

УДК 612.115.2.085.2:[547.857.4:615.273.53.015.4]

ВЛИЯНИЕ НОВЫХ СОЛЕЙ 3-МЕТИЛ-1-ЭТИЛКСАНТИНА НА СИСТЕМУ ГЕМОСТАЗА

Камилов Ф. Х., Тимирханова Г. А., Самородова А. И., Халиуллин Ф. А., Муратаев Д. З.

ГБОУ ВПО «Башкирский государственный медицинский университет» Минздрава России
450000, Россия, Республика Башкортостан, г. Уфа, ул. Ленина, , E-mail: avsamorodov@gmail.com

Исследовано влияние 8 впервые синтезированных производных солей 3-метил-1-этилксантина и применяемых в медицине лекарственных препаратов на функциональную активность тромбоцитов и плазменный компонент гемостаза в условиях *in vitro* на донорской крови человека. Экспериментальным путем определено, что наибольшая антиагрегационная активность, среди изученных лекарственных препаратов, регистрировалась у пентоксифиллина. Установлена антиагрегационная и антикоагуляционная активность производных солей 3-метил-1-этилксантина, найдено активное соединение. Соединение под лабораторным шифром М-76 проявляет антиагрегационную активность, превосходящую по уровню ряд лекарственных препаратов и выраженную антикоагуляционную активность, что свидетельствует о его потенциально широком антитромботическом спектре. Полученные результаты убеждают в необходимости и актуальности дальнейших исследований влияния производных солей 3-метил-1-этилксантина на систему гемостаза, как потенциальных антиагрегантов.

Ключевые слова: производные 3-метил-1-этилксантина, антиагрегационная активность, антикоагуляционная активность.

THE SCREENING OF ACTIVE COMPOUNDS IN DERIVATIVE 3-METHYLIL-1-ETHIL XANTHINE AFFECTING HEMOSTASIS

Kamilov F. K., Timirkhanova G. A., Samorodova A. I., Khaliullin F. A., Murataev D. Z.

Bashkirian State Medical University. 3 Lenin str., 450000 Ufa, Republic of Bashkortostan, Russia, E-mail: avsamorodov@gmail.com

The article describes the issue of how 8 newly synthesized derivative sals 3-methylil-1-ethyl xanthine and medically applied pharmaceutical drugs affect capacity of platelets and plasmic component of hemostasis. It shows how differently 3-methylil-1-ethyl xanthine derivatives affect the hemostasis system, and it reveals active compounds. The 3-methylil-1-ethyl xanthine derivative M-76 show apparent antiaggregational and anticoagulation activity which prove a wider antithrombotic range of such compounds. The findings show that the issue of derivative sals 3-methylil-1-ethyl xanthine needs further research.

Key words: blood, 3-methylil-1-ethyl xanthine derivatives, antiaggregation activity, anticoagulation activity.

Введение. Поиск потенциальных антитромботических средств ведется исследователями на протяжении длительного времени. Найдены перспективные вещества среди активаторов фибринолиза, ингибиторов тромбина, ферментов и комплексных препаратов, субстратов растительного происхождения, пептидных ингибиторов тромбинзависимого превращения фибриногена [9]. Несмотря на успех исследователей селективных антитромботических средств, имеющих широкое практическое применение, не существует [1]. Применяемые на практике лекарственные препараты, помимо гемостаза, изменяют многие другие параметры систем организма [2].

Одним из современных направлений в разработке новых лекарственных средств является синтез аналогов и производных применяемых препаратов. Предыдущие исследования подтвердили наличие у ряда производных 3-метилксантина выраженной антиагрегационной активности [3, 6]. Полученные данные способствуют дальнейшим

исследованиям по изучению влияния производных ксантина на систему гемостаза и являются основой для поиска селективных ингибиторов функциональной активности тромбоцитов среди впервые синтезированных N⁷-замещенных производных ксантина, содержащих этильный радикал в положении N¹, для создания на их основе избирательно действующих, высокоэффективных лекарственных препаратов.

Цель. Оценить влияние 8 синтезированных производных 1-этилксантина на систему гемостаза *in vitro* и сравнить с применяемыми в медицине лекарственными препаратами.

Материал и методы исследования. Исследование влияния на функциональную активность тромбоцитов проводили *in vitro* по методу Born на агрегометре “Thromlite-1006A” на донорской крови человека [8]. Метод основан на регистрации изменения оптической плотности богатой тромбоцитами плазмы до и после введения индуктора агрегации тромбоцитов. В качестве индуктора агрегации использовали аденозиндифосфат (АДФ) в концентрации 20 мкг/мл и коллаген в концентрации 5 мг/мл, производства “Технология-Стандарт”, г. Барнаул (рис. 1). Определение активности исследуемых производных проводили в концентрации 2×10^{-3} М/л. При анализе агрегатограмм обращали внимание на спонтанную агрегацию тромбоцитов, вызванную введением исследуемого вещества в плазму, рассчитывали степень подавления или усиления агрегации под действием производных ксантина, оценивали дезагрегационный эффект соединений [1].

Исследование антикоагуляционной активности проводили *in vitro* стандартными коагуляционными методами на турбометрическом гемокоагулометре Solar CGL 2110 на донорской крови человека. Проводилось определение активированного парциального тромбопластинового времени (АПТВ), протромбинового времени (ПВ) и концентрации фибриногена по A. Clauss [5]. Определение антикоагуляционной активности исследуемых производных проводили в конечной концентрации 10^{-3} г/мл.

Объекты исследования – лекарственные препараты: пентоксифиллин, кофеин бензоат натрия, эуфиллин, а также производные ксантина, впервые синтезированные на кафедре фармацевтической химии Башкирского государственного медицинского университета [7].

Препараты сравнения: в качестве антикоагулянта использовали «Гепарин натрия» (производства ОАО «Синтез», Россия), в качестве антиагрегантов – пентоксифиллин, кофеин-бензоат натрия, эуфиллин (ОАО «Дальхимфарм», Россия), ацетилсалициловая кислота (2-ацетилоксибензойная кислота, Фармацевтическая фабрика Шандонг Ксинхуа Фармасьютикал Ко., ЛТД, Китай). Определение влияния на функциональную активность тромбоцитов и плазменный компонент гемостаза проводили на 6 пробах крови разных доноров для каждого соединения. Данные показателей статистически обрабатывали с применением t-критерия Стьюдента.

Обсуждение результатов. Результаты исследования влияния производных ксантина на адгезивно-агрегационную функцию тромбоцитов представлены в таблице 1.

По результатам проведенного исследования установлено, что среди препаратов сравнения наибольшую активность проявил пентоксифиллин. При предварительной инкубации пентоксифиллина в обогащенной тромбоцитами плазме в течение 3 минут происходило снижение АДФ-индуцированной агрегации в среднем на 50 % относительно контроля. На коллаген-индуцированную агрегацию тромбоцитов влияния пентоксифиллина не регистрировалось. Выраженную антиагрегационную активность проявил кофеин-бензоат натрия. Агрегация тромбоцитов, индуцированная АДФ и коллагеном, снижалась соответственно на 16 % и 6 %.

Таблица 1. Влияние производных ксантина на адгезивно-агрегационную функцию тромбоцитов, n=7

№ п\п	Шифр	АДФ-индуцированная агрегация тромбоцитов в присутствии соединения (% к контролю)	Коллаген-индуцированная агрегация тромбоцитов в присутствии соединения (% к контролю)
1.	М-9	92,4±2,3	90,7±2,1 P ₁ =0,002 P ₂ =0,07
2.	М-8	99,1±0,9	98,9±1,1
3.	М-7	97,2±2,1	98,2±1,6
4.	М-17	97,2±2,2	96,9±2,1
5.	М-76	80,7±2,6 P ₁ <0,0001 P ₂ =0,002 P ₃ =0,003	86,6±2,3 P ₁ <0,0001 P ₂ =0,006 P ₃ =0,0001 P ₄ =0,00002
6.	М-74	97,9±1,3	97,9±1,3
7.	М-73	95,3±1,7	96,1±1,6
8.	М-75	95,5±2,1	96,9±1,9
9.	Кофеин-бензоат натрия	84,8±1,9	94,7±1,2
10.	Эуфиллин	92,8±1,7	97,5±1,3
11.	Пентоксифиллин	51,9±1,3	100,0±0,0
12.	Аспирин	86,5±2,4	100,0±0,0

Примечание: Уровень статистической значимости различий в сравнении с эуфиллином (P₁), кофеин-бензоат натрием (P₂), аспирином (P₃), пентоксифиллином (P₄).

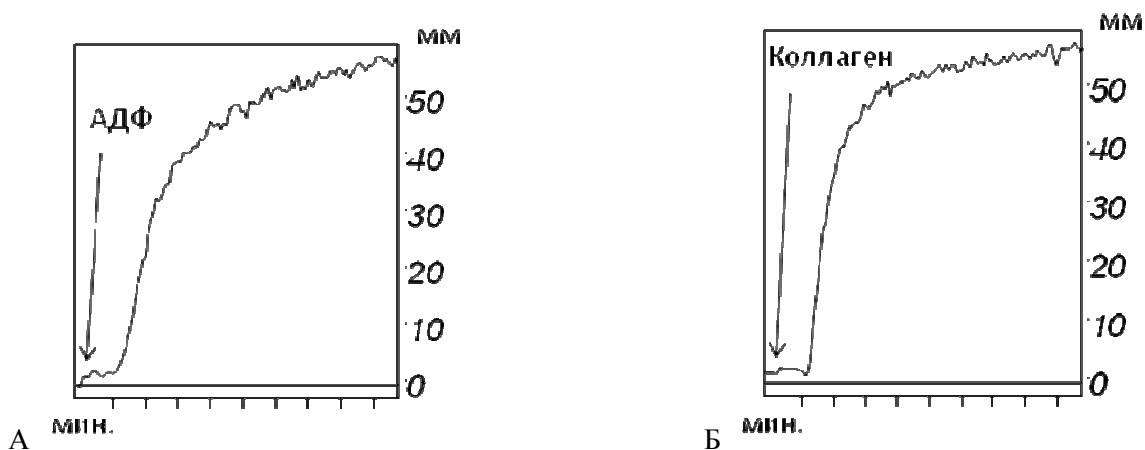


Рисунок 1:

А – Агрегация тромбоцитов,
индуцированная АДФ (контроль)

Б – Агрегация тромбоцитов,
индуцированная коллагеном (контроль)

Среди впервые синтезированных производных ксантина наибольшую антиагрегационную активность проявило соединение М-76. Введение 2×10^{-3} М/л вещества в кювету агрегометра за 3 мин до индуктора приводит к подавлению агрегации тромбоцитов в среднем на 19,3 % и 13,4 % относительно контроля (рис. 2). Это превышает показатели антиагрегационной активности препаратов сравнения.

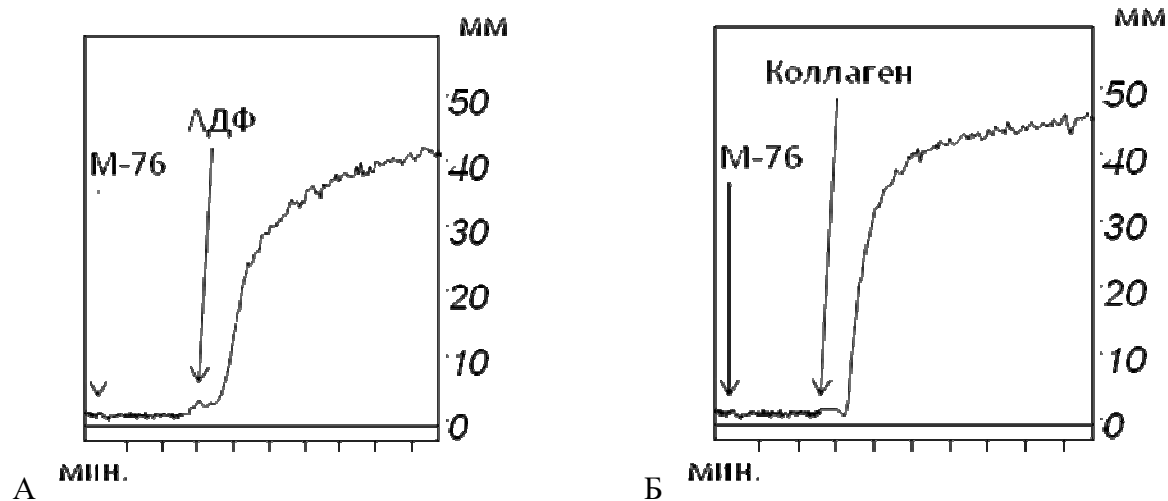


Рисунок 2:

А – АДФ-индуцированная агрегация
тромбоцитов, в присутствии М-76

Б – Коллаген-индуцированная агрегация
тромбоцитов, в присутствии М-76

Результаты исследования влияния соединений на плазменный компонент гемостаза представлены в таблице 2.

Таблица 2. Влияние производных ксантина на плазменный компонент гемостаза, n=7

№	Шифры	АПТВ,	ПВ,	Фибриноген,
---	-------	-------	-----	-------------

	соединений	% к контролю	% к контролю	% к контролю
1.	М-9	109,5±2,5**	100,0 ± 0,0	100,0 ± 0,0
2.	М-8	105,7±1,4*	100,0 ± 0,0	100,0 ± 0,0
3.	М-7	101,9±1,2	100,0 ± 0,0	100,0 ± 0,0
4.	М-17	103,2±2,1*	100,0 ± 0,0	100,0 ± 0,0
5.	М-76	110,2±2,9**	100,0 ± 0,0	100,0 ± 0,0
6.	М-74	104,9±2,2	100,0 ± 0,0	100,0 ± 0,0
7.	М-73	103,8±1,7	100,0 ± 0,0	100,0 ± 0,0
8.	М-75	105,2±2,3*	100,0 ± 0,0	100,0 ± 0,0
9.	Гепарин	154,7±3,7**	100,0 ± 0,0	100,0 ± 0,0

Примечание: Уровень статистической значимости различий в сравнении с контролем: P* < 0,01, P** < 0,0001.

Соединения показали различное влияние на плазменный компонент гемостаза, проявляющееся изменением показателя внутреннего пути свертывания крови – АПТВ. На показатели ПВ и концентрацию фибриногена в данной концентрации значимого влияния соединений не регистрировалось.

Среди впервые синтезированных производных ксантина найдены соединения, превосходящие по антиагрегационной активности ряд применяемых в настоящее время препаратов. Кроме этого, соединения оказывают влияние и на плазменный компонент гемостаза. Полученные результаты свидетельствуют о более широком антитромботическом потенциале новых производных ксантина, что свидетельствует о перспективности дальнейшего поиска потенциальных антиагрегантов среди производных 1-этилксантина.

Список литературы

1. Баркаган З. С. Геморрагические заболевания и синдромы. – 2-е изд., перераб. и доп. – М.: Медицина, 1988. – 528 с.
2. Государственный реестр лекарственных средств. – М., 2004. – Т. 2. – С. 1141-1142.
3. Камилов Ф. Х. Поиск активных соединений среди производных 2-[3-метил-1-этил-7-(диоксоиетанил-3)ксантинил-8-тио] уксусной кислоты, влияющих на систему гемостаза / Ф. Х. Камилов, А. И. Самородова, Г. А. Тимирханова, Д. З. Муратаев, Ф. А. Халиуллин // Фундаментальные исследования. – 2011. – № 9 (2). – С. 254-256.
4. Поляков А. Е. Метод исследования агрегационной функции тромбоцитов / А. Е. Поляков, В. А. Черняк // Лабораторное дело. – 1989. – № 10. – С. 19-20.
5. Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ под общей редакцией члена-корреспондента РАМН, профессора Хабриева Р. У. – 2-е изд., перераб. и доп. – М.: Медицина, 2005. – С. 461-476.

6. Тимирханова Г. А. Поиск зависимости «структура-активность» производных ксантина в отношении адгезивно-агрегационной функции тромбоцитов / А. В. Самородов, Ф. Х. Камилов, Ф. А. Халиуллин, А. З. Сайтгалина // Химия и медицина. Тезисы докладов VIII Всероссийской конференции. – Уфа, 2010. – С. 96-97.
7. Халиуллин Ф. А. Синтез солей 2-[3-метил-7-(тиетанил-3)-1-этилксантинил-8-тио]уксусной кислоты / Ф. А. Халиуллин, Д. З. Муратаев, Ю. В. Шабалина // Башкирский химический журнал. – 2011. – № 3. – С. 58-59.
8. Born G. V. R. Aggregation of blood platelets by adenosine diphosphate and its reversal // Nature. – 1962. – Vol. 194 4832. – P. 924-929.
9. Markwardt F. Pharmacology of hirudin, one hundred years after the first report of the anticoagulant agent in medicinal leeches /Markwardt F. // Biomed. Biochim. Acta. 1985. – Vol. 44, N 5. – P. 1007-1013.

Рецензенты:

Фазлыев М. М., д.м.н., профессор, начальник ФГУЗ «Медико-санитарная часть Министерства внутренних дел по Республике Башкортостан», г. Уфа.

Никитина И. Л., д.м.н., профессор кафедры фармакологии № 1 с курсом клинической фармакологии ГБОУ ВПО «Башкирский государственный медицинский университет» Минздравсоцразвития России, г. Уфа.