

A. Yu. Markina, O. Ya. Mishchenko

Institute of Pharmacy Professionals Qualification Improvement
at the National University of Pharmacy

THE STUDY OF THE PECULIARITIES OF THE DIURETIC ACTION OF 2-OXOINDOLINE ACYLATED DERIVATIVE – N-[(2-OXOINDOLINILIDEN-3)-2-OXYACETYL]-VALINE PROPYL ESTER

An important issue of modern medicine is the pharmacological correction of regulatory mechanisms of the excretory renal function aimed to normalize the changed water-electrolytic balance in a diseased body. In order to establish the functional balance and correct renal disorders diuretics are used.

Aim. To study the effects of N-[(2-oxoindoliniliden-3)-2-oxyacetyl]-valine propyl ester (the conventional name is “Indolinoren”) on the excretory renal function when the repeated doses are administered in spontaneous diuresis and water load, and to determine a possible mechanism of the diuretic action.

Materials and methods. The tests were conducted on white non-pedigree rats. The conditionally effective dose of indolinoren (29.5 mg/kg) was intragastrically administered to rats with spontaneous diuresis and water load for 7 days. The values of the excretory renal function were studied.

Results. Both under conditions of spontaneous diuresis and under conditions of water load the repeated administration of indolinoren promotes a significant increase of diuresis, which is associated with an increased excretory renal function – natriuresis and, to a lesser extent, kaliuresis. A significant increase in uric acid excretion was observed (by 1.7 and 2 times on day 5 and 7, respectively). It may indicate the uricosuric effect of indolinoren.

Conclusions. It has been determined that the possible mechanism of the diuretic action of indolinoren is associated with inhibition of tubular reabsorption, which is indirectly indicated by the increase of natriuresis and kaliuresis on the background of the simultaneous urination increase. The uricosuric properties of indolinoren have been found, it is indicated by an increase of uric acid excretion; these findings require further confirmation.

Key words: indolinoren; N-[(2-oxoindoliniliden-3)-2-oxyacetyl]-valine propyl ester; diuretic activity; excretory renal function

A. Ю. Маркіна, О. Я. Міщенко

Інститут підвищення кваліфікації спеціалістів фармації Національного фармацевтичного університету

Вивчення особливостей діуретичної дії ацильованого похідного 2-оксоіндоліну – пропілового естеру N-[(2-оксоіндолініліден-3)-2-оксіацетил]-валіну

Важливою проблемою сучасної медицини є фармакологічна корекція регуляторних механізмів видільної функції нирок, спрямована на вирівнювання змін водно-електролітного балансу в організмі хворої людини. Для корекції порушень діяльності нирок та з метою встановлення функціональної рівноваги використовуються діуретичні засоби.

Мета дослідження. Вивчення особливостей впливу пропілового естеру N-[(2-оксоіндолініліден-3)-2-оксіацетил]-валіну (під умовною назвою «Індолінорен») на видільну функцію нирок при багаторазовому уведенні за умов спонтанного діурезу та водного навантаження і встановлення можливого механізму діуретичної дії.

Матеріали та методи. Досліди проведені на білих нелінійних щурах. Індолінорен вводили в умовно ефективній дозі 29,5 мг/кг внутрішньошлунково впродовж 7 діб за умов спонтанного діурезу та водного навантаження. Визначали показники видільної функції нирок.

Результати. Індолінорен при багаторазовому уведенні як за умов спонтанного діурезу, так і за умов водного навантаження сприяє достовірному підвищенню діурезу, що пов'язано з підвищенням екскреторної функції нирок – натрійурезу і, в меншій мірі, калійурезу. Встановлено суттєве підвищення екскреції сечової кислоти (в 1,7 та в 2 рази на 5 на 7 добу відповідно), що може свідчити про наявність урикозуричної дії у індолінорену.

Висновки. Встановлено, що можливий механізм діуретичної дії індолінорену пов'язаний з пригніченням канальцевої реабсорбції, про що опосередковано свідчить підвищення натрійурезу та калійурезу на фоні одночасного підвищення сечовиділення. Встановлені урикозуричні властивості індолінорену, про що свідчить підвищення екскреції сечової кислоти, що потребує подальшого підтвердження.

Ключові слова: індолінорен; пропіловий естер N-[(2-оксоіндолініліден-3)-2-оксіацетил]-валіну; діуретична активність; видільна функція нирок

А. Ю. Маркина, О. Я. Мищенко

Институт повышения квалификации специалистов фармации Национального фармацевтического университета

Изучение особенностей диуретического действия ацилированного производного 2-оксоиндолина – пропилового эфира N-[(2-оксоиндолинилиден-3)-2-оксиацетил]-валина

Важной проблемой современной медицины является фармакологическая коррекция регуляторных механизмов выделительной функции почек, которая направлена на установление равновесия изменений водно-электролитного баланса в организме больного человека. Для коррекции нарушений деятельности почек, а также с целью установления функционального равновесия используются диуретические средства.

Цель исследования. Изучение особенностей влияния пропилового эфира N-[(2-оксоиндолинилиден-3)-2-оксиацетил]-валина (с условным названием «Индолинорен») на выделительную функцию почек при многократном введении в условиях спонтанного диуреза и водной нагрузки; определение возможного механизма диуретического действия.

Материалы и методы. Исследования проведены на белых нелинейных крысах. Индолинорен вводили в условно эффективной дозе 29,5 мг/кг внутривенно в течение 7 дней в условиях спонтанного диуреза и водной нагрузки. Определяли показатели выделительной функции почек.

Результаты. Индолинорен при многократном введении как в условиях спонтанного диуреза, так и в условиях водной нагрузки способствует достоверному повышению диуреза, что связано с повышением экскреторной функции почек – натрийуреза и, в меньшей степени, калийуреза. Установлено существенное повышение экскреции мочевой кислоты (в 1,7 и в 2 раза на 5 и 7 день соответственно), что может свидетельствовать о наличии урикозурического действия индолинорена.

Выводы. Установлено, что возможный механизм диуретического действия индолинорена связан с угнетением канальцевой реабсорбции, о чем опосредованно свидетельствует повышение натрийуреза и калийуреза на фоне одновременного повышения мочеотделения. Установлены урикозурические свойства индолинорена, о чем свидетельствует повышение экскреции мочевой кислоты, что требует дальнейшего подтверждения.

Ключевые слова: индолинорен; пропиловый эфир N-[(2-оксоиндолинилиден-3)-2-оксиацетил]-валина; диуретическая активность; выделительная функция почек

An important issue of modern medicine is the pharmacological correction of regulatory mechanisms of the excretory renal function aimed to normalize the changed water-electrolytic balance in a diseased body [1-4]. In order to establish the functional balance and correct renal disorders diuretics are used [5].

In recent years, the range of diuretics has not changed. To date, 71 trade names of diuretics based on only 10 active substances have been registered at the domestic pharmaceutical market. Among them 62 % are diuretics of foreign manufacture, and only 38 % of them are of domestic manufacture (in particular, due to diuretics of the plant origin) [6, 7]. The data analysis indicates the shortage of diuretics of domestic production. Taking into account all the foregoing and the data on side effects of diuretics the search for new effective and safe diuretics is relevant. The new compound – propyl ester of N-[(2-oxoindoliniliden-3)-2-oxyacetyl]-valine (which conventional name is “Indolinoren”) is a high-potential diuretic with the already determined significant activity observed in the conditionally effective dose in spontaneous diuresis and water load within 24 hours and the related pharmacological activities, such as antioxidant and antihypoxic ones [8, 9].

The aim of the work was to study the effects of Indolinoren on the excretory renal function when the repeated doses are administered in spontaneous diuresis and water load, and to determine a possible mechanism of the diuretic action.

Materials and methods

The tests were conducted on white non-pedigree rats weighing 200±20 g. Manipulations with animals (including euthanasia) was carried out in accordance with the Law of Ukraine No. 3447-IV “On protection from cruelty to animals” [10] and the EU Directive 2010/10/63 for the Protection of Vertebrate Animals used for Experimental and Other Scientific Purposes [11]. The animals were kept with a routine balanced diet with a free access to water in the vivarium of the National University of Pharmacy.

Indolinoren was injected intragastrically in the dose of 29.5 mg/kg in the form of a fine water suspension stabilized with Tween-80.

When studying the effects of repeated administration (within 7 days) of indolinoren on the renal function in conditions of free access to water and spontaneous diuresis the animals were placed to metabolic cages adjusted to record the amount of the drunk water and extracted urine. On day 5 and 7 of the experiment the indicators of the drinking irritability and excreted urine, the blood creatinine content, and indicators of excretion of uric acid, protein, sodium, and potassium were recorded. In conditions of water load (5 ml per 100 g of the animal body weight) indolinoren was administered daily for 7 days. The indicators of diuresis and drinking activity, glomerular filtration rate (GFR), water reabsorption, sodium and potassium electrolytes

Table 1

The results of the effect of the repeated indolinoren administration on the renal excretory function in rats under conditions of spontaneous diuresis, ($\bar{X} \pm S_{\bar{x}}$, n = 10)

Conditions of the experiment	Observation time	Diuresis, ml/100 g for 2 h	Drinking activity, ml	Blood creatinine, $\mu\text{mol/L}$	Excretion for 2h				Urinary Na^+/K^+ ratio
					uric acid, $\mu\text{mol}/100\text{ g}$	protein, $\text{mg}/100\text{ g}$	sodium, $\mu\text{mol}/100\text{ g}$	potassium, $\mu\text{mol}/100\text{ g}$	
Intact control	Day 5	1.26±0.24	3.35±0.22	55.33±2.70	2.41±0.23	0.12±0.02	41.84±5.13	75.10±6.6	0.57±0.03
	Day 7	2.07±0.32	3.10±0.30	56.30±3.20	2.00±0.36	0.13±0.02	38.40±4.03	78.57±9.06	0.51±0.04
Indolinoren	Day 5	5.10±0.54*	3.00±0.33	40.25±2.90*	4.17±0.14*	0.10±0.03	104.60±5.6*	157.71±12.7*	0.71±0.05*
	Day 7	5.47±0.67*	3.38±0.40	33.54±2.10*	4.22±0.22*	0.09±0.03	88.32±4.9*	146.43±10.83*	0.64±0.04*

Notes:

1) * – reliable deviations in relation to the intact control values on the corresponding day of the experiment, $p < 0.05$;

2) n – the number of animals in the group.

excretion for 2 hours were determined. The creatinine concentration in the blood plasma and urea was determined using the “Felicit-diagnostics” laboratory kits [12]. The content of urea was determined by the unified diacetylmonoxime method using the “Felicit. Urea-D” laboratory kit [12]. The urinary protein was determined by the reaction with sulphosalicylic acid [12]. The content of uric acid in urea was determined by the reaction with the phosphotungstic reagent [12]. The sodium and potassium concentration in the urea and blood plasma was determined by flame photometry [13]. GFR, electrolytes excretion and water reabsorption were calculated using generally accepted formulas [14]. All digital material obtained was statistically processed using parametric statistical methods [15].

Results and discussion

When introducing indolinoren in the dose of 29.5 mg/kg in spontaneous diuresis and free access to water for 7 days a significant increase ($p < 0.05$) of diuresis by 4 times on day 5 and by 2.6 times on day 7 was observed (Tab. 1).

The analysis of dynamics of indicators of drinking activity of animals did not show any reliable changes due to the effect of indolinoren (Tab. 1).

Indolinoren showed a significant hypoazotemic effect – it significantly reduced the creatinine content in the blood plasma of rats by 1.4 times and 1.7 times on day 5 and 7 of the experiment, respectively (Tab. 1).

A significant increase in uric acid excretion (by 1.7 and 2 times on day 5 and 7, respectively) was observed. It may indicate the uricosuric action of indolinoren (Tab. 1). On the background of indolinoren administration there were no significant changes in protein excretion.

The marked saluretic action of indolinoren was found. The maximum kaliuresis was noted on day 5 of the experiment (excretion of potassium ions increased by 2.1 times). Natriuresis also tended to

Table 2

The indicators of the renal excretory function under the effect of indolinoren administration in conditions of water load within 7 days, ($\bar{X} \pm S_{\bar{x}}$, n=10)

The indicators studied	Conditions of the experiment	
	Intact control	Indolinoren, 29.5 mg/kg
Diuresis, ml /100 g in 2H	1.90±0.41	2.85±0.45*
Drinking activity, ml	3.15±0.20	3.05±0.28
GFR, ml/min per 100 g	0.11±0.04	0.25±0.05
Urine urea, mmol/L	26.8±2.53	37.20±1.51*
Water reabsorption, %	92.70±8.50	98.15±8.30
Sodium excretion, $\mu\text{mol}/100\text{ g}$ in 2H	46.56±5.24	139.68±14.92*
Potassium excretion, $\mu\text{mol}/100\text{ g}$ in 2H	80.20±7.12	192.48±6.5*
Urinary Na^+/K^+ ratio	0.63±0.03	0.74±0.03*

Notes:

1) * – reliable deviations in relation to the intact control, $p < 0.05$;

2) n – the number of animals in the group.

increase with a maximum value on day 5 (excretion of sodium ions increased by 2.5 times).

Under the effect of indolinoren a significant increase in the sodium-potassium urine coefficient approaching 1 was observed. This fact indicates the more pronounced natriuresis than kaliuresis [16].

In repeated administration of indolinoren under conditions of water load the significant increase in diuresis by 1.5 times in the unchanged drinking activity of animals was observed (Tab. 2).

An unreliable increase of GFR and water reabsorption was observed. It indicates the absence of the effect of indolinoren on the glomerular filtration process.

On the background of the indolinoren effect natriuresis significantly increased by 3 times, while kaliuresis increased only by 2.4 times.

The increase of the urine urea concentration by 1.4 times under the effect of indolinoren indicates improvement in the renal excretion of nitrogen-containing substances.

Therefore, in repeated administration of indolinoren both under conditions of spontaneous diuresis and under conditions of water load it contributes to a significant diuresis increase associated with an increase of the excretory renal function, i.e. natriuresis and, to a lesser extent, kaliuresis.

The data obtained suggest that the mechanism of the diuretic action of indolinoren is associated with inhibition of tubular reabsorption, indirectly indicating the increase in natriuresis and kaliuresis on the background of simultaneous increase of the urinary excretion [17].

CONCLUSIONS

1. A marked diuretic activity of 2-oxoindoline acylated derivative – N-[(2-oxoindoliniliden-3)-2-oxyacetyl]-valine propyl ester (which conventional name is “Indolinoren”) under conditions of spontaneous diuresis and water load has been found.

2. It has been determined that the mechanism of the diuretic action of indolinoren is associated with inhibition of tubular reabsorption, which is indirectly indicated by the increase of natriuresis and kaliuresis on the background of the simultaneous urination increase.

3. The uricosuric properties of indolinoren have been found, it is indicated by an increase of uric acid excretion; these findings require further confirmation.

Conflict of interests: authors have no conflict of interests to declare.

References

1. Puschett, J. B. Effects of Diuretics on Renal Function / J. B. Puschett // *Renal Physiol.* – 2011. – Vol. 10. – P. 100-108.
2. Скворцов, В. В. Клиническая нефрология : краткий курс / В. В. Скворцов, А. В. Тумаренко. – СПб. : СпецЛит, 2017. – 199 с.
3. Pedzik, A. Oxidative stress in nephrology / A. Pedzik, M. Paradowski, J. Rysz // *Polski Merkuriusz Lekarski.* – 2010. – Vol. 28 (163). – P. 56-60.
4. Нефрология : руководство для врачей: в 2 т. / под ред. С. И. Рябова. – Т. 2. Почечная недостаточность. – СПб. : СпецЛит, 2013. – 232 с.
5. Машковский, М. Д. Лекарственные средства : в 2 т. / М. Д. Машковский. – 16-е изд., перераб., испр. и доп. – М. : ООО «Изд-во Новая Волна», 2012. – 22 с.
6. Компендиум–2016. Лекарственные препараты / под ред. В. Н. Коваленко. – К. : Морион, 2016. – 2270 с.
7. Нормативно-директивні документи МОЗ України [Електронний ресурс] – Режим доступу: <http://mozdocs.kiev.ua/liki.php>.
8. Маркина, А. Ю. Экспериментальное подтверждение эффективности нового производного 2-оксоиндолина – потенциального диуретического средства / А. Ю. Маркина, Т. И. Тюпка // *Вестник КазНМУ.* – 2013. – № 5 (1). – С. 163–166.
9. Маркіна, А. Ю. Експериментальне вивчення антигіпоксичної та антиоксидантної активності індолінорену / А. Ю. Маркіна, О. Я. Міщенко // *Укр. біофармац. журн.* – 2017. – № 3 (50). – С. 22–25. <https://doi.org/10.24959/ubphj.17.112>.
10. Закон України № 3447-IV «Про захист тварин від жорстокого поводження» [Електронний ресурс] – Режим доступу: <http://zakon4.rada.gov.ua/laws/show/3447-15>
11. European Convention for the protection of vertebrate animals used for experimental and other scientific purposes [Електронний ресурс] – Режим доступу: <http://conventions.coe.int/treaty/en/treaties/html/123.htm>
12. Клінічна біохімія / за ред. О. П. Тимошенко, Л. М. Вороніної, В. М. Кравченко та ін. – Х. : Вид-во «Професіонал», 2005. – 288 с.
13. Камышников, В. С. Справочник по клинико-биохимической лабораторной диагностике : в 2 т. / В. С. Камышников. – Мн : Беларусь, 2000. – Т 1. – 495 с.
14. Берхин, Е. Б. Методы экспериментального исследования почек и водно-солевого обмена / Е. Б. Берхин, Ю. И. Иванов. – Барнаул : Алтайское книжн. изд-во, 1972. – 199 с.
15. Лапач, С. Н. Статистические методы в медико-биологических исследованиях с использованием EXCEL / С. Н. Лапач. – 2-е изд., перераб. и доп. – К. : МОРИОН, 2001. – 408 с.
16. Comparative studies on polyphenolic composition, antioxidant and diuretic effects of *Nigella sativa* L. (black cumin) and *Nigella damascena* L. (lady-in-a-mist) seeds / С. С. Toma [et al.] // *Molecules.* – 2015. – № 20 (6). – P. 9560–9574. <https://doi.org/10.3390/molecules20069560>
17. Методические подходы к изучению функции почек в эксперименте на животных / В. М. Брюханов, Я. Ф. Зверев, В. В. Лампатов, А. Ю. Жариков // *Нефрол.* – 2009. – Т. 13, № 3. – С. 52–62.

References

1. Puschett, J. B. (2011). Effects of Diuretics on Renal Function. *Renal Physiology*, 10, 100-108.
2. Skvortcov, V. V., Tumarenko, A. V. (2017). *Klinicheskaja nefrologija : kratkij kurs*. Sankt-Peterburg: Spetclit, 199.
3. Pedzik, A., Paradowski, M., Rysz, J. (2010). Oxidative stress in nephrology. *Polski Merkuriusz Lekarski*, 28 (163), 56-60.
4. Riabova, S. I. (ed). (2013). *Nefrologija: rukovodstvo dlja vrachei: Pochechnaja nedostatochnost*. (Vol. 2). Sankt-zeterburg: Spetclit, 232.
5. Mashkovskiy, M. D. (2012). *Lekarstvennyye sredstva*. (Vol. 2, 16-edition). Moscow: OOO «Yzdatelstvo Novaia Volna», 22.
6. Kovalenko, V. N. (ed). (2016). *Kompendium–2016. Lekarstvennyye preparaty*. Kiyv: Morion, 2270.
7. Normatyvno-dyrektyvni dokumenty MOZ Ukrainy. (n.d.). *mozdocs.kiev.ua*. Avialable at: <http://mozdocs.kiev.ua/liki.php>
8. Markina, A. Y., Tiupka, T. I. (2013). *Vestnik KazNMU*, 5 (1), 163–166.

9. Markina, A. Y., Mishchenko, O. Y. (2017). The experimental study of antihypoxic and antioxidant indolinoren activity. *Ukrains'kij biofarmaceutičnij žurnal*, 3(50), 22–25. <https://doi.org/10.24959/ubphj.17.112>
10. Zakon Ukraïny №3447-IV «Pro zakhyst tvaryn vid zhorstokoho povodzhennia». (2006). *zakon4.rada.gov.ua*. Available at: <http://zakon4.rada.gov.ua/laws/show/3447-15>
11. European Convention for the protection of vertebrate animals used for experimental and other scientific purposes. (1986). *conventions.coe.int*. Available at: <http://conventions.coe.int/treaty/en/treaties/html/123.htm>
12. Tymoshenko, O. P., Voronina, L. M., Kravchenko, V. M. (eds). (2005). *Klinichna biokhimiia*. Kharkiv: "Profesional", 288.
13. Kamyshnikov, V. S. (2000). *Spravochnik po kliniko–biokhimicheskoi laboratornoi diagnostike*. (Vol. 1). Minsk: Belarus, 495.
14. Berkhin, E. B., Ivanov, Iu. I. (1972). *Metody eksperimentalnogo issledovaniia pochek i vodno-solevogo obmena*. Barnaul: Altaiskoe knizhnoe izdatelstvo, 199.
15. Lapach, S. N. (2001). *Statisticheskie metody v mediko–biologicheskikh issledovaniakh s ispolzovaniem EXCEL*. (2-edition). Kiyv: MORION, 408.
16. Toma, C.-C., Olah, N.-K., Vlase, L., Mogoşan, C., & Mocan, A. (2015). 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*, 20(6), 9560–9574. <https://doi.org/10.3390/molecules20069560>
17. Briukhanov, V. M., Zverev, Ia. F., Lampatov, V. V., Zharikov, A. Iu. (2009). *Nefrologiia*, 13 (3), 52–62.

Information about authors / Відомості про авторів / Информация об авторах

Markina A. Yu., external PhD student, senior laboratory assistant of the Department of Clinical Pharmacology, Institute of Pharmacy Professionals Qualification Improvement at the National University of Pharmacy (<https://orcid.org/0000-0001-5784-0201>).
E-mail: Kolomanya7@gmail.com

Маркіна А. Ю., здобувач, старший лаборант кафедри клінічної фармакології, Інститут підвищення кваліфікації спеціалістів фармації Національного фармацевтичного університету (<https://orcid.org/0000-0001-5784-0201>). E-mail: Kolomanya7@gmail.com

Маркина А. Ю., соискатель, старший лаборант кафедры клинической фармакологии, Институт повышения квалификации специалистов фармации Национального фармацевтического университета (<https://orcid.org/0000-0001-5784-0201>).
E-mail: Kolomanya7@gmail.com

Mishchenko O. Ya., Doctor of Pharmacy (Dr. habil.), professor, head of the Department of Clinical Pharmacology, Institute of Pharmacy Professionals Qualification Improvement at the National University of Pharmacy (<https://orcid.org/0000-0001-5862-4543>).
E-mail: clinpharmacol_ipksph@nuph.edu.ua

Мищенко О. Я., доктор фармацевтичних наук, професор, завідувач кафедри клінічної фармакології, Інститут підвищення кваліфікації спеціалістів фармації Національного фармацевтичного університету (<https://orcid.org/0000-0001-5862-4543>).
E-mail: clinpharmacol_ipksph@nuph.edu.ua

Мищенко О. Я., доктор фармацевтических наук, профессор, заведующая кафедрой клинической фармакологии, Институт повышения квалификации специалистов фармации Национального фармацевтического университета (<https://orcid.org/0000-0001-5862-4543>). E-mail: clinpharmacol_ipksph@nuph.edu.ua

Mailing address: 17, Zahusnykiv Ukrainy sq., Kharkiv, Ukraine, 61001. Department of Clinical Pharmacology, Institute of Pharmacy Professionals Qualification Improvement at the National University of Pharmacy. Тел. (057) 732-89-53.
E-mail: clinpharmacol_ipksph@nuph.edu.ua

Адреса для листування: 61001, м. Харків, пл. захисників України, кафедра клінічної фармакології ІПКСФ НФаУ.
Тел. (057) 732-89-53. E-mail: clinpharmacol_ipksph@nuph.edu.ua

Адрес для переписки: 61001, г. Харьков, пл. Защитников Украины, кафедра клинической фармакологии ИПКСФ НФаУ.
Тел. (057) 732-89-53. E-mail: clinpharmacol_ipksph@nuph.edu.ua