
СКРИНИНГ СОЕДИНЕНИЙ, ОБЛАДАЮЩИХ АНТИАГРЕГАЦИОННОЙ АКТИВНОСТЬЮ СРЕДИ ПРОИЗВОДНЫХ БЕНЗИМИДАЗОЛА И КСАНТИНА

Г.А. Тимирханова, А.В. Самородов, Е.Э. Клен,
О.Ю. Травников, Д.А. Еникеев, В.А. Катаев

ГОУ ВПО «Башкирский государственный медицинский университет Росздрава»
ул. Ленина, 3, Уфа, Республика Башкортостан, 450000

Исследована антиагрегационная активность впервые синтезированных производных бензимидазола и ксантина. Установлено различное влияние данных соединений на адгезивно-агрегационную функцию тромбоцитов. Найдено активное соединение, Л-65, подавляющее агрегацию тромбоцитов и обладающее дезагрегационным эффектом на уровне ацетилсалициловой кислоты.

В настоящее время все большее значение в патогенезе различных заболеваний (инфаркт миокарда, онкологические образования, атеросклероз, ревматизм и др.) придается нарушениям в системе гемостаза. Внутрисосудистое тромбообразование имеет важное значение в связи с широким распространением среди нарушений в системе свертывания крови, а также высоким удельным весом этой патологии в общей структуре причин летальности среди взрослого населения. По данным ВОЗ, ежегодно в современном мире около 25 миллионов человек являются жертвами тромбоза. Тромбоз глубоких вен в общей популяции возникает с частотой в 160 случаев на 100 000 населения в год. В результате наиболее опасного проявления — тромбоемболии легочной артерии ежегодно погибает 1 из 1000 жителей планеты. При этом тромбозы артерий провоцируют до 95% всех крупноочаговых инфарктов миокарда и 85% инсультов головного мозга.

Известно, что тромбообразование осуществляется в результате сложных взаимоотношений и взаимодействий разнообразных этиологических факторов и патогенетических механизмов. Ведущую роль в тромбообразовании отводится состоянию сосудистой стенки, гуморальным и тканевым факторам, показателям гемодинамики и адгезивно-агрегационной функции тромбоцитов [1].

В настоящее время существует большое количество лекарственных средств, позволяющих в лечебных и профилактических целях воздействовать на свертывающую систему крови. Однако наряду с антиагрегационной активностью лекарственные средства оказывают ряд других свойств, что ограничивает их применение в качестве специфических, эффективно и избирательно действующих средств для регуляции тромбоцитарного гемостаза.

Методы исследования. В настоящей работе представлены результаты исследования влияния на агрегационную функцию тромбоцитов производных бензимидазола и ксантина, впервые синтезированных на кафедре фармацевтической химии Башкирского государственного медицинского университета [2, 3]. В ходе исследования проведен скрининг данных гетероциклических соединений. Для наиболее активных — изучена зависимость эффекта от концентрации.

Исследование проводили *in vitro* по методу Vorn в модификации O'Brien на агрегометре «Thromlite-1006A» на донорской крови человека [4]. Метод основан

на регистрации изменения оптической плотности богатой тромбоцитами плазмы до и после введения определенного количества индуктора агрегации тромбоцитов. В качестве индуктора агрегации использовали аденозиндифосфат (АДФ) в разной концентрации (рис. 1). Препарат сравнения — ацетилсалициловая кислота.

При анализе агрегатограмм обращали внимание на спонтанную агрегацию тромбоцитов, вызванную введением исследуемого вещества в плазму, рассчитывали степень подавления или усиления агрегации под действием производных бензимидазола и ксантина, изучали дезагрегационный эффект соединений [5].

Обсуждение результатов. Результаты исследований представлены в табл. 1, где отображены наиболее активные соединения, оказывающие эффект на адгезивно-агрегационную функцию тромбоцитов.

Из таблицы видно, что почти все соединения подавляют агрегацию тромбоцитов на 7,5—49,0%. Наименьшую активность показало соединение под шифром ХЗ-6, являвшееся производным ксантина, которое подавляло агрегацию тромбоцитов на 7,5% относительно контроля.

Соединения Н-24 и Л-98 оказали более выраженное действие на АДФ-индуцированную агрегацию тромбоцитов. Они подавляли агрегацию тромбоцитов соответственно на 11,5% и 16,1% относительно контроля. Действие соединений на дезагрегацию не обнаружено.

Ингибирующее действие на агрегационную функцию тромбоцитов оказали также соединения Л-112 (рис. 2) и ХЗ-9. При предварительной инкубации с богатой тромбоцитами плазмой соединения подавляли агрегацию тромбоцитов соответственно на 31,0% и 24,4%.

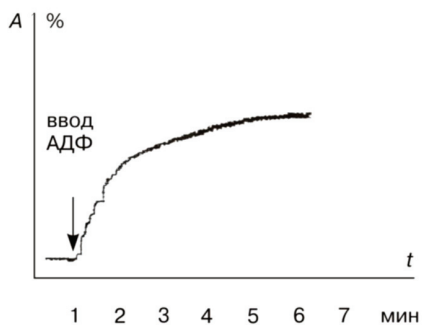


Рис. 1. Агрегация тромбоцитов, индуцированная АДФ

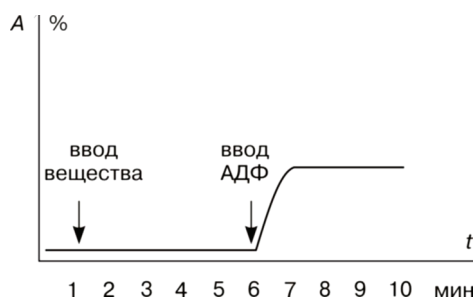


Рис. 2. Влияние соединения Л-112 на АДФ-индуцированную агрегацию тромбоцитов

Соединения Л-19, Л-78, Л-96 и Л-65 наряду с подавлением АДФ-индуцированной агрегации тромбоцитов вызывали дезагрегацию тромбоцитарных агрегатов. При предварительной инкубации с плазмой соединение Л-78 подавляло агрегацию тромбоцитов, индуцированную введением АДФ, на 12,0% относительно контроля. Введение вещества на высоте АДФ-индуцированной агрегации тромбоцитов привело к распаду в течение 5 минут 8,0% первоначально существующих агрегатов. Соединение Л-96 оказало аналогичное действие, соответственно подавляя АДФ-индуцированную агрегацию и усиливая дезагрегацию тромбоцитов на 18,2% и 3,0%.

Влияние производных бензимидазола и ксантина на агрегацию и дезагрегацию тромбоцитов

№ п/п	Шифр соединения	Предварительная инкубация плазмы с соединением		Введение соединений на высоте АДФ-индуцированной агрегации тромбоцитов	
		подавление АДФ-индуцир. агрегации тромбоцитов (% к контролю)	усиление АДФ-индуцир. агрегации тромбоцитов (% к контролю)	усиление АДФ-индуцир. агрегации тромбоцитов (% к контролю)	% распавшихся агрегатов (ч/з 5 мин. к контролю)
1	ХЗ-6	7,5	—	—	—
2	Н-24	11,5	—	—	—
3	Л-78	12,0	—	—	8,0
4	Л-102	14,3	—	4,0	—
5	Л-98	16,1	—	—	—
6	Л-96	18,2	—	—	3,0
7	Л-95	23,7	—	—	—
8	ХЗ-9	24,4	—	—	—
9	Л-19	27,5	—	—	14,0
10	Л-97	28,0	—	6,5	—
11	Л-114	28,0	—	—	—
12	Л-112	31,0	—	—	—
13	Л-65	49,0	—	—	15,2

Разнообразное действие оказало соединение Л-19. В концентрации 5×10^4 М в кювете агрегометра оно ингибировало агрегацию тромбоцитов на 27,5%. Кроме того, соединение вызывало дезагрегацию образующихся тромбоцитарных агентов на высоте АДФ-индуцированной агрегации в течение 5 минут распад 14,0% тромбоцитарных агрегатов.

Еще более выраженное действие на функциональную активность тромбоцитов показало соединение Л-65. Введение 10^{-3} М вещества в кювету агрегометра за 5 мин. до индуктора привело к подавлению агрегации тромбоцитов на 49,0% относительно контроля. Полученные агрегаты быстро распадались — через 2 мин. после ввода АДФ — 19,0%, а через 5 мин. уже 57,4% первоначально существующих агрегатов. 50% тромбоцитарных агрегатов распалось в течение 3,5 минут после достижения максимума агрегации (рис. 3). Введение соединения на высоте АДФ-индуцированной агрегации в течение 5 минут привело к дезагрегации 15,2% первоначально существующих агрегатов тромбоцитов (рис. 4). Результаты подтверждаются графически.

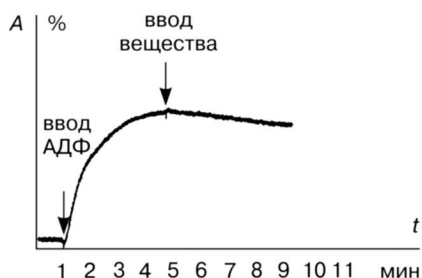


Рис. 3. Влияние соединения Л-65 на АДФ-индуцированную агрегацию тромбоцитов

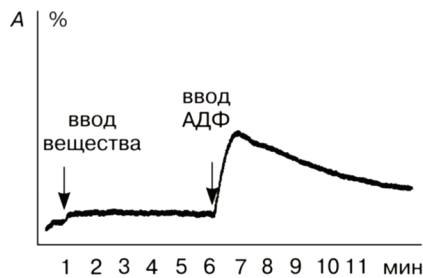


Рис. 4. Влияние соединения Л-65 на дезагрегацию агрегатов тромбоцитов

Соединения Л-107, Л-95 и Л-114 при введении в богатую тромбоцитами плазму вызывают спонтанную агрегацию тромбоцитов.

Так, соединение Л-95 при введении в плазму индуцирует и увеличивает агрегацию тромбоцитов на 5,3% относительно контроля. Последующее введение индуктора привело к снижению АДФ-индуцированной агрегации тромбоцитов на 23,7% относительно контроля.

Соединение Л-114 при введении в плазму также вызывает спонтанную агрегацию тромбоцитов (9,8% относительно контроля). Введение АДФ через 5 минут после вещества приводит к снижению агрегации тромбоцитов на 28,0% относительно контроля.

Аналогично и соединение Л-107 при введении в плазму индуцирует спонтанную агрегацию тромбоцитов на 15,0% относительно контроля. Кроме того, соединение обладает антиагрегационной активностью и ингибирует АДФ-индуцированную агрегацию тромбоцитов на 9,0% относительно контроля.

Соединения Л-97 и Л-102 при введении на высоте АДФ-индуцированной агрегации тромбоцитов вызывают усиление агрегации соответственно на 6,5% и 4,0% относительно контроля. При введении в плазму оба соединения вызывают спонтанную агрегацию тромбоцитов (8,7% и 8,2% относительно контроля). Кроме того, они проявляют антиагрегационную активность и ингибируют АДФ-индуцированную агрегацию тромбоцитов на 28,0% и 14,3% соответственно.

Для сравнения антиагрегационной активности изучаемых соединений была исследована активность ацетилсалициловой кислоты. Установлено, что в концентрации 10^{-3} М препарат ингибирует АДФ-индуцированную агрегацию тромбоцитов в среднем на 56,0%.

По результатам скрининга отобрано три соединения Л-65, Л-112, Л-97, оказавших наиболее выраженное влияние на агрегацию тромбоцитов и изучена зависимость эффекта от концентрации. Исследование проводили согласно алгоритму проведения эксперимента с использованием растворов веществ различной концентрации (10^{-3} , 10^{-4} , 10^{-5} , 10^{-6}). Максимальный эффект наблюдался в концентрации 10^{-3} — 10^{-5} М в кювете агрегометра. Соединение Л-65 подавляет агрегационную функцию тромбоцитов на уровне ацетилсалициловой кислоты.

Таким образом, в ходе исследования установлено различное влияние производных бензимидазола и ксантина на адгезивно-агрегационную функцию тромбоцитов. Найдено наиболее активное соединения Л-65, обладающее выраженной антиагрегационной активностью, что подтверждает перспективность дальнейших исследований среди данных производных.

ЛИТЕРАТУРА

- [1] Баркаган З.С. Геморрагические заболевания и синдромы. — М., 1988.
- [2] Катаев В.А., Садыков Р.Ф., Халиуллин Ф.А., Сибиряк С.В., Алехин Е.К., Волкова С.С. // ХФЖ. — 1996. — № 7. — С. 22.
- [3] Катаев В.А., Спирихин Л.В., Халиуллин А.Н., Гайлюнас И.А. // ЖОХ. — 2002. — Т. 38. — № 10. — С. 150.

- [4] *Born G.V.R.* Aggregation of blood platelets by adenosine diphosphate and its reversal // *Nature*. — 1962. — Vol. 194 4832 — P. 924—929.
- [5] *Поляков А.Е., Черняк В.А.* Метод исследования агрегационной функции тромбоцитов // *Лабораторное дело*. — 1989. — 10. — С. 19—20.
- [6] *Кубанцева И.В., Ермолаев Ю.А., Трофимова Т.А.* Побочные действия лекарственных средств. — М., 1976. — С. 203—206.

THE SCREENING OF THE COMPOUNDS WITH ANTIAGGREGATION ACTIVITY AMONG BENZIMIDAZOLE AND XANTINE

**G.A. Timirkhanova, A.V. Samorodov, YE.E. Klyen,
O.Y. Travnikov, D.A. Enikeyev, V.A. Katayev**

Bashkirian State Medical University
Lenin str., 3, Ufa, Republic of Bashkortostan, Russia, 450000

Antiaggregation activity of first synthesized benzimidazole and xantine derivatives has been studied. Differences in impact of the compounds on blood coagulability have been shown. We have synthesized L-65, on active compound, that suppresses platelet aggregation and has an acetylsalicylate acid-like effect. The results obtained concerning the screening of bioactive substances are promising.

Key words: blood, platelets, aggregation, antiaggregation activity, benzimidazole, xantine.