ГПНГ .

Результати, отримані в експерименті (табл. 6.4), показали, що за умов ГПНГ у тварин контрольної групи відбувається значне порушення видільної функції нирок [246].

Таблиця 6.4

**Вплив індолінорену у дозі 29,5 мг/кг на діурез у щурів з гострим пошкодженням нирок гліцеролом за умов водного навантаження**

$(\bar{X} \pm S\bar{x}, n=8)$

Умови досліджу	2 доба досліджу		3 доба досліджу	
	Діурез, мл/100 г за 2 год	Кількість щурів без анурії / з анурією	Діурез, мл/100 г за 2 год	Кількість щурів без анурії / з анурією
Інтактний контроль	2,54±0,05	8/0	2,55±0,09	8/0
Контрольна патологія (КП)	0,44±0,24 / 0,55±0,06*	6/2 <sup>#</sup>	0,10±0,26 / 0,26±0,05*	3/5 <sup>#</sup>
КП+Індолінорен 29,5 мг/кг	1,74±0,04*/**	8/0 <sup>##</sup>	1,23±0,27 / 1,53±0,02	7/1 <sup>##</sup>
КП+Фуросемід, 5 мг/кг	2,19±0,29*/**	8/0 <sup>##</sup>	1,60±0,33 / 2,00±0,04	7/1 <sup>##</sup>

Примітки:

Для показника діурезу: у числівнику – показник для всієї групи, у знаменнику – для тварин без анурії;

1. \* – відхилення достовірні відносно інтактного контролю (за критерієм Ст'юдента),  $p < 0,05$ ;

2. \*\* – відхилення достовірні відносно КП (за критерієм Ст'юдента),  $p < 0,05$ ;

3. # – відхилення достовірні відносно інтактного контролю (за критерієм Фішера),  $p < 0,05$ ;

4. ## – відхилення достовірні відносно КП (за критерієм Фішера),  $p < 0,05$ .

Досліджувана сполука індолінорен достовірно підвищувала діурез на тлі ГПНГ: на 2 добу діурез складав  $1,74 \pm 0,04$  мл/100 г, що в 4 рази більше порівняно з контрольною групою тварин (табл. 6.4). На 3 добу досліду діурез дещо зменшився і становив  $1,23 \pm 0,27$  мл/100 г. Встановлено, що індолінорен не поступався препарату порівняння фуросеміду на 2 добу і на 3 досліду [246].

Показником тяжкого перебігу модельної патології (табл. 6.5) є також вірогідне зростання креатиніну крові у 2,9 разу, збільшення вмісту сечовини в крові у 6,8 разу в контрольній групі тварин по відношенню до інтактної групи щурів.

Таблиця 6.5

**Вплив індолінорену у дозі 29,5 мг/кг на біохімічні показники крові та сечі у щурів з гострим пошкодженням нирок гліцеролом протягом перших 2 годин ( $\bar{X} \pm S\bar{x}$ , n=8)**

Показники	Умови досліду			
	Інтактний контроль	Контрольна патологія (КП)	КП + Індолінорен, 29,5 мг/кг	КП + Фуросемід, 5 мг/кг
Креатинін сироватки крові, мкмоль/л	$33,00 \pm 5,08$	$95,70 \pm 8,01^*$	$47,85 \pm 5,21^{**}$	$50,37 \pm 5,01^{**}$
Сечовина сироватки крові, ммоль/л	$4,05 \pm 0,40$	$27,49 \pm 1,60^*$	$9,19 \pm 0,67^{**}$	$7,29 \pm 0,33^{**}$
Білок сечі, г/л	$0,04 \pm 0,01$	$0,17 \pm 0,02^*$	$0,10 \pm 0,01^{**}$	$0,09 \pm 0,01^{**}$

Примітки:

- \* – відхилення достовірні відносно інтактного контролю,  $p < 0,05$ ;
- \*\* – відхилення достовірні відносно контрольної патології,  $p < 0,05$ ;
- n – кількість тварин у групі.

Протягом досліджу відмічена значна протеїнурія, оскільки концентрація білка в сечі у щурів з контрольної групи зросла у 4,3 разу у порівнянні з інтактною групою тварин (табл. 6.5). Отримані дані свідчать про стан шокової нирки у тварин з групи контрольної патології.

У ході експерименту встановлено, що індолінорен сприяє зниженню вмісту креатиніну сироватки крові у 2 рази, концентрації сечовини в крові в 3 рази, кількості білка сечі в 1,7 разу порівняно з тваринами з групи контрольної патології (табл. 6.5). У групі тварин, яким вводили фуросемід, відмічено зниження вмісту креатиніну сироватки крові у 1,9 разу, зменшення вмісту білка сечі у 1,8 разу порівняно з контрольною патологією. Препарат порівняння сприяв зменшенню концентрації сечовини в крові щурів в 3,3 разу.

Аналіз результатів дослідження свідчить, що нефропротекторна дія індолінорену характеризується зниженням протеїнурії, уремії, покращенням виведення нирками азотвмісних речовин.

#### 6.2.2 Вплив індолінорену на прооксидантно-антиоксидантний дисбаланс на моделі гострого пошкодження нирок

У непошкоджених клітинах організму вміст продуктів вільнорадикального окиснення знаходиться на вкрай низькому рівні, незважаючи на достатню кількість субстратів ПОЛ. Це свідчить про досить потужну антиоксидантну захисну систему, що відіграє значну роль у захисті тканин від вільнорадикального окиснення [6]. До антиоксидантної системи належать ферменти супероксидисмутаза, каталаза та система глутатіону [9]. Відновлений глутатіон (ВГ) легко реагує з вільними радикалами, серед яких слід відзначити гідроксильний та вуглецевий, віддаючи атом водню. Нейтралізація активного гідроксильного радикалу, який вважається найбільш цитотоксичним серед вільних радикалів, забезпечує антиоксидантний захист [155].

Враховуючи встановлені антиоксидантні властивості індолінорену та дані про посилення процесів ПОЛ за умов ГПНГ, доцільним було вивчення рівня ВГ



в еритроцитах та ТБК-активних продуктів (ТБК-АП) у сироватці крові піддослідних тварин під його впливом.

Результати дослідження наведено в таблиці 6.6.

Таблиця 6.6

**Вплив індолінорену на вміст відновленого глутатіону в еритроцитах та ТБК-активних продуктів у сироватці крові щурів з гострим пошкодженням нирок гліцеролом ( $\bar{X} \pm S\bar{x}$ , n=8)**

Умови досліджу	Досліджувані показники	
	ТБК-АП, мкмоль/л	ВГ, мкмоль/л
Інтактний контроль	10,65±0,45	5,35±0,21
Контрольна патологія (КП)	13,67±0,23*	3,75±0,14*
КП+Індолінорен, 29,5 мг/кг	9,02±0,57**/**	5,85±0,40**/**
КП+Фуросемід, 5 мг/кг	11,02±0,56**	4,50±0,25**

Примітки:

1. \* – відхилення достовірні відносно інтактного контролю,  $p < 0,05$ ;
2. \*\* – відхилення достовірні відносно контрольної патології,  $p < 0,05$ ;
3. \*\*\* – відхилення достовірні відносно фуросеміду,  $p < 0,05$ .
4. n – кількість тварин у групі.

Одержані результати свідчать, що ГПНГ супроводжувалось зниженням антиоксидантного захисту і посиленням процесів ПОЛ, про що свідчить зниження рівня ВГ в 1,4 разу і підвищення рівня ТБК-АП в 1,3 разу. Введення індолінорену збільшувало активність антиоксидантного захисту, що сприяло зниженню вмісту продуктів ПОЛ – ТБК-АП на 34 % відносно контрольної патології ( $p < 0,05$ ). Відмічено підвищення рівня ВГ на 56 % відносно групи тварин контрольної патології ( $p < 0,05$ ).

За виразністю антиоксидантної дії досліджуваний засіб індолінорен

перевершував препарат порівняння фуросемід.

Отже, на моделі ГПНГ встановлена здатність індолінорену посилювати антиоксидантний захист та гальмувати процеси ПОЛ.

### 6.2.3 Вплив індолінорену на гістоструктуру тканини нирок щурів з гострим пошкодженням нирок

Наступним завданням нашої роботи було дослідження гістоструктури нирок. На зрізах проводили напівкількісну оцінку (в балах) стану канальцевого апарату нефронів (найбільш вразливий при даній патології) за такими морфологічними показниками: ступенем виразності некрозу, вакуольної дистрофії нефротелію, наявності циліндрів у просвіті канальців [132].

Одержані дані свідчать, що на моделі ГПНГ індолінорен виявляє потужну нефропротекторну дію, суттєво знижуючи патологічні прояви у системі канальців нефронів порівняно з контрольною патологією (табл. 6.7).

Таблиця 6.7

#### Напівкількісна оцінка виразності пошкодження канальцевого апарату нефронів щурів під впливом індолінорену у дозі 29,5 мг/кг, бали (n = 8)

Показник	Умови досліджу			
	Інтактний контроль	Контрольна патологія (КП)	КП+Індолінорен, 29,5 мг/кг	КП+Фуросемід, 5 мг/кг
1	2	3	4	5
Некроз нефронів	0,00±0,00	3,44±0,09*	2,05±0,29*/**	1,52±0,33*/**
Вакуольна дистрофія нефротелію	0,00±0,00	2,19±0,13*	1,30±0,38*/**	1,11±0,32*/**

1	2	3	4	5
Наявність циліндрів у просвіті канальців	0,00±0,00	3,18±0,17*	1,83±0,39*/**	1,05±0,28*/**

Примітки:

1. \* – відхилення достовірні відносно інтактного контролю,  $p < 0,05$ ;
2. \*\* – відхилення достовірні відносно контрольної патології,  $p < 0,05$ ;
3. n – кількість тварин у групі.

Про це свідчить зменшення виразності некрозу нефронів, вакуольної дистрофії нефротелію та обструкції просвіту канальців циліндрами в 1,7 разу ( $p < 0,05$ ) [249].

Достовірних відмінностей між досліджуваними показниками групи індолінорену та препарату порівняння фуросеміду не відмічено [249].

Одержані дані щодо ефективності індолінорену на моделі ГПНГ підтверджено результатами гістологічних досліджень.

Дослідження гістоструктури тканини нирок інтактної групи показало, що розмежованість кіркового та мозкового шарів у них чітка. Ниркові тільця достатні за розміром, щільність розташування їх нормальна. Виразність малюнка гломерулярних капілярних петель, повнокровність і клітинна насиченість їх була у межах норми. Просвіт капсули клубочків помірний, вільний. Нефроцити дистальної та проксимальної частин канальців нефронів (звивистих канальців) звичайні, характеризувались помірним розпушенням апікальних відділів, базальні мембрани канальців добре простежуються. Ядерно-цитоплазматичні відношення у клітинах не змінені. Просвіт канальців звичайний. Канальці кортико-медулярної (проміжної) зони не змінені. Нефроцити прямих канальців мозкового шару та кінцевих відділів збиральних трубок звичайні (рис. 6.8).

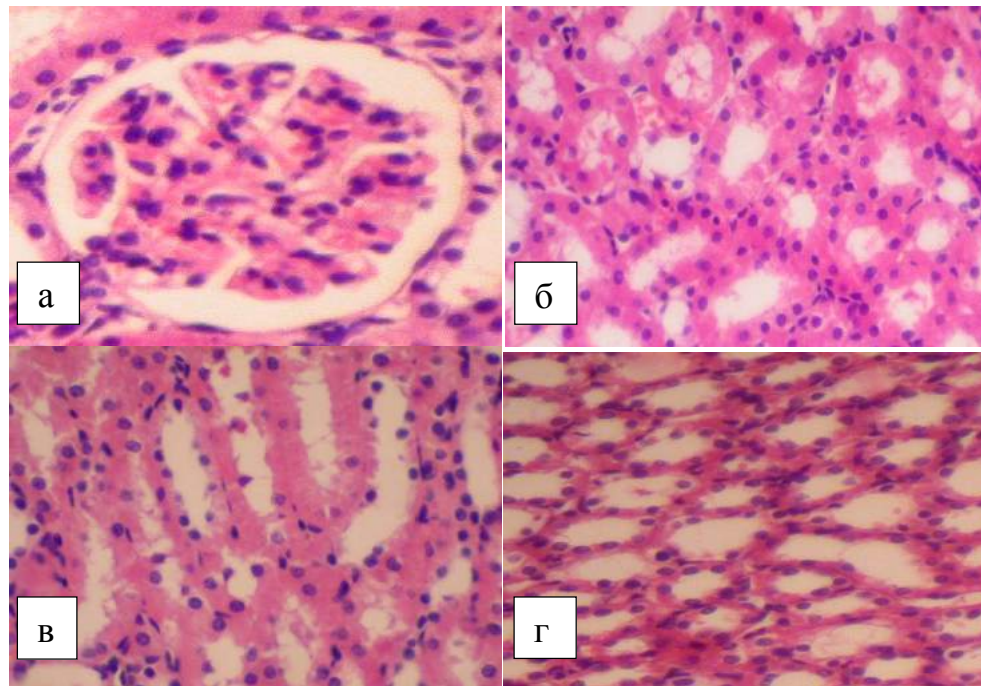


Рис. 6.8 Мікропрепарат нирки щура з групи інтактного контролю. Нормальний стан ниркового тільця (а), дистальних та проксимальних частин канальців нефронів (б), канальців кортико-медулярної зони (в), канальців мозкового шару (г). Гематоксилін-еозин. а х 400, б, в, г х 250.

Уведення гліцеролу призводило до виразних патологічних змін у нирках тварин з групи контрольної патології. Через 72 год після ін'єкції у всіх щурів з групи контрольної патології простежено некроз дистальної та проксимальної частин канальців нефронів з повним порушенням рисунку тканини, який варіював від майже тотального до велико-вогнищевого (рис. 6.9). Базальна мембрана більшості некротизованих канальців зруйнована: виразність некрозу склала 3,44 балу (див. табл. 6.7). При вогнищевому характері некрозу у збережених кіркових канальцях місцями простежено дезорганізацію та вакуольну дистрофію епітеліальних клітин, виразність якої склала 2,19 балу (табл. 6.7).

У просвіті канальців кортико-медулярної зони, збиральних трубок та прямих канальців мозкового шару, а також у нечисленних збережених звивистих канальцях видно накопичення еозинофільних аморфних мас та циліндрів.

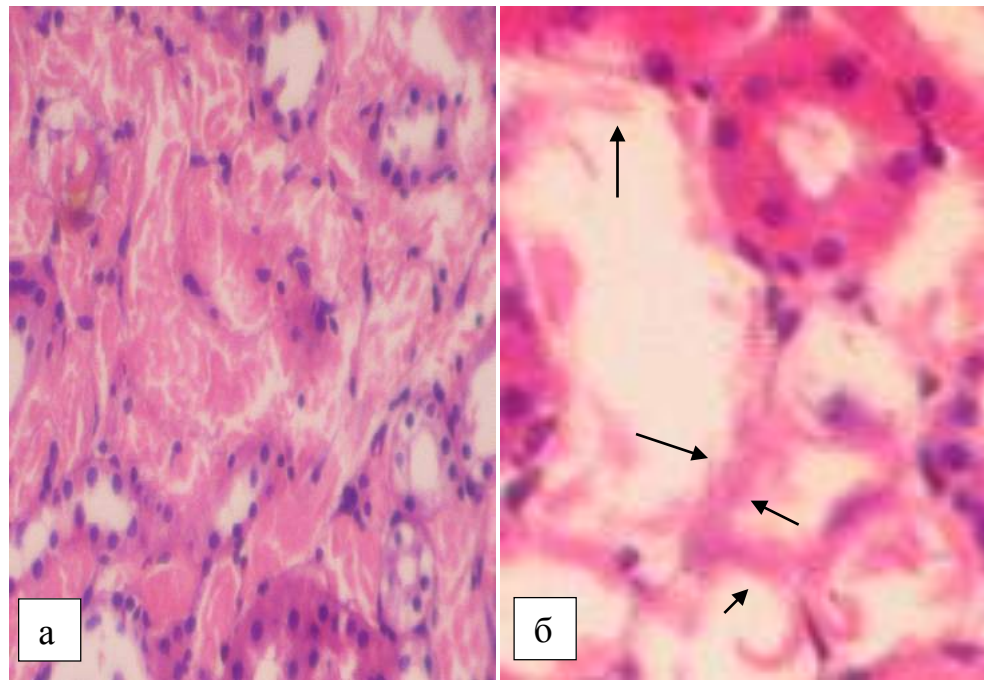


Рис. 6.9 Мікропрепарат нирки щура після введення гліцеролу: а – некроз дистальних та проксимальних частин каналців нефронів, вакуольна дистрофія нефроцитів поодиноких збережених каналців; б – деструкція базальних мембран (стрілки) некротизованих каналців. Гематоксилін-еозин. х 200, х 400.

За морфометричною оцінкою виразність цієї ознаки (наявність циліндрів у просвіті каналців) склала 3,18 балу (див. табл. 6.7). Епітелій каналців часто сплющений, іноді спостерігали злушення епітелію, атрофію каналців (рис. 6.9; 6.10). Більшість ниркових клубочків нирки щурів з ГПНГ була не ушкоджена, але окремі з них були виразно зменшені, рисунок клубочкової капілярної сітки не проглядався (рис. 6.11).

Уведення індолінорену у дозі 29,5 мг/кг щурам з моделлю ГПНГ сприяє виразному покращенню каналцевої системи нефронів. Рівень некротичних змін у половини з цих тварин був зведений до мінімуму, відсутні дезорганізація та вакуольна дистрофія нефроцитів, дистальних та проксимальних частин каналців нефронів, виразно зменшена кількість каналців у кортико-медулярній зоні та мозковому шарі, просвіт яких закупорено циліндрами (рис. 6.12).

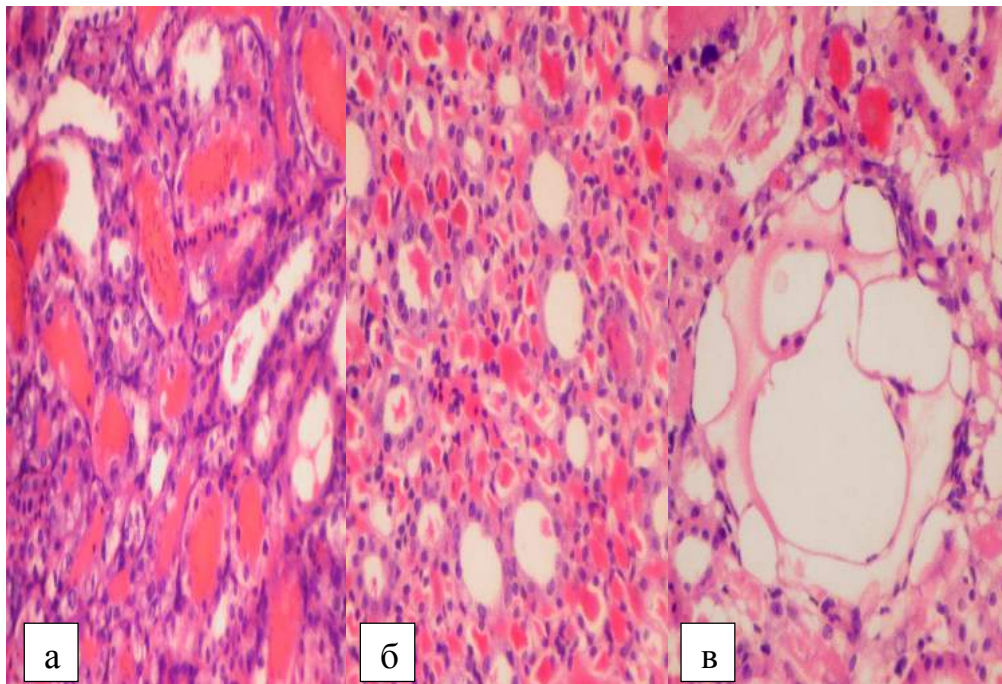


Рис. 6.10 Мікропрепарат нирки щура після введення гліцеролу: закупорені циліндрами канальці кортико-медулярної зони (а), канальці мозкового шару (б); осередок атрофії канальців (в). Гематоксилін-еозин. х 200.

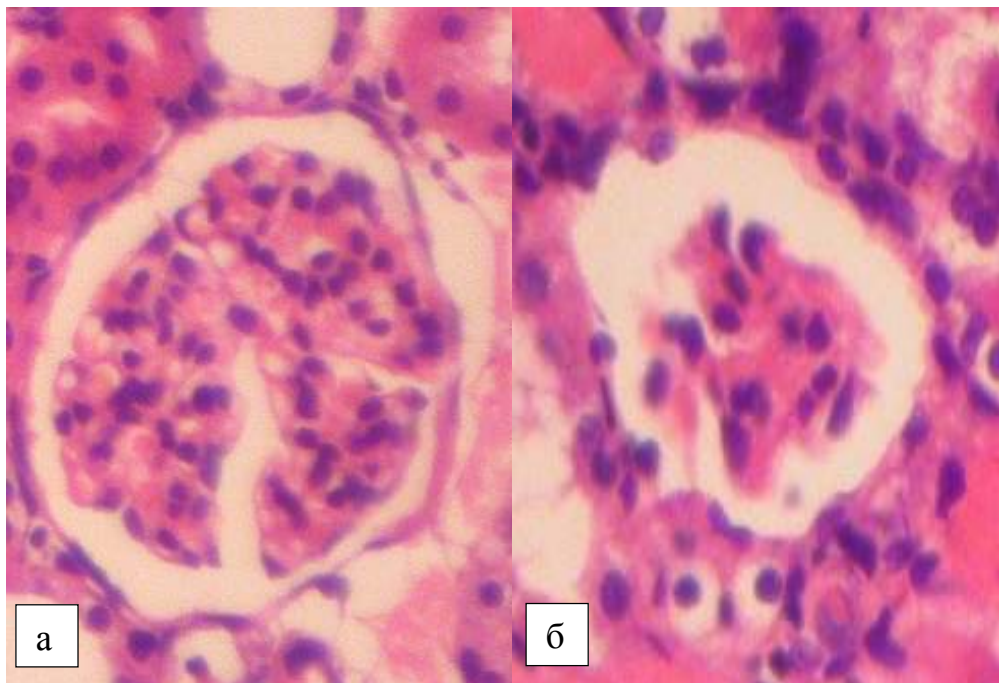


Рис. 6.11 Мікропрепарат нирки щура після введення гліцеролу. Стан ниркових клубочків: а – нормальний, б – пошкоджений. Гематоксилін-еозин. х400.

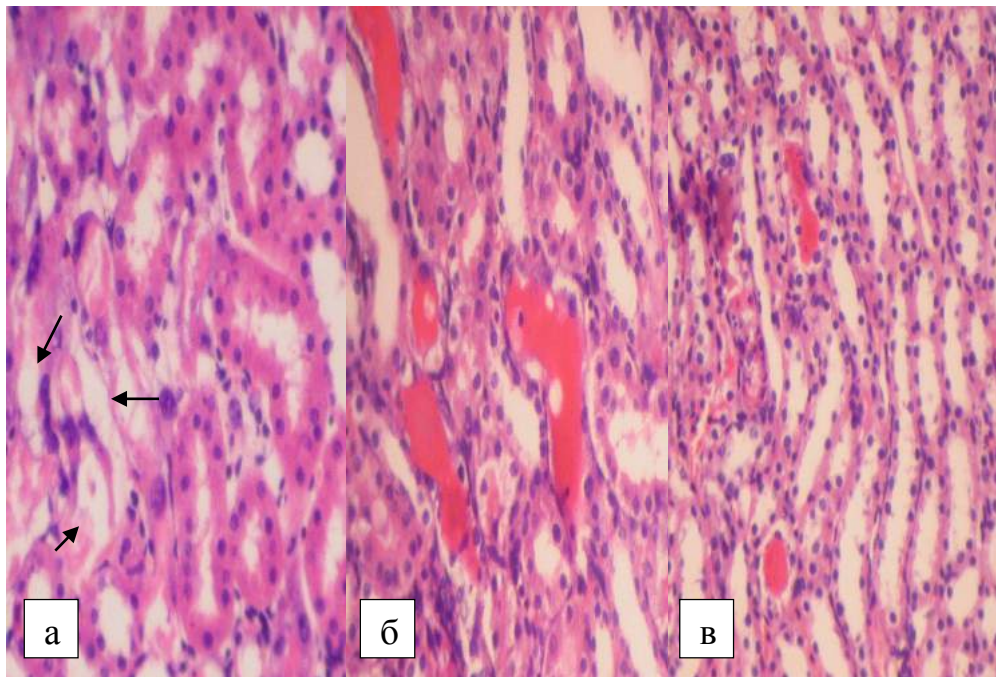


Рис. 6.12 Мікропрепарат нирки щура з групи індолінорену: поодинокі некротично змінені звивисті каналці (стрілки) (а); зменшення циліндрів у каналцях кортико-медулярної зони (б) та мозковому шарі (в). Гематоксилін-еозин. х 200.

Ще у трьох щурів некроз звивистих каналців мав дрібновогнищевий характер, побільшала порівняно з контрольною патологією виразність вакуольної дистрофії нефроцитів, знижена виразність закупорки просвіту каналців різних зон гомогенними циліндрами (рис. 6.13).

Слід відзначити, що доволі часто некроз зачіпав не весь каналець, а тільки його окрему ділянку, у частини некротизованих каналців спостерігали збереження базальної мембрани, що є запорукою подальшого відновлення їх. Простежено також мітоз у нефроцитах, виразний анізонуклеоз, що також є проявом регенераторних процесів (рис. 6.14). І лише у двох щурів з восьми зміни каналцевої системи нефронів були ще виразні, хоча в цілому менші за такі в групі контрольної патології (рис. 6.15). Стан ниркових клубочків у всіх щурів на тлі дії індолінорену (рис. 6.16) практично не змінювався, за винятком окремих клубочків. Виразність некрозу нефронів склала 2,05 балу ( $p < 0,05$ ), вакуольної дистрофії нефроцитів – 1,30 балу проти 2,19 балу ( $p < 0,05$ ), ступінь закупореності каналців циліндрами – 1,83 проти 3,18 балу ( $p < 0,05$ ).

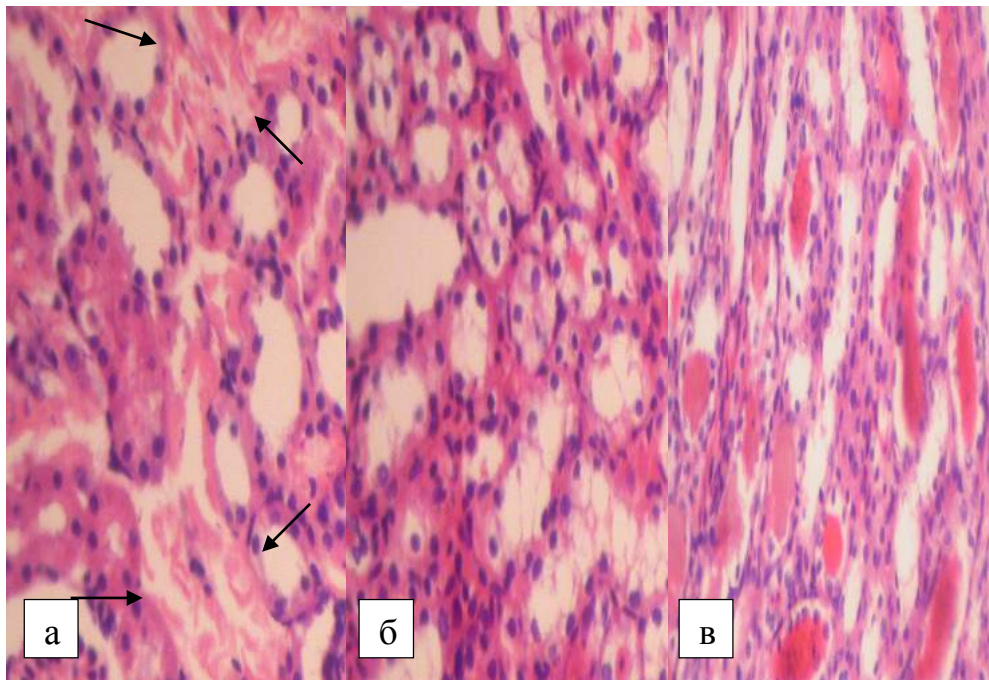


Рис. 6.13 Мікропрепарат нирки щура з групи індолінорену: дрібновогнищевий некроз (між стрілками) звивистих каналців (а); вакуолізація нефроцитів (б); циліндри у каналцях (в). Гематоксилін-еозин. х 200.

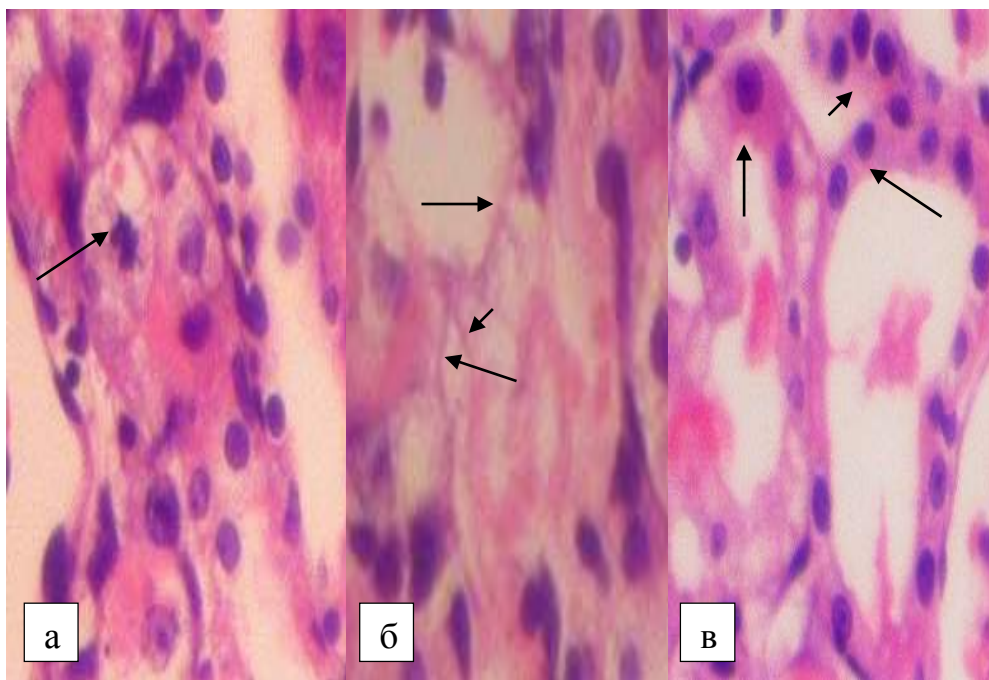


Рис. 6.14 Мікропрепарат нирки щура з групи індолінорену. Регенераторні прояви: мітоз (стрілка) у нефроциті (а); збереження базальних мембран (стрілки) у некротизованих каналцях (б); анізонуклеоз (стрілки), у тому числі, у частково некротизованому каналці (в). Гематоксилін-еозин. х400.



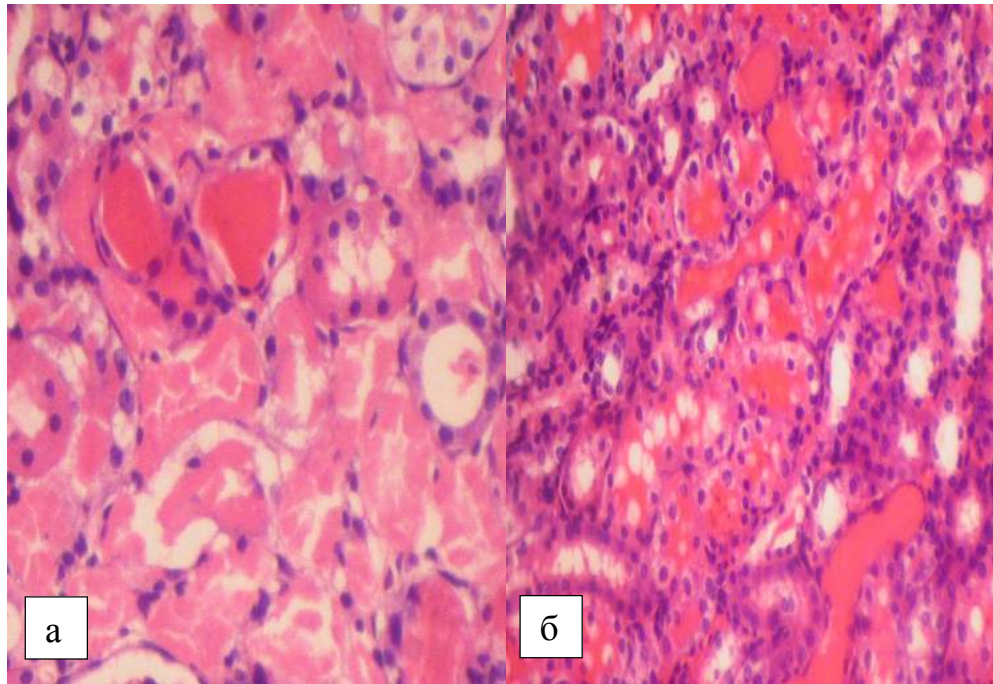


Рис. 6.15 Мікропрепарат нирки щура з групи індолінорену: великовогнищевий некроз звивистих канальців (а); закупорені циліндрами канальці (б). Гематоксилін-еозин. х 250, х 200.

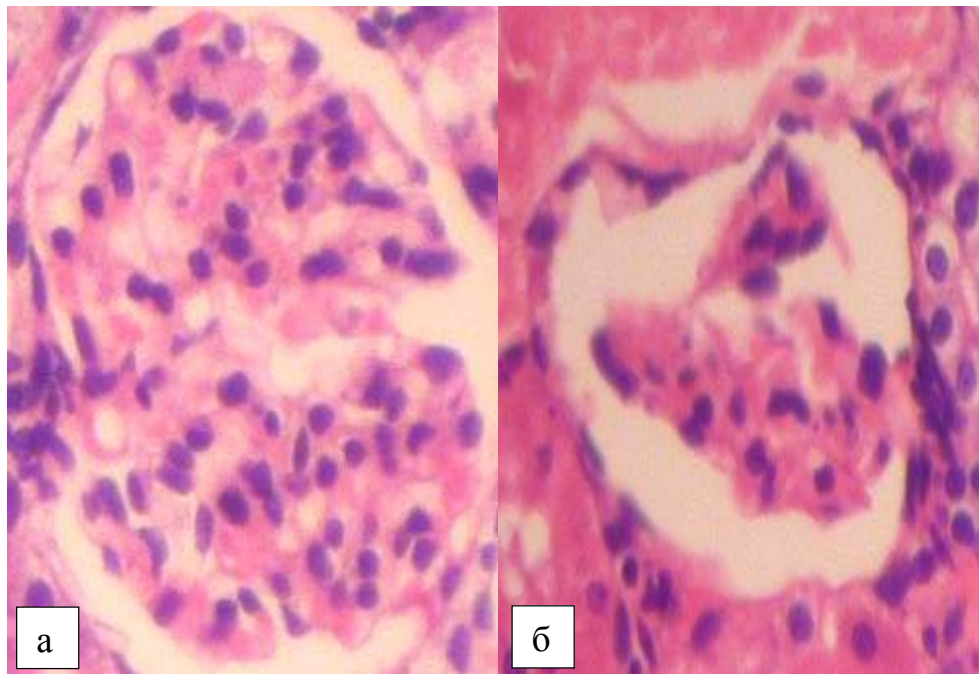


Рис. 6.16 Мікропрепарат нирки щура з групи індолінорену: а – нирковий клубочок (норма); б – ущільнений нирковий клубочок, рисунок капілярних петель не візуалізується. Гематоксилін-еозин. х 400.

Після введення препарату порівняння фуросеміду на тлі гліцеролу тільки у одного з 8 щурів стан канальцевої системи нирок відповідав нормі (рис. 6.17).

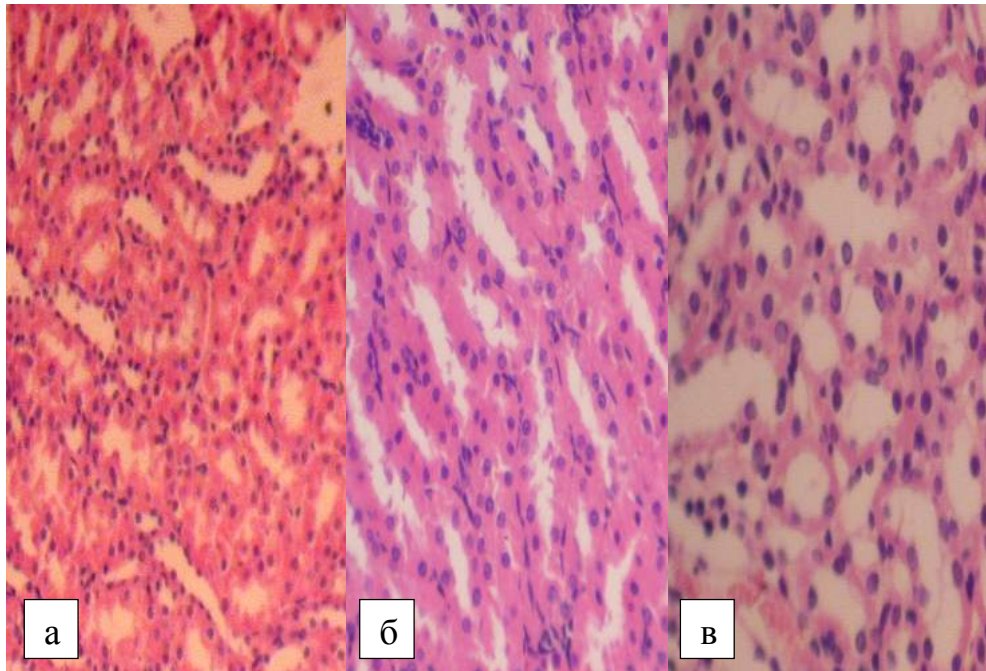


Рис. 6.17 Мікропрепарат нирки щура з групи фуросеміду. Нормальний стан дистальних та проксимальних частин канальців нефронів (а), канальців кортико-медулярної зони (б) та мозкового шару (в). Гематоксилін-еозин. х 200.

Ще у п'яти тварин характерні дистрофічно-некротичні зміни дистальних та проксимальних частин канальців нефронів коливалися від слабких (0,38 балу) до виразних (2,38 балу) (рис. 6.18).

Загалом морфометрично встановлено, що виразність некрозу нефронів під впливом фуросеміду становила 1,52 балу, вакуольної дистрофії – 1,1 балу і наявності циліндрів у просвіті канальців – 1,05 балу. Усі ці ознаки пошкодження канальцевого апарату нефронів нирок щурів з ГПНГ на тлі дії фуросеміду були достовірно нижчими ( $p < 0,05$ ) за такі у нелікованих тварин. Це свідчить про певну ефективність фуросеміду при гострій гліцероловій нирковій недостатності, викликаній введенням гліцеролу.

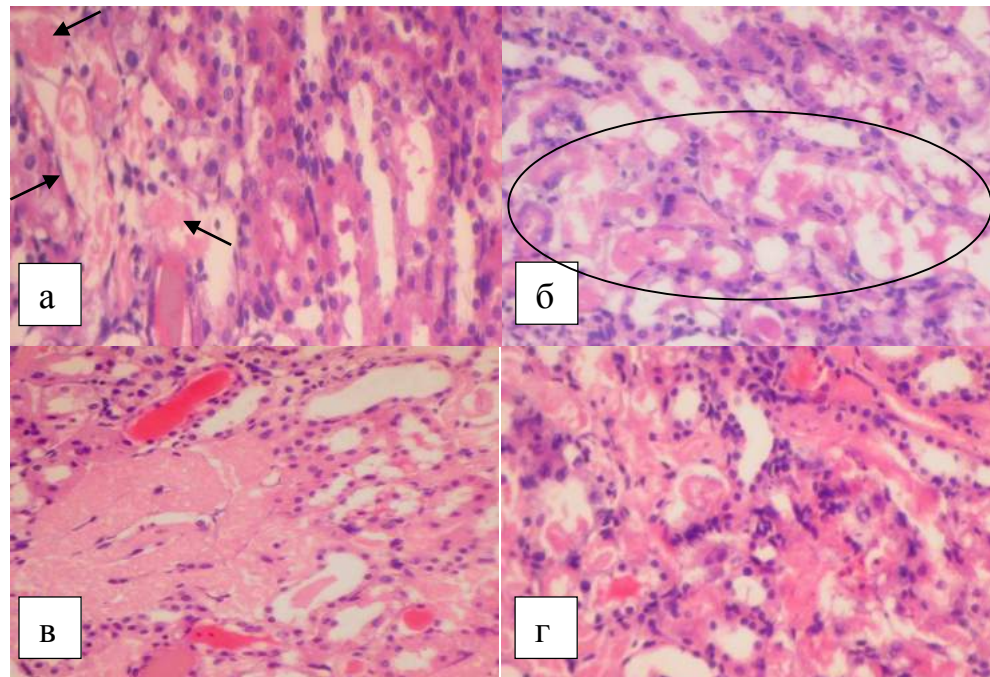


Рис. 6.18 Мікропрепарат нирки щура з групи фуросеміду. Коливання виразності порушень стану кіркових канальців: а – слабо виражені; б – помірно виражені; в, г – сильно виражені. Гематоксилін-еозин. х 250, х 200.

У цілому ряді канальців нирок з на тлі дії фуросеміду збережена базальна мембрана цілком чи частково, виразний анізонуклеоз, помічено мітоз (рис. 6.19).

Коливання виразності патологічних змін на тлі дії фуросеміду спостерігали і в канальцях кортико-медулярної зони і мозкового шару (рис. 6.20).

Ниркові тільця нирок на тлі дії фуросеміду за станом співпадали з такими у інших інших щурів з групи індолінорену (рис. 6.21).

Позитивний ефект дії фуросеміду та сполуки індолінорен на даній експериментальній моделі, очевидно, пов'язаний з їх діуретичними властивостями, що дозволяє більш швидкому виведенню з організму нефротоксичних речовин, які циркулюють у крові. Тим самим зменшується токсичне навантаження та час взаємодії з токсикантами і, як наслідок, – послаблюється виразність некротичних змін канальцевої системи та пов'язаної з ними обструкції просвіту різних канальців. Прояву нефропротекторної дії також сприяють антиоксидантні властивості індолінорену.

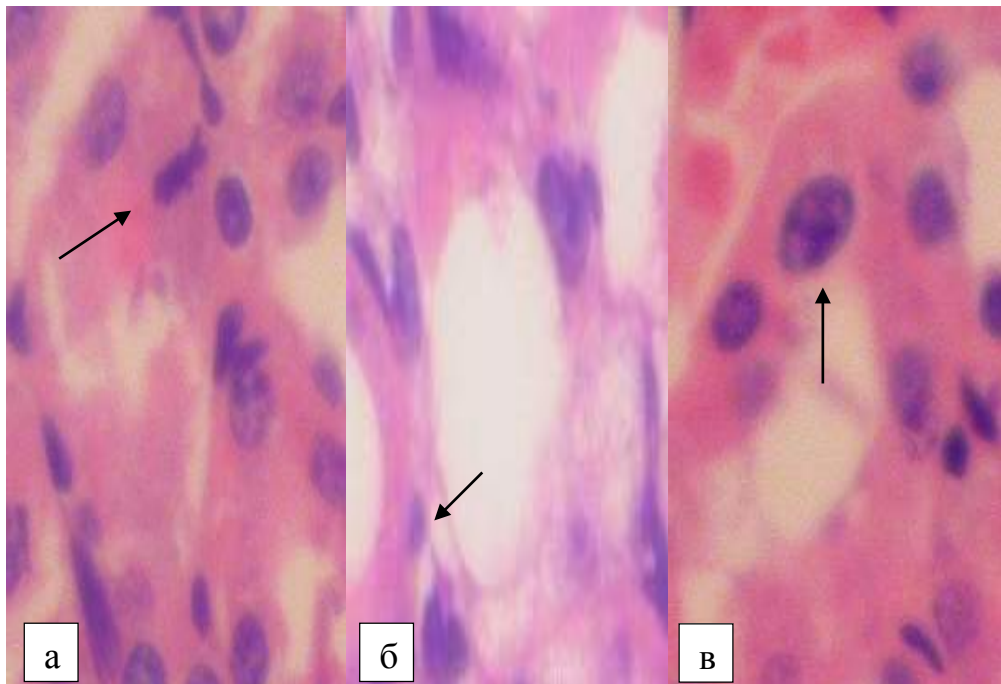


Рис. 6.19 Мікропрепарат нирки щура з групи фуросеміду: мітоз (а), збережена частина базальної мембрани каналця (б); анізонуклеоз (в). Гематоксилін-еозин. Імерсія.

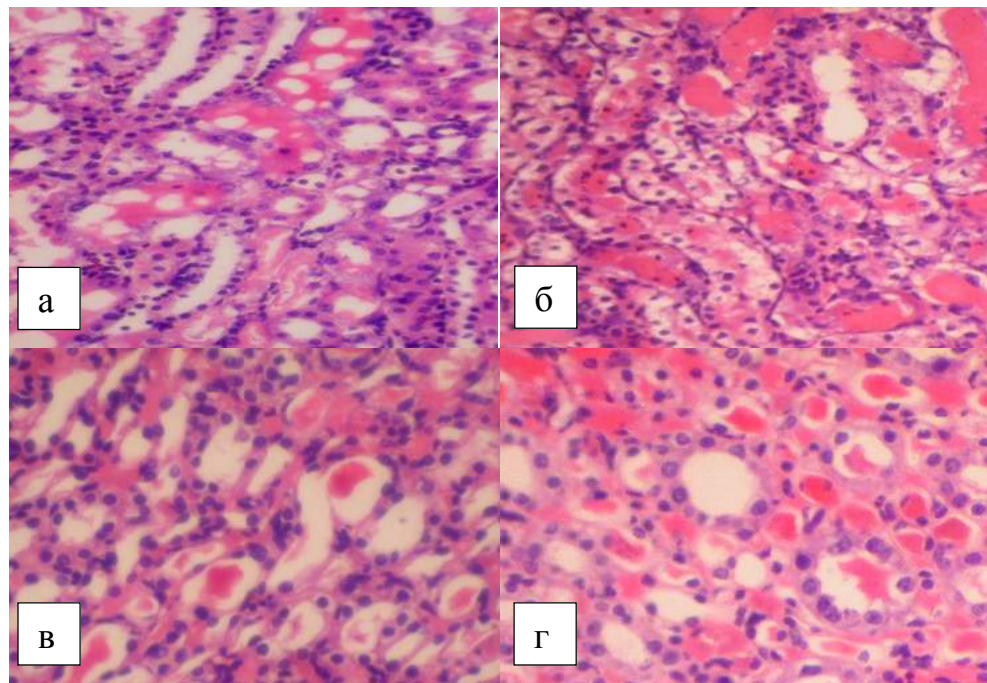


Рис. 6.20 Мікропрепарат нирки щура з групи фуросеміду. Закупорювальні гомогенні циліндри у поодиноких (а) та численних (б) каналцях кортико-медулярної зони: вакуольна дистрофія нефроцитів у незначній (в) та значній (г) кількості каналців мозкового шару. Гематоксилін-еозин. x 250.

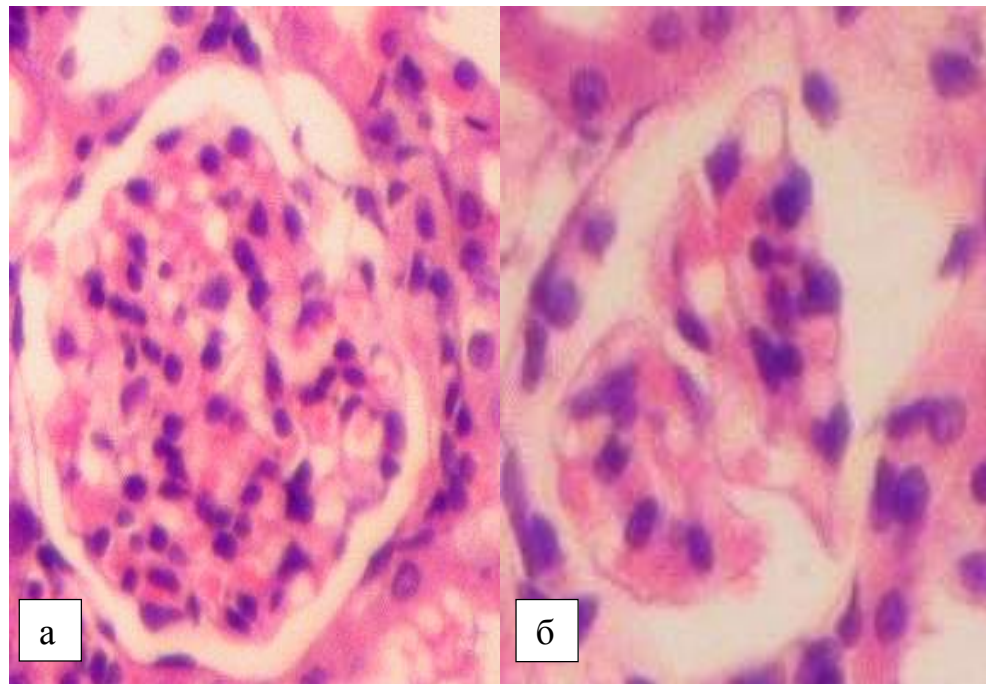


Рис. 6.21 Мікропрепарат нирки щура з групи фуросеміду. а – нормальний клубочок, б – зменшений. Гематоксилін-еозин. х 400.

Важливо також, що серед пошкоджених канальців у значної їх кількості на тлі дії індолінорену була збережена базальна мембрана, що за даними літератури [13] сприяє повній регенерації цих канальців. Підтвердженням цьому є такі регенераторні прояви у нефроцитах як мітоз та анізонуклеоз.

Висновки до розділу 6:

1. Встановлена лікувальна ефективність індолінорену на моделі гемодинамічного набряку легенів, що підтверджено подовженням тривалості життя тварин в 1,8 разу ( $p < 0,05$ ), зниженням коефіцієнта маси легенів щурів у 2,1 разу ( $p < 0,05$ ), збільшенням маси сухого залишку легеневої тканини в 1,3 разу ( $p < 0,05$ ). Гістологічно доведено зниження виразності альвеолярного набряку та збільшення виразності нормального альвеолярного рисунка в 2 рази відповідно ( $p < 0,05$ ). За досліджуваними показниками індолінорен не поступався фуросеміду.

2. Встановлена ефективність індолінорену на моделі гострого

пошкодження нирок гліцеролом, що виявилась підвищенням діурезу на другу добу в 4 рази, на третю – в 1,2 разу ( $p < 0,05$ ); зниженням вмісту креатиніну та сечовини в крові відповідно в 2 та 3 рази; зменшенням рівня білка сечі в 1,7 разу ( $p < 0,05$ ). Встановлено коригувальний вплив індолінорену на стан системи ПОЛ/АОЗ, що виразився в посиленні антиоксидантного захисту – підвищенні рівня ВГ в еритроцитах відповідно в 1,6 разу ( $p < 0,05$ ) та гальмуванні процесів ПОЛ – зниженні вмісту ТБК-АП у сироватці крові на 34 % ( $p < 0,05$ ).

3. За даними гістологічного дослідження структури нирок на моделі гострого пошкодження нирок встановлено, що індолінорен виявляє потужну нефропротекторну дію, суттєво знижуючи патологічні прояви у системі каналців нефронів, про що свідчить зменшення вираженості некрозу, вакуольної дистрофії та обструкції просвіту каналців циліндрами. За більшістю досліджуваних показників індолінорен відповідав препарату порівняння фуросеміду та перевершував його за нормалізувальним впливом на рівень ВГ в еритроцитах та ТБК-АП у сироватці крові.

*Результати експериментальних досліджень даного розділу наведено в таких публікаціях:*

1. Маркіна А. Ю., Тюпка Т. І., Лар'яновська Ю. Б., Нессонова М. Н. Вплив індолінорену на морфофункціональний стан легеневої тканини при експериментальному гемодинамічному набряку легенів. *Здобутки клінічної і експериментальної медицини*. 2011. № 2 (13). С. 77-80. (Особистий внесок – огляд та аналіз літературних джерел, моделювання гемодинамічного набряку легенів, відбір та підготовка біоматеріалу для гістологічного дослідження, аналіз та узагальнення результатів, оформлення статті до друку).
2. Markina A., Mishchenko O., Laryanovska Yu. The impact of indolinoren on histostructure of kidney on the glixerroid acute renal failure model. *ScienceRise: Pharmaceutical Science*. 2017. Vol. 5 (9). P. 10-14. (Особистий внесок – огляд та аналіз літературних джерел, моделювання гострого пошкодження

нирок, відбір та підготовка біоматеріалу для гістологічного дослідження, аналіз та узагальнення результатів, статистична обробка даних, оформлення статті до друку).

3. Markina A. Yu., Astapova N. N., Kononenko N. N., Tyupka T. I. Effects of indolinoren on renal excretory function in rats with acute renal failure. *Actual questions of development of new drugs: book of abstracts XX Internat. scient. and pract., conference of young scientists and students, devoted to the 90th anniversary of doctor of science in pharmacy, prof. Dmitri Pavlovich Salo, Kharkiv, Apr. 25-26, 2013. X. : Вид-во НФаУ, 2013. P. 167.*

## АНАЛІЗ ТА УЗАГАЛЬНЕННЯ РЕЗУЛЬТАТІВ

Діуретики мають унікальну властивість викликати посилене виведення солей (насамперед натрію) і води з організму, тому вони широко застосовуються у лікуванні багатьох захворювань: артеріальної гіпертензії [62, 93, 170, 182, 211, 243, 291], серцевої недостатності [7, 125, 129, 135, 136, 141, 154, 210], ішемічної хвороби серця, як препарати екстренної допомоги при набряку легень та гострому пошкодженні нирок [20, 124, 171, 185, 194, 219, 312].

На вітчизняному фармацевтичному ринку зареєстровано 71 торгову назву діуретичних препаратів на основі лише 10 діючих речовин [109]. Найбільша кількість ТН назв належить індапаміду (16 ТН). Друге місце займає торасемід (10 ТН), третє – фуросемід (9 ТН).

Діуретичні лікарські засоби поступають на вітчизняний ринок з 15 країн світу [109, 164]. Серед них 44 ТН препаратів представлені іноземними виробниками, що становить 62 %. Частка вітчизняних виробників складає 38 % відповідно (зокрема за рахунок діуретичних засобів рослинного походження). Серед закордонних виробників за кількістю зареєстрованих в Україні діуретичних лікарських засобів лідерами є Індія – 7 пропозицій, Німеччина та Польща – 6 пропозицій [109].

Обмежена номенклатура діуретиків вітчизняного виробництва, зокрема відсутність препаратів з такими діючими речовинами як етакринова кислота, еплеренон, гідрохлоротіазид, ксипамід позначається на цінній політиці ліків та робить їх менш доступними для вітчизняного споживача [144].

Отже, на сьогоднішній день фармацевтичний ринок України нараховує достатньо велику кількість діуретичних засобів, проте кількість вітчизняних препаратів є малочисельною. Проблема корекції водно-електролітного обміну та кислотно-лужної рівноваги при лікуванні таких захворювань, як АГ, різні види нефропатій, набряки легень та мозку, при яких широко застосовуються діуретики, вченими сьогодні остаточно не вирішена, а препарати, які мають діуретичну і гіпотензивну дію, а також здатні коригувати метаболічний ацидоз і



метаболический алкалоз, є малочисельними, що актуалізує пошук нових ефективних і безпечних діуретиків.

Останнім часом похідні оксіндолу привертають значну увагу як перспективні сполуки, які мають широкий спектр фармакологічної активності: протизапальну, ноотропну, антигіпоксичну, спазмолітичну, антиоксидантну [32, 50, 151]. Номенклатура похідних індолу з діуретичною дією досить обмежена.

Накопичений досвід у медичній хімії та фармакології свідчить про відсутність абсолютної специфічності дії відомих лікарських засобів: усі вони здатні викликати різнобічні фармакологічні ефекти, одні з яких використовують для терапії певної патології, інші є наслідком побічної дії та токсичності [117, 177]. Можливість передбачити певний вид біологічної активності речовини дає змогу проводити доклінічні дослідження більш прицільно та виявляти корисні і побічні ефекти на ранніх стадіях дослідження потенційного препарату.

До числа програм, за допомогою яких можна здійснювати прогноз різних видів фармакологічної активності, належить програма PASS, розроблена Інститутом біомедичної хімії імені В. М. Ореховича.

За допомогою програми PASS нами було проведено визначення ймовірних видів активності серед нових субстанцій – естерів N-[(2-оксоіндолініліден-3)-2-оксіацетил]-амінокислот, синтезованих на кафедрі аналітичної хімії НФаУ під керівництвом доктора фармацевтичних наук, професора Колісника С. В. [83]. Серед видів фармакологічної активності, вірогідність яких складала не менше 50%, була діуретична.

З метою підтвердження наявності діуретичної активності в експерименті наступним етапом нашої роботи стало скринінгове дослідження діуретичної активності 12 похідних N-[(2-оксоіндолініліден-3)-2-оксіацетил]-амінокислоти та виявлення сподуки-лідера за умов водного навантаження тварин, а також встановлення залежності “структура-активність”.

Встановлено, що із 12 нових сполук 2 сполуки (8.2 та 6.1) виявили діуретичну активність на рівні 44 % та 68 % відповідно, одна сполука (8.1) – 15 % ( $p < 0,05$ ). 8 сполук не виявили достовірного впливу на діурез порівняно з

групою інтактного контролю.

За даними скринінгу для подальших досліджень обрана сполука-лідер – пропіловий естер N-[(2-оксоіндолініліден-3)-2-оксіацетил]-валіну (умовна назва «індолінорен»), яка у дозі 5 мг/кг, еквівалентній дозі фуросеміду, за значенням діуретичного ефекту (98 %) перевершує гідрохлоротіазид (70 %), доза якого у п'ять разів вища – 25 мг/кг [82, 85].

Порівняння діуретичної активності двох підгруп досліджуваних сполук, що містять у своїх молекулах залишок одноосновної амінокислоти валіну (відповідно сполуки під шифром 6.1-6.3) та сполук, що містять залишки одноосновної амінокислоти лейцину (7.1-7.3) свідчить, що в цих двох підгрупах виявлено лише 2 активні сполуки (6.1 та 6.3), які за умов водного навантаження викликають збільшення видільної функції нирок на 68 % та 98 %.

У підгрупі сполук, що містять залишки двоосновних амінокислот аспарагінової та глутамінової, діуретична активність виявлена у 2 похідних, що містять радикали аспарагінової кислоти (8.1 та 8.2), діуретична активність яких становить 15 та 44 % відповідно. Сполуки – естери глутамінової кислоти (9.1-9.3) не виявили діуретичний ефект.

Довжина аліфатичного ланцюга естерного угруповання також впливає на величину видільної функції нирок. У парах сполук з підгруп, що містять залишки одноосновної амінокислоти валіну та двоосновної аспарагінової кислоти, підвищення діуретичного ефекту відбувається з подовженням ланцюга естерного залишку від метилу до пропілу.

Наступним завданням було визначення умовно-ефективної дози сполуки-лідера під назвою «індолінорен» за умов водного навантаження. Встановлено, що умовно-ефективна доза індолінорену [17] становила 29,5 мг/кг. Для подальших досліджень було використано дозу 29,5 мг/кг, що є ізоефективною фуросеміду в дозі 5 мг/кг [86].

Наступним завданням нашої роботи стало вивчення діуретичної дії індолінорену в дозі 29,5 мг/кг протягом доби, для чого вимірювали діурез через різні проміжки часу (2, 4 та 24 год), що дозволило припустити тривалість дії

індолінорену.

Результати дослідження свідчать, що індолінорен у дозі 29,5 мг/кг виявляє діуретичну дію протягом усього періоду експерименту (24 год). Його активність, визначена через 2 год, перевищувала активність препарату порівняння індапаміду в 2 рази. Через наступні 2 год експерименту активність індолінорену за показниками діурезу у щурів перевищувала активність індапаміду в 3 рази.

Максимальний діурез на тлі уведення індолінорену зареєстровано у період між 2 та 4 год експерименту. Протягом наступних 20 год дослідження діуретична активність індолінорену знизилася та була нижчою за активність індапаміду. Варто відзначити, що індолінорен поступався препарату порівняння фуросеміду через 2 год експерименту та перевищував його активність в 2,2 рази в наступні 2 год дослідження. Отримані дані відносно діуретичної дії фуросеміду співпадають з даними літератури, які свідчать про пік активності препарату в перші 2 год [66].

Одержані дані свідчать, що обрана сполука індолінорен в дозі 29,5 мг/кг призводить до вірогідного підвищення діурезу протягом 24 год дослідження та свідчить про більш тривалий ефект порівняно з фуросемідом.

Отже, можна зробити висновок, що нова субстанція відноситься до групи діуретиків середньої швидкості та тривалості дії (початок ефекту через 1 год від моменту введення і тривалістю дії 10 год і більше).

Одним із основних етапів доклінічного дослідження нових сполук є визначення їх токсикологічних властивостей [45]. Нами визначена  $LD_{50}$  індолінорену на мишах та щурах при внутрішньоочеревинному та внутрішньошлунковому введенні [130]. Визначена  $LD_{50}$  на мишах дорівнювала  $4000 \pm 380,7$  мг/кг при внутрішньоочеревинному введенні. При внутрішньошлунковому введенні індолінорену мишам у дозі від 2000 до 8000 мг/кг  $LD_{50}$  встановити не вдалося, оскільки жодна тварина не загинула.  $LD_{50}$  при внутрішньоочеревинному введенні щурам дорівнювала  $3167 \pm 409,0$  мг/кг. При внутрішньошлунковому введенні щурам максимально припустимої кількості субстанції загинув тварин не спостерігали.

Отже, згідно з одержаними результатами, індолінорен відноситься до VI

класу токсичності за класифікацією К. К. Сидорова [45].

Подальше фармакологічне дослідження індолінорену передбачало вивчення його впливу на видільну функцію нирок та з'ясування можливих механізмів дії при одноразовому та багаторазовому введенні за умов спонтанного діурезу.

При одноразовому введенні субстанції щурам експериментально встановлено, що індолінорен в дозі 29,5 мг/кг за умов вільного доступу до води сприяє збільшенню добового діурезу у піддослідних щурів у 2,7 разу ( $p < 0,05$ ). Разове введення індолінорену збільшує екскрецію іонів калію та натрію – в 2,8 разу та 3 рази відповідно ( $p < 0,05$ ). Встановлено, що досліджувана сполука суттєво не впливає на показники концентрації та екскрецію креатиніну, тобто, імовірно, не впливає на процеси клубочкової фільтрації.

Протягом експерименту не відмічено достовірної різниці у групі інтактних тварин та групі щурів, яким вводили індолінорен, відносно показників питної активності.

Таким чином, показники, визначені через добу після уведення індолінорену, свідчать, що одноразове введення індолінорену за умов спонтанного діурезу не чинить суттєвого впливу на видільну функцію нирок, окрім збільшення діурезу та підвищення екскреції іонів натрію та калію. Дані результати також вказують на “м'яку дію” субстанції та відсутність різких порушень водно-сольового балансу при її одноразовому введенні. Підвищення натрійурезу та калійурезу при одночасному підвищенні кількості виділеної сечі може опосередковано свідчити, що механізмом діуретичної дії індолінорену є зниження каналцевої реабсорбції [21].

Багаторазове введення індолінорену (протягом 7 днів) в умовно-ефективній дозі 29,5 мг/кг сприяло підвищенню діурезу протягом усього досліджу. Так, на п'яту добу експерименту відмічено максимальне збільшення виділення сечі (у 4 рази); на сьому добу – в 2,6 разу ( $p < 0,05$ ).

Істотних та достовірних змін відносно питної активності при 7-денному введенні індолінорену не відмічено. Даний показник становив в середньому 3,19

мл та не мав достовірної різниці відносно показників групи інтактного контролю. Враховуючи вищенаведені дані, можна зробити висновок про те, що підвищення діурезу у щурів, яким вводили індолінорен, не пов'язано зі зміною питної активності тварин. Введення індолінорену протягом тривалого періоду привело до зниження концентрації креатиніну в крові. Відмічено підвищення екскреції сечової кислоти, що свідчить про урикозуричні властивості індолінорену [247].

Таким чином, механізм діуретичної дії індолінорену можливо пов'язаний з пригніченням каналцевої реабсорбції натрію і в меншій мірі калію. Про це переконливо свідчить виражений натрійурез і зростання значення натрій-калієвого коефіцієнту. На підставі одержаних даних можна стверджувати, що за умов спонтанного діурезу та вільного доступу до води сечовиділення під впливом індолінорену виразніше зростає на тлі його багаторазового уведення. Збільшення виділення нирками сечі за даних умов не пов'язане із зростанням споживання води. Індолінорен при тривалому застосуванні за умов спонтанного діурезу сприяє виведенню іонів натрію і, меншою мірою, іонів калію.

На тлі багаторазового уведення індолінорену за умов водного навантаження встановлено достовірне підвищення діурезу (в 1,5 разу), при цьому підсилення ШКФ та реабсорбції води не було достовірним [247].

Рівень екскреції іонів натрію у тварин, яким вводили індолінорен, зростав та перевищував даний показник у групі інтактного контролю в 3 рази. Відмічено зростання калійурезу в 2,4 разу.

Враховуючи вищенаведені результати, можна зробити висновок про більш виразний натрійуретичний ефект індолінорену порівняно з калійуретичним та послаблення мінералокортикоїдного контролю видільної функції нирок.

Наступним завданням нашої роботи стало дослідження впливу індолінорену на функціональний стан нирок за умов водного та сольового навантаження, яке викликали внутрішньошлунковим введенням тваринам 0,45% розчину хлориду натрію в кількості 3% від маси тіла тварин [159].

Встановлено, що за умов водного навантаження індолінорен збільшує виділення сечі в 2,7 разу відносно інтактного контролю ( $p < 0,05$ ). Аналіз

одержаних даних свідчить, що за умов водного навантаження індолінорен викликає салуретичний ефект, який виявлявся збільшенням екскреції натрію та калію в 2,3 ( $p < 0,05$ ), що може свідчити про зменшення його реабсорбції в канальцях нефронів.

Не відмічено достовірної різниці показників екскреції креатиніну, що може свідчити про відсутність впливу індолінорену на швидкість клубочкової фільтрації. Встановлено достовірне зростання натрій-калієвого коефіцієнта сечі на тлі уведення індолінорену і препарату порівняння фуросеміду відповідно в 2,3 та 2,1 разу відносно інтактного контролю ( $p < 0,05$ ), що свідчить про більш виразний натрійурез, ніж калійурез на тлі їх дії [304].

За умов сольового навантаження у групі інтактного контролю відмічено підвищення натрійурезу та не відмічено достовірних змін показника екскреції креатиніну. Виведення калію та води було майже таким, як і при водному навантаженні. Отримані дані співпадають з даними літератури, які свідчать про затримку діурезу у тварин на другу годину після сольового навантаження 0,4 % розчину натрію хлориду [17].

При сольовому навантаженні індолінорен збільшує виділення сечі в 4,8 разу відносно інтактного контролю ( $p < 0,05$ ), посилює екскрецію натрію – 2,3 разу ( $p < 0,05$ ). Не виявлено достовірних змін показника екскреції креатиніну.

Фуросемід сприяв підвищенню діурезу в 3,3 разу ( $p < 0,05$ ) відносно інтактного контролю, проте поступався індолінорену за своєю діуретичною активністю ( $p < 0,05$ ). Не виявлено достовірних змін відносно показника екскреції креатиніну. Препарат сприяв достовірному підвищенню натрійурезу в 2,5 разу.

На відміну від одержаних даних в нашому експерименті, в роботі Н. Herken (1961, цит. По Є. Б. Берхіну, 1967) встановлено підвищення ефективності діуретичної дії фуросеміду у щурів за умов СН [159]. Розбіжність результатів може бути пов'язана з умовами постановки експерименту. В досліджах Н. Herken щурам вводили внутрішньошлунково крапельно 0,9 % розчин натрію хлориду протягом 24 год. Щурам в нашому експерименті вводили гіпотонічний розчин натрію хлориду одноразово [178].

Відмічено достовірне збільшення відносно групи інтактного контролю натрій-калієвого коефіцієнта сечі в 2,1 разу під впливом індолінорену і в 2,3 разу на тлі дії фуросеміду, що свідчить про більш виразне зростання натрійурезу, ніж калійурезу, та віддзеркалює зменшення мінералокортикоїдного контролю видільної функції нирок, тобто антиальдостероновий вплив [159, 304].

Вищенаведені дані дають змогу зробити висновок про високу діуретичну активність індолінорену в дозі 29,5 мг/кг за умов сольового навантаження. Збільшення натрійурезу при сольовому навантаженні дає змогу припустити, що діуретичний ефект реалізується за рахунок пригнічення каналцевого транспорту і практично не впливає на клубочкову фільтрацію, оскільки показники екскреції креатиніну, які виступають маркером клубочкової фільтрації [17, 24], залишались на рівні вихідних показників [248].

З даних літератури відомо, що мінералокортикоїди впливають на транспорт іонів  $\text{Na}^+$  та  $\text{K}^+$  і приймають участь у регуляції водно-сольового гомеостазу [17, 24, 218, 301]. Вони здатні впливати як на центральні ланки регуляції адренкортикальної системи, так і безпосередньо на надниркові залози, змінюючи синтез та секрецію кортикостероїдів [212, 218, 301].

Беручи до уваги вищенаведені дані, наступним завданням нашої роботи стало вивчення впливу індолінорену на основні показники діяльності нирок за умов блокади альдостеронових рецепторів. Зниження мінералокортикоїдної активності моделювали введенням конкурентного антагоніста альдостерону спіронолактону в дозі 20 мг/кг маси тіла щурів [99].

За умов блокади альдостеронових рецепторів, що підтверджено збільшенням діурезу в 1,5 разу ( $p < 0,05$ ) на тлі застосування спіронолактону, встановлено підвищення діурезу на тлі введення індолінорену в 4 рази, зростання екскреції іонів натрію в 3,8 разу відносно інтактного контролю ( $p < 0,05$ ) [245].

Слід відзначити, що показник натрій-калієвого коефіцієнту сечі зростав у 2,4 разу відносно інтактного контролю ( $p < 0,05$ ).

Одержані дані свідчать про високу діуретичну активність індолінорену за умов зниженої мінералокортикоїдної активності та про сумачію діуретичного

ефекту, що є важливою особливістю з точки зору перспектив сумісного застосування субстанції з калійзберігаючим діуретиком у клінічній практиці.

Відомо, що дофамін в організмі відіграє важливу роль у підтримці водно-сольового гомеостазу [106, 148]. Йому властиві такі ефекти, як стимуляція водного діурезу внаслідок посилення ниркового кровотоку, активація натрійурезу через пригнічення реабсорбції іонів натрію внаслідок впливу на епітелій каналців нефрона, стимуляція натрійурезу та зменшення калійурезу внаслідок пригнічення секреції альдостерону в надниркових залозах [24]. Збуджуючи D<sub>1</sub>-рецептори гладком'язових клітин ниркових артерій та D<sub>2</sub>-рецептори постсинаптичної мембрани в судинах нирок, дофамін розширює артеріоли, посилює нирковий кровотіг та підвищує клубочкову ультрафільтрацію [24]. Активація D<sub>1</sub>-рецепторів епітеліоцитів каналців викликає пригнічення Na<sup>+</sup>/H<sup>+</sup>-обміну та активності Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup>-АТФ-ази, взаємодія з D<sub>2</sub>-рецепторами викликає стимулювання Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup>-обміну в проксимальних каналцях нирок [74].

Згідно з даними літератури похідні індолу є прямими агоністами дофамінових рецепторів [295], а також беручи до уваги доведену здатність деяких споріднених індолу сполук (індометацин) пригнічувати активуючий вплив ангіотензину II та ангіотензину III на синтез альдостерону, нами було вивчено вплив індолінорену на сечовидільну функцію нирок за умов блокади дофамінових рецепторів [84].

Пригнічення дофамінових рецепторів відтворювали шляхом застосування препарату домперидону – антагоніста дофаміну, який блокує його периферичні рецептори, має незначну проникність через гематоенцефалічний бар'єр та дуже рідко викликає екстрапірамідні побічні ефекти [109].

Введення індолінорену в дозі 29,5 мг/кг за умов блокади дофамінових рецепторів домперидоном призводило до зниження ( $p < 0,05$ ) діурезу в 1,4 разу, екскреції іонів натрію та калію в 1,7 та 1,5 разу, відповідно, відносно окремого введення індолінорену.

Враховуючи результати експерименту, а також літературні відомості про



належність похідних індолу (до яких відноситься індолінорен) до прямих агоністів рецепторів дофаміну, можна припустити, що зниження діуретичної та салуретичної активності індолінорену, за умов блокади дофамінових рецепторів домперидоном пов'язані з залученням до реалізації діуретичного ефекту індолінорену дофамінергічного механізму. Доцільним є подальше поглиблене дослідження цього механізму.

Наступним етапом наших досліджень було встановлення супутніх фармакологічних властивостей індолінорену, а саме: протизапальних, антиоксидантних, антигіпоксичних та антимікробних.

Запальні процеси в сечовидільній системі становлять значну частку від загальної кількості усіх запальних патологій. Протизапальний ефект може долучатися до реалізації нефропротекторної активності, особливо у віддалені терміни нефропатій або ж при імуноопосередкованих захворюваннях нирок [15, 27]. Прозапальні механізми активуються після ниркової ішемії (як у паренхімі, так і в судинах) та посилюють ураження даного органу [114, 147]. Тому на сьогоднішній день лікарі віддають перевагу лікам, які чинять комплексну дію на сечовидільну систему [33, 280]. Саме тому при вивченні нефротропних засобів актуальною є оцінка їх протизапальних властивостей, які реалізуються переважно на рівні гальмування синтезу простагландинів, а також брадикініну та гістаміну [301].

Досліджено вплив індолінорену на процес запалення *in vivo* на моделі карагенінового набряку задньої кінцівки щурів у порівнянні з НПЗЗ – інгібітором ЦОГ-1 та ЦОГ-2 – натрію диклофенаком у дозі 8 мг/кг [46].

Встановлено, що досліджувана субстанція індолінорен виявляла антиексудативну активність та достовірно зменшувала набряк стопи в порівнянні з контрольною групою тварин з 1-ї по 2-гу год експерименту. Антиексудативна активність індолінорену на 1-шу год становила 45,5 %, на третю – 9,5 % відносно контролю. Пік активності припадав на 2-гу год дослідження (57,1 %). Відомо, що в перші 30-90 хв у патогенезі розвитку карагенінового набряку беруть участь гістамін і серотонін, в межах 1,5 -2,5 год –

кініни (брадікінін і калідін), а між 2,5 – 5,5 год – простагландини [46].

Антиексудативна активність препарату порівняння натрію диклофенаку протягом 3 год дослідження складала 58,9 %, 66,7 % та 65,7 % відповідно, що відповідає механізму протизапальної дії нестероїдних протизапальних засобів, яка реалізується на рівні гальмування синтезу простагландинів, брадікініну, гістаміну [46]. Простагландини, передусім з групи E<sub>2</sub>, стимулюють діурез внаслідок розширення артеріол та посилення ниркового кровотоку, зниження реабсорбції сечовини та пригнічення реабсорбції Na<sup>+</sup> на рівні висхідної частини петлі Генле та збиральних трубок кіркової речовини нирок [19].

Враховуючи вищенаведені дані, можна припустити, що індолінорен чинить антиексудативну дію та не впливає на вивільнення простагландинів, які, в свою чергу, опосередковано, впливають на терапевтичний ефект діуретичних засобів [301].

Згідно з даними літератури, патологічні процеси, які потребують використання діуретиків (хвороби нирок, серця тощо), досить часто поєднуються з інфекційним процесом [147]. У зв'язку з цим наступним завданням нашої роботи було дослідження антимікробної активності індолінорену, що вивчали методом дифузії субстанції в агар (метод «колодязів») [25].

Встановлено, що індолінорен чинить помірну антибактеріальну дію на штами *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Bacillus subtilis*. Найбільша чутливість до індолінорену спостерігалась у культур: *Staphylococcus aureus* (зона затримки росту даних мікроорганізмів складала –22 мм); *Escherichia coli* та *Bacillus subtilis* (зона затримки росту цих мікроорганізмів – 21 мм); *Pseudomonas aeruginosa* (зона затримки росту – 20 мм). Ступінь чутливості інших культур, а саме *Candida albicans* та *Proteus vulgaris* була нижчою, про що свідчила менш виражена зона затримки росту цих мікроорганізмів (12 та 18 мм відповідно).

Зважаючи на те, що *Staphylococcus aureus* є одним із збудників інфекційних процесів, *Escherichia coli* – найпоширеніший збудник інфекції

сечовивідних шляхів [77, 147], а *Pseudomonas aeruginosa* є типовою причиною тяжкої госпітальної інфекції, яка нерідко клінічно виявляється за типом пієлонефриту [77, 147], наявність у потенційного діуретика індолінорену антибактеріальної дії проти названих мікроорганізмів є дуже корисною властивістю.

Будь-який патологічний процес в організмі людини супроводжується запуском цілого ряду реакцій вільнорадикального окиснення [6, 32, 36, 187, 276, 284]. Окиснювальний стрес опосередковано може призводити до широкого спектру ренальних порушень: від гострого пошкодження нирок, рабдоміолізу, обструктивної нефропатії та гіперліпідемії до хронічної ниркової недостатності та потреби у гемодіалізі. Тому антиоксиданти розглядають як перспективні нефропротектори [110]. Однак, багато нових субстанцій в залежності від їх хімічної структури або дози можуть виявляти як анти-, так і прооксидантний ефект [6]. Тому наступним завданням нашої роботи стало вивчення антиоксидантної активності індолінорену *in vitro* в модельній системі жовточних ліпопротеїдів [91]. Для оцінки антиоксидантних властивостей індолінорену порівнювали концентрації, які викликали 50 % гальмування накопичення ТБК-активних продуктів в модельній системі ЖЛП. Як препарат порівняння був обраний бутилгідрокситолуол [32].

Встановлено, що індолінорен у концентрації 50 мг/мл виявляє антиоксидантні властивості, про що свідчить зниження продуктів, що реагують з 2-тіобарбітуровою кислотою, на 69,1 % ( $p < 0,05$ ). Зі збільшенням концентрації від 100 мг/мл до 200 мг/мл активність індолінорену зростала і складала 77,9 % ( $p < 0,05$ ) та 83,6 % ( $p < 0,05$ ) відповідно [88].

Отже, індолінорен має виразні антиоксидантні властивості, проте поступається препарату порівняння – бутилгідрокситолуолу, активність якого в концентрації 50, 100 та 200 мг/мл складала 89,2 %, 98,8 % та 99,0 % відповідно.

Гіпоксія посідає одне з провідних місць у патогенезі багатьох захворювань серцево-судинної системи, зокрема ішемічної хвороби серця. Також гіпоксія визнана важливим фактором у патогенезі багатьох ниркових захворювань

[260, 276]. Гостра та хронічна гіпоксія нирок характеризується енергодефіцитом та індукцією фактору HIF-1 (транскрипційний фактор запуску адаптивних реакцій за умов гіпоксії), який бере участь у клітинній регуляції ангіогенезу, метаболізмі глюкози та запуску апоптотичних процесів. У дослідженнях Hung T. W. (2013) підтверджена вирішальна роль HIF-1 $\alpha$  у патогенезі гіпоксії та доведено, що висока інтенсивність даного фактору корелює з низьким рівнем креатиніну в сироватці крові та високою ШКФ [225]. Напрямок у вирішенні проблеми гіпоксії, зокрема і гіпоксії нирок, є використання фармакологічних засобів, які підвищують стійкість організму до гіпоксії незалежно від етіологічного фактора [225].

Вивчено наявність антигіпоксичної дії у індолінорену на моделі гіпоксії з гіперкапнією на щурах [126]. Встановлено наявність антигіпоксичної дії індолінорену на рівні 199 % (відносно групи інтактного контролю) [81, 88]. Досліджувана сполука не поступалась препарату порівняння етилметилгідроксипіридину сукцинату, активність якого склала 215 % ( $p < 0,05$ ).

Враховуючи наявність у індолінорену діуретичної активності та наявність супутніх фармакологічних властивостей: антибактеріальних, антиоксидантних та антигіпоксичних, які доповнюють фармакодинаміку сполуки-лідера, з метою визначення перспектив можливого клінічного застосування доцільним було дослідити його ефективність на експериментальних модельних патологіях: гемодинамічному набряку легенів та гострому пошкодженні нирок гліцеролом.

Набряк легень в даний час залишається актуальною проблемою медицини, оскільки ця патологія є ускладненням багатьох серцево-судинних захворювань: мітральних і аортальних пороків, гіпертонічної хвороби, стенокардії, інфаркту міокарда, перикардиту, атеросклерозу та ін. [34, 146, 251]. Набряк легень, який розвивається у хворих з різноманітною патологією, вимагає проведення негайних лікувальних заходів, метою яких є боротьба з гострою дихальною недостатністю та елімінація факторів, що впливають на процес акумуляції води, електролітів і білків у екстраваскулярному просторі легенів [153, 231]. В огляді міжнародних клінічних досліджень показано, що у значної частини хворих за

умов своєчасного лікування належним чином цей стан є зворотним. Тому фармакотерапія набряку легенів є комплексною у призначенні лікарських препаратів, які впливають на різні патогенетичні ланки даного синдрому [75, 231]. Основна мета комплексної терапії – знизити гідростатичний тиск у легеневих капілярах і тим самим зменшити кількість рідини, яка фільтрується в екстравазальний легеневий простір [153]. У зв'язку з цим хворим з набряком легенів у схему лікування включають діуретики, які чинять позитивний вплив на перебіг даної патології [153, 231]. Діуретики викликають швидкий ефект шляхом впливу на венозний кровобіг і зниження перфузії мікросудин легень. Але принциповий механізм їх ефективності при набряку легень полягає в екскреції нирками хлористого натрію і води. Із збільшенням діурезу знижується кінцевий діастолічний тиск у порожнині лівого шлуночка, що в свою чергу, приводить до зниження гідростатичного тиску в легеневих капілярах.

Таким чином, діуретики мають такі фармакологічні властивості, як пряма вазодилатуюча дія на легеневі судини та підвищення діурезу, що дає змогу знизити гідростатичний тиск, рівень фільтрації легеневих мікросудин [153].

Враховуючи вищенаведені дані, доцільно було провести вивчення впливу індолінорену на перебіг гемодинамічного набряку легень у щурів, викликаного введенням адреналіну гідротартрату внутрішньом'язово у дозі 5 мг/кг [130]. У механізмі розвитку набряку легенів лежить гостре підвищення гідростатичного тиску в капілярах малого круга кровобігу та підвищення проникності судинної стінки, що призводить до виходу рідкої частини крові в інтерстиціальну тканину та альвеоли. Транссудат, який багатий на білки, утворює в альвеолах стійку піну, яка зменшує дихальну поверхню легенів та призводить до розвитку тяжкої дихальної недостатності [146].

В даному дослідженні препаратом порівняння виступав фуросемід – діуретик сильної і швидкої дії. Індолінорен та препарат порівняння вводили внутрішньошлунково за 2 год до моделювання набряку в дозах 29,5 мг/кг та 5 мг/кг відповідно. Тривалість життя тварин вимірювали з моменту введення адреналіну гідротартрату.

Встановлено, що індолінорен подовжує тривалість життя щурів у 1,8 разу ( $p < 0,05$ ) відносно групи контрольної патології та не має достовірної різниці з тривалістю життя тварин, яким вводили фуросемід [82].

Підтвердженням зменшення набряку легенів під впливом індолінорену є зниження коефіцієнту маси легенів у 2,1 разу та збільшення сухого залишку легеневої тканини в 1,3 разу відносно контрольної патології. Достовірної різниці в показниках сухого залишку легеневої тканини та коефіцієнту маси легенів у групі індолінорену та групі фуросеміду не відмічено.

Отримані дані свідчать про позитивний вплив індолінорену на перебіг гемодинамічного набряку легенів, який був підтверджений також результатами гістологічних досліджень мікропрепаратів, в яких визначали ступінь виразності альвеолярного набряку та збереження альвеолярного рисунку за 5-бальною системою [132].

Встановлено, що на тлі введення індолінорену виразність альвеолярного набряку зменшена. Набряк локалізувався практично тільки у верхівкових ділянках легеневої частки. У таких зонах набрякла рідина у частині альвеол не заповнювала цілком всю порожнину, а розміщувалася пристінково. В цілому дихальна поверхня верхівкових ділянок була збільшена і, відповідно, меншими були ознаки гострої емфіземи. Прикореневі ділянки та вільні від набряку верхівкові зони легеневої тканини зберігали досить типовий альвеолярний рисунок. Просвіт дрібних бронхів та бронхіол вільний, епітелій, що вистеляв їх стінку, не змінено. Судинна стінка у прикореневих ділянках легеневої частки не змінена [90].

При введенні в аналогічному режимі препарату порівняння фуросеміду альвеолярний набряк виявлено переважно у верхівкових ділянках легеневої частки. Просвіт альвеол у верхівкових ділянках повністю заповнено тільки еритроцитами, що одночасно з крововиливами у міжальвеолярних перетинках і руйнуванням їх в наслідок цього, створювало вигляд суцільного «залиття» кров'ю цих ділянок паренхіми. Все це знижувало дихальну поверхню тканини.

За результатами напівкількісної оцінки стану легеневої тканини

встановлено, що індолінорен знижував інтенсивність альвеолярного набряку та підвищував виразність альвеолярного рисунку в 2 рази відповідно відносно групи контрольної патології та не мав достовірної різниці відносно групи щурів, яким вводили фуросемід.

Отже, одержані результати свідчать про ефективність індолінорену при експериментальному набряку легенів, за виразністю якої він не поступається фуросеміду.

Невідкладні стани з життєво небезпечним ураженням нирок найчастіше виникають при дії токсичного фактора на весь організм. За цих умов функція нирок спрямована на елімінацію токсичних продуктів екзо- або ендогенного походження, може стати вирішальним фактором для збереження життя пацієнта [105, 153, 155].

Відомо, що гостре ураження нирок відноситься до числа найбільш небезпечних невідкладних станів [105, 188, 194]. У даний час у загальній популяції частота гострого ураження нирок наближається до 200 на 1 млн. населення, причому вона виникає в 5 разів частіше у літніх, ніж у молодих [188, 194]. Грубі порушення водно-електролітного та азотистого обміну при гострому ураженні нирок призводять до розладу функцій усіх життєво важливих органів і систем: печінки, серцево-судинної, нервової, дихальної систем [105, 188, 233]. Причинами гострого ураження нирок можуть бути інфекція, гіповолемія, серцева недостатність, а також нефротоксини, наприклад, аміноглікозидні антибіотики. Незважаючи на удосконалення методів профілактики та лікування, смертність від гострого пошкодження нирок залишається незмінно високою протягом останніх десятиліть [233]. Хронічний патологічний процес в нирках досить часто носить незворотний характер.

Відомо, що гостре пошкодження нирок з відсутністю олігурії має кращі прогнози, ніж гостре пошкодження нирок з вираженою олігурією [188, 233]. Оскільки олігурія є вагомим фактором ризику при гострому пошкодженні нирок, досить часто в схему лікування даної патології включають високі дози діуретиків з метою збільшення діурезу та переходу олігуричної форми гострого

пошкодження нирок в неолігуричну [48].

У тварин з модельованим ГПНГ порівняно з інтактними тваринами спостерігали зниження діурезу в 5,8 разу. Встановлено, що досліджувана сполука індолінорен достовірно підвищувала діурез майже у 4 рази порівняно з тваринами з групи контрольної патології та не поступалася препарату порівняння фуросеміду [246].

Встановлено, що індолінорен сприяв зниженню вмісту креатиніну та сечовини у сироватці крові у 2 та 3 рази відповідно порівняно з контрольною групою тварин. Також індолінорен зменшував кількість білка в сечі у 1,7 разу порівняно з контрольною патологією ( $p < 0,05$ ). У групі тварин, яким вводили фуросемід відмічено зниження вмісту креатиніну сироватки крові у 1,9 разу та зменшення вмісту білка сечі у 1,8 разу порівняно з контрольною патологією.

На моделі гострого гліцеролового пошкодження нирок встановлено позитивний вплив індолінорену на стан системи ПОЛ/АОЗ, що виразився в посиленні антиоксидантного захисту (підвищення активності ВГ в еритроцитах відповідно в 1,6 разу,  $p < 0,05$ ) та гальмуванні процесів ПОЛ в сироватці крові (зниження ТБК-АП на 34%). За виразністю антиоксидантної дії досліджуваний засіб індолінорен перевершував препарат порівняння фуросемід.

У ході гістологічного дослідження нирок у всіх щурів групи контрольної патології відмічено некроз дистальної та проксимальної частин канальців нефронів з повним порушенням рисунку тканини. Базальна мембрана більшості некротизованих канальців була зруйнована. У просвіті канальців кортико-медулярної зони, збиральних трубок та прямих канальців мозкового шару, а також у нечисленних збережених звивистих канальцях видно накопичення еозинофільних аморфних мас та циліндрів [249].

Уведення щурам індолінорену на тлі гліцеролу сприяло виразному покращенню канальцевої системи нефронів у щурів. Виразність некрозу нефронів склала 2,05 балу, що було достовірно нижче за таку у тварин контрольної патології ( $p < 0,05$ ), були знижені дезорганізація та вакуольна дистрофія нефроцитів (1,30 балу проти 2,19 балу,  $p < 0,05$ ), дистальних та



проксимальних частин каналців нефронів, виразно зменшена кількість каналців (1,83 проти 3,18 балу,  $p < 0,05$ ) у кортико-медулярній зоні та мозковому шарі, просвіт яких було закупорено циліндрами [249].

Напівкількісна оцінка стану каналцевого апарату нефронів вказує на те, що на моделі ГПНГ індолінорен виявив потужну нефропротекторну дію, суттєво знижуючи патологічні прояви у системі каналців нефронів, про що свідчить зменшення вираженості некрозу, вакуольної дистрофії та обструкції просвіту каналців циліндрами [249].

Після введення препарату порівняння фуросеміду тільки у одного з восьми щурів стан каналцевої системи нирок відповідав нормі. У решти тварин спостерігали дистрофічно-некротичні зміни дистальних та проксимальних частин каналців нефронів, що коливалися від слабких до помірних. У цілому ряді каналців була збережена базальна мембрана цілком чи частково, виразний анізонуклеоз, помічено мітоз. Коливання виразності патологічних змін спостерігали і в каналцях кортико-медулярної зони і мозкового шару.

Достовірних відмінностей між показниками групи індолінорену та фуросеміду не встановлено.

Позитивний ефект індолінорену при експериментальній ГПНГ, очевидно, пов'язаний з наявністю в нього діуретичних властивостей, що сприяє більш швидкому виведенню з організму нефротоксичних речовин, які циркулюють у крові. Тим самим зменшується токсичне навантаження та час взаємодії з токсикантами і, як наслідок, послаблюється виразність некротичних змін каналцевої системи та пов'язаної з ними обструкції просвіту різних каналців. Важливо також, що серед ушкоджених каналців у значній кількості була збережена базальна мембрана, що за даними літератури [112] сприяє повній регенерації цих каналців. Підтвердженням цьому є такі регенераторні прояви у нефроцитах як мітоз та анізонуклеоз.

Отже, отримані результати показали високу ефективність індолінорену при експериментальному гемодинамічному набряку легень та гострій гліцероловій нирковій недостатності, що обґрунтовує доцільність його

застосування як діуретичного засобу при аналогічних клінічних станах.

Таким чином, нове похідне 2-оксоіндоліну – пропіловий естер N-[(2-оксоіндолініліден-3)-2-оксіацетил]-валіну, з умовною назвою «індолінорен», є ефективною і нетоксичною сполукою, виявляє діуретичний ефект, супутні екстраренальні фармакологічні властивості (антиоксидантний, антигіпоксичний, антимікробний, антиексудативний), є ефективним у лікуванні гемодинамічного набряку легенів та гострого рабдоміолітичного пошкодження нирок.

Одержані результати дозволяють рекомендувати індолінорен для подальшого фармакологічного дослідження з метою створення нового вітчизняного діуретика з супутніми видами фармакологічної дії: протимікробною, антигіпоксичною, антиоксидантною, нефро- та пульмопротекторною.

## ВИСНОВКИ

Важлива роль діуретиків у клініці внутрішніх хвороб зумовлює їх широке застосування для фармакотерапії серцево-судинних захворювань, гострих пошкоджень нирок, набряку легень. Обмежений асортимент вітчизняних діуретиків та наявність великої кількості побічних реакцій існуючих препаратів актуалізує доцільність пошуку нових більш безпечних діуретичних засобів.

У дисертаційній роботі представлено вирішення актуального наукового завдання, яке полягає у експериментальному обґрунтуванні доцільності пошуку потенційних діуретичних засобів серед ацильованих похідних 2-оксоіндоліну – естерів N-[(2-оксоіндолініліден-3)-2-оксіацетил]-амінокислот, для створення нового вітчизняного ефективного та безпечного діуретика на основі сполуки-лідера – пропілового естеру N-[(2-оксоіндолініліден-3)-2-оксіацетил]-валіну.

1. За результатами комп'ютерного прогнозу фармакологічної активності 12 нових похідних N-[(2-оксоіндолініліден-3)-2-оксіацетил]-амінокислоти серед імовірних видів активності була спрогнозована діуретична у 8 з 12 субстанцій (сполуки під шифром 6.1; 6.2; 6.3; 8.1; 8.2; 9.1; 9.2; 9.3). У результаті скринінгових фармакологічних досліджень встановлено, що сполукам 8.1; 8.2; 6.1 та 6.3 у дозі 5 мг/кг притаманна діуретична активність на рівні 15; 44; 68 та 98 % відповідно. Визначена сполука-лідер – пропіловий естер N-[(2-оксоіндолініліден-3)-2-оксіацетил]-валіну під шифром 6.3 отримала умовну назву «індолінорен», яка за виразністю діуретичного ефекту перевершує дію гідрохлоротіазиду в дозі 25 мг/кг у 1,2 разу ( $p < 0,05$ ), проте поступається фуросеміду в дозі 5 мг/кг у 1,8 разу.

2. Аналіз залежності «структура-активність» показав, що діуретична активність притаманна естерам N-[(2-оксоіндолініліден-3)-2-оксіацетил]-амінокислоти, що містять залишки валіну та аспарагінової кислоти. Серед сполук з діуретичним ефектом виразність останнього залежить від естерного залишку, найбільш прийнятними є метиловий та пропіловий.

3. Визначена умовно-ефективна доза сполуки-лідера при внутрішньошлунковому шляху введення за умови діурезу з водним навантаженням – 29,5 мг/кг. Діуретична активність сполуки виявляється

протягом доби з максимумом між другою та четвертою годиною, за виразністю якої індолінорен протягом перших двох годин поступається фуросеміду та перевершує індапамід у 2 рази відповідно ( $p < 0,05$ ); перевершує обидва препарати порівняння з другої по четверту годину в 2,2 та 3 рази відповідно ( $p < 0,05$ ); поступається індапаміду через 24 год після введення в 1,7 разу ( $p < 0,05$ ). Така динаміка характеризує індолінорен як діуретик помірної сили та середньої тривалості дії.

4. Встановлено, що  $LD_{50}$  індолінорену при внутрішньоочеревинному введенні мишам та щурам складає  $4000 \pm 380,7$  та  $3167 \pm 409$  мг/кг відповідно; при внутрішньошлунковому – понад 8000 мг/кг та 11000 мг/кг відповідно. За класифікацією К. К. Сидорова (1983) індолінорен належить до VI класу токсичності (відносно нешкідливі речовини).

5. Показано, що в механізмі діуретичної дії індолінорену значну роль відіграє його здатність знижувати мінералокортикоїдний контроль функції нирок: підвищення екскреції іонів натрію, калію та  $Na^+/K^+$  коефіцієнту сечі відповідно в 2,5; 2,1; 1,1 та в 3; 2,8; 1,3 разу порівняно з інтактним контролем, відповідно, на п'яту добу після багаторазового та на першу добу після одноразового введення в умовах спонтанного діурезу. Доведено посилення діуретичного ефекту індолінорену за умов блокади альдостеронових рецепторів спіронолактоном в 4 рази ( $p < 0,05$ ) та його зниження за умов блокади дофамінових рецепторів в 1,4 разу ( $p < 0,05$ ).

6. Встановлено антиексудативну активність індолінорену в дозі 29,5 мг/кг відповідно на першу, другу та третю годину на рівні 45,5; 57,1% ( $p < 0,05$ ) та 9,5 % за виразністю якої він поступався препарату порівняння диклофенаку натрію протягом усього періоду експерименту. Встановлено помірну антимікробну активність індолінорену по відношенню до *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis*, *Escherichia coli* з МПК для даних штамів 50 мг/мл та 75 мг/мл для *Pseudomonas aeruginosa*. *In vitro* встановлено антиоксидантну активність індолінорену в концентрації 50; 100 та 200 мг/мл, про що свідчить зниження ( $p < 0,05$ ) рівня ТБК-АП на 69,1; 77,9 та 83,6 %, відповідно відносно їх рівня в системі-

плацебо. Встановлено антигіпоксичну активність на моделі гіпоксії з гіперкапнією на рівні 199 % відносно контрольної патології, що відповідає активності препарату порівняння етилметилгідроксипіридину сукцинату (215 %) ( $p > 0,05$ ).

7. Встановлена лікувальна ефективність індолінорену на моделі гемодинамічного набряку легенів, що підтверджено подовженням тривалості життя тварин у 1,8 разу ( $p < 0,05$ ), зниженням коефіцієнта маси легенів щурів у 2,1 разу ( $p < 0,05$ ), збільшенням маси сухого залишку легеневої тканини в 1,3 разу ( $p < 0,05$ ). Гістологічно доведено зниження виразності альвеолярного набряку та збільшення виразності нормального альвеолярного рисунка в 2 рази відповідно ( $p < 0,05$ ). За досліджуваними показниками індолінорен не поступався фуросеміду.

8. Встановлена ефективність індолінорену на моделі гострого пошкодження нирок гліцеролом, що виявилась підвищенням діурезу на другу добу в 4 рази, на третю – в 1,2 разу ( $p < 0,05$ ); зниженням вмісту креатиніну та сечовини в крові відповідно в 2 та 3 рази; зменшенням рівня білка сечі в 1,7 разу ( $p < 0,05$ ). Встановлено коригувальний вплив індолінорену на стан системи ПОЛ/АОЗ, що виразився в посиленні антиоксидантного захисту – підвищенні рівня ВГ в еритроцитах відповідно в 1,6 разу ( $p < 0,05$ ) та гальмуванні процесів ПОЛ – зниженні вмісту ТБК-АП у сироватці крові на 34% ( $p < 0,05$ ). Гістологічно встановлено зменшення виразності некрозу, вакуольної дистрофії та обструкції просвіту каналців циліндрами відповідно в 1,7 разу ( $p < 0,05$ ). За більшістю досліджуваних показників індолінорен відповідав препарату порівняння фуросеміду та перевершував його за нормалізувальним впливом на рівень ВГ в еритроцитах та ТБК-АП у сироватці крові.

9. Отримані результати обґрунтовують рекомендації хімікам-синтетикам щодо цілеспрямованого синтезу потенціальних діуретичних засобів серед естерів N-[(2-оксоіндолініліден-3)-2-оксіяцетил]-амінокислот та доцільність подальшого вивчення пропілового естеру N-[(2-оксоіндолініліден-3)-2-оксіяцетил]-валіну і перспективність проведення його клінічних досліджень як діуретика з супутніми фармакологічними властивостями.

**СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ**

1. 2-гідрокси-N-(5-гідрокси-1-нафтил)-2-(2-оксо-1,2-дигідро-3H-індол-3-іліден)ацетамід, який проявляє протизапальну і антимікробну дію : пат. 65521 України. № u201105771 ; заявл. 10.05.2011; опубл. 12.12.2011, Бюл. № 23.
2. Автандилов Г. Г. Медицинская морфометрия. М. : Медицина, 1990. 384 с.
3. Азгнаулова А. В., Куркин В. И., Зайцева Е. Н., Дубищев А. В. Диуретическая активность препаратов травы одуванчика. *Фармация*. 2015. № 7. С. 43-45.
4. Акушерство: национальное руководство / под ред. Г. М. Савельевой и др. 2-е изд. М. : ГЭОТАР-Медиа, 2018. 1080 с.
5. Аникеева Т. В. Современные представления о роли ангиотензина II в кардиоваскулярных проблемах и методы коррекции. *Терапия*. 2016. № 1 (105). С. 25–30.
6. Антиоксиданты : классификация, фармакотерапевтические свойства, использование в практической медицине / О. Н. Гулевская и др. *Журнал фундаментальной медицины и биологии*. 2016. № 3. С. 5-15.
7. Арутюнов А. Г., Драгунов Д. О., Соколова А. В. Преимущества назначения диуретиков пролонгированного выведения у пациентов с ХСН. *РМЖ*. 2016. № 9. С. 555-559.
8. Арутюнов Г. П., Драгунов Д. О., Соколова А. В. Оценка влияния петлевых диуретиков с разными периодами полувыведения на ретенцию натрия. *Клиническая нефрология*. 2013. № 5. С. 8-12.
9. Арутюнян А. В., Дубинина Е. Е., Зыбина Н. Н. Методы оценки свободнорадикального окисления и антиоксидантной системы организма : метод. рек. СПб. : ИКФ "Фолиант", 2000. 104 с.
10. Афанасьев О. И., Юрина Н. А., Котовский Е. Ф. Гистология, цитология и эмбриология. М. : Медицина, 2002. 744 с.
11. Бактеріологічний контроль поживних середовищ : інформ. лист № 05.4.1/1670 МОЗ України. К., 2001. 4 с.

12. Барышникова Г. А., Аверин Е. Е. Альдостерон при артериальной гипертензии: новые терапевтические возможности. *Consilium medicum*. 2013. № 10. С. 18–23.

13. Беленков Ю. Н., Арутюнов Г. П., Агеев Ф. Т. Хроническая сердечная недостаточность. Избранные лекции по кардиологии. М. : ГЭОТАР–Медиа, 2010. 331 с.

14. Белоусов Ю. Б. Клиническая фармакология и фармакотерапия. 3-е изд., перераб. и доп. М. : Медицинское информационное агентство, 2010. 401 с.

15. Белялов Ф. И. Лечение внутренних болезней в условиях коморбидности. Иркутск : РИО ИГМАПО, 2011. 308 с.

16. Березин А. Е. Дигидропиридиновые производные блокаторов медленных кальциевых каналов и фиксированные комбинации, созданные на их основе, в лечении пациентов с артериальной гипертензией. *Укр. мед. часопис*. 2015. № 3 (107). С. 38–44.

17. Берхин Е. Б., Иванов Ю. И. Методы экспериментального исследования почек и водно-солевого обмена. М. : Медицина, 1972. 198 с.

18. Бобров В. О., Давидова І. В. Діуретики: класифікація, фармакокінетика та фармакодинаміка : навч. посіб. для лікарів. К. : Медкнига, 2007. 100 с.

19. Боголепова А. Е. Исследование роли простагландинов в регуляции мочеобразования : автореф. дис. ... к. мед. наук : 03.00.13. СПб., 2004. 21 с.

20. Браунвальд Е. Болезни сердца. Руководство по сердечно-сосудистой медицине. М., 2013. Т. 2. 695 с.

21. Брюханов В. М., Зверев Я. Ф. Побочные эффекты современных диуретиков: Метаболические и токсико-аллергические аспекты. Новосибирск : ЦЭРИС, 2003. 224 с.

22. Брюханов В. М., Зверев Я. Ф., Лампатов В. В. Методические подходы к изучению функции почек в эксперименте на животных. *Нефрология*. 2009. Т. 13, № 3. С. 52-62.

23. Бут Г. Современные аспекты применения диуретиков в клинической практике. *Новости медицины и фармации. Сер. Кардиология.* 2013. № 453. С. 65–72.
24. Вандер А. Физиология почек. 5–е изд. ; пер. с англ. СПб. : Питер, 2000. 256 с.
25. Вивчення специфічної активності протимікробних лікарських засобів : метод. рек. / Ю. Л. Волянський та ін. К., 2004. 38 с.
26. Виноградова Т. А., Гажев Б. Н., Виноградов В. М. Практическая фитотерапия. М. : ЭКСМО-Пресс ; СПб. : Валери СПД, 2001. 640 с.
27. Внутрішня медицина : підручник / К. О. Бобкович та ін. ; ред. М. С. Расін. Вінниця : Нова Книга, 2015. 328 с.
28. Вопросы рациональной терапии хронической обструктивной болезни легких в сочетании с ишемической болезнью сердца / Н. Я. Доценко и др. *Рациональная фармакотерапия.* 2015. № 2 (35). С. 14–19.
29. Воронков Г. П. Поддерживающая диуретическая терапия у пациентов с ХСНС : вопросы и ответы. *Сердечная недостаточность.* 2016. № 2. С. 44–49.
30. Воронков Л. Г., Дудник А. В., Ляшенко А. В. Клініко-фармакодинамічні ефекти внутрішньовенної діуретичної терапії торасемідом та фуросемідом у пацієнтів з декомпенсованою ХСН. *Серцева недостатність.* 2015. № 1. С. 25–27.
31. Гайсин И. Р., Исхакова А. С., Шилина Л. В. Эффективность и безопасность ретардного индапамида в лечении женщин с гипертонией после родов. *Consilium medicum.* 2015. № 2. С. 24–28.
32. Гаман Д. В. Антигіпоксичні та антиоксидантні властивості похідних а-ариламідо- $\alpha$ -(2-оксоіндолініліден-3)-оцтової кислоти : автореф. дис. ... канд. фармац. наук : 14.03.05. Харків, 2012. 20 с.
33. Глезер Г. А. Диуретики. М. : Интербук, 1993. 352 с.
34. Гриппи М. А. Патофизиология легких / пер. с англ. Ю. М. Шапкайца ; под ред. Ю. В. Наточина. 2-е изд. М. : Бином, Х. : МТКкнига, 2005. 304 с.



35. Давыдова С. С. Петлевые диуретики и резистентная к терапии хроническая сердечная недостаточность. *Русский мед. журн.* 2014. № 12. С. 934-938.
36. Данілова О. І. Антиоксиданти – “пастки” для вільних радикалів. *Науковий світ.* 2008. № 1. С.10–11.
37. Державний формуляр лікарських засобів / за ред. М. Л. Аряєва та ін. К. : Моріон, 2018. 1222 с.
38. Дмитрик Е. Канефрон Н: генериков среди фитопрепаратов не бывает. *Еженедельник «Аптека» України.* 2016. № 2 (1023).
39. Дослідження антирадикальної та антиокислювальної активності сполук МВпохідних оксихроманів та триметилфенолів / В. П. Маковецький та ін. *Біоресурси і природокористування.* 2010. № 1(2). С. 7-11.
40. Дроговоз С. М., Штрыголь С. Ю., Щекина Е. Г. Фармакология в помощь студенту, провизору и врачу : учебник–справочник. Х. : Титул, 2018. 640 с.
41. Дроздова Т. В., Фитьмова О. А., Фитьмова А. А. Роль мексидола в терапии умеренных когнитивных расстройств в рамках проявления хронической недостаточности мозгового кровообращения. *Фарматека.* 2012. № 14 (247). С. 97–103.
42. Дронов С. Н. Фармакология мексидола и его применение в психоневрологической практике. *Актуальні проблеми сучасної медицини: Вісник української медичної стоматологічної академії.* 2015. Т. 15, вып 3 (51). С. 328–335.
43. Евдокимов В. В., Евдокимова А. Г., Ложкина М. В., Теблосев К. И. Особенности применения торасемида у больных с артериальной гипертензией и хронической сердечной недостаточностью. *Consilium Medicum.* 2015. № 10. С. 50-56.
44. Евдокимова А. Г., Коваленко Е. В., Евдокимов В. В., Михайлова И. М. Оптимизация лечения отека у больных с хронической сердечной недостаточностью. *РМЖ.* 2018. № 11 (I). С. 47-53

45. Експериментальне вивчення токсичної дії потенційних лікарських засобів / В. М. Коваленко та ін. Доклінічні дослідження лікарських засобів : метод. рек.; за ред. чл.-кор. АМН України О. В. Стефанова. К. : Авіцена, 2001. С. 74–97.

46. Експериментальне вивчення фармакологічних речовин, які пропонуються як нестероїдні протизапальні засоби / С. М. Дроговоз та ін. Доклінічні дослідження лікарських засобів : метод. рек. / за ред. чл.-кор. АМН України О. В. Стефанова. К. : Авіцена, 2001. С. 292–295.

47. Ена Л. М. Диуретики в лечении хронической сердечной недостаточности: комбинированная терапия фуросемидом и спиронолактоном. *Здоров'я України*. 2017. № 4 (53). С. 34-35.

48. Ермоленко В. М. Острая почечная недостаточность. М. : ГэотарМедиа, 2010. 240 с.

49. Етиловий ефір N-(2оксоіндолін-3гліоксилоіл)-ε-амінокапронової кислоти, який проявляє діуретичну, антигіпоксичну та протизипальну дію : пат. 8531 Україна. № а 08411 ; заявл. 23.07.2007 ; опубл. 12.01.2009, Бюл. №1.

50. Застосування амідів 2-оксоіндолін-3-гліоксилової кислоти як засобів церебропротекторної : пат. 89542 України. № u 200800476 ; заявл. 14.01.2008 ; опубл. 10.02.2010 ; Бюл. № 3. 4 с.

51. Застосування етилового естеру N-[(2 оксоіндолініліден3)2оксіацетил]-амінооцтової кислоти як ноотропного та анксіолітичного засобу : пат. 91166 Україна. № а 2009 08644 ; заявл. 17.08.2009 ; опубл. 25.06.2010, Бюл. № 12. 6 с.

52. Застосування похідних 2-оксоіндолін-3-гліоксилової кислоти як засобів ноотропної дії : пат. 90357 Україна. № а 07081 ; заявл. 21.05.2008 ; опубл. 26.04.2010, Бюл. №8.

53. Застосування пропілового естеру N-[(2-оксоіндолініліден-3)-2-оксіацетил]-валіну як діуретичного засобу : пат. на корисну модель 63373 України. № u 201102236 ; заявл. 25.02.2011 ; опубл. 10.10.2011; Бюл. № 19.

54. Застосування пропілового естеру N-[(2-оксоіндолініліден-3)-2-оксіацетил]-валіну як діуретичного засобу : пат. на винахід 101844 України. № а 2011 02237 ; заявл. 25.02.2011 ; опубл. 13.05.2013, Бюл. № 9.

55. Зверев Я. Ф., Брюханов В. М. Фармакология и клиническое использование экстраренального действия диуретиков. М. : Мед. книга ; Н. Новгород : Изд-во НГМА, 2000. 256 с.

56. Иевлева А. А., Плисов В. А., Храмова Е. Ю. Справочник основных лекарственных средств. М. : Рипол классик, 2012. 640 с.

57. Иванов Д. Д., Корж О. М. Нефрологія в практиці сімейного лікаря. К. : Издательский дом “Заславский”, 2014. 464 с.

58. Кардиология : национальное руководство / под ред. Ю. Н. Беленкова, Р. Г. Оганова. М. : ГЭОТАРмедиа, 2011. 1232 с.

59. Клиническая фармакология : учебник / под ред. О. Я. Бабака, А. Н. Беловола, И. С. Чекмана. К. : ВСИ "Медицина", 2012. 728 с.

60. Клиническая фармация : базовый учеб. для студентов высш. фармац. учеб. заведения (фармац. фак.) IV уровня аккредитации / под ред. В. П. Черных, И. А. Зупанца, И. Г. Купновицкой. Х. : НФаУ : Золотые страницы, 2015. 1056 с.

61. Клінічна біохімія / за ред. О. П. Тимошенко та ін. Х. : Вид-во “Професіонал”, 2005. 288 с.

62. Коваленко В. Н., Свіщенко Є. П., Сіренко Ю. М. Настанова з артеріальної гіпертензії. К. : Морион, 2012. 129 с.

63. Ковальов В. М., Павлій О. І., Ісакова Т. І. Фармакогнозія з основами біохімії. Х. : Вид-во «Прапор», НФаУ. 2000. 703 с.

64. Кодакова М. Н., Дубищев А. В., Куркин В. А. Механизм действия тремулоидина и салицина на экскреторную функцию почек в норме и при токсической нефропатии. *Медицинский альманах*. 2009. № 3 (8). С. 138-141.

65. Колесникова А. В. Значение мозгового натрийуретического пептида для диагностики хронической сердечной недостаточности и прогнозирования сердечно-сосудистого риска у больных с мерцательной аритмией при

сохраненной фракции выброса левого желудочка : автореф. дис. ... канд. мед. наук: 14.01.05. М., 2012. 24 с.

66. Компендиум–2016. Лекарственные препараты / под ред. В. Н. Коваленко. К. : Морион, 2016. 2270 с.

67. Коничев А. С. Молекулярная биология. М. : Академия, 2012. 399 с.

68. Корчик Д., Кей Дж. Сердечная недостаточность. Краткий справочник. М., 2017. С. 128.

69. Крутченко О. Ю. Вплив зборів лікарських рослин на видільну функцію нирок. *Запорожский мед. журн.* 2010. Т. 12, № 1. С. 69–71.

70. Куркин В. А., Зайцева Е. Н., Куркина А. В. Сравнительное исследование диуретической активности водно-спиртовых извлечений лекарственных растений, содержащих флавоноиды. *Бюллетень экспериментальной биологии и медицины.* 2015. Т. 159, № 3. С. 348-352.

71. Куцик Р. В. Толокнянка обыкновенная *Arctostaphylos uva-ursi* (e.) Spreng. *Провизор.* 2013. № 19. С. 27–29.

72. Лапач С. Н. Статистические методы в медико–биологических исследованиях с использованием EXEL. 2 е изд., перераб. и доп. К. : МОРИОН, 2001. 408 с.

73. Ларина В. Н. Выбор эффективного диуретика для терапии хронической сердечной недостаточности на амбулаторном этапе: доводы в пользу торасемида. *Consilium Medicum.* 2018. № 10. С. 29-35.

74. Лебедев А. А. Фармакология почек. Самара, 2002. 103 с.

75. Лекции по фармакологии для высшего медицинского и фармацевтического образования / В. М. Брюханов и др. Барнаул : изд–во Спектр, 2014. 560 с.

76. Леонова М. В. Место диуретиков в терапии артериальной гипертензии: фокус на новый петлевой диуретик торасемид. *Consilium Medicum.* 2015. № 3. С. 23–26.

77. Литвицкий П. Ф. Клиническая патофизиология : учебник. М. : Практическая медицина, 2015. 776 с.

78. Лифшиц В. М., Сидельникова В. И. Медицинские лабораторные анализы : справ. М. : Триада–Х, 2000. 312 с.

79. Мазнев Н. И. Энциклопедия народной медицины. 8–е изд., испр. и доп. М. : Мартин, 2008. 416 с.

80. Маколкин В. И., Овчаренко С. И., Сулимов В. А. Внутренние болезни : учебник. – 6е изд. перераб и доп. Москва :“Гэотармедиа”, 2012. С. 768.

81. Маркина А. Ю. Исследование антигипоксической активности нового производного 2-оксоиндолина. *Актуальные вопросы современной медицины и фармации* : тез. докл. 69-ой науч.-практ. конф. студентов и молодых ученых, г. Витебск, 19-20 апр. 2017 г. Витебск, 2017. С. 204-205.

82. Маркина А. Ю. Тюпка Т. И. Экспериментальное подтверждение эффективности нового производного 2-оксоиндолина – потенциального диуретического средства. *Вестник КАЗНМУ*. 2013. № 5 (1). С. 163-165.

83. Маркина А. Ю., Мищенко О. Я. Скрининговые исследования новых производных 2-оксоиндолина. *Фармакологія та лікарська токсикологія*. 2017. № 3 (54). С. 69-73.

84. Маркіна А. Ю., Міщенко О. Я. Вивчення впливу індолінорену на сечовидільну функцію нирок за умов блокади дофамінових рецепторів. *Актуальні питання біології та медицини* : тези XIV міжрегіональної наук. конф., м. Старобільськ, 22-23 груд. 2016 р. Старобільськ, 2017. С. 104-105.

85. Маркіна А. Ю., Міщенко О. Я. Вивчення діуретичної активності нових ацильованих похідних 2-оксоіндоліну. *Асоціація фармакологів України: тези доп. V національного з'їзду фармакологів України*, м. Запоріжжя, 18-20 жовт. 2017 р. Запоріжжя, 2017. С. 88.

86. Маркіна А. Ю., Міщенко О. Я. Визначення умовно-ефективної дози за діуретичною активністю нового ацильованого похідного 2-оксоіндоліну. *Вплив науково-технічного прогресу на розвиток медичної науки та практики* : реалії сьогодення : матеріали міжнар. наук-практ. конф., м. Київ, 13-14 липня, 2018 р. К., 2018. С. 96-99.

87. Маркіна А. Ю., Міщенко О. Я. Діуретична активність нового ацильованого похідного 2-оксоіндоліну : *інформ. лист Укрмедпатентінформу МОЗ України*. Вип. 6 з проблеми «Фармація» № 189–2017. К., 2017. 3 с.

88. Маркіна А. Ю., Міщенко О. Я. Експериментальне вивчення антигіпоксичної та антиоксидантної активності індолінорену. *Український біофармац. журн.* 2017. № 3 (50). С. 22-25.

89. Маркіна А. Ю., Тюпка Т. І. Вплив одноразового введення індолінорену на функціональний стан нирок. Ліки – людині. *Сучасні проблеми створення, вивчення та апробації лікарських засобів* : тези ХХІХ Всеукраїнської наук.-практ. конф. з міжнар. участю, м. Харків, 15 берез. 2012 р. Х., 2012. С. 108.

90. Маркіна А. Ю., Тюпка Т. І., Лар'яновська Ю. Б. Вплив індолінорену на морфофункціональний стан легеневої тканини при експериментальному гемодинамічному набряку легенів. *Здобутки клінічної і експериментальної медицини*. 2011. № 2 (13). С. 77-80.

91. Маршал В. Дж. Клиническая биохимия / пер. с англ. М.–СПб. : «Изд–во БИНОМ» ; «Невский Диалект», 2002. 408 с.

92. Матвієнко А. В., Степанова Л. В. Морфологічні дослідження на етапі доклінічного вивчення лікарських засобів. Доклінічні дослідження лікарських засобів : метод. рек. / за ред. чл.–кор. АМН України О. В. Стефанова. К. : Авіцена, 2001. С. 196–203.

93. Матюха Л. Ф. Застосування діуретиків у пацієнтів із артеріальною гіпертензією: перспективи й обмеження. *Укр. мед. часопис*. 2016. № 2 (112). С. 32-37.

94. Машковский М. Д. Лекарственные средства : в 2 т. Т. 1. 16–е изд., перераб. испр. и доп. М. : ООО «Издательство Новая Волна», 2014. С. 1216.

95. Медицинская микробиология, вирусология и иммунология : учебник для студ. высш. мед учеб заведений: перевод с укр. издания / Т. В. Андрианова и др.; под ред. В. П. Широкобокова. Винница : Нова Книга, 2015. 856 с.

96. Методи експериментального моделювання ураження нирок для фармакологічних досліджень : метод. рек. / С. Ю. Штриголь та ін. К., 2009. 47 с.

97. Методи клінічних та експериментальних досліджень в медицині / Л. В. Беркало та ін. ; за ред. І. П. Кайдашева. Полтава, 2003. 320 с.
98. Методы клинических лабораторных исследований / под ред. проф. В. С. Камышникова. 8-е изд. М. : МЕДпресс-информ, 2016. 736 с.
99. Набока О. І. Аніліди хінолін-карбонових кислот - перспективний клас потенційних коректорів кислотно-лужної рівноваги і водно-електролітного обміну організму : автореф. дис. ... д. біол. наук : 14.03.05, Київ, 2009. 41 с.
100. Нагорная Н. В., Пшеничная Е. В., Бордюгова Е. В. Клиническое значение показателя мозгового натрийуретического пептида у пациентов с хронической сердечной недостаточностью. *Новости медицины и фармации*. 2011. № 2 (29). С. 10–15.
101. Натрийуретические пептиды сердца и артериальная гипертензия: экспериментальное исследование / В. Ф. Максимов и др. *Вестник РАМН*. 2013. № 1. С. 20–25.
102. Науково–практичні рекомендації з утримання лабораторних тварин та роботи з ними / Ю. М. Кожемякін та ін. К. : Авіценна, 2002. 156 с.
103. Национальные рекомендации ОССН, РКО и РНМОТ по диагностике и лечению ХСН (четвертый пересмотр). *Сердечная недостаточность*. 2013. № 14 (7 (81)). С. 132–136..
104. Нефрология : учеб. пособие для послевузовского образования / под ред. проф. Е. М. Шилова. М., 2010. 697 с.
105. Нефрология: неотложные состояния / под ред. Н. А. Мухина. М. : Эксмо, 2010. 288 с.
106. Нефрология: руководство для врачей: в 2 т / под ред. С. И. Рябова. Т. 2. Почечная недостаточность. СПб. : СпецЛит, 2013. 232 с.
107. Нечаева Г. И., Дрокина О. В., Фисун Н. И. Торасемид – новая возможность в лечении пациентов с хронической сердечной недостаточностью и артериальной гипертензией. *Лечащий врач*. 2015. № 4. С. 45-50.
108. Новиков В. Е., Левченкова О. С. Новые направления поиска лекарственных средств с антигипоксической активностью и мишени их

действия. *Экспериментальная и клиническая фармакология*. 2013. Т. 76, № 5. С. 37-47.

109. Нормативно-директивні документи МОЗ України – каталог лікарських засобів. URL.: <http://mozdocs.kiev.ua/liki.php> (дата звернення: 17.08.2018).

110. Оксенюк О. С., Калмыкова Ю. А., Смирнова О. Б. Роль окислительного стресса в развитии хронической болезни почек и способы его оценки. *Журнал фундаментальной медицины и биологии*. 2016. № 1. С. 15–24.

111. Осолодченко Т. П. Біологічні властивості мікроорганізмів при культивуванні на поживних середовищах, отриманих із відходів виробництва. *Аннали Мечниковського інституту*. 2007. № 3. С. 31- 34.

112. Панова О. М., Штриголь С. Ю., Степанова С. І. Пошук нових рослинних засобів з урикозуричною дією. *Український журнал клінічної та лабораторної діагностики*. 2009. Т. 4, № 2. С. 59–62.

113. Пархоменко А. Н., Коваль Е. А. Современный подход к выбору средств терапии гипертензивного криза и резистентной гипертензии. *Здоров'я України*. 2017. № 5 (54). С. 31-32.

114. Патологическая физиология : учебник / Ф. И. Висмонт и др. ; под ред. Ф. И. Висмонта. Минск : высшая шк., 2016. 640 с.

115. Передерій В. Г., Ткач С. М. Основи внутрішньої медицини : підруч. для студентів вищих мед. навч. закладів. Вінниця : Нова книга, 2009. Т. 2. 784 с.

116. Перекисное окисление липидов и метаболизм оксида азота у больных хронической болезнью почек в динамике лечения / И. И. Топчий и др. *Український журнал нефрології та діалізу*. 2012. № 1. С. 38.

117. Побочное действие лекарств : учеб.–справ. / С. М. Дроговоз и др. Х. : «СИМ», 2010. 480 с.

118. Попов Н. В., Литвиненко В. И. Лекарственные растения мировой флоры. Х. : СПДФЛ Мосякин В. Н., 2008. 510 с.

119. Практическая кардионеврология / З. А. Суслина и др. М., 2010. 304 с.

120. Прахов А. В. Неонатальная кардиология. Руководство. Н. Новгород : Изд-во Нижегородская гос. мед. акад., 2017. С. 464.



121. Применение петлевого диуретика торасемида в комбинированном лечении гипертонической болезни у женщин в период постменопаузы / О. Н. Ткачева и др. *Consilium Medicum*. 2011. Т. 13 (10). С. 54–59.

122. Про захист тварин від жорстокого поводження : Закон України №3447-IV [Електронний ресурс]. URL.: <http://zakon4.rada.gov.ua/laws/show/3447-15>. (дата звернення: 17.08.2018).

123. Протокол діагностики, профілактики і лікування гострого пошкодження нирок (ГПН). *Український журнал нефрології та діалізу*. 2010. № 3. С. 22–36.

124. Рациональная диагностика и фармакотерапия заболеваний внутренних органов. Справочник врача «семейный врач, терапевт» / под ред. О. Я. Бабака. К. : ООО «ДокторМедиа», 2011. 454 с.

125. Рекомендації асоціації кардіологів України з діагностики, лікування та профілактики хронічної серцевої недостатності (2017). URL.: <https://strazhesko.org.ua/upload/rekomendaciyi-hsn-a6-ost.pdf> (дата звернення: 1.04.2018).

126. Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ / под ред. Р. У. Хабриева. М. : Медицина, 2005. 832 с.

127. Рыболовлев Ю. Р., Рыболовлев Р. С. Дозирование веществ для млекопитающих по константам биологической активности. *Доклады Академии Наук СССР*. 1979. Т. 247, № 6. С. 1513-1516.

128. Сергиенко В. И., Бондаренко И. Б. Математическая статистика в клинических исследованиях. М. : ГЭОТАР Медицина, 2001. 256 с.

129. Сердечная недостаточность / Ю. П. Островский и др. Минск : «Беларуская наука», 2016. 503 с.

130. Сернов А. Н. Элементы экспериментальной фармакологии. М. : Медицина, 2000. 352 с.

131. Современные аспекты фармакотерапии дыхательной недостаточности у новорожденных / Н. П. Евсикова и др. *Практика*. 2010. № 7/20. С. 119–125.

132. Соколовский В. В. Гистохимические исследования в токсикологии. Л. : Медицина, 1971. 176 с.
133. Способ получения кристаллической натриевой соли 5-хлор-3-(2-теноил)-2-оксиндол-1-карбоксамиды : пат. № 2011381 RU. № 6414718/14; заявл. 01.08.1989 ; опубл. 30.04.1994.
134. Справочник по кардиологии / под ред. Целуйко В. И. К. : ООО «Доктор-Медиа», 2012. 520 с.
135. Сравнительная эффективность и безопасность длительного применения торасемида у больных с компенсированной сердечной недостаточностью. Влияние на маркеры фиброза миокарда / Ф. Т. Агеев и др. *Сердечная недостаточность*. 2013. Т. 14, № 2. С. 55–62.
136. Сумин А. Н. Оптимальная медикаментозная терапия хронической сердечной недостаточности: роль антагонистов минералокортикоидных рецепторов. *Русский мед. журн.* 2018. № 11 (1). С. 71-75.
137. Сучасні методики експериментальних та клінічних досліджень центральної науково-дослідної лабораторії Буковинської державної медичної академії : навч.-метод. посіб. / В. М. Магальяс та ін. Чернівці : БДМА, 2001. 42 с.
138. Сушинский В. Э. Опыт применения фиксированной комбинации ингибитора ангиотензинпревращающего фермента и диуретика в лечении артериальной гипертензии. *Ліки України*. 2013. № 7. С. 92–96.
139. Таран А. В., Корниенко В. И., Самура Б. А. Исследование диуретической активности аммониевых солей 7,8-дизамещенных 3-метилксантина. *Украинский биофармац. журн.* 2010. № 3 (8). С. 14–17.
140. Тардов М. В. Храп и синдром обструктивного апноэ во сне. *Русский мед. журн.* 2010. № 5. С. 415–417.
141. Терещенко С. Н., Жиров И. В. Хроническая сердечная недостаточность. Руководство по кардиологии / под ред. Е. И. Чазова. М. : *Практика*, 2014. Т. 4. С. 192–291.
142. Терещенко С. Н., Жиров И. В., Осмоловская Ю. Ф. Антагонисты минералокортикоидных рецепторов в лечении больных с сердечной

недостаточністю після інфаркта міокарда с хронической сердечной недостаточностью. *Терапевтический архив*. 2013. № 85 (12). С. 137–144.

143. Титов В. Н. Инверсия представлений о биологической роли системы ренин-ангиотензин-альдостерон и функции артериального давления как регулятора метаболизма. *Евразийский кардиологический журнал*. 2016. № 8. С. 51-61.

144. Ткачова О. В., Кравченко І. В., Семенов А. М. Дослідження асортименту, доступності та споживання діуретичних засобів в Україні. *Клінічна фармація*. 2018. № 4. С. 58-64.

145. Товчига О. В. Дослідження сечогінної, нефропротекторної, гіпоурикемічної дії яглиці звичайної (*Aegorodium podagraria* L.) як основа для створення лікарських засобів : автореф. дис. ... канд. фармацевт. наук : 14.03.05. Х., 2009. 21 с.

146. Тюпка Т. І. Механізми порушень сурфактантної системи і гемоциркуляції в малому колі кровобігу при набряку легень : автореф. дис. ... д. мед. наук: 14.03.04. Х., 2009.

147. Урологія : підручник для студ. вищих мед. навч. закладів / С. П. Пасечніков та ін. ; за ред. С. П. Пасечнікова. Вінниця : Нова Книга, 2013. 432 с.

148. Фаллер Д. М. Молекулярная биология клетки / Д. М. Фаллер, Д. Шилдс. М. : Бином, 2003. 268 с.

149. Фармакология спорта / Н. А. Горчакова и др. ; под общ. ред. С. А. Олейника, Л. М. Гуниной, Р. Д. Сейфуллы. К. : Олимп. Л–ра, 2010. 640 с.

150. Фармакологія : підручник для студ. мед. ф-тів / І. С. Чекман, Н. О. Горчакова, Л. І. Казак та ін. ; за ред. І. С. Чекмана. Вид. 4-те. Вінниця : Нова Книга, 2017. 784 с.

151. Фенітиламід 2-(бензоїламіно) (1-метил-2-оксоіндолін-3-іліден) оцтової кислоти, який виявляє антигіпоксичну, церебропротекторну і ноотропну дії : пат. 115746 України. № и 2016 11385 ; заявл. 10.11.16 ; опубл. 25.04.17. Бюл. № 8. 5 с.

152. Фомин В. В. Резистентность к диуретикам: причины, механизмы, возможности преодоления. *Новости медицины и фармации. Сер. Кардиология*. 2011. № 359. С. 19–23.

153. Хижняк А. А. Гостра дихальна, серцева, ниркова та печінкова недостатність : метод. вказ. з дисципліни "Невідкладні стани" для підготовки магістра, бакалавра зі спеціальності "Сестринська справа". Х. : ХНМУ, 2012. 76 с.

154. Хроническая сердечная недостаточность : рук. / Ф. Т. Агеев и др. М. : ГЭОТАР–Медиа, 2010. 224 с.

155. Цубанова Н. А. Антигіпоксичні та органопротекторні властивості спіроциклічних похідних оксіндолу (Експериментальне дослідження) : автореф. дис. ... д. мед. наук: 14.03.05. Х., 2013. 22с.

156. Черних В. П. Фармацевтична галузь. Фармацевтична енциклопедія / гол. ред. ради В. П. Черних. 3-тє вид., допов. К. : Моріон, 2016. С. 1743-1744.

157. Чурсина Т. Я. Торасемид в лечении гипертензивного пациента: фокус на повышенную солечувствительность как гендерную особенность артериальной гипертензии. *Артериальная гипертензия*. 2013. № 2. С. 56–58.

158. Штрыголь С. Ю. Диуретики. Фармацевтична енциклопедія. 2016. URL.: <http://www.pharmencyclopedia.com.ua/article/2549/diuretiki>. (дата звернення: 17.08.2018)

159. Штрыголь С. Ю. Модуляция фармакологических эффектов при различных солевых режимах : моногр. К. : Ависта–ВЛТ, 2007. 360 с.

160. Штрыголь С. Ю., Гришина Т. Р. Фармакология с клинической фармакологией : учеб. пособие для студентов факультетов высшего сестринского образования. Иваново, 2002. 392 с.

161. Штрыголь С. Ю., Товчига О. В., Койро О. О. Лекарственные растения, почки и обмен мочевой кислоты : моногр. Х. : Титул, 2014. 424 с.

162. Щукин Ю. В., Рябов А. Е. Хроническая ишемическая болезнь сердца в пожилом и старческом возрасте : пособие для врачей. Самара : Волга–Бизнес, 2008. 44 с.

163. Юровский А. Ю. Острая декомпенсированная хроническая сердечная недостаточность: характеристика больных, эффективность натрийуретического пептида уларитида : автореф. дис. ... канд. мед. наук : 14.01.05, 14.03.06. М., 2010. 20 с.

164. Яковлева Л. В., Міщенко О. Я., Адонкіна В. Ю. Фармакоепідеміологічні дослідження обсягів споживання антигіпертензивних лікарських засобів в Україні : монографія. Х. : НФаУ, 2017. 108 с.

165. A reappraisal of loop diuretic choice in heart failure patients / J. Buggey et al. *Am Heart J*. 2015. Vol. 169. P. 323–33.

166. ACCF/AHA Guideline for the management of heart failure. A report of the American College of Cardiology Foundation/American Heart Association Task Force on Practice Guidelines. *Circulation*. 2013. Vol. 128. e240–e327.

167. Acuna C. Update: prolonged–release torasemide. *Drugs Today (Barc)*. 2010. Vol. 46. P. 1–15.

168. Ademi Z., Pasupathi K., Krum H. Cost effectiveness of eplerenone in patients with chronic heart failure. *Am J Cardiovasc Drugs*. 2014. Vol. 14 (3). P. 209-16.

169. Agarwal R., Sinha A. D., Pappas M. K. Chlorthalidone for poorly controlled hypertension in chronic kidney disease: an interventional pilot study. *Am J Nephrol*. 2014. Vol. 39. № 2. P. 171–182.

170. AHA/ACC/CDC Science Advisory An Effective Approach to High Blood Pressure Control / A. S. Go et al. *Hypertension*. 2013. № 21. P. 220–225.

171. Ahmed U. S., Iqbal H. I., Akbar S. R. Furosemid in acute kidney injure. *Austin J. of nephrology and hypertension*. 2014. Vol. 1 (5). P. 1025-1028.

172. Aissouli A. EL-Hilaly J., Israili Z. H., Lyoussi B. Acute Diuretic effect of continuous intravenous infusion of an aqueous extract of *Coriandrum sativum* L. in anesthetized rats. *J. Ethnopharmacol*. 2008. Vol. 115, № 1. P. 89-95.

173. Aldosterone receptor antagonists: current perspectives and therapies / J. L. Guichard et al. *Health Risk. Manag*. 2013. Vol. 9. P. 321–331.

174. Alon U. S. The Effects of diuretics on mineral and bone metabolism. *Pediatr Endocrinol Rev*. 2018. Vol. 15 (4). P.291-297.

175. Antinflammatory 1–heteroaryl.oxindole–3–carboxamides : pat. 5128352 CIIA. № 564124/89 ; appl. 10.05.85 ; publ. 26.07.90.

176. Arroll B., Wallace H. Should we switch from bendrofluazide to chlorthalidone as the initial treatment for hypertension? A review of the available medication. *J Prim Health Care*. 2017. Vol. 9 (2). P. 105-113

177. Arronson J. K. Meyler's Side Effects of Drugs: The International Encyclopedia of Adverse. Amsterdam : Elsevier, 2016. P. 860.

178. Babini R., Larose P., Lecrivain A. Furosemide dynamics: influence of dietary sodium and of saralasin. *Pharmacology*. 1991. Vol. 43, № 5. P. 282-292.

179. Belai N., Gebrehiwet S., Fitsum Y. Hydrochlorothiazide and risk of hearing disorder: a case series. *J Med Case Rep*. 2018. Vol. 20, № 12 (1). P. 135.

180. Brater D. C. Pharmacology of diuretic. *Amer. J. Med. Sci*. 2010. Vol. 319, № 1. P. 38–50.

181. Bryan J. How spironolactone became the next best thing for severe heart failure. *The Pharmaceutical Journal*. 2012. Vol. 17. P. 54-60.

182. Burnier M. Antihypertensive combination treatment: state of the art. *Curr Hypertens Rep*. 2015. Vol. 17. № 7. P. 51-55.

183. Caballero Gonzalez F. J. Calcium channel blockers in the management of hypertension in the elderly. *Cardiovasc Hematol Agents Med Chem*. 2015. Vol. 12 (3). P. 1605.

184. Calvieri C., Rubattu S., Volpe M. Molecular mechanisms underlying cardiac antihypertrophic and antifibrotic effects of natriuretic peptides. *J. Mol. Med*. 2012. Vol. 90. P. 5–13.

185. Cardiovascular comorbidity in chronic obstructive pulmonary disease: systematic literature review / H. Mullerova et al. *Chest*. 2013. № 144. P. 1163–1178.

186. Casu G., Merella P. Diuretic Therapy in heart failure – current approaches. *European Card. Review*. 2015. Vol. 10 (1). P. 42–7.

187. Chabert P., Anger C., Pincemail J. Systems biology of free radicals and antioxidants. Berlin : Heiderberg, 2014. P. 3-38.

188. Chawla L. S., Kimmel P. L. Acute kidney injury and chronic kidney disease: an integrated clinical syndrome. *Kidney Int.* 2012. Vol. 82. P. 516–524.

189. Chen Z. H., Jiang Y. R., Peng J. Q. Clinical effects of combined treatment by optimal dose of furosemide and spironolactone on diastolic heart failure in elderly patients. *Exp Ther Med.* 2016. Vol. 11 (3). P. 890-899.

190. Chlorthalidone versus hydrochlorothiazide for the treatment of hypertension in older adults: a populationbased cohort study / I. A. Dhalla et al. *Ann Intern Med.* 2013. Vol. 58 (6). P. 447–455.

191. Circulating fragments of N-terminal pro-B-type natriuretic peptides in plasma of heart failure patients / J. Foo et al. *Clin. Chem.* 2013. Vol. 59. P. 1523-1531.

192. Clare B. A., Conroy R. S., Spelman K. The diuretic effect in human subjects of an extract of *Taraxacum officinale folium* over a single day. *J. Altern. Complement. Med.* 2009. Vol. 15, № 8. P. 929-934.

193. Cleland J. G., Coletta A. P., Clark A. L. Clinical trials update from the American College of Cardiology 2007: ALPHA, EVEREST, FUSION II, VALIDD, PARR-2, REMODEL, SPICE, COURAGE, COACH, REMADHE, pro-BNP for the evaluation of dyspnoea and THIS-diet. *Eur. J. Heart Fail.* 2007. Vol. 9(6–7). P. 740–745.

194. Clinical practice guideline for acute kidney injury. *Kidney Int. Supplements.* 2012. Vol. 2, № 1. P. 11–38.

195. Comparison of metolazone versus chlorothiazide in acute decompensated heart failure with diuretic resistance / M. P. Moranville et al. *Cardiovasc Ther.* 2015. Vol. 33. P. 42–49.

196. Complexity of molecular forms of B-type natriuretic peptide in heart failure / T. Nishikimi et al. *Heart.* 2013. Vol. 99 (10). P. 677–679.

197. Contribution of diuretic therapy with human serum albumin to the management of ascites in patients with advanced liver cirrhosis: a prospective cohort study / T. Nakamura et al. *Molecular and Clinical Oncology.* 2014. Vol. 2. № 3. P. 349–355.

198. Costello Boerrigter L. C., Boerrigter G., Burnett J. C. Jr. V2-receptor antagonism with tolvaptan in heart failure. *Expert Opin. Investig. Drugs*. 2007. Vol. 16 (10). P. 1639–1647.

199. Current evidence supporting the role of diuretics in heart failure: A meta analysis of randomised controlled trials / R. Faris et al. *Int. J. Cardiol*. 2012. Vol. 82, № 2. P. 149–158.

200. Decongestion strategies and renin-angiotensin-aldosterone system activation in acute heart failure / R. J. Mentz et al. *JACC Heart Fail*. 2015. Vol. 3. P. 97–107.

201. Dinicolantonio J. J. Should torsemide be the loop diuretic of choice in systolic heart failure. *Future Cardiology*. 2012. Vol. 8, № 5. P. 707–728.

202. Diuretics and heart failure / E. A. Friedman et al. *Heart Fail Clin*. 2017. Vol. 13 (3). P. 503-512.

203. Domenic A., Sica M. D. Mineralocorticoid Receptor Antagonists for Treatment of Hypertension and Heart Failure. *Methodist Debakey Cardiovasc J*. 2015. Vol. 11 (4). P. 235–239.

204. Dong L., Wang H., Dong N. Localization of corin and atrial natriuretic peptide expression in human renal segments. *Clin. Sci*. 2016. Vol. 130. P. 1655–1664.

205. Dose–effect relations of loop and thiazide–diuretics on calcium homeostasis: A randomized, double–blinded Latin–square multiple cross–over study in postmenopausal osteopenic women / L. Rejnmark et al. *Eur. J. Clin. Invest*. 2006. Vol. 33, № 1. P. 41–50.

206. Effects of additional administration of low dose indapamide on patients with hypertension treated with angiotensin II receptor blocker / H. Yamada et al. *J. Cardiovasc. Pharmacol. Ther*. 2010. Vol. 15, № 2. P. 145150.

207. Efficacy and safety of calcium channel blocker/diuretics combination therapy in hypertensive patients / F. Stefano et al. *J. Clin. Hypertens*. 2015. Vol. 17. URL.: <https://doi.org/10.1111/jch.12462> (date of access 17.08.2018).

208. Efficacy and safety of tolvaptan in patients hospitalized with acute heart failure / G. M. Felker et al. *J Am Coll Cardiol*. 2017. Vol. 69. P. 1399-1406.



209. Eng M., Bansal S. Use of natriuretic-doses of spironolactone for treatment of loop diuretic resistant acute decompensated heart failure. *International Journal of Cardiology*. 2014. Vol. 170, № 3. P. 68–69.

210. ESC Guidelines for the diagnosis and treatment of acute and chronic heart failure: the Task Force for the diagnosis and treatment of acute and chronic heart failure of the European Society of Cardiology (ESC). Developed with the special contribution of the Heart Failure Association (HFA) of the ESC / P. Ponikowski et al. *Eur. J. Heart Fail.* 2017. Vol. 39. P. 2129–2200.

211. ESC/ESH Guidelines for the management of arterial hypertension, / B. Williams et al. *Eur Heart J*. 2018. Vol. 39. P. 3021–3104.

212. Eudy R. J., Sahasrabudhe V., Sweeney K. The use of plasma aldosterone and urinary sodium to potassium ratio as translatable quantitative biomarkers of mineralocorticoid receptor antagonism. *Journal of Translational Medicine*. 2011. № 22. P. 2-11.

213. European Convention for the protection of vertebrate animals used for experimental and other scientific purposes. URL.: <http://conventions.coe.int/treaty/en/treaties/html/123.htm>. (дата звернення: 17.08.2018).

214. Felker M. G., Ellison D. H. Diuretic treatment in heart failure. *N. Engl. J. Med.* 2017. Vol. 16. P. 1964-1975.

215. Ferreira J. P., Santos S., Almeida S. Mineralocorticoid receptor antagonism in acutely decompensated chronic heart failure. *Europ. J. of Internal Medicine*. 2014. № 25. P. 62-72.

216. Fixed combination of amlodipine/indapamide-retard in the treatment of uncontrolled hypertension in subjects over 55 years old / Zh. D. Kobalava et al. *Arterial Hypertension*. 2018. Vol. 24. P. 586-595.

217. Fu S., Ping P., Wang F. Synthesis, secretion, function, metabolism and application of natriuretic peptides in heart failure. *J. Biol. Eng.* 2018. Vol. 12, № 2. P. 22.

218. Funder J. W. Minireview: aldosterone and mineralocorticoid receptors: past, present, and future. *Endocrinol.* 2010. Vol. 151. P. 5098–5102.

219. Gnanaraj J. F., Stephanvon H. The relevance of congestion in the cardiorenal syndrome. *Kidney International.* 2013. Vol. 83. P. 384-391.

220. Goetze J. P. Biosynthesis of cardiac natriuretic peptides. *Results Probl. Cell Differ.* 2010. Vol. 50. P. 97–120.

221. Grossman E., Messerli F. Management of blood pressure in patients with diabetes. *American Journal of Hypertension.* 2011. Vol. 24, № 8. P. 863–875.

222. Guerrero-Garcia C., Rubia-Guerra A. F. Combination therapy in the treatment of hypertension. *Drugs in context.* 2018. Vol. 7. URL: <http://www.drugsincontext.com/combination-therapy-in-the-treatment-of-hypertension> (date of access: 17.08.2018).

223. Guidelines for the prevention of stroke in patients with stroke and transient ischemic attack: a guideline for healthcare professionals from the American Heart Association/American Stroke Association / W. N. Kernan et al. *Stroke.* 2014. Vol. 45. P. 2160.

224. Healy–Torre A. Hyperosmolar therapy for intracranial hypertension. *J. Weil. Neurocrit. Care.* 2012. Vol. 17. P. 117–130.

225. Hung T. W., Liou J. H., Yeh K. T. Renal expression of hypoxia inducible factor-1 $\alpha$  in patients with chronic kidney disease: a clinicopathologic study from nephrectomized kidneys. *J. Indian Med. Res.* 2013. Vol. 137 (1). P. 102-110.

226. Imamura T., Kinugawa K., Komuro I. Tolvaptan prolongs blockage of the vasopressin type II receptor over 24 hours in responders with stage D heart failure. *Int Heart J.* 2016. Vol. 57. P. 41–6.

227. Intermediates for 1,3-disubstituted 2-oxindoles as analgesic and antiinflammatory agents : pat. 4658037 CIIIA. №3/1985 ; appl. 20.09.83 ; publ. 30.12.85.

228. Jaber B. L., Almarzouqi L., Borgi L. Short-term efficacy and safety of vasopressin receptor antagonists for treatment of hyponatremia. *Am J. Med.* 2011. Vol. 124 (10). P. 977.e1–9.10.1016/

229. Jeffrey L. Segar. Neonatal diuretic therapy: furosemide, thiazides, and spironolactone. *Clinics in perinatology*. 2012. Vol. 39, № 1. P. 209–220.

230. Jost W. H. Ropinirol, a non-ergoline dopamine agonist. *CNS Drug Reviews*. 2005. Vol. 11, № 3. P. 253–272.

231. Kaluzay J., Pokorna V., Bodikova S. Diuretic treatment in patients with acute pulmonary edema did not produce severe hyponatremia or hypokalemia. *Vnitř Lek*. 2016. Vol. 62, № 4. P. 263-267.

232. Kaushik Pandit, Pradip Mukhopadhyay, Sujoy Ghosh. Natriuretic peptides: Diagnostic and therapeutic use. *Indian J. Endocrinol. Metab*. 2011. Oct; 15 (Suppl 4). P. 345–353.

233. Kellum J. A., Lamire N. Diagnosis, evaluation, and management of acute kidney injury: a KDIGO summary (Part 1). *Crit. Care*. 2013. Vol. 17. № 1. P. 204-208.

234. Kieboom B. C. T., Zietse R., Ikram M. A. Thiazide but not loop diuretics is associated with hypomagnesaemia in the general population. *Pharmacoepidemiol Drug Saf*. 2018. Vol. 27 (11). P. 1166-1173.

235. Kimmel M., Braun N., Alscher M. D. Influence of thyroid function on different kidney function tests. *Kidney Blood Press Res*. 2012. Vol. 35. P. 9–17

236. Kishore R. N., Anjaneyulu N., Ganesh M. N. Diuretic and nephroprotective activity of fruits of *Fragaria vesca* Linn. *Int. J. Pharm. Sci*. 2012. Vol. 3, № 7. P. 2201-2204.

237. Kitsios G. D., Mascari P., Ettunsi R. Co-administration of furosemide with albumin for overcoming diuretic resistance in patients with hypoalbuminemia: a meta-analysis. *Journal of Critical Care*. 2014. Vol. 29, № 2. P. 253–259.

238. Knepper M. A. Systems biology of diuretic resistance. *J. Clin Invest*. 2015. Vol. 125 (5). P. 1793–1795.

239. Labiri S., Mebazaa A., Levy P. Vasodilators in Acute Heart Failure: Review of the Latest Studies. *Curr Emerg Hosp Med Rep*. 2014. Vol. 2 (2). P. 126–132.

240. Leung A. A., Wright A., Pazo V. Risk of thiazide-induced hyponatremia in patients with hypertension. *Am J. Med*. 2011. № 124. P. 1064.

241. Loop diuretics: old and new ones, which one to choose in clinical practice? Experts' group consensus endorsed by the Polish Cardiac Society Working Group on Cardiovascular Pharmacotherapy and Working Group on Heart Failure / A. Mamcarz et al. *Kardiol Pol.* 2015. Vol. 73. P. 225–32.

242. Malha L., Mann S. J. Loop diuretics in the treatment of hypertension. *Hypertension.* 2016. Vol. 18, № 4. P. 78–S83.

243. Management of cardiogenic shock. *European Heart Journal.* 2015. Vol. 36. P. 1223-1230.

244. Mangiafico S., Costello-Boerrigter L. C., Andersen I. A. Neutral endopeptidase inhibition and the natriuretic peptide system: an evolving strategy in cardiovascular therapeutics. *Eur. Heart J.* 2013. Vol. 34. P. 886–893.

245. Markina A. Y. Indolinoren impact on urinary function of kidneys with terms of aldosterone receptor blockade. *Topical issues of new drugs development* : abstracts XXIV International scientific and practical conference of young scientists and student, Kharkiv, April 20, 2017. Kh., 2017. P. 57.

246. Markina A. Yu., Astapova N. N., Kononenko N. N. Effects of indolinoren on renal excretory function in rats with acute renal failure. *Actual questions of development of new drugs* : book of abstracts XX International scientific and practical conference of young scientists and students, devoted to the 90th anniversary of doctor of science in pharmacy, professor Dmitri Pavlovich Salo, Kharkiv, April 25-26, 2013. Kh., 2013. P. 167.

247. Markina A. Yu., Mishchenko O. Ya. The study of the peculiarities of the diuretic action of 2-oxoindoline acylated derivative – N-[(2-oxoindoliniliden-3)-2-oxyacetyl]-valine propyl ester. *Клінічна фармація.* 2018. Т. 22, № 3. P. 17-21.

248. Markina A., Mishchenko O. The influence of indolinoren on kidney function in conditions of water and salt load. *ScienceRise: Pharmaceutical Science.* 2018. Vol. 4 (14). P. 20-23.

249. Markina A., Mishchenko O., Laryanovska Yu. The impact of indolinoren on histostructure of kidney on the glixerroid acute renal failure model. *ScienceRise: Pharmaceutical Science.* 2017. Vol. 5 (9). P. 10-14.

250. Masuyama T., Tsujino T., Origasa H. Superiority of long-acting to short-acting loop diuretics in the treatment of congestive heart failure. *Circ. J.* 2012. Vol. 76. P. 833–42.

251. Matthay M. A. Novel molecular strategy to prevent pulmonary edema. *Crit. Care Med.* 2008. Vol. 36, № 5. P. 1671–1673.

252. Maurer P., Bachmann M. Immunization against angiotensins for the treatment of hypertension. *Clin Immunol.* 2010. Vol. 134 (1). P. 89–95.

253. Miller J. L., Schaefer J., Tam M. Ethacrynic acid continuous infusions in critically ill pediatric patients. *J. Pediat. Pharmacol. Ther.* 2014. Vol. 19. P. 49-55.

254. Mineralocorticoid receptor antagonists for heart failure with reduced ejection fraction: integrating evidence into clinical practice / F. Zannad et al. *J. Eur. Heart.* 2012. Vol. 33. P. 2782–2795.

255. Miranda C. A., Lee J. W., Chou C. L. Tolvaptan as a tool in renal physiology. *Am J. Physiol Renal Physiol.* 2014. Vol. 306. P. F359–66.

256. Mishra S. Diuretics in primary hypertension – Reloaded. *Indian Heart J.* 2016. Vol. 68, № 5. P. 720–723.

257. Morooka H., Iwanaga Y., Tamaki Y. Chronic administration of oral vasopressin type 2 receptor antagonist tolvaptan exerts both myocardial and renal protective effects in rats with hypertensive heart failure. *Circ Heart Fail.* 2012. Vol. 5. P. 484–92.

258. N-R, R<sub>1</sub> амідиди (2Z)-(бензоїламіно)(2-оксо-1,2-дигідро-3H-індол-3-іліден)оцтової кислоти, що мають ноотропну активність : пат. 58213 України. № u201009761 ; заявл. 05.08.2010 ; опубл. 11.04.2011 ; Бюл. 2011, № 7. 4 с.

259. Nadal J., Channavajjhala S. K., Jia W. Clinical and molecular features of thiazide-induced hyponatremia. *Curr. Hypertens. Rep.* 2018. Vol. 20 (4). P. 31.

260. Nakayama K. Hypoxia-inducible factor and signal transducer and activators of transcription 3: two central regulators meet to regulate kidney pathophysiology. *Clin. Exp. Pharmacol. Physiol.* 2013. Vol. 40 (4). P. 251–252.

261. Natriuretic Peptides: Their structures, receptors, physiologic functions and therapeutic applications / Lincoln R. Potter et al. *Handb Exp Pharmacol*. 2016. Vol. 191. P. 341–366.

262. Neutral endopeptidase inhibition and the natriuretic peptide system: an evolving strategy in cardiovascular therapeutics / S. Mangiafico et al. *Eur. Heart J*. 2013. Vol. 34 (12) P. 886–893.

263. New routes to oxindole derivatives / M. Porcs–Makkay et al. *Monatshefte für Chemie*. 2004. Vol. 135, № 6. P. 697–711.

264. Nguyen B. D., Roarke M. C., Young J. R. Diuretic renal scintigraphy in patients with sulfonamide allergies: Possible alternative use of ethacrynic acid. *J. Nucl. Med. Technol*. 2015. Vol. 43. P. 239-241.

265. Nigam S. K. Acute renal failure. II. Experimental models of acute renal failure : imperfect but indispensable / S. K. Nigam, Lieberthal. *Am. J. Physiol. Renal*. 2000. Vol. 278, № 1. P. 1–12.

266. Noda Y., Sohara E., Ohta E. Aquaporins in kidney pathophysiology. *Nat Rev Nephrol*. 2010 Vol. 6. P.168–78.

267. Nomani A. Z., Nabi Z., Rashid H. Osmotic nephrosis with mannitol. *Renal Failure*. 2014. Vol. 36. P. 1169-1176.

268. O'Connor C. M., Starling R. C., Hernandez A. F. Effect of nesiritide in patients with acute decompensated heart failure. *N Engl J Med*. 2011. Vol. 65. P. 32–43.

269. Oh S. W., Han S. Y. Loop diuretics in clinical practice. *Electrolytes blood pressure*. 2015. Vol. 13. P. 17-21.

270. Oral tolvaptan is safe and effective in chronic hyponatremia / T. Berl et al. *Journal of the American Society of Nephrology*. 2010. Vol. 21, №4. P. 705–712.

271. Oxindole antiinflammatory agents : pat. 4686224 CIIA. № 5/1985; appl. 5.05.83 ; publ. 6.08.85.

272. Pantalone K. M., Hatipoglu B. A. Hyponatremia and the thyroid: causality or association? *J. Clin. med*. 2015. Vol. 4 (1). P. 32-36.

273. Pareek A. K., Messerli F. H., Chandurkar N. B. Efficacy of low-dose chlorthalidone and hydrochlorothiazide as assessed by 24-h ambulatory blood pressure monitoring. *J Am coll cardiol.* 2016. Vol. 67. P. 379-390.

274. Pascual-Figal D. A., Sanchez-Mas J., Januzzi J. L. Eplerenone in mild heart failure. *N Engl J Med.* 2011. Vol. 364. P. 1370

275. Patel R., Mahobia N. K., Gendle R. Diuretic activity of leaves of *Plectranthus amboinicus* (Lour) Spreng in male albino rats. *Phcog. Res.* 2010. Vol. 2, № 2. P. 86-88.

276. Pedzik A. Oxidative stress in nephrology. *Polski Merkurusz Lekarski.* 2010. Vol. 28 (163). P. 56–60.

277. Peterzan M. A., Hardy R., Chaturvedi N. Meta-analysis of dose-response relationships for hydrochlorothiazide, chlorthalidone, and bendroflumethiazide on blood pressure, serum potassium, and urate. *Hypertension.* 2012. Vol. 59. P. 1104-1108.

278. Pourafshar N., Alshahrani S., Karimi A. Thiazide therapy in chronic kidney disease: renal and extra renal targets. *Curr. Drug Metab.* 2018. Vol. 19 (12). P. 1012-1020.

279. Purvey M., Allen G. Managing acute pulmonary edema. *Aust Prescr.* 2017. Vol. 40 (2). P. 59-63.

280. Puschett J. B. Effects of diuretics on renal function. *Renal Physiology.* 2011. Vol. 10. P. 100–108.

281. Qavi A. H., Kamal R., Schrier R. Clinical use of diuretics in heart failure, cirrhosis, and nephrotic syndrome. *International Journal of Nephrology.* 2015. Vol 15. P. 100–108.

282. Raebel M. A. Hyperkalemia associated with use of angiotensin converting enzyme inhibitors and angiotensin receptor blockers. *Cardiovasc Ther.* 2012 Vol. 30 (3). P. e156–e166.

283. Rational use of diuretics and pathophysiology of edema / O. P. Kalra et al. *Medicine Update.* 2012. Vol. 22. P. 602–610.

284. Ratliff B., Abdulmahdi W., Pawar R., Wolin M. Oxidant mechanisms in renal injury and disease. *Antioxid. Redox Signal.* 2016. Vol. 25. P. 119–146.
285. Ratnasooriya W. D., Fernando T. S., Ranatunga R. A. Diuretic activity of Sri Lankan black tea (*Camellia sinensis* L.) in rats. *Pharm. Res.* 2009. Vol. 1, № 1. P. 4–10.
286. Riccardi D., Valenti G. Localization and function of the renal calcium-sensing receptor. *Nat. Rev. Nephrol.* 2016. Vol. 12. P. 414–425.
287. Ricci Z., Haiberger R., Pezzella C. Furosemide versus ethacrynic acid in pediatric patients undergoing cardiac surgery: A randomized controlled trial. *Crit. Care.* 2015. Vol. 19. 10.1186/s13054-014-0724-5
288. Rogers J. K., McMurray J. J., Pocock S. J. Eplerenone in patients with systolic heart failure and mild symptoms. Analysis of repeat hospitalizations. *Circulation.* 2012. Vol. 126. P. 2317–2323.
289. Role of diuretics and ultrafiltration in congestive heart failure / D. Shchekochikhin et al. *MDPI.* 2013. Vol. 6 (7). P. 851–866.
290. Roush G. C., Ernst M. E., Kostis J. B. Head-to-head comparisons of hydrochlorothiazide with indapamide and chlorthalidone: antihypertensive and metabolic effects. *Hypertension.* 2015. Vol. 65. P. 1041.
291. Roush G. C., Sica D. A. Diuretics for Hypertension: A Review and Update. *Am J. Hypertens.* 2016. Vol. 29 (10). P. 1130–1137.
292. Shimazawa R. Design and synthesis of N-alkyl oxindolylidene acetic acids as a new class of potent Cdc25A inhibitors. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 2008. Vol. 18, № 11. P. 3350–3353.
293. Short and long-term effects of continuous versus intermittent loop diuretics treatment in acute heart failure with renal dysfunction / A. Palazzuoli et al. *Internal and Emergency Medicine.* 2015. Vol. 10, № 1. P. 41–49.
294. Sparks M. A., Crowley S. D., Gurley S. B. Classical renin-angiotensin system in kidney physiology. *Compr. Physiol.* 2014. Vol. 4 (3). P. 1201–28.



295. Structure–activity relationship study of oxindolebased inhibitors of cyclindependent kinases based on leastsquares support vector machines / J. Li et al. *Analytica Chimica Acta*. 2007. Vol. 581, № 2. P. 333–342.
296. Supuran C. T. Acetazolamide for the treatment of idiopathic intracranial hypertension. *Expert Rev Neurother*. 2015. Vol. 15. № 8. P. 851-856.
297. Svechnikova O. M., Kolisnyk S. V., Vinnyk O. F. The reactivity of propyl esters of N-[(2-oxoindolin-3-ylidene)-2-oxiacetyl]amino acids. *Вісн. фармації*. 2017. № 2 (90). С. 3–6.
298. Synthesis and biological evaluation of diversely substituted indolin-2-ones / F. Bouchikhi et al. *Eur. J. Med. Chem*. 2008. Vol. 43, №11. P. 2316–2322.
299. Tamargo J., Segura J., Ruilope L. Diuretics in the treatment of hypertension. Part 2: loop diuretics and potassium-sparing agents. *Expert Opin Pharmacother*. 2014. Vol. 15. P. 605–621.
300. Testani J. M., Brisco M. A., Turner J. M. Loop diuretic efficiency: a metric of diuretic responsiveness with prognostic importance in acute decompensated heart failure. *Circ Heart Fail*. 2014. Vol. 7. P. 261–70.
301. The crucial roles of inflammatory mediators in inflammation / L. A. Abdulkhaleg et al. *Vet. World*. 2018. Vol. 11 (5). P. 627-635.
302. The prevalence of clinically relevant comorbid conditions in patients with physiciandiagnosed COPD: a crosssectional study using data from NHANES 19992008 / K. Schnell et al. *BMC Pulm. Med*. 2012. № 12. P. 26.
303. Tolvaptan and neurocognitive function in mild to moderate chronic hyponatremia: a randomized trial (INSIGHT). *Am J Kidney Dis*. 2016. Vol. 67 (6). P. 893–901
304. Toma C. C., Olah N. K., Vlase L. Comparative studies on polyphenolic composition, antioxidant and diuretic effects of *Nigella sativa* L. (black cumin) and *Nigella damascena* L. (lady-in-a-mist) seeds. *Molecules*. 2015. Vol. 20, № 6. P. 9560–9574.
305. Treating essential hypertension. The first choice is usually a thiazide diuretic. *Prescrire in English*. 2014. Vol. 23, № 152. P. 215–220.

306. Triple diuretics and aquaretic strategy for acute decompensated heart failure due to volume overload / R. Jermyn et al. *Case Rep Cardiol*. 2013. P. 750-794.
307. Turner N., Lameire N., Goldsmith D. Oxford Textbook of Clinical Nephrology. Glasgow. : Bell and Bain, 2015. P. 1-3296.
308. Verbrugge F. H. Editor's Choice-Diuretic resistance in acute heart failure. *Eur Heart J Acute Cardiovasc Care*. 2018. Vol. 7 (4). P. 379-389.
309. Vogt B. Rational diuretic therapy in patients with liver cirrhosis. *Ther. Umsch*. 2013. Vol. 57, № 6. P. 355–360.
310. Volpe M., Carnovali M., Mastromarino V. The natriuretic peptides system in the pathophysiology of heart failure: from molecular basis to treatment. *Clin Sci (Lond)*. 2016. Vol. 130 (2). P. 57–77.
311. Volterrani M., Iellamo F. Eplerenone in chronic heart failure with depressed systolic function. *Intern. J. of Card*. 2015. Vol. 200. P. 12-14.
312. Wall M. Effect of acetazolamide on visual function in patients with idiopathic intracranial hypertension and mild visual loss. *JAMA*. 2014. Vol. 311, № 16. P. 1641–1651.
313. Wong P. C., Guo J., Zhang A. The renal and cardiovascular effects of natriuretic peptides. *Adv Physiol Educ*. 2017. Vol 41 (2). P. 179–185.
314. Wright C. I., Van-Buren L., Kroner C. I. Herbal medicines as diuretics. *J. Ethnopharmacol*. 2007. Vol. 114, № 1. P. 1-31.
315. Yele S. U., Gokhalev S. B., Surana S. J. Diuretic and laxative activity of *Cassia sophera* Linn, a prevalent western ghat species. *Pharmacologyonline*. 2010. Vol. 1. P. 47-52.
316. Zappe D. H., Crikelair N., Kandra A. Time of administration important? Morning versus evening dosing of valsartan. *J Hypertens*. 2015. Vol. 33. P. 385.

## ДОДАТКИ

## Додаток А

## Список публікацій здобувача

1. Маркіна А. Ю., Тюпка Т. І., Лар'яновська Ю. Б., Нессонова М. Н. Вплив індолінорену на морфофункціональний стан легеневої тканини при експериментальному гемодинамічному набряку легенів. *Здобутки клінічної і експериментальної медицини*. 2011. № 2 (13). – С. 77-80. (Особистий внесок – моделювання патології, відбір та підготовка матеріалу, аналіз результатів, оформлення статті до друку).
2. Маркіна А. Ю. Тюпка Т. И. Экспериментальное подтверждение эффективности нового производного 2-оксоиндолина – потенциального диуретического средства. *Вестник КАЗНМУ*. 2013. № 5 (1). С. 163-165. (Особистий внесок – постановка експерименту, статистична обробка даних, аналіз результатів, оформлення статті до друку).
3. Маркіна А. Ю., Міщенко О. Я. Експериментальне вивчення антигіпоксичної та антиоксидантної активності індолінорену. *Український біофармацевтичний журнал*. 2017. № 3 (50). С. 22-25. (Особистий внесок – моделювання патології, відбір та підготовка матеріалу, статистична обробка даних, аналіз результатів, оформлення статті до друку).
4. Маркіна А. Ю., Мищенко О. Я. Скрининговые исследования новых производных 2-оксоиндолина. *Фармакологія та лікарська токсикологія*. 2017. №3 (54). С. 69-73. (Особистий внесок – постановка експерименту, статистична обробка даних, аналіз результатів, оформлення статті до друку).
5. Markina A., Mishchenko O., Laryanovska Yu. The impact of indolinoren on histostructure of kidney on the glixerroid acute renal failure model. *ScienceRise: Pharmaceutical Science*. 2017. Volume 5 (9). P. 10-14. (Особистий внесок – моделювання патології, відбір та підготовка матеріалу, статистична обробка даних, аналіз результатів, оформлення статті до друку).
6. Markina A., Mishchenko O. The influence of indolinoren on kidney function in conditions of water and salt load. *ScienceRise: Pharmaceutical Science*. 2018. Volume 4 (14). P. 20-23. (Особистий внесок – постановка експерименту,

відбір та підготовка матеріалу, статистична обробка даних, аналіз результатів, оформлення статті до друку).

7. Markina A. Yu., Mishchenko O. Ya. The study of the peculiarities of the diuretic action of 2-oxoindoline acylated derivative – N-[(2-oxoindoliniliden-3)-2-oxuacetyl]-valine propyl ester. *Клінічна фармація*. – 2018. – Volume 3 (22). P. 17-21. (Особистий внесок – постановка експерименту, відбір та підготовка матеріалу, статистична обробка даних, аналіз результатів, оформлення статті до друку).
8. Застосування пропілового естеру N-[(2-оксоіндолініліден-3)-2-оксіацетил]-валіну як діуретичного засобу : пат.на корисну модель 63373 України, МПК А61К 31/197 (2006.01) А61Р 7/10 (2006.01). № u 201102236; заявл. 25.02.2011; опубл. 10.10.2011; Бюл. № 19. (Особистий внесок – аналіз джерел літератури, постановка експерименту, відбір та підготовка матеріалу, статистична обробка даних, аналіз та узагальнення результатів).
9. Застосування пропілового естеру N-[(2-оксоіндолініліден-3)-2-оксіацетил]-валіну як діуретичного засобу : пат. на винахід 101844 України, МПК А61К 31/404 (2006.01), А61К 31/198 (2006.01), А61Р 7/10 (2006.01) № а 2011 02237; заявл. 25.02.2011; опубл. 13.05.2013, Бюл. № 9. (Особистий внесок – аналіз джерел літератури, постановка експерименту, відбір та підготовка матеріалу, статистична обробка даних, аналіз та узагальнення результатів).
10. Маркіна А. Ю., Тюпка Т. І. Вплив одноразового введення індолінорену на функціональний стан нирок. *Ліки – людині. Сучасні проблеми створення, вивчення та апробації лікарських засобів: тези ХХІХ Всеукраїнської наук.-практ. конф. з міжнар. участю, м. Харків, 15 березня, 2012 р. Х. : Вид-во НФаУ, 2012. С. 108.*
11. Markina A. Yu., Astapova N. N., Kononenko N. N., Tyupka T. I. Effects of indolinoren on renal excretory function in rats with acute renal failure. *Actual questions of development of new drugs: book of abstracts XX Internat. scient. and pract., conference of young scientists and students, devoted to the 90th anniversary of doctor of science in pharmacy, prof. Dmitri Pavlovich Salo, Kharkiv, Apr. 25-*

- 26, 2013. X. : Вид-во НФаУ, 2013. Р. 167.
12. Маркіна А. Ю., Міщенко О. Я. Вивчення впливу індолінорену на сечовидільну функцію нирок за умов блокади дофамінових рецепторів. *Актуальні питання біології та медицини: тези XIV міжрегіональної наукової конференції*, м. Старобільськ, 22-23 грудня, 2016 р. м. Старобільськ. С. : Вид-во ДЗ «ЛНУ імені Тараса Шевченка», 2017. С. 104-105.
  13. Маркіна А. Ю. Исследование антигипоксической активности нового производного 2-оксоиндолина. *Актуальные вопросы современной медицины и фармации: тез. докл. 69-ой научно-практ. конф. студентов и молодых ученых*, г. Витебск, 19-20 апреля 2017 г. Витебск. В. : ВГМУ, 2017. С. 204-205.
  14. Markina A. Y. Indolinoren impact on urinary function of kidneys with terms of aldosterone receptor blockade. *Topical issues of new drugs development: abstracts XXIV International scientific and practical conference of young scientists and student*, Kharkiv, April 20, 2017. X. : Вид-во НФаУ, 2017. Р. 57.
  15. Маркіна А. Ю., Міщенко О. Я. Вивчення діуретичної активності нових ацильованих похідних 2-оксоіндоліну. *V національний з'їзд фармакологів України: тези допов. V національного з'їзду фармакологів України*, м. Запоріжжя, 18-20 жовтня 2017 р. З. : ЗДМУ, 2017. С. 88.
  16. Маркіна А. Ю., Міщенко О. Я. Визначення умовноефективної дози за діуретичною активністю нового ацильованого похідного 2-оксоіндоліну. *Вплив науково-технічного прогресу на розвиток медичної науки та практики: реалії сьогодення: мат. міжн. наук-практ. конф.*, м. Київ, 13-14 липня, 2018. К. : «Київський медичний науковий центр», 2018. С. 96-99.
  17. Маркіна А. Ю., Міщенко О. Я. Діуретична активність нового ацильованого похідного 2-оксоіндоліну: інформаційний лист Укрмедпатентінформу МОЗ України, Випуск 6 з проблеми «Фармація» № 189 – 2017. К., 2017. 3 с. (Особистий внесок – постановка експерименту, відбір та підготовка матеріалу, статистична обробка даних, аналіз результатів, оформлення матеріалів до друку).

Продовж. дод. А

### **Апробація результатів дисертації**

Основні положення роботи викладено та обговорено на науково-практичних конференціях різного рівня:

1. ХХІХ Всеукраїнська наук.-практ. конф. з міжнар.участю «Ліки – людині. Сучасні проблеми створення, вивчення та апробації лікарських засобів» (м. Харків, 15 березня, 2012 р., форма участі – публікація тез).
2. ХХ International scientific and practical conference of young scientists and students, devoted to the 90th anniversary of doctor of science in pharmacy, professor Dmitri Pavlovich Salo «Actual questions of development of new drugs» (Kharkiv, April 25-26, 2013, форма участі – публікація тез).
3. ХІV міжрегіональна наукова конференція «Актуальні питання біології та медицини» (м. Старобільськ, 22-23 грудня, 2016 р. м. Старобільськ, форма участі – публікація тез).
4. 69-ая научно-практ. конф. студентов и молодых ученых «Актуальные вопросы современной медицины и фармации» (г. Витебск, 19-20 апреля 2017, форма участі – публікація тез).
5. ХХІV International scientific and practical conference of young scientists and student «Topical issues of new drugs development» (Kharkiv, April 20, 2017, форма участі – публікація тез).
6. V національний з'їзд фармакологів України «Фармакологія 2017 – крок у майбутнє» (м. Запоріжжя, 18-20 жовтня 2017 р., форма участі – публікація тез).
7. Міжн. наук-практ. конф. «Вплив науково-технічного прогресу на розвиток медичної науки та практики» (м. Київ, 13-14 липня, 2018, форма участі – публікація тез).

## Додаток Б

## Патенти, інформаційні листи та акти впровадження за темою дисертації





Продовж. дод. Б

(11) 101844

Пронумеровано, прошиито металевими люверсами та скріплено печаткою  
2 арк.  
13.05.2013

Уповноважена особа



(підпис)



Продовж. дод. Б



УКРАЇНА

(19) **UA** (11) **101844** (13) **C2**

(51) МПК

**A61K 31/404** (2006.01)**A61K 31/198** (2006.01)**A61P 7/10** (2006.01)

ДЕРЖАВНА СЛУЖБА  
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ  
ВЛАСНОСТІ  
УКРАЇНИ

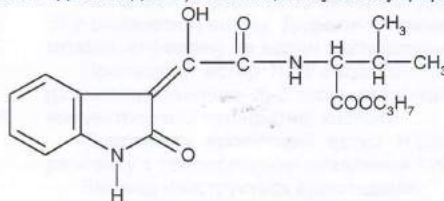
**(12) ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА ВИНАХІД**

<p>(21) Номер заявки: а 2011 02237</p> <p>(22) Дата подання заявки: 25.02.2011</p> <p>(24) Дата, з якої є чинними права на винахід: 13.05.2013</p> <p>(41) Публікація відомостей про заяву: 27.08.2012, Бюл.№ 16</p> <p>(46) Публікація відомостей про видачу патенту: 13.05.2013, Бюл.№ 9</p>	<p>(72) Винахідник(и): Болотов Валерій Васильович (UA), Колісник Сергій Вікторович (UA), Тюпка Тетяна Іванівна (UA), Маркіна Анна Юрївна (UA)</p> <p>(73) Власник(и): НАЦІОНАЛЬНИЙ ФАРМАЦЕВТИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ, вул. Пушкінська, 53, м. Харків, 61002, Україна (UA)</p> <p>(56) Перелік документів, взятих до уваги експертизою: UA 31653 A, 15.12.2000 UA 85318 A, 12.01.2009 UA 47350 U, 25.01.2010 SU 749063 A1, 10.09.1996 СИНТЕЗ, ФІЗИКО-ХІМІЧНІ ВЛАСТИВОСТІ І БІОЛОГІЧНА АКТИВНІСТЬ N-[(2- ОКСОІНДОЛІНІЛІДЕН-3)-2-ОКСІАЦЕТИЛ]- АМІНОКИСЛОТ ТА ЇХ ПОХІДНИХ // С. В. Колісник, В. В. Болотов// Вісник фармації. - 2010. - №3. - С. 30-34 WO 2007/044560 A2, 19.04/2007 US 6 573 262 A1, 10.04.2003</p>
--	---

UA 101844 C2

**(54) ЗАСТОСУВАННЯ ПРОПІЛОВОГО ЕСТЕРУ N-[(2-ОКСОІНДОЛІНІЛІДЕН-3)-2-ОКСІАЦЕТИЛ]-ВАЛІНУ ЯК ДІУРЕТИЧНОГО ЗАСОБУ****(57) Реферат:**

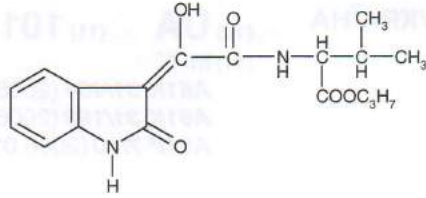
Винахід належить до хіміко-фармацевтичної галузі, а саме до засобів синтетичного походження, що проявляють діуретичну дію. Згідно з винаходом пропіловий естер N-[(2-оксоіндолініліден-3)-2-оксіацетил]-валіну формули:



застосовують як діуретичний засіб.

Продовж. дод. Б

UA 101844 C2



МІНІСТЕРСТВО  
ОХОРОНИ ЗДОРОВ'Я  
України

ІНСТРУКЦІЯ З ВИКОРИСТАННЯ

№	Назва	Дія
1	Бензімідазолу пропілпропіонату	Знеболювальний, жарознижуючий, протизапальний
2	Бензімідазолу пропілпропіонату	Знеболювальний, жарознижуючий, протизапальний
3	Бензімідазолу пропілпропіонату	Знеболювальний, жарознижуючий, протизапальний
4	Бензімідазолу пропілпропіонату	Знеболювальний, жарознижуючий, протизапальний
5	Бензімідазолу пропілпропіонату	Знеболювальний, жарознижуючий, протизапальний
6	Бензімідазолу пропілпропіонату	Знеболювальний, жарознижуючий, протизапальний
7	Бензімідазолу пропілпропіонату	Знеболювальний, жарознижуючий, протизапальний
8	Бензімідазолу пропілпропіонату	Знеболювальний, жарознижуючий, протизапальний
9	Бензімідазолу пропілпропіонату	Знеболювальний, жарознижуючий, протизапальний
10	Бензімідазолу пропілпропіонату	Знеболювальний, жарознижуючий, протизапальний
11	Бензімідазолу пропілпропіонату	Знеболювальний, жарознижуючий, протизапальний
12	Бензімідазолу пропілпропіонату	Знеболювальний, жарознижуючий, протизапальний
13	Бензімідазолу пропілпропіонату	Знеболювальний, жарознижуючий, протизапальний
14	Бензімідазолу пропілпропіонату	Знеболювальний, жарознижуючий, протизапальний
15	Бензімідазолу пропілпропіонату	Знеболювальний, жарознижуючий, протизапальний
16	Бензімідазолу пропілпропіонату	Знеболювальний, жарознижуючий, протизапальний
17	Бензімідазолу пропілпропіонату	Знеболювальний, жарознижуючий, протизапальний
18	Бензімідазолу пропілпропіонату	Знеболювальний, жарознижуючий, протизапальний
19	Бензімідазолу пропілпропіонату	Знеболювальний, жарознижуючий, протизапальний
20	Бензімідазолу пропілпропіонату	Знеболювальний, жарознижуючий, протизапальний

UA 101844 C2



Бензімідазолу пропілпропіонату

## Продовж. дод. Б

UA 101844 C2

Винахід належить до хіміко-фармацевтичної галузі, а саме - до засобів синтетичного походження, що проявляють діуретичну дію.

Місце діуретиків у клініці внутрішніх хвороб важко переоцінити. Вони знаходять широке застосування при лікуванні хворих з артеріальною гіпертензією (АГ), як при плановій терапії, так і при невідкладних станах (гіпертонічні кризи); використовуються як базовий клас лікарських засобів у лікуванні хворих на хронічну серцеву недостатність (ХСН), а також при різних видах декомпенсації ХСН (кардіальна астма, набряк легенів). Діуретики активно застосовують у хворих з асцитом при цирозі печінки, нефротичному синдромі, при лікуванні гострої та хронічної ниркової недостатності. Потужні діуретики, особливо петльові та осмотичні, завдяки підвищенню екскреції нирками ксенобіотиків, знаходять своє застосування в лікуванні отруєння водорозчинними речовинами.

Сучасна медицина надає перевагу діуретикам, які поряд з діуретичною дією проявляють інші види фармакологічної активності. Так, наприклад, етакринова кислота, фуросемід і гідрохлортiazид мають ще і виражену протизапальну активність. Ацетазоламід ефективний у пацієнтів з синдромом нічного апное, психозами.

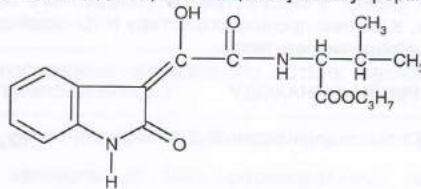
Проте застосування діуретиків нерідко супроводжується побічними ефектами, які насамперед стосуються порушення водно-електролітного гомеостазу, кислотно-лужної рівноваги, обміну ліпідів та вуглеводів. Відомі також специфічні види побічної дії, наприклад ендокринні порушення при лікуванні спіронолактоном, ототоксична дія при використанні петльових діуретиків, порушення з боку ЦНС у вигляді інсомній, запаморочень, депресії, парестезії (при застосуванні інгібіторів карбоангідрази), порушення еректильної функції у чоловіків при використанні тіазидних діуретиків.

Найчастіше з класу діуретиків застосовується група тіазидів. Одним з найбільш досконалих вивчених препаратів даної групи є гіпотіазид (Машковский М.Д. Лекарственные средства. - М.: Медицина, 2002. - Т. 1. - С. 170, 477-479). Це препарат, з ефектами якого порівнюють ефекти не тільки діуретиків, але й препаратів інших антигіпертензивних класів. Основним недоліком гіпотіазиду є серйозні побічні ефекти, серед яких гіпокаліємія та метаболічний алкалоз, гіпонатріємія, гіперурікемія, гіперглікемія, дисліпідемія, еректильна дисфункція.

Відомий пропіловий естер N-[(2-оксоіндолініліден-3)-2-оксіацетил]-валіну з ноотропними властивостями (Колісник С.В., Болотов В.В. Синтез, фізико-хімічні властивості і біологічна активність N-[(2-оксоіндолініліден-3)-2-оксіацетил]-амінокислот та їх похідних // Вісник фармації. - 2010. - № 3 (63). - С. 30-34).

Задачею винаходу є розширення арсеналу діуретичних засобів за рахунок нових препаратів на основі пропілового естеру N-[(2-оксоіндолініліден-3)-2-оксіацетил]-валіну для покращення якості лікування і одержання можливості індивідуалізації фармакотерапії.

Поставлена задача вирішується шляхом застосування пропілового естеру N-[(2-оксоіндолініліден-3)-2-оксіацетил]-валіну формули:



як діуретичного засобу.

Авторами вперше було виявлено діуретичну дію пропілового естеру N-[(2-оксоіндолініліден-3)-2-оксіацетил]-валіну. Діуретичні властивості пропілового естеру N-[(2-оксоіндолініліден-3)-2-оксіацетил]-валіну не відомі з літературних джерел.

Пропіловий естер N-[(2-оксоіндолініліден-3)-2-оксіацетил]-валіну одержують взаємодією N-[(2-оксоіндолініліден-3)-2-оксіацетил]-валіну і абсолютного пропілового спирту у присутності концентрованої сульфатної кислоти.

Одержують пропіловий естер N-[(2-оксоіндолініліден-3)-2-оксіацетил]-валіну - кристалічну речовину з температурою плавлення 122-124 °С. Брутто-формула C<sub>18</sub>H<sub>22</sub>N<sub>2</sub>O<sub>5</sub>.

Винахід ілюструється прикладами.

Приклад 1

До 1,0 г (0,003 моль) N-[(2-оксоіндолініліден-3)-2-оксіацетил]-валіну додають 10 мл абсолютного пропілового спирту і 0,5 мл концентрованої сульфатної кислоти і кип'ятять суміш протягом однієї години. Отриманий розчин виливають у 50 мл води. Осад, що утворився, відфільтровують, промивають водою та кристалізують із етанолу. Вихід 0,8 г (76 %). T<sub>пл.</sub> = 122-

## Продовж. дод. Б

UA 101844 C2

124 °С. ЯМР <sup>1</sup>H, δ, м.д., (J, Гц): 15,36 (1H, с, ОН-енол), 11,79 (1H, с, NH-індол), 9,90 (1H, с, NH-амід), 8,18 (1H, с, 4-H), 7,30-6,92 (3H, к, 5,6,7-H), 4,31 (1H, т, NHCH), 4,04 (2H, т, OCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>), 2,29 (1H, к, CH(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>), 1,58 (2H, м, OCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>), 0,92 (9H, м, OCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub> + CH(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>). Знайдено, %: N 8,19. C<sub>18</sub>H<sub>22</sub>N<sub>2</sub>O<sub>5</sub>. Вирахувано, %: N 8,09.

## 5 Приклад 2

Діуретичну активність пропілового естеру N-[(2-оксоіндолініліден-3)-2-оксіацетил]-валіну та препарату порівняння гіпотіазиду (еталонного препарату тіазидових діуретиків, що належать до сечогінних засобів середньої сили фармакологічної дії, та придатного до тривалого застосування) вивчали у дослідях на білих нелінійних щурах-самцях масою 200,0±20,0 г. Заявлену сполуку і препарат порівняння вводили одноразово внутрішньошлунково на фоні водного навантаження (25 мл/кг). Для експерименту використовувались 3 групи щурів: 1 група - тварини, яким вводили пропіловий естер N-[(2-оксоіндолініліден-3)-2-оксіацетил]-валіну; 2 група - тварини, яким вводили гіпотіазид, 3 група - контроль. Оцінку діуретичної активності проводили за показником інтенсивності сечовиділення - кількості сечі, виділеної тваринами за 4 години у перерахунку на 100 г маси тіла у порівнянні з контролем та з урахуванням ДЛ<sub>50</sub> досліджуваних засобів.

Результати вивчення діуретичної активності та токсичності заявленої сполуки та гіпотіазиду наведені у нижченаведеній таблиці.

Таблиця

Вивчення діуретичної активності та токсичності пропілового естеру N-[(2-оксоіндолініліден-3)-2-оксіацетил]-валіну (I) у порівнянні з гіпотіазидом

Сполука	Доза, мг/кг	Активність, %	ДЛ <sub>50</sub> , мг/кг
I	29,5	346*	4000
гіпотіазид	40,0	170*	1800

\* - відносно контролю.

20

За даними таблиці пропіловий естер N-[(2-оксоіндолініліден-3)-2-оксіацетил]-валіну у 2,2 разу менш токсичний за гіпотіазид, проявляє діуретичний ефект у нижчій дозі, а за діуретичною активністю перевершує гіпотіазид у два рази.

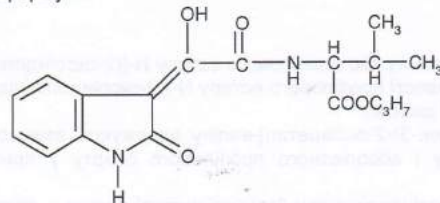
25

Заявлений пропіловий естер N-[(2-оксоіндолініліден-3)-2-оксіацетил]-валіну проявляє виражену діуретичну активність при низькій токсичності, одержується за доступною технологією, може бути синтезований у промислових умовах з використанням стандартного обладнання, доступних екологічно-безпечних реактивів. У синтезі пропілового естеру N-[(2-оксоіндолініліден-3)-2-оксіацетил]-валіну використовуються вітчизняні реактиви.

30

## ФОРМУЛА ВИНАХОДУ

Застосування пропілового естеру N-[(2-оксоіндолініліден-3)-2-оксіацетил]-валіну загальної формули:



35 як діуретичного засобу.

Комп'ютерна верстка С. Чулій

Державна служба інтелектуальної власності України, вул. Урицького, 45, м. Київ, МСП, 03680, Україна

ДП "Український інститут промислової власності", вул. Глазунова, 1, м. Київ – 42, 01601

Продовж. дод. Б



Продовж. дод. Б

(11) 63373

AU (11)

ASIP 27197 (2008.01)  
ASIP 2710 (2008.01)

(75) Винахідник:  
Бюро Патентів  
Вашингтон, США  
Континентальні Патенти  
США  
Учасники: Тетяна Іванівна, США  
Василина Анна Ігорівна, США

№ 2011 02328

28.05.2011

10.10.2011

10.10.2011

(75) Винахідник:  
НАЦІОНАЛЬНИЙ  
УНІВЕРСИТЕТ  
"Львівський національний університет імені  
Івана Франка", вул. Франка, 59, Львів,  
81000, Україна, UA

Пронумеровано, прошито металевими люверсами та скріплено печаткою  
2 арк.  
10.10.2011

Уповноважена особа



(підпис)



## Продовж. дод. Б



УКРАЇНА

(19) UA (11) 63373 (13) U  
 (51) МПК  
 A61K 31/197 (2006.01)  
 A61P 7/10 (2006.01)

ДЕРЖАВНА СЛУЖБА  
 ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ  
 ВЛАСНОСТІ  
 УКРАЇНИ

ОПИС  
 ДО ПАТЕНТУ  
 НА КОРИСНУ МОДЕЛЬ

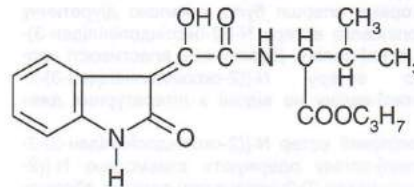
видається під  
 відповідальність  
 власника  
 патенту

(54) ЗАСТОСУВАННЯ ПРОПІЛОВОГО ЕСТЕРУ N-[(2-ОКСОІНДОЛІНІЛІДЕН-3)-2-ОКСІАЦЕТИЛ]-ВАЛІНУ ЯК ДІУРЕТИЧНОГО ЗАСОБУ

1

(21) u201102236  
 (22) 25.02.2011  
 (24) 10.10.2011  
 (46) 10.10.2011, Бюл.№ 19, 2011 р.  
 (72) БОЛОТОВ ВАЛЕРІЙ ВАСИЛЬОВИЧ, КОЛІСНИК СЕРГІЙ ВІКТОРОВИЧ, ТЮПКА ТЕТЯНА ІВАНІВНА, МАРКІНА АННА ЮРІВНА  
 (73) НАЦІОНАЛЬНИЙ ФАРМАЦЕВТИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ  
 (57) Застосування пропілового естеру N-[(2-оксоіндолініліден-3)-2-оксіацетил]-валіну загальної формули:

2



як діуретичного засобу.

Корисна модель належить до хіміко-фармацевтичної галузі, а саме - до засобів синтетичного походження, що проявляють діуретичну дію.

Місце діуретиків у клініці внутрішніх хвороб важко переоцінити. Вони знаходять широке застосування при лікуванні хворих з артеріальною гіпертензією (АГ) як при плановій терапії, так і при невідкладних станах (гіпертонічні кризи); використовуються як базовий клас лікарських засобів у лікуванні хворих на хронічну серцеву недостатність (ХСН), а також при різних видах декомпенсації ХСН (кардіальна астма, набряк легенів). Діуретики активно застосовують у хворих з асцитом при цирозі печінки, нефротичному синдромі, при лікуванні гострої та хронічної ниркової недостатності. Потужні діуретики, особливо петльові та осмотичні, завдяки підвищенню екскреції нирками ксенобіотиків, знаходять своє застосування в лікуванні отруєння водорозчинними речовинами.

Сучасна медицина надає перевагу діуретикам, які поряд з діуретичною дією проявляють інші види фармакологічної активності. Так, наприклад, етакринова кислота, фуросемід і гідрохлортіазид мають ще і виражену протизапальну активність. Ацетазоламід ефективний у пацієнтів з синдромом нічного апное, психозами.

Проте застосування діуретиків нерідко супроводжується побічними ефектами, які насамперед

стосуються порушення водно-електролітного гомеостазу, кислотно-лужної рівноваги, обміну ліпідів та вуглеводів. Відомі також специфічні види побічної дії, наприклад, ендокринні порушення при лікуванні спіронолактоном, ототоксична дія при використанні петльових діуретиків, порушення з боку ЦНС у вигляді інсомній, запаморочень, депресії, парестезії (при застосуванні інгібіторів карбоангідрази), порушення еректильної функції у чоловіків при використанні тіазидних діуретиків.

Найчастіше з класу діуретиків застосовується група тіазидів. Одним з найбільш досконало вивчених препаратів даної групи є гіпотіазид (Машковский М.Д. Лекарственные средства. - М.: Медицина, 2002. - Т. 1. - с. 170, 477-479). Це препарат, з ефектами якого порівнюють ефекти не тільки діуретиків, але й препаратів інших антигіпертензивних класів. Основним недоліком гіпотіазиду є серйозні побічні ефекти, серед яких гіпокаліємія та метаболічний алкалоз, гіпонатріємія, гіперурікемія, гіперглікемія, дисліпідемія, еректильна дисфункція.

Відомий пропіловий естер N-[(2-оксоіндолініліден-3)-2-оксіацетил]-валіну з ноотропними властивостями (Колісник С.В., Болотов В.В. Синтез, фізико-хімічні властивості і біологічна активність N-[(2-оксоіндолініліден-3)-2-оксіацетил]-амінокислот та їх похідних // Вісник фармації. - 2010. - №3 (63). - с. 30-34).

(19) UA (11) 63373 (13) U



## Продовж. дод. Б

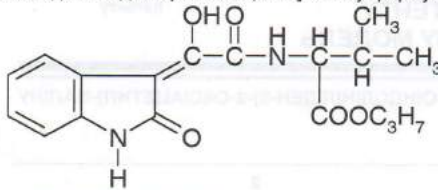
3

63373

4

Завданням корисної моделі є розширення арсеналу діуретичних засобів за рахунок нових препаратів на основі пропілового естеру N-[(2-оксоіндолініліден-3)-2-оксіяцетил]-валіну для покращення якості лікування і одержання можливості індивідуалізації фармакотерапії.

Поставлене завдання вирішується шляхом застосування пропілового естеру N-[(2-оксоіндолініліден-3)-2-оксіяцетил]-валіну формули:



як діуретичного засобу.

Авторами вперше було виявлено діуретичну дію пропілового естеру N-[(2-оксоіндолініліден-3)-2-оксіяцетил]-валіну. Діуретичні властивості пропілового естеру N-[(2-оксоіндолініліден-3)-2-оксіяцетил]-валіну не відомі з літературних джерел.

Пропіловий естер N-[(2-оксоіндолініліден-3)-2-оксіяцетил]-валіну одержують взаємодією N-[(2-оксоіндолініліден-3)-2-оксіяцетил]-валіну і абсолютного пропілового спирту у присутності концентрованої сульфатної кислоти.

Одержують пропіловий естер N-[(2-оксоіндолініліден-3)-2-оксіяцетил]-валіну - кристалічну речовину з температурою плавлення 122-124°C. Брутто-формула C<sub>18</sub>H<sub>22</sub>N<sub>2</sub>O<sub>5</sub>.

Корисна модель ілюструється прикладами.

Приклад 1. До 1,0 г (0,003 моль) N-[(2-оксоіндолініліден-3)-2-оксіяцетил]-валіну додають

10 мл абсолютного пропілового спирту і 0,5 мл концентрованої сульфатної кислоти і кип'ятять суміш протягом однієї години. Отриманий розчин виливають у 50 мл води. Осад, що утворився, відфільтровують, промивають водою та кристалізують із етанолу. Вихід 0,8 г (76 %). T<sub>пл.</sub>=122-124°C. ЯМР <sup>1</sup>H, δ, м.д., (J, Гц): 15,36 (1H, с, OH-єнол), 11,79 (1H, с, NH-індол), 9,90 (1H, с, NH-амід), 8,18 (1H, с, 4-H), 7,30-6,92 (3H, к, 5,6,7-H), 4,31 (1H, т, NHCH), 4,04 (2H, т, OCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>), 2,29 (1H, к, CH(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>), 1,58 (2H, м, OCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>), 0,92 (9H, м, OCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>+CH(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>). Знайдено, %: N 8,19. C<sub>18</sub>H<sub>22</sub>N<sub>2</sub>O<sub>5</sub>. Вирахувано, %: N 8,09.

Приклад 2. Діуретичну активність пропілового естеру N-[(2-оксоіндолініліден-3)-2-оксіяцетил]-валіну та препарату порівняння гіпотіазиду (еталонного препарату тiazидових діуретиків, що відноситься до сечогінних засобів середньої сили фармакологічної дії та придатного до тривалого застосування) вивчали у дослідгах на білих нелінійних щурах-самцях масою 200,0±20,0 г. Заявлену сполуку і препарат порівняння вводили одноразово внутрішньошлунково на фоні водного навантаження (25 мл/кг). Для експерименту використовувались 3 групи щурів: 1 група - тварини, яким вводили пропіловий естер N-[(2-оксоіндолініліден-3)-2-оксіяцетил]-валіну; 2 група - тварини, яким вводили гіпотіазид, 3 група - контроль. Оцінку діуретичної активності проводили за показником інтенсивності сечовиділення - кількості сечі, виділеної тваринами за 4 години у перерахунку на 100 г маси тіла у порівнянні з контролем та з урахуванням ДЛ<sub>50</sub> досліджуваних засобів.

Результати вивчення діуретичної активності та токсичності заявленої сполуки та гіпотіазиду наведені у табл.

Таблиця

Вивчення діуретичної активності та токсичності пропілового естеру N-[(2-оксоіндолініліден-3)-2-оксіяцетил]-валіну (I) у порівнянні з гіпотіазидом

Сполука	Доза, мг/кг	Активність, %	ДЛ <sub>50</sub> , мг/кг
I	29,5	346*	4000
гіпотіазид	40,0	170*	1800

\* - по відношенню до контролю

За даними табл. пропіловий естер N-[(2-оксоіндолініліден-3)-2-оксіяцетил]-валіну у 2,2 рази менш токсичний за гіпотіазид, проявляє діуретичний ефект у меншій дозі, а за діуретичною активністю перевершує гіпотіазид у два рази.

Заявлений пропіловий естер N-[(2-оксоіндолініліден-3)-2-оксіяцетил]-валіну проявляє виражену діуретичну активність при низькій токсичності, одержується за доступною технологією, може бути синтезований у промислових умовах з використанням стандартного обладнання, доступних екологічно-безпечних реактивів. У синтезі пропілового естеру N-[(2-оксоіндолініліден-3)-2-оксіяцетил]-валіну використовуються вітчизняні реактиви.

Комп'ютерна верстка М. Ломалова

Підписне

Тираж 23 прим.

Державна служба інтелектуальної власності України, вул. Урицького, 45, м. Київ, МСП, 03680, Україна

ДП "Український інститут промислової власності", вул. Глазунова, 1, м. Київ - 42, 01601

## Продовж. додатку Б

UA 101844 C2

124 °С. ЯМР <sup>1</sup>H, δ, м.д., (J, Гц): 15,36 (1H, с, ОН-енол), 11,79 (1H, с, NH-індол), 9,90 (1H, с, NH-амід), 8,18 (1H, с, 4-H), 7,30-6,92 (3H, к, 5,6,7-H), 4,31 (1H, т, NHCH), 4,04 (2H, т, OCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>), 2,29 (1H, к, CH(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>), 1,58 (2H, м, OCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>), 0,92 (9H, м, OCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub> + CH(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>). Знайдено, %: N 8,19. C<sub>18</sub>H<sub>22</sub>N<sub>2</sub>O<sub>5</sub>. Вираховано, %: N 8,09.

## 5 Приклад 2

Діуретичну активність пропілового естеру N-[(2-оксоіндолініліден-3)-2-оксіяцетил]-валіну та препарату порівняння гіпотіазиду (еталонного препарату тіазидових діуретиків, що належать до сечогінних засобів середньої сили фармакологічної дії, та придатного до тривалого застосування) вивчали у дослідях на білих нелінійних щурах-самцях масою 200,0±20,0 г. Заявлену сполуку і препарат порівняння вводили одноразово внутрішньошлунково на фоні водного навантаження (25 мл/кг). Для експерименту використовувались 3 групи щурів: 1 група - тварини, яким вводили пропіловий естер N-[(2-оксоіндолініліден-3)-2-оксіяцетил]-валіну; 2 група - тварини, яким вводили гіпотіазид, 3 група - контроль. Оцінку діуретичної активності проводили за показником інтенсивності сечовиділення - кількості сечі, виділеної тваринами за 4 години у перерахунку на 100 г маси тіла у порівнянні з контролем та з урахуванням ДЛ<sub>50</sub> досліджуваних засобів.

Результати вивчення діуретичної активності та токсичності заявленої сполуки та гіпотіазиду наведені у нижченаведеній таблиці.

Таблиця

Вивчення діуретичної активності та токсичності пропілового естеру N-[(2-оксоіндолініліден-3)-2-оксіяцетил]-валіну (I) у порівнянні з гіпотіазидом

Сполука	Доза, мг/кг	Активність, %	ДЛ <sub>50</sub> , мг/кг
I	29,5	346*	4000
гіпотіазид	40,0	170*	1800

\* - відносно контролю.

20

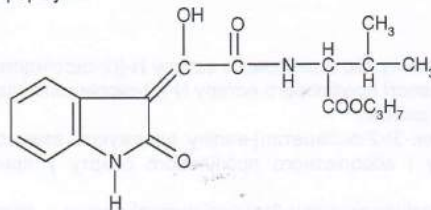
За даними таблиці пропіловий естер N-[(2-оксоіндолініліден-3)-2-оксіяцетил]-валіну у 2,2 разу менш токсичний за гіпотіазид, проявляє діуретичний ефект у нижчій дозі, а за діуретичною активністю перевершує гіпотіазид у два рази.

25 Заявлений пропіловий естер N-[(2-оксоіндолініліден-3)-2-оксіяцетил]-валіну проявляє виражену діуретичну активність при низькій токсичності, одержується за доступною технологією, може бути синтезований у промислових умовах з використанням стандартного обладнання, доступних екологічно-безпечних реактивів. У синтезі пропілового естеру N-[(2-оксоіндолініліден-3)-2-оксіяцетил]-валіну використовуються вітчизняні реактиви.

30

## ФОРМУЛА ВІНАХОДУ

Застосування пропілового естеру N-[(2-оксоіндолініліден-3)-2-оксіяцетил]-валіну загальної формули:



35 як діуретичного засобу.

Комп'ютерна верстка С. Чулій

Державна служба інтелектуальної власності України, вул. Урицького, 45, м. Київ, МСП, 03680, Україна

ДП "Український інститут промислової власності", вул. Глазунова, 1, м. Київ – 42, 01601

Продовж. додатку Б

МОЗ УКРАЇНИ  
УКРАЇНСЬКИЙ ЦЕНТР НАУКОВОЇ МЕДИЧНОЇ ІНФОРМАЦІЇ  
ТА ПАТЕНТНО ЛІЦЕНЗІЙНОЇ РОБОТИ  
(УКРМЕДПАТЕНТІНФОРМ)

## ІНФОРМАЦІЙНИЙ ЛИСТ

*про наукову (науково-технічну) продукцію, отриману за результатами наукової, науково-технічної та науково-організаційної діяльності підприємств, установ, організацій Міністерства охорони здоров'я України, Міністерства освіти і науки України, Національної академії медичних наук України призначену для практичного застосування у сфері охорони здоров'я*

м. Київ

Продовж. додатку Б

МІНІСТЕРСТВО ОХОРОНИ ЗДОРОВ'Я УКРАЇНИ  
Український центр наукової медичної інформації  
та патентно-ліцензійної роботи  
(Укрмедпатентінформ)

## ІНФОРМАЦІЙНИЙ ЛИСТ

ПРО НОВОВВЕДЕННЯ В СФЕРІ ОХОРОНИ ЗДОРОВ'Я

№ 189 – 2017

Випуск 6 з проблеми  
«Фармація»  
Підстава: рішення ЕПК «Фармація»  
Протокол № 102 від 19.04.2017 р.

НАПРЯМ ВПРОВАДЖЕННЯ:  
ФАРМАЦІЯ

ДІУРЕТИЧНА АКТИВНІСТЬ НОВОГО АЦИЛЬОВАНОГО  
ПОХІДНОГО 2-ОКСОІНДОЛІНУ

УСТАНОВИ-РОЗРОБНИКИ:

НАЦІОНАЛЬНИЙ  
ФАРМАЦЕВТИЧНИЙ  
УНІВЕРСИТЕТ

УКРМЕДПАТЕНТІНФОРМ  
МОЗ УКРАЇНИ

А В Т О Р И:

д. фарм. н., проф. МІЩЕНКО О. Я.,  
МАРКІНА А. Ю.

м. Київ

## Продовж. додатку Б

Сіль призначено для обґрунтування доцільності пошуку нових діуретичних засобів серед похідних естерів N-[(2-оксоіндоліліліден-3)-2-оксіацетил]-амінокислот та перспективності дослідження нового ацильованого похідного 2-оксоіндоліну як діуретичного засобу.

Пропонується для впровадження з науково-дослідних лабораторій вищих навчальних (фармацевтичного) навчальних закладів, науково-дослідних установ.

В останні роки у всьому світі відмічено зростання кількості хворих на хронічну серцеву недостатність. Це пов'язано зі збільшенням тривалості життя та коморбідністю захворювання. Основними причинами розвитку хронічної серцевої недостатності є артеріальна гіпертензія (у 88% випадків) та ішемічна хвороба серця (у 59% випадків). Поєднання цих захворювань зареєстровано у кожного другого хворого на хронічну серцеву недостатність. Основним напрямком терапії хворих на артеріальну гіпертензію, хронічну серцеву недостатність є нормалізація та регулювання об'єму та складу рідини в організмі, що можливо досягти при застосуванні діуретичних засобів.

Діуретики застосовують при лікуванні хворих з артеріальною гіпертензією як у плановій терапії, так і при лікуванні гіпертонічних кризів. Даний клас препаратів призначають хворим на хронічну серцеву недостатність, а також при її декомпенсації (кардіальна астма, набряк легенів). Окрім цього діуретики активно застосовують для лікування хворих з асцитом при цирозі печінки, нефротичним синдромом, при гострій та хронічній нирковій недостатності. Проте, застосування діуретиків нерідко супроводжується побічними реакціями, які, насамперед, стосуються порушень водно-електролітного гомеостазу, кислотно-лужної рівноваги, обміну ліпідів та вуглеводів.

У зв'язку з вищенаведеним, пошук нових ефективних та безпечних діуретичних засобів є актуальною проблемою фармакології.

Перспективною щодо цього є група похідних естерів N-[(2-оксоіндоліліліден-3)-2-оксіацетил]-амінокислот, синтезованих на кафедрі аналітичної хімії Національного фармацевтичного університету професором Колісником С. В.

У результаті скринінгового дослідження діуретичної активності 12 похідних естерів N-[(2-оксоіндоліліліден-3)-2-оксіацетил]-амінокислот (сполуки під номерами 6.1 – 6.3; 7.1 – 7.3; 8.1 – 8.3; 9.1 – 9.3) виявлено сполуку-лідера – похідний естер N-[(2-оксоіндоліліліден-3)-2-оксіацетил]-валіну (під шифром 8.1), застосування якої збільшує діурез у щурів у 2 рази відносно інтактного контролю.

Результати дослідження наведені на рис. 1.

## Продовж. додатку Б

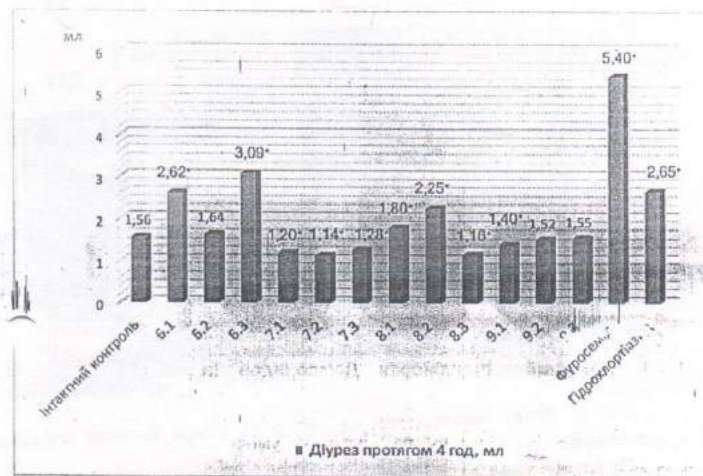


Рис. 1. Діуретична активність досліджуваних похідних N-[(2-оксоіндолініліден-3)-2-оксіяцетил]-амінокислот.

\* - відхилення вірогідні відносно інтактного контролю ( $p < 0,05$ ).

Діуретична активність пропілового естеру N-[(2-оксоіндолініліден-3)-2-оксіяцетил]-валіну під умовною назвою «Індолінорен» підтверджена в експерименті в умовах блокади дофамінових рецепторів. Відомо, що дофамінові рецептори відіграють важливу роль у регуляції водно-сольового балансу організму, оскільки впливають на тонус артерій, реабсорбцію натрію та води епітелієм каналців нефрона, секрецію альдостерону кірковою речовиною наднирникових залоз. Пригнічення дофамінових рецепторів відтворювали шляхом застосування препарату домперидон – антагоністу дофаміну, що блокує переважно периферичні дофамінові рецептори, має незначну проникність через гематоенцефалічний бар'єр і практично не виявляє центральної дії. Аналіз отриманих результатів показав, що домперидон блокує дофамінові рецептори, про що свідчили зниження діурезу в 2,7 разу порівняно з групою інтактного контролю ( $p < 0,05$ ) (рис. 2). Встановлено, що індолінорен у дозі 29,5 мг/кг підвищував діурез у 2,8 разу ( $p < 0,05$ ) порівняно з показником у групі інтактного контролю.

Одночасне застосування індолінорену та домперидону сприяло підвищенню діурезу тільки в 2,0 рази ( $p < 0,05$ ) порівняно з показником у групі інтактного контролю (рис. 2).

## Продовж. додатку Б

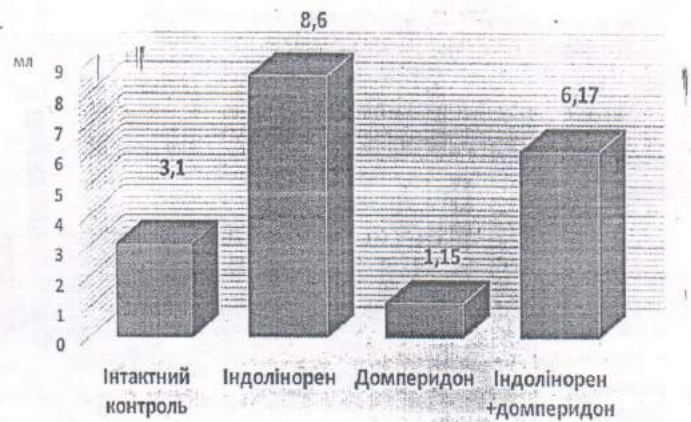


Рис 2. Вплив індоліорену на діурез за умов блокади дофамінових рецепторів.

За результатами одночасного застосування індоліорену та домперидону можна зробити висновок, що діуретична активність індоліорену знизилася порівняно з даними при окремому застосуванні досліджуваної субстанції. Отримані дані свідчать, що індоліорен зменшує антидіуретичний ефект антагоністу дофаміну домперидону. Це свідчить про залучення впливу дофамінові рецептори до механізму діуретичної активності індоліорену.

Отримані експериментальні дані вказують на наявність вираженої діуретичної активності у нового похідного пропілового естеру N-[(2-оксоіндолініліден-3)-2-оксіацетил]-валіну, за умов блокади дофамінових рецепторів його діуретична активність знижується.

Результати дослідження обґрунтовують доцільність подальшого вивчення пропілового естеру N-[(2-оксоіндолініліден-3)-2-оксіацетил]-валіну як перспективного діуретичного засобу.

Інформаційний лист складено за матеріалами НДР «Фармакологічне вивчення біологічно активних речовин та лікарських засобів» (№ державної реєстрації 0114U000956, термін виконання 2014–2019 рр.).

За додатковою інформацією з даної проблеми звертатися до авторів листа: Міщенко О. Я., Маркіна А. Ю., Національний фармацевтичний університет, вул. Пушкінська, 53, м. Харків, 61002.

Відповідальний за випуск: Л. Закрутько.

Підписано до друку 09.08.2017. Друк арк. 0,13. Обл.-виц арк. 0,08. Тір. 112 прим.

Замовлення № 189. Фотофестна лаб. Укрмедпатентінформ МОЗ України, 04655, Київ, проспект Степана Бандери, 19 (4 поверх).

## Продовж. додатку Б

«ЗАТВЕРДЖУЮ»

Проректор з наукової роботи ДВНЗ  
«Тернопільський державний медичний  
університет імені І. Я. Горбачевського  
МОЗ України»  
професор І. М. Кліш

« 15 » січня 2018 р.

## АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

1. **Назва пропозиції для впровадження:** Фармакологічна активність та механізм діуретичної дії нового ацильованого похідного N-[(2-оксоіндолініліден-3)-2-оксіацетил]-валіну.
2. **Установа, її адреса, виконавці:** кафедра клінічної фармакології ІПКСФ Національного фармацевтичного університету, 61002, м. Харків, вул. Пушкінська, 53, професор О. Я. Міщенко, здобувач А. Ю. Маркіна.
3. **Джерела інформації:**
  1. Діуретична активність нового ацильованого похідного 2-оксоіндоліну: інформаційний лист Укрмедпатентінформу МОЗ України, Випуск 6 з проблеми «Фармація» № 189 – 2017. / О. Я. Міщенко, А. Ю. Маркіна. – Київ, 2017. – 3 с.
  2. Маркіна А. Ю., Міщенко О. Я. Скринингові дослідження нових производних 2-оксоіндолина. *Фармакологія та лікарська токсикологія*. 2017. №3 (54). С. 69-73.
  3. Markina A., Mishchenko O., Laryanovska Yu. The impact of indolinoren on histostructure of kidney on the glixeroid acute renal failure model. *ScienceRise: Pharmaceutical Science*. 2017. Volume 5 (9). P. 10-14.
4. **Де і коли впроваджено:** в науково-педагогічний процес кафедри фармакології з клінічною фармакологією ДВНЗ «Тернопільський державний медичний університет ім. І. Я. Горбачевського» з « 15 » січня 2018.
5. **Результат впровадження:** Розширено уявлення щодо фармакологічних властивостей похідного N-[(2-оксоіндолініліден-3)-2-оксіацетил]-валіну та обґрунтовано доцільність проведення подальших досліджень нової сполуки, на основі якої може бути створений новий діуретик з супутніми сприятливими фармакологічними властивостями.
6. **Зауваження та пропозиції:** не вносилися.  
Обговорено та затверджено на засіданні кафедри фармакології з клінічною фармакологією ДВНЗ «Тернопільський державний медичний університет імені І. Я. Горбачевського МОЗ України» протокол № 1 від « 3 » січня 2018 р.

**Відповідальний за впровадження:**

Відповідальний за впровадження:  
завідувач кафедри фармакології  
з клінічною фармакологією  
д. мед. н., професор

О. М. Олещук



## Продовж. додатку Б

«ЗАТВЕРДЖУЮ»

Проректор з наукової та лікувальної роботи  
ДЗ «Дніпропетровська медична академія МОЗ України»,  
професор В.І.Мамчур



«16» січня 2018 р.

## АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

**1. Назва пропозиції для впровадження:** Фармакологічна активність та механізм діуретичної дії нового ацильованого похідного N-[(2-оксоіндолініліден-3)-2-оксіацетил]-валіну.

**2. Установа, її адреса, виконавці:** кафедра клінічної фармакології ІПКСФ Національного фармацевтичного університету, 61002, м. Харків, вул. Пушкінська, 53, професор О. Я. Міщенко, здобувач А. Ю. Маркіна.

**3. Джерела інформації:**

1. Діуретична активність нового ацильованого похідного 2-оксоіндоліну: інформаційний лист Укрмедпатентінформу МОЗ України, Випуск 6 з проблеми «Фармація» № 189 – 2017. / О. Я. Міщенко, А. Ю. Маркіна. – Київ, 2017. – 3 с.
2. Маркіна А. Ю., Міщенко О. Я. Скринингові дослідження нових производних 2-оксоіндолина. *Фармакологія та лікарська токсикологія*. 2017. №3 (54). С. 69-73.
3. Markina A., Mishchenko O., Laryanovska Yu. The impact of indolinoren on histostructure of kidney on the glixerroid acute renal failure model. *Science Rise: Pharmaceutical Science*. 2017. Volume 5 (9). P. 10-14.

**4. Де і коли впроваджено:** в навчальний процес кафедри загальної та клінічної фармації ДЗ «Дніпропетровська медична академія МОЗ України» з «1» лютого 2018 р.

**5. Результат впровадження:** Розширено уявлення щодо фармакологічних властивостей похідного N-[(2-оксоіндолініліден-3)-2-оксіацетил]-валіну та обґрунтовано доцільність проведення подальших досліджень нової сполуки, на основі якої може бути створений новий діуретик з супутніми сприятливими фармакологічними властивостями.

**6. Зауваження та пропозиції:** не вносилися.

Обговорено та затверджено на засіданні кафедри загальної та клінічної фармації ДЗ «Дніпропетровська медична академія МОЗ України», протокол № 6 від «16» січня 2018 р.

**Відповідальний за впровадження:** викладач Залигіна Є.В.

завідувач кафедри загальної та клінічної фармації ДЗ «Дніпропетровська медична академія МОЗ України»,  
д. фарм. н. професор

О. А. Подплетня

## Продовж. додатку Б

«ЗАТВЕРДЖУЮ»

Проректор з науково-педагогічної роботи  
Вищого державного навчального  
закладу України «Буковинський державний  
медичний університет»

« 30 » \_\_\_\_\_ 2018 р.  
І.В. Геруш

## АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

1. **Назва пропозиції для впровадження:** Фармакологічна активність та механізм діуретичної дії нового ацильованого похідного N-[(2-оксоіндолініліден-3)-2-оксіацетил]-валіну.
2. **Установа, її адреса, виконавці:** кафедра клінічної фармакології ІПКСФ Національного фармацевтичного університету, 61002, м. Харків, вул. Пушкінська, 53, професор О. Я. Міщенко, здобувач А. Ю. Маркіна.
3. **Джерела інформації:**
  - Діуретична активність нового ацильованого похідного 2-оксоіндоліну: інформаційний лист Укрмедпатентінформу МОЗ України, Випуск 6 з проблеми «Фармація» № 189 – 2017. / О. Я. Міщенко, А. Ю. Маркіна. – Київ, 2017. – 3 с.
  - Маркіна А. Ю., Мищенко О. Я. Скринингові дослідження нових производних 2-оксоіндолина. *Фармакологія та лікарська токсикологія*. 2017. №3 (54). С. 69-73.
  - Markina A., Mishchenko O., Laryanovska Yu. The impact of indolinoren on histostructure of kidney on the glixerroid acute renal failure model. *ScienceRise: Pharmaceutical Science*. 2017. Volume 5 (9). P. 10-14.
4. **Де і коли впроваджено:** в науково-педагогічний процес кафедри фармації Вищого державного навчального закладу України «Буковинський державний медичний університет» при читанні лекцій і проведенні практичних занять з тем: «Фармакологія гіпотензивних препаратів. Сучасні лікарські засоби, які впливають на функцію органів сечостатевої системи», «Діуретики. Протиподагричні лікарські засоби», 2017-2018 н.р.
5. **Результат впровадження:** розширено уявлення щодо фармакологічних властивостей похідного N-[(2-оксоіндолініліден-3)-2-оксіацетил]-валіну та обґрунтовано доцільність проведення подальших досліджень нової сполуки, на основі якої може бути створений новий діуретик з супутніми сприятливими фармакологічними властивостями.
6. **Зауваження та пропозиції:** не вносилися.

Обговорено та затверджено на засіданні кафедри фармації Вищого державного навчального закладу України «Буковинський державний медичний університет» № 10 від «13» \_\_\_\_\_ 2018 р.

**Відповідальний за впровадження:**

Завідувач кафедри фармації  
Вищого державного навчального  
закладу України «Буковинський державний  
медичний університет» (м. Чернівці)  
к.фарм.н., доцент



О.В. Геруш

## Продовж. додатку Б

«ЗАТВЕРДЖУЮ»

В.о. першого проректора з науково-педагогічної роботи ВДНЗ України  
«Українська медична стоматологічна академія»професор В.М. Дворник  
« 21 »

## АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

1. **Назва пропозиції для впровадження:** Фармакологічна активність та механізм діуретичної дії нового ацильованого похідного N-[(2-оксоіндолініліден-3)-2-оксіацетил]-валіну.
2. **Установа, її адреса, виконавці:** кафедра клінічної фармакології ІПКСФ Національного фармацевтичного університету, 61002, м. Харків, вул. Пушкінська, 53, професор О. Я. Мищенко, здобувач А. Ю. Маркіна.
3. **Джерела інформації:**
  1. Діуретична активність нового ацильованого похідного 2-оксоіндоліну: інформаційний лист Укрмедпатентінформу МОЗ України, Випуск 6 з проблеми «Фармація» №189 – 2017. / О. Я. Мищенко, А. Ю. Маркіна. – Київ, 2017. – 3 с.
  2. Маркіна А. Ю., Мищенко О. Я. Скрининговые исследования новых производных 2-оксоиндолина. *Фармакологія та лікарська токсикологія*. 2017. №3 (54). С. 69-73.
  3. Markina A., Mishchenko O., Laryanovska Yu. The impact of indolinoren on histostructure of kidney on the glixerroid acute renal failure model. *ScienceRise: Pharmaceutical Science*. 2017. Volume 5 (9). P. 10-14.
4. **Де і коли впроваджено:** в науково-педагогічний процес кафедри експериментальної та клінічної фармакології з клінічною імунологією та алергологією ВДНЗУ «Українська медична стоматологічна академія» з « 02 » листоп. 2017 р.
5. **Результат впровадження:** Розширено уявлення щодо фармакологічних властивостей похідного N-[(2-оксоіндолініліден-3)-2-оксіацетил]-валіну та обгрунтовано доцільність проведення подальших досліджень нової сполуки, на основі якої може бути створений новий діуретик з супутніми сприятливими фармакологічними властивостями.
6. **Зауваження та пропозиції:** не вносилися.  
Обговорено та затверджено на засіданні кафедри експериментальної та клінічної фармакології з клінічною імунологією та алергологією ВДНЗУ «УМСА», протокол № 12 від « 14 » 02 2018 р.

Відповідальний за впровадження:

Завідувач кафедри експериментальної та клінічної фармакології з клінічною імунологією та алергологією, ВДНЗУ «УМСА», д.мед.н., професор

Т. О. Дев'яткіна

## Продовж. додатку Б

«ЗАТВЕРДЖУЮ»

Перший проректор

Івано-Франківського національного

медичного університету,

проф.  І. М. Прстенюк\_\_\_\_\_ 2018 р.

## АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

1. **Назва пропозиції для впровадження:** Фармакологічна активність та механізм діуретичної дії нового ацильованого похідного N-[(2-оксоіндолініліден-3)-2-оксіацетил]-валіну.
  2. **Установа, її адреса, виконавці:** кафедра клінічної фармакології ІПКСФ Національного фармацевтичного університету, 61002, м. Харків, вул. Пушкінська, 53, професор О. Я. Міщенко, здобувач А. Ю. Маркіна.
  3. **Джерела інформації:**
    1. Діуретична активність нового ацильованого похідного 2-оксоіндоліну: інформаційний лист Укрмедпатентінформу МОЗ України, Випуск 6 з проблеми «Фармація» № 189 – 2017. / О. Я. Міщенко, А. Ю. Маркіна. – Київ, 2017. – 3 с.
    2. Маркіна А. Ю., Міщенко О. Я. Скринингові дослідження нових производних 2-оксоіндолина. *Фармакологія та лікарська токсикологія*. 2017. №3 (54). С. 69-73.
    3. Markina A., Mishchenko O., Laryanovska Yu. The impact of indolinoren on histostructure of kidney on the glisterroid acute renal failure model. *ScienceRise: Pharmaceutical Science*. 2017. Volume 5 (9). P. 10-14.
  4. **Де і коли впроваджено:** в науково-педагогічний процес кафедри організації та економіки фармації і технології ліків ДВНЗ «Івано-Франківський національний медичний університет» з «\_\_» \_\_\_\_\_ 2018 р.
  5. **Результат впровадження:** Розширено уявлення щодо фармакологічних властивостей похідного N-[(2-оксоіндолініліден-3)-2-оксіацетил]-валіну та обґрунтовано доцільність проведення подальших досліджень нової сполуки, на основі якої може бути створений новий діуретик з супутніми сприятливими фармакологічними властивостями.
  6. **Зауваження та пропозиції:** не вносилися.
- Обговорено та затверджено на засіданні кафедри організації та економіки фармації і технології ліків ДВНЗ «Івано-Франківський національний медичний університет» № 3 від «12» березня 2018 р.

## Відповідальний за впровадження:

Завідувач кафедри організації та економіки  
фармації і технології ліків  
доктор фармацевтичних наук, професор



Семенів Д.В.

## Продовж. додатку Б

«ЗАТВЕРДЖУЮ»

Проректор з наукової роботи  
 Національного медичного університету  
 імені О. О. Богомольця  
 Професор Г. М. Черенько



05 2018 р.

## АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

1. **Назва пропозиції для впровадження:** Фармакологічна активність та механізм діуретичної дії нового ацильованого похідного N-[(2-оксоіндолініліден-3)-2-оксіацетил]-валіну.
  2. **Установа, її адреса, виконавці:** кафедра клінічної фармакології ІПКСФ Національного фармацевтичного університету, 61002, м. Харків, вул. Пушкінська, 53, професор О. Я. Міщенко, здобувач А. Ю. Маркіна.
  3. **Джерела інформації:**
    1. Діуретична активність нового ацильованого похідного 2-оксоіндоліну: інформаційний лист Укрмедпатентінформу МОЗ України, Випуск 6 з проблеми «Фармація» № 189 – 2017. / О. Я. Міщенко, А. Ю. Маркіна. – Київ, 2017. – 3 с.
    2. Маркіна А. Ю., Міщенко О. Я. Скринингові дослідження нових похідних 2-оксоіндолину. *Фармакологія та лікарська токсикологія*. 2017. №3 (54). С. 69-73.
    3. Markina A., Mishchenko O., Laryanovska Yu. The impact of indolinoren on histostructure of kidney on the glyxerroid acute renal failiure model. *ScienceRise: Pharmaceutical Science*. 2017. Volume 5 (9). P. 10-14.
  4. **Де і коли впроваджено:** в науково-педагогічний процес кафедри фармакології Національного медичного університету імені О. О. Богомольця з 14 травня 2018 р.
  5. **Результат впровадження:** Розширено уявлення щодо фармакологічних властивостей похідного N-[(2-оксоіндолініліден-3)-2-оксіацетил]-валіну та обґрунтовано доцільність проведення подальших досліджень нової сполуки, на основі якої може бути створений новий діуретик з супутніми сприятливими фармакологічними властивостями.
  6. **Зауваження та пропозиції:** не вносилися.
- Обговорено та затверджено на засіданні кафедри фармакології Національного медичного університету імені О. О. Богомольця протокол №27 від «14» травня 2018 р.

**Відповідальний за впровадження:**

Асистент кафедри фармакології  
 Національного медичного університету  
 імені О. О. Богомольця

П. В. Сімонов

Завідувач кафедри фармакології  
 Національного медичного університету  
 імені О. О. Богомольця  
 професор

Г. В. Зайченко