

## ПОИСК АКТИВНЫХ СОЕДИНЕНИЙ СРЕДИ ПРОИЗВОДНЫХ АЗОТСОДЕРЖАЩИХ ГЕТЕРОЦИКЛОВ, ВЛИЯЮЩИХ НА СИСТЕМУ ГЕМОСТАЗА

Камилов Ф.Х., Тимирханова Г.А., Самородов А.В., Клен Е.Э.,  
Макарова Н.Н., Халиуллин Ф.А.

ГОУ ВПО «Башкирский государственный медицинский  
университет Росздрава», Уфа,  
e-mail: avsamorodov@gmail.com

Исследована антиагрегационная и антикоагуляционная активность 8 впервые синтезированных азотсодержащих гетероциклических производных. Установлено различное влияние данных соединений на систему гемостаза. Найдены активные соединения, что доказывает перспективность дальнейших исследований среди производных данных рядов.

**Ключевые слова:** тромбоциты, антиагрегационная активность, дезагрегационная активность, антикоагуляционная активность, азотсодержащие гетероциклические производные

Нарушения системы гемостаза занимают важное место в общей патологии человека. Это определяется высокой частотой, разнообразием и потенциально высокой опасностью тромбгеморрагических заболеваний и синдромов. Изменения гемостаза являются существенным звеном патогенеза многих состояний [1], зачастую замыкают порочный круг, усугубляющий течение и исход основной болезни. По данным [7], именно тромбоз в различных его проявлениях занимает второе место среди непосредственных причин смертности и летальности онкологических больных.

В этой связи, весьма актуален поиск новых средств, способных в лечебных и профилактических целях корректировать систему гемостаза. С одной стороны, это обусловлено повсеместным ростом заболеваемости, с другой – недостаточной эффективностью или высокой токсичностью применяемых в настоящее время препаратов.

**Цель:** оценить влияние на сосудисто-тромбоцитарное и плазменное звенья гемостаза 8 производных ксантина, триазола, тиадана и бензимидазола, впервые синтезированных на кафедре фармацевтической

химии Башкирского государственного медицинского университета [2, 3].

### Методы исследования

Исследование влияния на функциональную активность тромбоцитов проводили *in vitro* по методу Born на агрегометре «Thromlite-1006A» на донорской крови человека [6]. 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, производства «Технология-Стандарт», г. Барнаул (рис. 1а). Определение активности исследуемых производных проводили в концентрации  $2 \times 10^{-3}$  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 данных производных, изучали дезагрегационный эффект соединений [4].

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 А. Clauss, 1957) [5]. Определение антикоагуляционной активности исследуемых производных проводили в конечной концентрации  $10^{-3}$  г/мл.

Препараты сравнения: в качестве антиагреганта использовали «Трентал» (3,7-диметил-1-(5-оксогексил)ксантин, Aventis Pharma Ltd, Мумбай, Индия), в ка-

честве антикоагулянта – «Гепарин натрия» (производства ОАО «Синтез», Россия). 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 на функциональную активность тромбоцитов представлены в табл. 1.

**Таблица 1**

Влияние азотсодержащих гетероциклических производных на функциональную активность тромбоцитов

№ п/п	Шифр	Спонтанная агрегация тромбоцитов, % к контролю	АДФ-индуцированная агрегация тромбоцитов в присутствии соединения (% к контролю)	% распавшихся тромбоцитарных агрегатов ч/з 5 мин (к контролю)
1	Л-347	—	$95,7 \pm 0,5$	—
2	Л-355	—	$91,3 \pm 1,3$	$10,6 \pm 1,3$
3	Л-346	—	$93,5 \pm 0,8$	—
4	Н-100	—	$87,5 \pm 0,8$	—
5	Н-140	—	$84,4 \pm 0,5$	—
6	Н-89	—	$96,6 \pm 1,1$	—
7	Э	$1,9 \pm 1,1$	$96,2 \pm 0,5$	—
8	Н-14	$3,3 \pm 1,2$	$81,5 \pm 0,8$	—
9	Трентал	—	$48,1 \pm 2,7$	—

Примечание: данные достоверны ( $p < 0,05$ )

Из данных табл. 1 видно, что все синтезированные производные в этой концентрации проявляют антиагрегационную активность. Соединения Э и Н-14 при предварительной инкубации в обогащенной тромбоцитами плазме вызывали спонтанную агрегацию (рис. 1б). Следует отметить, что все производные при регистрации АДФ-индуцированной агрегации тромбоцитов, уступали препарату сравнения «Трентал» в эквиволярной концентрации.

Среди изученных производных соединение Л-355 проявляет дезагрегационную активность. При вводе соединения на высоте АДФ-индуцированной агрегации в течение 5 минут в среднем распалось 10,6% первоначально существующих тромбоцитарных агрегатов (рис. 2а). В данной концентрации дезагрегационного эффекта у «Трентала» не регистрировалось (рис. 2б).

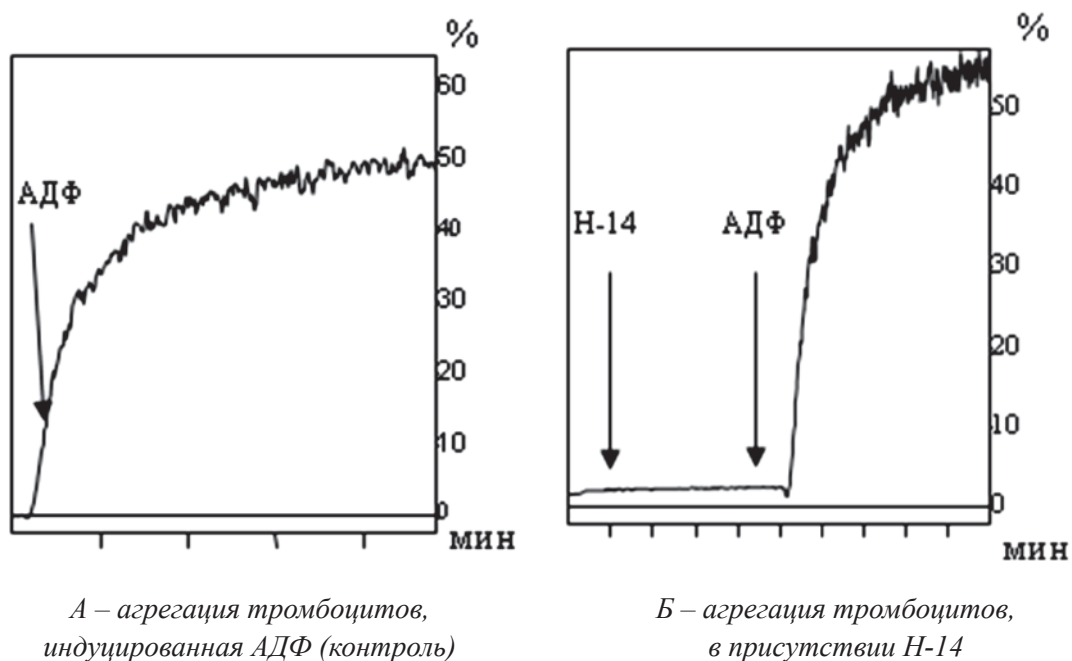


Рис. 1

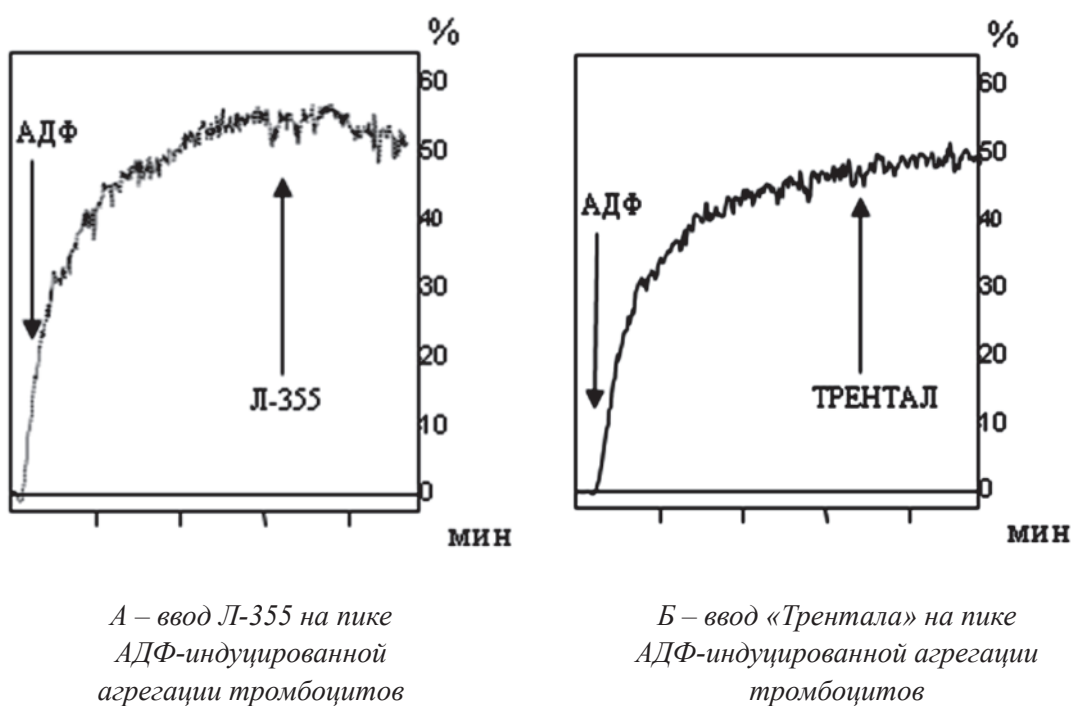


Рис. 2

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

Соединения показали различное влияние на плазменный компонент гемостаза,

проявляющееся изменением показателя внутреннего пути свертывания крови – АПТВ. На показатели ПВ и концентрацию фибриногена значимого влияния большинства соединений не регистрировалось.

Таблица 2

Влияние азотсодержащих гетероциклических производных на плазменный компонент гемостаза

№ п/п	Шифры соединений	АПТВ, % к контролю	ПВ, % к контролю	Фибриноген, % к контролю
1	Л-347	97,4 ± 1,8	100,0 ± 0,0	100,0 ± 0,0
2	Л-355	109,2 ± 2,3	100,0 ± 0,0	100,0 ± 0,0
3	Л-346	117,2 ± 2,8	100,0 ± 0,0	100,0 ± 0,0
4	Н-100	109,8 ± 2,1	100,0 ± 0,0	100,0 ± 0,0
5	Н-140	55,4 ± 3,1	26,5 ± 2,7	38,1 ± 2,1
6	Н-89	106,7 ± 1,9	100,0 ± 0,0	100,0 ± 0,0
7	Э	109,7 ± 2,7	100,0 ± 0,0	100,0 ± 0,0
8	Н-14	103,7 ± 1,3	100,0 ± 0,0	100,0 ± 0,0
9	Гепарин	154,7 ± 3,7	100,0 ± 0,0	100,0 ± 0,0

Примечание: данные достоверны ( $p < 0,05$ ).

Соединение Н-140 значительно сокращало время образования сгустка по всем исследуемым параметрам, проявляя прокоагуляционную активность. Но при макроскопической оценке – в кювете коагулометра жидкая плазма с сформированными нитями фибрина. Для оценки механико-

физических характеристик данное соединение было исследовано методом тромбозластографии на обедненной тромбоцитами плазме человека на аппарате ТEG 5000 в конечной концентрации  $10^{-3}$  г/мл. Результаты исследования представлены в табл. 3 и на рис. 3.

Таблица 3

Показатели тромбозластограммы обедненной тромбоцитами плазмы в присутствии Н-140

Соединения	Н-140	Контроль
Основные параметры		
R, min	1,4	7,9
K, min	13,2	3,3
Angle, deg	16,5	70,3
MA, mm	38,0	62,1
LY30, %	0,5	0,0
CI, %	-19,3	100,0

В ходе исследования установлено, что время образования первых нитей фибрина и скорость роста фибриновой сети снижены, но при этом значительно увеличено время достижения фиксированного уровня прочности сгустка, а показатели коагуляционного индекса свидетельствуют

о гипокоагуляции. Образовавшийся сгусток по механико-физическим характеристикам является неполноценным, с тенденцией к повышенному лизису, что может являться показателем нарушений энзиматической части коагуляционного каскада.

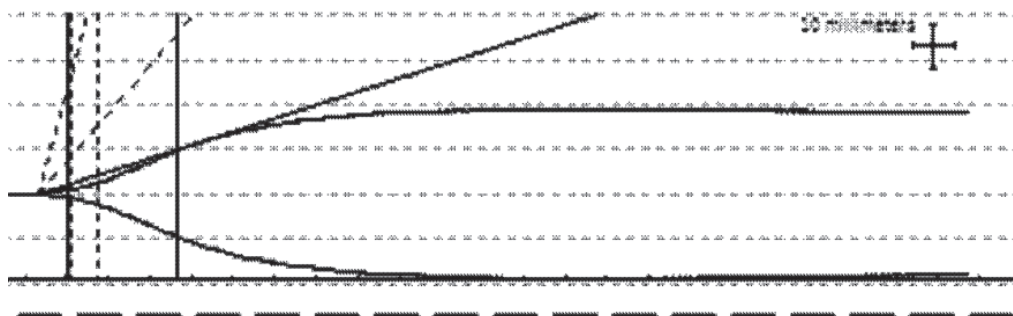


Рис. 3. Тромбоэластограмма соединения H-140

Таким образом, в ходе исследования установлено различное влияние впервые синтезированных азотсодержащих гетероциклических производных на систему гемостаза, найдены активные соединения H-140, Л-355, что показывает перспективность дальнейших исследований среди производных данного ряда.

#### Список литературы

1. Баркаган З.С. Геморрагические заболевания и синдромы. – 2-е изд., перераб. и доп. – М.: Медицина, 1988. – С. 8–35.
2. Клен Е.Э. 3,5-Дибром-1-(1,1-диоксотетан-3-ил)-1,2,4-триазол – новый реагент для синтеза 3-замещенных тетран-1,1-диоксидов / Ф.А. Халиуллин, Н.Н. Макарова // Журн. органич. химии. – 2008. – Т. 44, № 11. – С. 1729–1731.
3. Клен Е.Э. Гетероциклизация 3,5-дибром-1-(тиранил-2-метил)-1,2,4-триазола в 5-замещенные 2-бром-5,6-дигидро-1,2,4-триазоло[3,2-*b*]-1,2,4-триазолы / Ф.А. Халиуллин // Журн. органич. химии. – 2009. – Т. 45, № 3. – С. 477–478.
4. Поляков А.Е. Метод исследования агрегационной функции тромбоцитов / В.А. Черняк // Лабораторное дело. – 1989. – №10. – С. 19–20.
5. Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ / под общ. ред. Р.У. Хабриева. – 2-е изд., перераб. и доп. – М.: Медицина, 2005. – С. 461–476.
6. Born G.V.R. Aggregation of blood platelets by adenosine diphosphate and its reversal // Nature. – 1962. – Vol. 194 4832. – P. 924–929.
7. Khorana A.A., Francis C.W., Culakova E. et al. Thromboembolism is a leading cause of death in cancer patients receiving outpatient chemotherapy // J Thromb Haemost. – 2007. – №5. – P. 632–634.

#### Рецензенты:

Фазлыев М.М., д.м.н., профессор, начальник госпиталя медико-санитарной части МВД по Республике Башкортостан, Уфа;

Никитина И.Л., д.м.н., профессор, директор филиала федерального государственного учреждения «Консультативно-методический центр лицензирования» Федеральной службы по надзору в сфере здравоохранения и социального развития по Республике Башкортостан, Уфа.

## THE SCREENING OF ACTIVE COMPOUNDS IN DERIVATIVE NITROGEN-BASED HETEROCYCLES AFFECTING HEMOSTASIS

**Kamilov F.CH., Timirkhanova G.A., Samorodov A.V., Klen E.E.,  
Makarova N.N., Khaliullin F.A.**

*Bashkirian State Medical University, Ufa, e-mail: avsamorodov@gmail.com*

The article describes the study of biological activity in first synthesized 8 nitrogen-based heterocyclic derivatives. It shows differences in impact of the compounds on blood coagulability and findings pertaining to the efficiency of screening of bioactive substances.

**Keywords: blood, platelets, aggregation, antiaggregation activity, anticoagulation activity, nitrogen-based heterocyclic derivatives**