

ФАРМАКОЛОГИЧЕСКАЯ АКТИВНОСТЬ 4-КАРБОКСИФЕНИЛ-О-Д-ГЛЮКОПИРАНОЗИД НАТРИЕВОЙ СОЛИ, ПРЕДНАЗНАЧЕННОЙ ДЛЯ ЛЕЧЕНИЯ ХРОНИЧЕСКИХ ВОСПАЛИТЕЛЬНЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ ПОЧЕК И МОЧЕВЫВОДЯЩИХ ПУТЕЙ

Казбанова Т.О.^{1,3}, Смирнов И.В.^{1,3}, Волобой Н.Л.¹, Иванов А.А.², Немцев А.О.^{1,3},
Бондарев А.А.^{1,3}, Удут В.В.⁴, Корнаухов А.Н.^{1,3} Дадей А.Н.¹

¹ ГБОУ ВПО Алтайский государственный медицинский университет Министерства здравоохранения РФ. Кафедра фармакогнозии и ботаники, пр. Ленина 40, 656308 Барнаул. Россия.

² Национальный исследовательский Томский политехнический университет. Кафедра биотехнологии и органической химии, пр. Ленина 30, 634050 Томск. Россия.

³ ФГБОУ ВПО Алтайский государственный университет НИИ Биологической медицины пр. Ленина 61а 656049 Барнаул. Россия.

НИИ Фармакологии им. Е.Д. Гольдберга СО РАН пр. Ленина 3, 634028 Томск. Россия.

Заболевания мочевыводящей системы широко распространены, разнообразны и характеризуются затяжным течением [1]. Для терапии данной группы заболеваний применяют синтетические мочегонные препараты, но из-за наличия у них побочных эффектов широко применяются препараты из листьев толокнянки и брусники. Эти фитосредства сочетают в себе несколько терапевтических свойств, а именно противовоспалительные, антисептические, мочегонные и антиоксидантные [2]. Терапевтические эффекты данных растений реализуются за счет комплекса биологически активных веществ, однако в качестве основного действующего компонента выделяют вещество фенолгликозидной структуры – арбутин. Согласно мнению некоторых авторов арбутин подвергается ферментативному гидролизу кишечной палочкой в желудочно-кишечном тракте, и мочегонные свойства связывают с гидрохиноном. В ходе работы нами был получен ряд структурных аналогов арбутина, из которого были выделены наиболее перспективные молекулы. Одной из них является натриевая соль 4-карбоксифенил-о-Д-глюкопиранозид. Цель работы изучить фармакологическую активность 4-карбоксифенил-о-д-глюкопиранозид натриевой соли.

Материалы и методы. Экспериментальная молекула для данного исследования была получена путем органического синтеза.

Мочегонная активность. При изучении влияния исследуемых веществ на функцию почек крысы животные содержались в индивидуальных клетках, приспособленных для сбора суточного объема мочи. Подопытные крысы линии Wistar массой 200-250 г. были разделены на три групп (n=12), которым вводили внутрижелудочно: I – натриевую соль 4-карбоксифенил-о-Д-глюкопиранозид, II – фуросемид, III – гидроксифенил-о-Д-глюкопиранозид (арбутин). В начале эксперимента были определены исходные показатели диуреза, экскреции ионов натрия, калия в моче подопытных животных. Исследуемые вещества животные получали в течение семи дней в дозе 18 мкМоль/кг, за тем в дозе 54 мкМоль/кг внутрижелудочно. В качестве контроля крысам внутрижелудочно вводили 2 мл питьевой воды. Ежедневно у экспериментальных животных измеряли объем выделенной мочи. В моче через день определяли содержание ионов натрия, калия.

Противовоспалительная активность. Эффективность натриевой соли 4-карбоксифенил-о-Д-глюкопиранозид на модели карагенинового воспаления исследована на белых крысах-самках массой 200-220 г. Острую воспалительную реакцию (отек) воспроизводили субплантарным введением 0,1 мл 1% раствора карагенина. Выраженность воспалительной реакции оценивали через 60, 120, 240 минут после индукции воспаления по изменению объема лапы (онкометрически). Исследование проводилось на 3 группах крыс Wistar по 12 особей в каждой, которые получали: I–натриевую соль 4-карбоксифенил-о-Д-глюкопиранозид, II–гидроксibenзойную кислоту, III–ацетилсалициловую кислоту внутрижелудочно, третья группа получала препарат сравнения. Вещества вводили внутрижелудочно в дозе 54

мкМоль/кг в течение 7 дней. Животные контрольной группы на протяжении 7 дней получали эквивалентное количество воды.

Ульцерогенная активность. Исследование проводили на 60 крысах Wistar массой 150-200 г. Животные были разделены на 6 групп: I группа получала натриевую соль 4-карбоксифенил-о-D-глюкопиранозида, II группа – индометацин, III группа – ацетилсалициловую кислоту, IV группа – нимесулид, V группа получала диклофенак, VI группа – интактная. Острую НПВП-индуцированную гастропатию крыс моделировали путем однократного интрагастрального введения исследуемых веществ крысам в виде водных растворов или суспензий в дозе 49 мг/кг, а индометацин в дозе 5 мг/кг (ЛД₅₀=15мг/кг). Через 3 ч животных подвергали этаназии, извлекали желудки, рассекали их по малой кривизне и промывали в физиологическом растворе для удаления содержимого. Макроскопически с помощью лупы при ярком освещении определяли число и площадь деструкций. Для выявления действия препаратов на тканевом уровне проводилось гистологическое исследование согласно стандартной методике [3]. Изучение гистологических срезов желудков крыс проводили с использованием светового микроскопа МИКРОМЕД 2 вар. 2-20 с помощью фотоаппарата Canon 1000D при суммарном увеличении x100, в проходящем свете. Макропрепараты были сфотографированы с помощью фотоаппарата NICON COOLPIX L810.

Полученные результаты экспериментальных исследований обрабатывали статистическим методом вариационных рядов с использованием непараметрического критерия Уилкоксона-Манна-Уитни [4].

Результаты исследований. Результаты влияния исследуемых веществ на функцию почек крыс показали, что при введении натриевой соли 4-карбоксифенил-о-D-глюкопиранозида и гидроксифенил-о-D-глюкопиранозида в дозе 18 мкМоль/кг наблюдалась тенденция к увеличению диуреза. Фуросемид значительного увеличения диуреза не показал диурез увеличился на 33% по отношению к контролю (контроль принят за 100%).

При увеличении дозы всех веществ в три раза натриевая соль 4-карбоксифенил-о-D-глюкопиранозида достоверно повышала диурез с 3 по 7 день введения в 1,5-2 раза по отношению к контрольному значению, тогда как при введении фуросемида и гидроксифенил-о-D-глюкопиранозида диурез статистически значимо увеличивался с первого дня введения и оставался высоким вплоть до окончания эксперимента примерно в 2 – 2,5 раза. Максимальное увеличение образования мочи при введении арбутина было выше контрольного в 5 раз.

Введение натриевой соли 4-карбоксифенил-о-D-глюкопиранозида и гидроксифенил-о-D-глюкопиранозида в обеих дозах не вызывало натрийуретического эффекта. В дозе 54 мкМоль/кг даже снижало экскрецию натрия. Однако при введении фуросемида в обеих дозах обнаруживалось статистически значимое увеличение секреции ионов натрия.

При оценке влияния на выведение калия были получены следующие результаты: экскреция ионов калия при введении натриевой соли 4-карбоксифенил-о-D-глюкопиранозида в дозе 18 мкМоль/кг достоверно увеличивалась на 3-ий и 5-ый дни введения, однако при увеличении дозы в три раза, экскреция уменьшается на 30% по отношению к контролю. Следует отметить, то что повышение диуреза не коррелировало с увеличением выделения ионов электролитов. Гидроксифенил-о-D-глюкопиранозид в обоих случаях достоверно увеличивал экскрецию калия с первого дня введения и до завершения эксперимента в 1,5 – 2 раза. Фуросемид так же увеличивал экскрецию калия во все дни эксперимента.

Исследование противовоспалительной активности проводили на модели острого экссудативного воспаления. Вещества вводили энтерально.

Введение раствора каррагенина контрольным животным приводило к быстрому и последовательному формированию воспалительного отека.

На ранних стадиях формирования отека максимальный эффект угнетения воспаления под действием препарата сравнения – нимесулида составило 41%, а ацетилсалициловой кислоты — 85,7 % (P<0,01). Причем антифлогистический эффект нимесулида оставался стабильно высоким в течение всего периода наблюдения. Максимальный эффект

ацетилсалициловой кислоты наблюдался через 120 минут введения флогистика и составил 98 % ($P < 0,01$), однако после чего эффект значительно снизился до 55 % ($P < 0,01$).

Противовоспалительный эффект натриевой соли 4-карбоксифенил-о-D-глюкопиранозида приобретал статистическую значимость через 1 час после инъекции каррагинина уменьшая воспаление на 42,8 % по сравнению с контрольной группой, достигая максимума через 2 часа (65,5%, $P < 0,01$) и сохранялся до окончания эксперимента. В период манифестации флоголитической активности вещество угнетало воспаление по сравнению с нимесулидом в 1,5 раза сильнее.

Агликон 4 — гидроксibenзойная кислота имел максимальный эффект в 1 час после введения, после чего наблюдалось снижение активности к концу эксперимента. Антифлогистическая активность этого вещества в 2 раза ниже чем у нимесулида и в 3 раза ниже чем у ацетилсалициловой кислоты.

Основным побочным эффектом нестероидных противовоспалительных препаратов является ulcerогенное действие. Возможную ulcerогенную активность изучали на НПВП-индуцированной гастропатии крыс.

При визуальном обследовании желудков крыс интактной группы, слизистая оболочка желудка была без патологических изменений. В группе с аспирином-индуцированной гастропатией было отмечено, что в слизистой оболочке сильная гиперемия, складки утолщены, имеются кровоизлияния, эрозии и язвы. Похожая картина наблюдалась у крыс получавших нимесулид, индометацин и диклофенак. Внутрижелудочное введение натриевой соли 4-карбоксифенил-о-D-глюкопиранозида не вызывало поражения слизистой оболочки желудка. Индекс Паульса равен для ацетилсалициловой кислоты 3,56, диклофенак-натрия 5,4, индометацина 1,53, нимесулида 0,88 и натриевой соли 4-карбоксифенил-о-D-глюкопиранозида 0,01. Гистологическое исследование микропрепаратов желудков крыс так же показало что натриевая соль 4-карбоксифенил-о-D-глюкопиранозида не оказывает ulcerогенное действие на СОЖ.

Заключение. Сочетание мочегонной, противовоспалительной активностей и отсутствие ulcerогенного действия делают субстанцию натриевой соли 4-карбоксифенил-о-D-глюкопиранозида наиболее перспективной для дальнейших исследований и разработки лекарственной формы препарата для лечения хронических воспалительных заболеваний почек и мочевыводящих путей.

Литература

1. Тиктинский О.Л., Пиелонефриты, СПб, Медиапресс (1996)
2. Шулутоко Б.И., Воспалительные заболевания почек: пиелонефрит и другие тубулоинтерстициальные заболевания, СПб, Ренкор (1996).
3. Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств, А.Н. Миронов (ред.), Москва (2012).
4. Гланц С., Медико-биологическая статистика. Пер. с англ. — М., Практика, 1998.

Pharmacological activity of 4-carboxyphenyl-O-D-glucopyranoside sodium salts for the treatment of the chronic inflammatory diseases of the urinary tract.

Kazbanova T.O.1,3, Smirnov I.V.1,3, Voloboy N.L.1, Ivanov A.A.2, Nemtsev A.O.1.3, Bondarev A.A.1,3, Udut V.V. 4. , Kornauchoy A.N 1.3, Dadey A.N.1

1 The Altay state medical university of Ministry of health development of the Russian Federation Department of Pharmacognosy and Botany Lenin Avenue 40, 656038 Barnaul. Russia.

2 National Research Tomsk Polytechnic University Department of biotechnology and organic chemistry. Lenin Avenue 30, 634050, Tomsk. Russia.

3 The Altay state university Institute of Biomedicine Lenin Avenue 61a, 656049 Barnaul. Russia.

4 Institute of Pharmacology, Siberian Division of the Russian Academy of Medical Sciences Lenin Avenue 3, 634028, Tomsk. Russia.

Abstract. Diseases of urinary system are widespread, various and are characterized by a lingering current. Synthetic diuretics are used for treatment of this group of diseases, but this drugs has a series of side effects and because commonly used bearberry leaves and cranberries. The therapeutic effects of these plants are realized through a combination of biologically active substances, but as the main active ingredient is substance phenolglykosides structure - arbutin. We received a series of structural analogs arbutin and the most perspective molecules were allocated. One of them is sodium salt 4-carboxyphenyl-o-D-glyukopiranoside. The aim of study is research of pharmacological activity 4- carboxyphenyl-o-D-glyukopiranoside sodium salts. We studied diuretic, antiinflammatory and ulcerogenic effects of substance. Substance possesses expressed diuretic and antiinflammatory effects without the harmful influences on a stomach mucosa. These factors do substance of sodium salt 4- carboxyphenyl-o-D-glyukopiranoside to the most perspective for further researches and development of a medicinal form of a preparation for treatment of chronic inflammatory diseases of kidneys and urinary tract.