

O.N. Litvinova¹, V.S. Litvinov²

¹National University of Pharmacy, Kharkiv

²Karazin Kharkiv National University, Kharkiv

INFLUENCE OF OXAMINE ACID DERIVATIVES ON THE SECRETORY FUNCTION OF KIDNEYS

E-mail: olgalitvinovamd@gmail.com

The purpose of this project was to experimentally study the effect of new dicarboxylic acids derivatives on the excretory function of the kidneys. The studied compounds under the water loading conditions have a multidirectional effect on the kidneys excretory function in white rats of the Wistar line. The diuretic activity of the studied compounds was influenced both by the chemical structure of the substances and by its location. As a result of the performed research, substances increasing diuresis with the diuretic activity exceeding that of the reference preparation – hypothiazide – were found. Among the studied compounds, there were substances with an antidiuretic effect. Replaced arenesulfoniloxamine acid amides are the perspective group of compounds for further pharmacological study with the aim of development of new medicines with diuretic activity on their basis.

Key words: dicarboxylic acids derivatives, oxamine acid derivatives, excretory function of the kidneys, diuretic activity, antidiuretic effect.

The work was carried out within the framework of the research program of the National Pharmaceutical University on the problem of "Creation of New Drugs" (State Registration Number 0198U007008).

An urgent problem of modern pharmacology is the creation of new, more effective and less toxic Ukrainian drugs for treating diseases of the kidneys and urinary tract [2].

Pharmacological correction of kidneys activity is performed in many diseases of the kidneys and urinary tract, cardiovascular failure, some forms of liver pathology, etc. [6].

There are many groups of diuretic drugs with different acting mechanisms used in practical health care today. The mechanisms of kidney function regulation, intrarenal hemodynamics, inter- and intra-pharyngeal relationships, electrochemical ion transport processes are still being studied [5].

The study of mechanisms regulating kidneys function is the basis for searching new substances to create new highly effective drugs that regulate the function of the kidneys [9].

Perennial synthetic and biological studies at the National Pharmaceutical University have allowed the accumulation of large material on the structural and pharmacological properties of dicarboxylic acid derivatives. The latter comprise substances with anti-inflammatory, antimicrobial, sedative, hypoglycemic, diuretic and other effects [4, 7]. This was the prerequisite for studying diuretic action of new compounds of the sulfamide series synthesized at the National Pharmaceutical University.

The purpose of this study was to experimentally study the effect of new dicarboxylic acids derivatives on the excretory function of the kidneys.

Materials and methods. To solve this problem, 40 new chemical substances were used as the object of research. They were substituted amides of arenesulfonyloxamic acids, first synthesized at the Pharmaceutical Chemistry Department of the National Pharmaceutical University.

The structure of these compounds was confirmed using modern physicochemical methods of elemental analysis, UV, IR, PMR, and mass spectrometry, counter-synthesis, and the purity of the synthesized substances was monitored by thin-layer chromatography.

The studied compounds are white crystalline substances of basic character, odorless, with a clear melting point, soluble in polar organic solvents, solutions of caustic bases, mineral acids. These synthetic derivatives were administered to laboratory animals in the form of aqueous solutions or 3-5% finely dispersed aqueous suspension stabilized by Tween-80, which is a hydroxyethylation product of monooleate sorbitan (VFS-42-167-72). All manipulations with laboratory animals were carried out in accordance with the provision on the use of animals in biomedical research (Strasburg, 2005) and "The general ethical principles of experiments on animals", approved by the Fifth National Congress on Bioethics (Kyiv, 2013).

The effect of these substances on the kidneys excretory function was studied on white Wistar male rats weighing 160-190 g by the method of Berkhin [1,8]. To study the diuretic action, we used series of animals, 7 rats in each group. To study aqueous diuresis, rats were kept on a constant diet with free access to water. Before giving water, the animals were kept for 2 hours without food and water. Then the rats were injected the studied substances with a probe into the stomach. These substances were at a dose of 0.005-0.01 LD50 in the form of an aqueous suspension simultaneously with a water loading of 3 ml per 100 g of body weight of the animal. Urine was collected every hour for 4 hours. Comparison drugs were widely

used in clinical practice, standard drugs Furosemide at a dose of 20 mg/kg, Hypothiazid in a dose of 50 mg / kg and Adiurecrin in a dose of 10 mg/kg.

Table

The effect of substituted amides of arenesulfonyloxamic acids on the kidneys excretory function in white Wistar rats

Compound Number	Dose, mg/kg	Diuresis			
		for 2 hours / M±m / ,ml	by the control time, in %	for 4 hours / M±m / ,ml	by the control time, in %
1	2	3	4	5	6
1	19.5	2.34±0.22*	243.7	4.98±0.09*	198.4
2	15.4	0.52±0.09*	61.5	1.37±0.09*	54.6
3	17.2	0.78±0.13*	81.2	1.45±0.06*	57.8
4	22.8	1.28 ± 0.12	133.3	2.57±0.06	102.4
Control	-	0.96 ± 0.05	100	2.51±0.06	100
5	16.4	1.78±0.11*	148.3	3.44±0.11*	150.2
6	17.0	1.29 ± 0.18	107.5	2.96 ± 0.06	129.2
7	13.4	1.14 ± 0.21	95.0	2.67 ± 0.08	116.9
8	14.2	1.44 ± 0.17	120.0	2.54 ± 0.28	110.8
9	13.8	0.77±0.11 *	64.2	1.83±0.18 *	79.9
10	17.2	0.84±0.09 *	70.0	1.92 ± 0.07	83.8
11	21.0	1.21 ± 0.11	100.8	2.44 ± 0.06	106.5
12	22,6	1.44 ± 0.18	120.0	2.36 ± 0.09	103.1
13	20.6	2.37±0.22 *	197.5	4.14±0.11 *	180.8
14	21.4	1.86 ± 0.17	155.0	3.42±0.12 *	149.3
Control	-	1.20 ± 0.11	100	2.29±0.14	100
15	45.5	0.91 ± 0.11	96,8	2.11 ± 0.16	81.7
16	15.0	1.04 ± 0.16	110.7	2.96 ± 0.11	114.7
17	25.5	2.04±0.07 *	217.0	4.28±0.17 *	165.9
18	42.3	2.55±0.09 *	271.3	4.92±0.22 *	190.7
19	22,8	1.59±0.09 *	169.1	2.67 ± 0.18	103.5
20	i, 8	0.84±0.06	89.4	1.92±0.16 *	74.4
21	30.5	1.70±0.08 *	180,8	3.10 ± 0.11	120.2
22	29.3	1.63±0.06 *	173.8	4.36±0.08 *	168.8
23	26.3	1.16±0.08	123.8	3.68±0.11	142.8
Control	—	0.94±0.04	100	2.58±0.11	100
24	23.0	1.54 ± 0.13	126.2	2.84 ± 0.17	122.9
25	53.0	2.14 ± 0.14	175.4	5.44±0.23 *	235.5
25	20.5	1.68 ± 0.12	137.2	2.74 ± 0.22	118.6
27	45.3	1.32 ± 0.07	108.1	2.64 ± 0.13	114.3
28	61.2	1.12 ± 0.13	91.8	2.69 ± 0.13	116.4
29	53.4	1.48 ± 0.17	121.3	3.35 ± 0.19	145.0
30	50.4	1.28±0.08	104.9	2.24±0.11	96.9
31	51.0	0.84±0.06 *	68.8	1.64±0.07 *	71.0
Control	-	1.22 ± 0.11	100	2.31±0.09	100
32	41.5	1.53 ± 0.12	130.7	3.14 ± 0.18	123,6
33	40.8	0.88±0.09 *	75.2	1.93±0.13 *	75.9
34	45.0	1.41 ± 0.18	120.5	2.88 ± 0.16	113.4
35	52.0	0.81±0.14 *	69.2	1.69±0.17 *	66.5
36	48.4	1.61 ± 0.13	137.6	2.82 ± 0.13	111.0
37	42.4	1.34 ± 0.18	114.5	3.48 ± 0.07	137.0
Control	-	1.17±0.06	100	2.54±0.13	100
38	40.8	1.33 ± 0.12	123.1	3.05 ± 0.19	128.1
39	32.8	1.24 ± 0.09	114.8	3.04 ± 0.16	127.7
40	25.7	2.90±0.27 *	268.5	4.91±0.17 *	206.3
Control	-	1.08±0.07	100	2.38±0.11	100
Hypothiazid	50.0	2.01± 0.14*	164.7	4.20±0.21*	164.1
Furosemide	20.0	3.8±0.19*	311.4	8.40±0.27*	328.1
Adiurecrin	10.0	0.7±0.12*	57.3	1.10±0.14*	42.9
Control	-	1.22±0.13	100	2.56±0.17	100

Note: the "*" sign indicates the reliability of the differences with the control, p <0.05

The data of experimental studies were processed by common methods of variation statistics using Student's t-test. The difference was considered statistically significant at a confidence level of p <0.05 [3].

Results of the study and their discussion. The obtained results analysis shows that most of the studied substances under conditions of water stress cause an increase in the kidneys excretory function (table).

Thus, among the N-acyl-N-arylaminoethylamidoranesulfonyloxamic acids (Compounds 1-15), the most active was Compound 1, which, in a dose of 19.5 mg/kg, increased diuresis by 143.7% for 2 hours, and for 4 hours – by 98.4%. In its structure, this substance has a p-amine and phenyl (Compound 1) radicals, and their replacement by an n-methyl (Compound 4) radical leads to a decrease in diuretic properties. Thus, Compound 4 increases diuresis for 2 hours by 33.3%, and for 4 hours – by only 2.4%. Compounds 11 and 12 were practically inactive. They combine methyl, phenyl radicals and a hydrogen atom (Compound 11), as well as 2-methyl and phenyl (Compound 12) radicals in their structure. The introduction of the chloromethyl radical (Compounds 2 and 3) into the structure of N-acyl-N-arylaminoethylamidoranesulfonyloxamic acids led to antidiuretic activity. These substances reduced diuresis in rats for 4 hours by 45.4 and 42.2%, respectively.

The majority of N-R-substituted amides of arenesulfonyloxamic acids (Compounds 16-28) caused an increase in urinary excretion by 14.3-135.5%. The most active were Compounds 18 and 25, combining 4-aminophenyl and γ -hydroxypropyl (Compound 18), 4-carbomethoxyaminophenyl and 5-carboxyamyl (Compound 25) radicals in their structure. These compounds increase diuresis for 4 hours by 90.7 and 135.5%, respectively. The introduction of benzyl (Compound 17), heptyl (Compound 20) and carboxymethyl (Compound 21) radicals into the oxamide part of the molecule causes a decrease in diuretic activity. The antidiuretic effect was observed in Compounds 16 and 20, combining 4-aminophenyl and ethyl (Compound 16), 4-aminophenyl and heptyl (Compound 20) in their structure, they reduced urination for 4 hours by 18.3 and 25, 6%, respectively.

Among the N-substituted amides of 4- (R-benzamido) -benzenesulfonyloxamic acids (Compounds 29-40), most substances increased diuresis by 11-106.3%. The most active was Compound 40 containing a nitro group in the benzene ring, and a hydroxyl radical in the side chain. This compound, in a dose of 25.7 mg/kg, increases diuresis by 168.5% for 2 hours, and by 106.3% for 4 hours. Compounds 30, 31, 33 and 35 caused a decrease in diuresis by 3.1-33.5% on average.

Thus, the performed studies of the effect of substituted amides of arenesulfonyl-amino acids in conditions of water loading showed that most of the studied compounds caused an increase in the kidneys excretory function in the rats taking part in the experiment. Among the studied substances, the most pronounced diuretic effects occurred in the Compounds 18 and 40, which in doses of 42.3 mg/kg and 25.7 mg/kg increase the diuresis for 2 hours by 171.3 and 168.5%, respectively. We also found substances (Compounds 2 and 3) that exhibit pronounced antidiuretic activity. These compounds reduce diuresis in rats for 4 hours by 45.4 and 42.2%, respectively.

Conclusions

1. Substituted amides of arenesulfonyloxamic acids under the conditions of water loading have a multidirectional effect on the kidneys excretory function in white rats of the Wistar line. The diuretic activity of the studied compounds was influenced both by the chemical structure of the substituent and by its location.

2. Among all studied substances, the most pronounced diuretic effect was provided by Compounds 18 and 40. Their diuretic effect was significantly superior to the Hypothiazide, but inferior to Furosemide.

3. Among the studied compounds, there were substances with an antidiuretic effect. Compounds 2 and 3 are equal to Adiarecrin in their antidiuretic effect.

Prospects for further research: sufficient diuretic activity of most substituted amides of arenesulfonyloxamic acids makes them promising substances for further targeted synthesis and pharmacological screening with the goal of creating drugs with diuretic properties on their basis.

References

1. Doklinichni doslidzhennya likarskikh zasobiv. Metodichni rekomendatsiyi. Za red OV Stefanova. K: Avitsenna; 2002. 568 s. [in Ukrainian].
2. Kompendium 2015. Lekarstvennye preparaty. Pod red VN Kovalenko. K: Morion; 2015. 1408 s. [in Russian].
3. Lapach SN, Chubenko AV. Statisticheskie metody v mediko-biologicheskikh issledovaniyakh s ispolzovaniem Excel. K: Morion; 2001. 408 s. [in Russian].
4. Litvinova OM. Farmakologichni doslidzhennya novykh pohidnykh sukcyaminovykh kyslot. Ukrayinskyi zhurnal medycyny, biolohiyi ta sportu. 2017; 3 (5): 16-21. [in Ukrainian].
5. Muhin H.A. Diagnostika i lechenie boleznej pochek. M.: Izd-vo «Medicina»; 2011. 383 s. [in Russian].
6. Pyrig LA, Ivanov DD, Taran OI [ta in.] Nefrologiya: Natsionalniy pidruchnik. Za red. akademika NAMN Ukrajiny Pyroga LA. Donetsk: Vidavets – Zaslavskiy OYu; 2014. 292 s. [in Ukrainian].
7. Sidorenko LV, Ukrajinets IV, Alekseeva TV. Sintez ta vvychnennya antimikobakterialnoji aktyvnosti monoftorbenzilamidiv 1-R-4-gidroksi-2-okso-1,2-digidrohlinolin-3-karbonovykh kyslot. Visnyk Farmatsiji. 2013; 2(58): 12-15. [in Ukrainian].
8. Sernov LN, Hatsura BB. Elementy eksperimentalnoy farmakolohii. M: Meditsina; 2000. 352 s. [in Russian].
9. Shilov EM. Hronicheskaya bolezнь pochek i nefroprotektivnaya terapiya. Rukovodstvo dlya vrachey. M.: Izd-vo «GEOTAR-Media», 2012. 83 s. [in Russian].

Реферати

**ВПЛИВ ПОХІДНИХ ОКСАМІНОВИХ
КИСЛОТ НА ЕКСКРЕТОРНУ ФУНКЦІЮ
НИРОК**

Литвинова О. М., Литвинов В. С.

Метою роботи було вивчення впливу нових похідних дикарбонових кислот на видільну функцію нирок у білих щурів в експерименті. Вивчені сполуки мають різноспрямовану дію на видільну функцію нирок у тварин. На діуретичну активність вивчених сполук впливала як хімічна будова замісника, так і його розташування. Виявлені речовини, які викликають збільшення діурезу, що перевищує по діуретичній активності еталонний препарат порівняння – гіпотіазид. Знайдені сполуки, які виявляли достатню антидіуретичну активність. Заміщені амідом аренсульфонілоксамінових кислот є перспективною групою сполучень для подальшого фармакологічного вивчення з метою створення на їх основі лікарських препаратів з діуретичними властивостями.

Ключові слова: похідні дикарбонових кислот, похідні оксамінових кислот, екскреторна функція нирок, діуретична дія, антидіуретична активність.

Стаття надійшла 28.02.18 р.

**ИЗУЧЕНИЕ ВЛИЯНИЯ ПРОИЗВОДНЫХ
ОКСАМИНОВЫХ КИСЛОТ НА ЭКСКРЕТОРНУЮ
ФУНКЦИЮ ПОЧЕК**

Литвинова О. Н., Литвинов В. С.

Целью работы было изучение влияния новых производных дикарбоновых кислот на выделительную функцию почек в эксперименте у белых крыс. Изученные вещества оказывают разнонаправленное действие на выделительную функцию почек у животных. На диуретическую активность изучаемых соединений влияла как химическая структура заместителя, так и его расположение. Выявлены вещества, вызывающие увеличение диуреза и превышающие по диуретической активности эталонный препарат сравнения – гипотиазид. Обнаружены также соединения, проявляющие достаточную антидиуретическую активность. Замещенные амидом аренсульфонілоксамінових кислот являются перспективной группой соединений для дальнейшего фармакологического изучения с целью создания на их основе лекарственных препаратов с диуретическими свойствами.

Ключевые слова: производные дикарбоновых кислот, производные оксамінових кислот, экскреторная функция почек, диуретическое действие, антидиуретическая активность.

Рецензент: Костенко В.О.

DOI 10.26724/2079-8334-2018-4-66-175-180

УДК: 611.451-018:547.96]-019-013:616.441-008.6

С.О. Луцук, А.М. Яценко

Львівський національний медичний університет імені Данила Галицького, Львів

**ІМУНОГІСТОХІМІЧНЕ ДОСЛІДЖЕННЯ НАДНИРКОВИХ ЗАЛОЗ ПОТОМСТВА ЩУРІВ,
ЩО РОЗВИВАЛОСЯ ЗА УМОВ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО ГІПО- ТА ГІПЕРТИРОЗУ
МАТЕРИНСЬКОГО ОРГАНІЗМУ**

E-mail: s.o.lutsyk@gmail.com

З використанням імуногістохімічних методів – визначення маркерів клітинної проліферації та апоптозу Ki-67, VEGF та Casp3 відповідно – досліджено вплив експериментального гіпо- та гіпертирозу материнського організму на надниркові залози потомства щурів 1-ї та 10-ї доби постнатального розвитку. Продемонстровано високу інтенсивність процесів як проліферації, так і апоптозу, що супроводжували постнатальний морфогенез надниркових залоз; при цьому найбільш активна перебудова ідентифікована у пучковій зоні кори. На 1-у добу постнатального онтогенезу на тлі гіпотирозу виявлено затримку розвитку мозкової речовини, тоді як гіпертироз супроводжувався пригніченням проліферативної активності клітин клубочкової зони наднирників. На 10-у постнатальну добу на тлі тироїдного дисбалансу задокументовано посилення процесів проліферації і апоптозу у складі кіркової речовини у поєднанні з пригніченням інтенсивності обох процесів у мозковій речовині надниркових залоз.

Ключові слова: щури, онтогенез, надниркові залози, материнський гіпо- та гіпертироз, імуногістохімічне дослідження.

Робота є фрагментом НДР «Лектино- та імуногістохімічний аналіз вуглеводних детермінант нормальних та патологічно змінених клітин і тканин» (№ державної реєстрації 0117U001076).

Порушення функції щитоподібної залози належать до найпоширеніших захворювань, охоплюючи близько 3% населення світу [1]. Численні спостереження свідчать про вагомий вплив тироїдних гормонів на розвиток і функціонування надниркових залоз – як безпосередньо, так і через гіпоталамо-гіпофізарно-адреналову вісь [12]. Гормони щитоподібної залози і наднирників відіграють ключову роль у забезпеченні внутрішньоматкового гомеостазу, диференціації і дозрівання органів плода у відповідності до часу гестації [10, 3].

У попередніх дослідженнях [4-8] з використанням методів класичної гістології, морфометрії та лектинової гістохімії було показано, що гіпотироз материнського організму індукує затримку розвитку надниркових залоз потомства, тоді як гіпертироз прискорює їхній розвиток, обумовлюючи гіпертрофію кіркової речовини. Аналіз доступної літератури виявив відсутність публікацій, які б характеризували зміни проліферативної активності і явищ апоптозу у надниркових залозах потомства, що розвивалося за умов дисбалансу тироїдних гормонів материнського організму.