



Биол. журн. Армении, 1 (62), 2010

## ОСОБЕННОСТИ АНТИКОАГУЛЯНТНОГО ДЕЙСТВИЯ СИНТЕТИЧЕСКОГО СОЕДИНЕНИЯ КУМАРИНОВОЙ ПРИРОДЫ С ВЫСОКОЙ СТЕПЕНЬЮ ТЕРАПЕВТИЧЕСКОЙ ЭФФЕКТИВНОСТИ

С.С. ОВАКИМЯН

Научно-технологический центр органической и фармацевтической химии НАН РА  
E-mail kkaragezyan@mail.ru

Показана высокая степень антикоагулянтного действия сверхнизких концентраций (10-12 М) синтетического препарата кумаринового ряда под условным названием ГШ-17, представляющего собой N-морфолилтио-уреидо-3-карбамоил производное кумарина. Последнее характеризовалось ингибирующим действием указанного физиологически активного соединения на протромбиновое время крови и тромбопластическую активность мозговой и миокардиальной тканей экспериментальных животных, что представляет не только существенный академический интерес, но имеет также важное прикладное значение.

*Протромбиновое время – тромбопения - тромбопластическая  
активность - аллоксановый диабет, плазма крови - мозговая ткань -  
миокардиальная ткань - ГШ-17*

Ցույց է տրված կումարինային շարքին պատկանող, ԳՇ-17 պայմանական անվանմամբ, սինթետիկ միացության գերցածր չափաբաժինների (10-12 Մ) վառ արտահայտված հակամակարդիչ արդյունավետությունը: Վերջինս պայմանվորված է նշված ֆիզիոլոգիապես ակտիվ միացության, որն իրենից ներկայացնում է կումարինի N-մորֆոլիլթիոուրեիդո-3-կարբամոիլ ածանցյալ, արյան պրոթրոմ-բինային ժամանակը երկարեցնող, ինչպես նաև, փորձարարական կենդանիների ուղեղային և սրտամկանային հյուսվածքների տրոմբոպլաստինային ակտիվությունը ճնշող հատկությամբ: Ստացված արդյունքները ներկայացնում են ոչ միայն լուրջ ակադեմիական հետաքրքրություն, այլ ունեն նաև կարևոր կիրառական նշանակություն:

*Պրոթրոմբինային ժամանակ (թրոմբոպենիա - թրոմբոպլաստինային  
ակտիվություն - ալլոքսանային շաքարախտ - արյան պլազմա - ուղեղային  
հյուսվածք - սրտամկանային հյուսվածք - ԳՇ-17*

High level of anti clotting action of super low concentrations (10-12 M) of a synthetic analogue with coumarin nature has been shown. The functional activity of the latter is characterized by inhibitory action on the prothrombin time of blood as well as on the thromboplastic activity of brain and myocardial tissues of experimental animals. The results of these investigations not only introduce serious academic interest, but also have a significant practical importance.

*Prothrombin time – thrombopenia - thromboplastic activity - alloxan-modulated  
diabetes mellitus - blood plasma - brain tissue - myocardial tissue - GSh-17*

Результаты ранее проведенных исследований Г.Х. Бунятына и сотрудников [3,4,13] подтверждают зависимость времени свертывания крови (ВСК) от сдвигов протромбинового времени (ПВ), тромбопластической активности (ТА), содержа-

ния ионов кальция, фибриногена, колебаний фибринолитической активности, а также от структурно-функциональных особенностей ряда других факторов про- и антикоагулянтного действия в составе форменных элементов крови. Согласно неоднократно поступающей информации ВСК выступает в качестве наиболее быстро реагирующего показателя на действие максимально низких концентраций адреналина, колеблющихся в пределах 1 γ. В то же время отмеченные выше классические регуляторы этого процесса не проявляют признаков мобилизованности и ожидаемого активного вовлечения в различные этапы развития процесса гемокоагуляции [14]. Описанный феномен является доказательством существования многочисленных, до сих пор не выявленных ингредиентов системы свертывания крови, наделенных, по всей вероятности, исключительно высокой энергией реактивности по части своевременного адекватного реагирования на действие эндогенных и экзогенных факторов химической и физической природы. Выскаянная точка зрения соответствует укоренившемуся мнению о невторостепенной роли различных липидов, главным образом фосфолипидов (ФЛ) нейтральной и кислой природы (НФЛ и КФЛ соответственно), выступающих в качестве активаторов НФЛ и ингибиторов КФЛ этого процесса [5]. В связи с отмеченным сформировалась принципиально новая позиция о про- и антикоагулянтной роли отдельных представителей гликолипидов [20] и ФЛ [16]. Одним из частных проявлений вышеотмеченного являются феномены, развивающиеся с участием указанных соединений при физиологически и патологически протекающей беременности [15]. Основным метаболическим механизмом подключения факторов липидной природы признается их стимулирующее воздействие на активность ферментативных процессов различной направленности [10], в частности на уровне микросомального аппарата клетки [8], трансдукцию внешнего сигнала внутрь клетки [9], катализ процессов клеточного роста и размножения [6], регенерацию утраченных структурно-организационных элементов [7].

Из последующих сообщений [21], стало известно об антикоагулянтном действии ряда липопротеинов высокой плотности, оказывающих ингибирующее влияние на активность факторов свертывающей системы крови. Особого внимания при этом заслуживают сдвиги ПВ в виде гипопротромбинемии (ГПЕ), развивающиеся под влиянием ряда известных факторов антикоагулянтного действия. Проявления ГПЕ, фиксируемые при инициации патологических отклонений на уровне клеточных структур, совершаются при активном участии β-2-гликопротеина с высоким индексом иммуносупрессорного эффекта, контролируемого стероидными гормонами [23] и статусом динамического равновесия между системами про- и антиоксидантного действия. В связи с отмеченным, примечательны методические подходы по своевременному применению антиоксидантотерапии как эффективного метода коррекции нарушений процесса гемокоагуляции, получившего широкое распространение в оптимизации состояния интеграции многочисленных факторов, в том числе и различных ФЛ, включающихся в структурную организацию протромбина (П) [22].

Целью настоящей работы являлось проведение специальных исследований по изучению особенностей действия одного из актуальных синтетических препаратов - N-морфолилтиоуреидо-3-карбамоил производного кумарина под кодовым названием ГШ-17 на динамику ПВ крови и ТА мозговой и миокардиальной тканей белых крыс в эксперименте.

**Материал и методика:** Исследования по сдвигам ПВ проводили на оксалатной плазме крови 120 беспородных белых крыс-самцов, массой 180-200 г, предварительно голодавших в течение 12 ч и содержащихся в обычных условиях вивария.

Забор крови производили проколом шприцем места слияния верхней поллой и подключичной вен (angulus venosus) до инъекции препарата (контроль) и через 10, 30, 60 мин после в/в введения его 1%-ого р-ра в количестве 0.1, 0.2, 0.3, 0.4, 0.5 мл. Объемные соотношения между забираемой кровью и предварительно набранным в шприц стабилизатором (оксалат натрия, гепарин) соблюдались в пределах 9:1. Отделенную центрифугированием при 6000 об/мин плазму крови хранили в холодильнике при 4-8°. Расчет ПВ производили в с образования кровавого сгустка известным методом с использованием раствора тромбопластина (Т), изготовляемого из цельного мозгового гомогената контроль-

ных белых крыс. От умерщвленных декапированием под легким эфирным наркозом животных в максимально ограниченные промежутки времени на холоду производили изолирование исследованных органов, освобождение их от кровеносных сосудов и декапсулирование, а также многократное промывание их охлажденным физиологическим раствором и обезжизнение механическим пропитанием фильтровальной бумагой. ТА определяли с использованием в качестве источника П контрольной плазмы крови интактных белых крыс или людей-доноров.

**Результаты и обсуждение:** Согласно результатам, отраженным в табл.1, ГШ-17 при в/в введениях выступает в качестве эффективного ингибитора активности П, особенно при использовании минимальных доз – 0,1 и 0,2 мл его 1%-ого раствора уже на 10-й мин после инъекции, что выражается в статистически достоверном удлинении ПВ по сравнению с контролем. Противоположные сдвиги ПВ были зарегистрированы спустя 30 и тем более 60 мин после инъекции указанных концентраций препарата, когда их расхождения от величины этого показателя у интактных животных оказались статистически недостоверными, свидетельствуя тем самым о полном восстановлении исходных величин ПВ.

Изучение особенностей сдвигов ТА мозговой и миокардиальной тканей с проведением сравнительной оценки характера и глубины их проявлений в зависимости от объекта исследования, дозы примененного агента и длительности его экспозиции, привело к установлению ряда интересных закономерностей.

На основании данных, приведенных в табл. 2, величина исходной ТА оказывается наиболее высокой в головном мозге и затем в сердечной мышце, составляя соответственно  $19,0 \pm 0,68$  и  $35,0 \pm 0,98$ . Начиная с 10-й мин после в/в введения всех испытанных концентраций 1%-го р-ра ГШ-17, главным образом его минимальных доз, обнаруживалось статистически достоверное падение ТА исследованных тканей, наиболее обостряющееся на 30-й и особенно 60-й мин действия препарата.

Полученный нами фактический материал свидетельствует о ярко выраженном избирательном ингибирующем действии примененных доз препарата ГШ-17, в особенности его наиболее низких концентраций на ТА исследованных тканей, а также о высокой степени его активности в нормально метаболизирующей мозговой ткани, с трудом поддающейся воздействию ингибирующего агента.

Вместе с тем возможным объяснением особенностей биохимических и молекулярно-биологических механизмов развития отмеченных сдвигов, по всей вероятности, может стать филогенетически признанный статус постоянства исключительно высокого стабилизированного уровня в мозговой ткани различных категорий ФЛ-глицеридов [18], наделенных свойствами стимулирования прокоагулянтной активности крови. К числу последних причисляются фосфатидилхолины (ФХ), лизофосфатидилхолины (ЛФХ), сфингомиелины (СФМ), а также фосфатидилэтанолламины (ФЭ) и их лизопроизводные, вписывающиеся в структурную организацию Т в роли мощных стимуляторов их функциональной активности.

Касаясь категории кислых ФЛ – фосфатидилсеринов (ФС), монофосфоинозитидов (МФИ), полифосфоинозитидов (ПФИ), кардиолипидов (КЛ) и фосфатидных кислот (ФК), активно комплексующихся с факторами антикоагулянтного действия как природными (типа гепарина), так и синтетическими [12,22], следует отметить высокий уровень их стабилизирующего действия на процесс гемокоагуляции. Поэтому нарушения балансирования между качественно-количественным составом функционально различных категорий нейтральных ФЛ (ФХ, ЛФХ, СФМ, ФЭ) и кислых представителей этих соединений (ФС, МФИ, ПФИ, КЛ, ФК) чреваты грубыми осложнениями нормального гемокоагуляционного статуса организма, вплоть до внутрисосудистого тромбообразования [19], имеющими место при расстройствах его функциональной активности, осложняющихся развитием различных патологических состояний.

Таким образом, ТА исследованных тканей и ПВ плазмы крови экспериментальных животных демонстрируют высокую степень реактивности, проявля-

ющейся под действием минимальных доз препарата ГШ-17 в полном соответствии с развиваемой в последнее время концепцией проф. Е.Б. Бурлаковой об исключительно высокой функциональной активности низких концентраций факторов химической и физической природы [1,2,6,10,11,17].

**Таблица 1**  
Динамика изменения протромбинового времени (в сек) плазмы крови белых крыс с моделированным аллоксаном сахарным диабетом через 10, 30 и 60 мин после внутривенного введения им 0,1, 0,2, 0,3, 0,4 и 0,5 мл 1 %-ого раствора препарата ГШ-17

Здоровые (ЗД)	Диабет	Время после введения препарата																																				
		10 мин		30 мин		60 мин		0,1 мл		0,2 мл		0,3 мл		0,4 мл		0,5 мл		% Разницы от ЗД																				
15,8±0,51	10,9±0,39	- 31,1	13,0±0,48 <sup>а</sup>	- 17,7	13,4±0,60 <sup>а</sup>	- 20,3	12,9±0,44 <sup>а</sup>	- 18,4	12,5±0,39 <sup>а</sup>	- 20,9	12,1±0,40 <sup>а</sup>	- 23,4	16,0±0,48	10,1±0,38	- 36,9	15,1±0,47 <sup>б</sup>	- 6,0	13,4±0,60 <sup>а</sup>	- 13,7	13,4±0,41 <sup>а</sup>	- 16,2	13,0±0,47 <sup>а</sup>	- 18,7	13,2±0,42 <sup>а</sup>	- 17,5	15,8±0,47	9,5±0,37	- 39,9	15,6±0,46 <sup>б</sup>	- 1,3	13,4±0,60 <sup>а</sup>	- 3,8	14,9±0,40 <sup>б</sup>	- 5,7	14,4±0,43 <sup>а</sup>	- 8,9	13,7±0,61 <sup>а</sup>	- 13,3

Примечания: <sup>а</sup>-p<0,001; <sup>б</sup>-p<0,01; в-р<0,5

**Таблица 2**  
Динамика изменения тромбластической активности (в сек ПВ) мозговой и миокардальной тканей белых крыс через 10, 30 и 60 мин после внутривенного введения им 0,1, 0,2, 0,3, 0,4 и 0,5 мл 1 %-ого раствора препарата ГШ-17

Ткани	Здоровые (ЗД)	Диабет	Время после введения препарата																																				
			10 мин		30 мин		60 мин		0,1 мл		0,2 мл		0,3 мл		0,4 мл		0,5 мл		% Разницы от ЗД																				
Мозговая	19,8±0,66	11,6±0,60 <sup>а</sup>	- 41,4	13,9±0,61 <sup>а</sup>	- 29,8	13,4±0,60 <sup>а</sup>	- 32,3	13,5±0,60 <sup>а</sup>	- 31,8	13,7±0,61 <sup>а</sup>	- 30,8	13,8±0,61 <sup>а</sup>	- 30,3	35,6±0,97	28,8±0,93 <sup>а</sup>	- 19,1	32,3±0,87 <sup>б</sup>	- 9,0	30,9±0,91 <sup>б</sup>	- 13,2	30,4±0,90 <sup>б</sup>	- 14,4	30,2±0,89 <sup>а</sup>	- 15,2	30,0±0,87 <sup>а</sup>	- 15,7	19,4±0,66	11,8±0,60 <sup>а</sup>	- 39,2	17,1±0,60 <sup>б</sup>	- 11,9	14,1±0,61 <sup>а</sup>	- 27,3	13,9±0,59 <sup>а</sup>	- 28,4	13,9±0,63 <sup>а</sup>	- 29,4	14,1±0,61 <sup>а</sup>	- 27,3
Миокард	35,3±0,91	28,1±0,90 <sup>а</sup>	- 20,4	32,9±0,81 <sup>б</sup>	- 6,8	31,9±0,89 <sup>б</sup>	- 9,6	31,5±0,87 <sup>а</sup>	- 10,8	31,4±0,87 <sup>а</sup>	- 11,0	31,7±0,85 <sup>а</sup>	- 10,2	20,0±0,67	11,7±0,59 <sup>а</sup>	- 41,5	19,2±0,67 <sup>а</sup>	- 4,0	17,3±0,61 <sup>б</sup>	- 13,5	14,8±0,57 <sup>а</sup>	- 26,0	14,1±0,63 <sup>а</sup>	- 29,5	14,9±0,63 <sup>а</sup>	- 25,5	35,9±0,91	28,9±0,61 <sup>а</sup>	- 19,5	35,5±0,93 <sup>а</sup>	- 1,1	32,9±0,77 <sup>б</sup>	- 8,4	32,3±0,87 <sup>б</sup>	- 10,0	31,9±0,87 <sup>б</sup>	- 11,2	32,9±0,85 <sup>а</sup>	- 8,4

Примечания: <sup>а</sup>-p=60; остальные обозначения те же, что и в табл. 1

## ЛИТЕРАТУРА

1. Ашмарин И.П., Лелекова Т.В. К вопросу о развитии проблемы эффективности сверхмалых доз биологически активных соединений. Рос. хим. журнал, 43, с. 21-28, 1999.
2. Блюменфельд Л.А. Понятие конструкции в биологической физике. Рос. хим. журнал, 43, с. 15-20, 1999.
3. Бунятян Г.Х., Казарян Б.А., Карагезян К.Г., Гулян Э.А. К вопросу о проникновении  $\square$ -аминомасляной кислоты через гематоэнцефалический барьер. ДАН Арм. ССР, 40, 5, с. 289-295, 1965.
4. Бунятян Г.Х. О одновременном образовании условной связи на различные звенья обмена веществ. Тез докл. науч. сессии, посвященной вопросам высшей нервной деятельности и компенсаторным приспособлениям. Изд. АН Арм ССР, Ереван, с. 9-12, 1953.
5. Бунятян Г.Х., Карагезян К.Г. Условнорефлекторные сдвиги некоторых сторон свертывающей системы крови. ДАН СССР, ХСІХ, 5, с. 831-833. 1954.
6. Бурлакова Е.Б. Особенности действия сверхмалых доз биологически активных веществ и физических факторов низкой интенсивности. Рос. хим. журнал, 43, с. 3-11, 1999.
7. Бурлакова Е.Б. Действие фенозана и экзогенного ацетилхолина на ацетилхолинэстеразу и систему липидной пероксидации в мембранах клеток головного мозга. Рос. хим. журнал, ХLІІІ, 5, с. 63-71, 1999.
8. Бурлакова Е.Б., Гвахария В.О., Глуценко Н.Н., Дупин А.И. Исследование роли липидов в регуляции активности микросомальной глюкозо-6-фосфатазы при модификации микросом *in vivo* и *in vitro*. Биохимия, 44, 6, с. 1111-1116, 1979.
9. Бурлакова Е.Б. Роль липидов в передаче информации в клетке. Сб.: Биохимия липидов и их роль в обмене веществ. М. Наука. с. 23-25, 1981.
10. Веселовский В.А., Веселова Т.В., Чернявский Д.С. Трехфазная (парадоксальная) дозовая зависимость реакций растительной клетки на факторы внешней среды. Рос. хим. журнал, 43, с. 49-54, 1999.
11. Едоян Л.В. Качественно-количественные нарушения фосфолипидов субклеточных образований гепатоцитов аллоксандиабетических белых крыс и коррегирующее действие сверхнизких доз факторов химической и физической природы. Автореф. .... канд. биол. наук, Ереван, 26 с. 2004.
12. Карагезян К.Г., Овакимян С.С., Погосбекова С.Д. Фосфолипиды и тримбопластины различных отделов головного мозга в норме и при состояниях возбуждения. Бюл. эксп. биол. и мед., N 8, с. 6-8. 1975.
13. Карагезян К.Г. Неодновременные сдвиги в системе свертывания крови при условнорефлекторном возбуждении и торможении. ДАН Арм. ССР. 20, 1, с. 27-32, 1955.
14. Карагезян К.Г. Безусловнорефлекторные и условнорефлекторные сдвиги некоторых сторон системы свертывания крови и углеводного обмена при воздействии различных доз адреналина. ДАН СССР. 118, 1, с. 142-145, 1958.
15. Карагезян К.Г., Овакимян С.С., Тевосянц А.В. Роль фосфолипидов в активировании и торможении процесса свертывания крови. ДАН СССР, 201, 2, с. 486-489. 1971.
16. Карагезян К.Г., Овакимян С.С., Тевосянц А.В. Эффекты этаноламинфосфатидов и серинфосфатидов на отдельные звенья свертывающей системы крови. ДАН СССР, 201, 3, с. 733-736. 1971.
17. Клеменкова З.С., Антипов Б.Г., Черников Ф.Р., Гусинина М.М., Рibaкова Е.Ю. Сравнительная оценка эффективности сверхнизких доз факторов химической и физической природы. Рос. хим. журнал, 43, с. 34-39. 1999.
18. Крепс Е.М. Кн.: Липиды клеточных мембран. Л., Наука, 338 с., 1981.

19. *Овакимян С.С.* Фосфолипиды фибриногена и изменения их содержания в процессе фибринообразования. Автореф. дисс, Ереван, 31 с., 1970.
20. *Buniatian H.Kh.* Studies of the role of gamma-aminobutyric acid in carbohydrates metabolism. Yerevan. 50 p., 1961.
21. *Griffin J.H., Kojima K., Banka C.L. et al.* J. Lipoproteins in anticoagulant activity. J. Clin. Invest. 103, 2, p. 219-227, 1999.
22. *Pengo V., Basilio A., Rampazzo P. et al.* The role of phospholipids in structural organization of prothrombin. Thromb. res. 81, 2, p. 256-258, 1999.
23. *Rashid M., Durie P., Andrew M. et al.* Dependence of immune suppressor activity from functional state of steroid hormones. Am. J. Clin. Nutr. 70, 3, p. 378-382, 1999.

*Поступила 04.12.2009.*