

УДК 616.151.5+621.8.039+547.587.87

А.В. Казарян, С.С. Овакимян, Э.С. Секоян, академик К.Г. Карагезян

Особенности антикоагулянтных свойств вновь синтезированных препаратов кумаринового ряда

(Представлено 30/XI 2005)

Ключевые слова: протромбиновое время, кумарин, тромбопластическая антивность, жирные кислоты

Исследования последних лет свидетельствуют о важной роли некоторых соединений кумаринового ряда в ингибировании реакций неферментативного перекисления липидов в клеточных мембранах, а также в нейтрализации супероксидного анион-радикала, гипохлорной кислоты, гидроксильных и пероксильных радикалов [1], при отсутствии сколько-нибудь заметных токсических проявлений [2]. Сравнение физико-химических свойств кумаринов и растительных фенолов свидетельствует не только об их ярко выраженном противовоспалительном [3], но и антирадикальном действии [4]. Дериваты кумаринов оказывают ингибирующее действие на липоксигеназный и циклоксигеназный пути превращения арахидоновой кислоты [5, 6], что имеет прямое отношение к системам, участвующим в формировании различных функциональных, экстремальных состояний организма [7-12], сопровождающихся выходом метаболитов воспаления в поврежденных тканях и соответствующими сдвигами в системе гемокоагуляции.

Исходя из вышеизложенного была поставлена цель изучить особенности изменения динамики тромбопластической активности (ТА) [12-15] печеночной ткани белых крыс в различные периоды действия препаратов кумаринового ряда: N'-(аллилтиоуреидо)-3-карбамоил кумарина, N'-(морфолитиоуреидо)-3-карбамоил кумарина, N'-(О-фтор)-бензил-N'-(3-карбамоил) пиперазид кумарина и 6-нитриоаллиламид-3-карбоксикумарина под кодовыми обозначениями ГШ-16, ГШ-17, ГШ-10 и ГШ-84 соответственно [16-19].

Исследования проводили на 120 беспородных белых крысах-самцах массой 180-200 г, предварительно фиксированных крестообразно на специальных станках для мелких животных. В каждой из четырех серий исследований (по числу испытуемых соединений) введение 0.5 и 1.0 мл 1% раствора препарата производили внутривенно с помощью стеклянного шприца в место слияния верхней полый и подключичной вен (angulus venosus) по биссектрисе прямого угла, образованного ключицей и торсом. Забор контрольных стабилизированных проб крови как источника протромбина, необходимого для определения ТА, производили у интактных белых крыс, фиксированных описанным способом, с использованием в качестве антикоагулянта растворов оксалата, цитрата или гепарина в соответствующих концентрациях в объемных соотношениях 1:9, предварительно набранных в шприц. Стабилизированная кровь переносилась в пробирки и центрифугировалась при 6000 об/мин в течение 10-15 мин, оказывающихся достаточными для полного отделения плазмы крови как носителя протромбина.

По истечении 10 и 30 мин после инъекции животных обезглавливали под легким эфирным наркозом и в условиях холода печень изолировали и очищали от кровеносных сосудов и оболочек, многократно промывали охлажденным физиологическим раствором и с его помощью готовили гомогенат исследуемой ткани необходимого разведения, который использовали в качестве источника тромбопластина. О ТА судили по сек протромбинового времени (ПВ) контрольной плазмы крови [20].

Согласно результатам, отраженным в табл. 1, физиологическая активность всех четырех синтетических препаратов кумаринового ряда однотипна. Она выражается в статистически достоверном увеличении ПВ, свидетельствующем о различном уровне понижения ТА в каждом конкретном случае.

Наиболее выраженным антикоагулянтным действием обладает препарат ГШ-17, оказывающий ингибирующее влияние на ТА печеночной ткани уже через 30 мин после введения 0.5 мл 1%-ного раствора (46.6%). Инъекция удвоенной дозы препарата (1 мл) не сопровождается адекватным повышением его тормозящего действия на ТА, эффективность влияния испытуемых доз ГШ-17 остается той же как через 10, так и 30 мин после их введения. При этом 1 мл 1%-ного раствора препарата в одинаковой степени понижает ТА, колебавшуюся в пределах 43%.

Аналогичное отсутствие дозо- и времязависимости в развитии антикоагулянтных свойств прослеживалось в ингибирующем действии и на ТА препарата ГШ-16, увеличение ПВ при этом по сравнению с контролем колебалось в пределах 20.2-27.6%.

Статистически недостоверным при этом оказывалось увеличение ПВ через 10 мин после введения 0.5 мл 1%-ного раствора препарата ГШ-10, существенные сдвиги ПВ наблюдались с удвоением дозы вводимого соединения и пролонгированием времени его экспозиции.

Таблица 1

Динамика изменения тромбопластической активности (в сек протромбинового времени) печеночной ткани белых крыс в контроле (К), через 10 и 30 мин после внутривенного введения 0.5 и 1.0 мл 1%-ного раствора препаратов ГШ-17, ГШ-16, ГШ-10 и ГШ-84

Препарат	К	0.5 мл				1.0 мл			
		10 мин	% разницы от К	30 мин	% разницы от К	10 мин	% разницы от К	30 мин	% разницы от К
ГШ-17	37.0±0.79	45.0±0.70*	+21.6	55.0±0.71*	+48.6	53.0±0.81*	+43.2	53.0±0.83*	+43.0

ГШ-16	37.0±0.71	44.5±0.83*	+20.2	45.5±0.89*	+23.0	45.5±0.81*	+23.0	47.0±0.87*	+27.6
ГШ-10	39.0±0.69	41.5±0.61***	+ 6.4	45.0±0.43*	+15.4	47.0±0.71*	+20.5	45.0±0.53*	+15.4
ГШ-84	38.0±0.85	43.6±0.89**	+14.7	53.0±0.76*	+39.5	47.0±0.74*	+23.7	48.0±0.77*	+26.3

Примечание. n = 60; * – p < 0.001; ** – p < 0.01; *** – p > 0.5

Особый интерес вызывает действие препарата ГШ-84, наиболее выраженный антикоагулянтный эффект которого проявился через 30 мин после введения 0.5 мл 1%-ного раствора в виде пролонгирования ПВ до 53 сек, что свидетельствует о резком подавлении ТА.

Отметим, что удвоение дозы препарата до 1 мл не сопровождалось большим усугублением описанного эффекта, а, наоборот, характеризовалось даже некоторым повышением ТА, что выражалось в сокращении расхождений сек ПВ по сравнению с контролем через 30 мин в пределах 26.3%, в то время как за тот же промежуток времени после инъекции 0.5 мл препарата расхождение ПВ по сравнению с контролем составляло 39.5%. Иначе говоря, в исследованиях с синтетическими препаратами кумаринового ряда также следует считаться с существующим в научной литературе мнением о возможной дозо- и времязависимости физиологической активности одного и того же соединения.

Согласно полученным результатам степень подавления ТА печеночной ткани белых крыс под действием испытанных нами четырех разновидностей соединений кумаринового ряда различна. Несмотря на однонаправленность изменений ТА, характеризующихся ее заметным ингибированием, природа этих сдвигов, по-разному проявляющаяся в каждом конкретном случае, по всей вероятности, в известной степени обусловлена спецификой структурных особенностей этих соединений.

Таблица 2

Динамика изменения тромбопластической активности печеночной ткани (в сек протромбинового времени) белых крыс спустя 10, 30 и 60 мин после внутривенного введения 0.1, 0.2, 0.3, 0.4, и 0.5 мл 1%-ного раствора препарата ГШ-17

Показатели контроля	0.1 мл	% разницы от контроля	0.2 мл	% разницы от контроля	0.3 мл	% разницы от контроля	0.4 мл	% разницы от контроля	0.5 мл	% разницы от контроля
Спустя 10 мин										
35.9±0.72	61.5±0.75 ^x	+69.9	59.0±0.79 ^x	+64.3	47.0±0.81 ^x	+30.9	37.8±0.77 ^{xx}	+5.3	34.8±0.75 ^{xxx}	-3.1
Спустя 30 мин										
36.5±0.77	56.7±0.72 ^x	+55.3	53.9±0.77 ^x	+47.7	41.7±0.76 ^x	+14.2	39.2±0.79 ^{xx}	+7.4	36.9±0.73 ^{xxx}	+1.1
Спустя 60 мин										
36.1±0.71	52.5±0.77 ^x	+45.4	48.9±0.73 ^x	+35.5	37.3±0.75 ^{xxx}	+3,3	39.4±0.73 ^{xx}	+9.1	35.3±0.75 ^{xxx}	2.2

Примечание. n=120; x - p<0.001; xx - p<0.01; xxx - p>0.5

Для выявления особенностей дозо- и времязависимости антикоагуляционного эффекта. Наблюдения проводились через 10, 30, и 60 мин после внутривенных инъекций белым крысам 0.1, 0.2, 0.3, 0.4, 0.5, мл 1%-ного раствора ГШ-17 (табл. 2). Иначе говоря ставилась задача проследить за спецификой антикоагулянтного препарата начиная от его сверхнизких доз.

Наиболее выраженное антикоагулянтное действие отмечается при испытании 0.1 мл 1% раствора препарата ГШ-17, особенно по истечении 10 мин с момента его внутривенного введения. В последующие 30 и 60 мин после его инъекции в той же дозе, хотя и продолжает наблюдаться однонаправленный эффект препарата, он, тем не менее, оказывается выраженным в несколько меньшей степени. Эта закономерность более отчетливо проявилась при испытании возрастающих концентраций испытуемого препарата (0.2, 0.3, 0.4 мл 1%-го раствора), когда уровень их антитромбопластической активности по сравнению с таковой, полученной при испытании 0.1 мл препарата в отмеченные промежутки времени, оказался несравненно ниже и послужил основанием для подтверждения правомерности развиваемой в настоящее время концепции [21-30] об особо высокой эффективности действия сверхнизких доз факторов химической природы в том числе и терапевтической эффективности лекарственных препаратов различного действия. Что касается действия 0.5 мл. 1%-ного раствора ГШ-17 испытанного активного начала, то согласно нашим наблюдениям в изученные промежутки времени указанная концентрация препарата проявила полнейшую индифферентность в отношении сдвигов ТА с тенденцией к активированию, что подтверждает мнение о возможном получении диаметрально противоположной физиологической активности одного и того же соединения в полном соответствии с укоренившимся в науке принципом дозозависимости одного соединения независимо от концентрации [31-37].

Ա.Վ. Ղազարյան, Ս.Ս. Հովակիմյան, Է.Ս. Մեկոյան, ակադեմիկոս Կ.Գ. Ղարազյուզյան

**Կումարինային միացությունների շարքին պատկանող նոր սինթեզված նյութերի
հակամակարդիչ առանձնահատկությունները**

Սպիտակ առնետների վրա կատարած փորձերի հիման վրա ցույց է տրված կումարինային նյութերի շարքին պատկանող, վերջերս սինթեզված, ԳՇ-17 պայմանական անվանմամբ նյութի գերցածր քանակների՝ արյան մակարդեղիության կանխման գործում դրսևորված բացառիկ արդյունավետությունը: Նշված նյութի ազդեցության 30-60 րոպեների ընթացքում արձանագրվում է տրոմբոպլաստինային ակտիվության ռեալ փոփոխությունների բացակայության փաստը, որը համահունչ է նախկինում առաջադրված նույն նյութի տարբեր քանակների՝ լիովին հակառակ ֆիզիոլոգիական էֆեկտի դրսևորման փաստի հետ:

A.V. Ghazaryan, S.S. Hovakimyan, E.S. Sekoyan, academician K.G. Karageuzyan

Peculiarities of antioxidant properties of newly synthesized preparations coumarin line

The results of experimental investigation carried out on rats have demonstrated the extremely high anticoagulant effect of super low quantities of newly synthesized GSH-17 preparation from coumarin line compounds. 30-60 minute effect of the last is characterized by the further shifts thromboplastick activity with the tendency to its activation. That confirms opinion on possible reception of opposite physiological activity of the same connection in full conformity to the principles which have taken roots in a science of doz-dependence of one connection, is not dependent on concentration.

Литература

1. *Hoult J. R. S., Robert A., Beatriz de las Heras, Lobo I. B., Paya M.* - Pharmacology Group. Kings College London, Manresa Road, London. 1994. V. 42. P. 44-49.
2. *Egan D., O'Kennedy R., Moran E., Cox D., Prosser E., Thornes D.* - Drug Metab. Rev. 1990. V. 22. P. 503-529.
3. *Casley-Smith J. R., Foldi-Borsok E., Foldi M.* - Br. J. Exp. Pathol. 1973. V. 53. P. 1-5.
4. *Neichi T., Koshihara Y., Murota S. I.* - Biochem. Biophys. Acta. 1983. V. 753. P. 130-132.
5. *Sekiya K., Okuda H., Arichi S.* - Biochem. Biophys. Acta. 1982. V. 713. P. 68-72.
6. *Kimura Y., Okuda H., Arichi S., Baba K., Kozawa M.* - Biochem. Biophys. Acta. 1985. V. 834. P. 224-229.
7. *Карагезян К. Г.* Условнорефлекторная регуляция свертывания крови. Канд. дис. Ереван. 1954. 310 с.
8. *Карагезян К. Г.* - ДАН СССР. 1954. Т. 99. N 5. С. 581.
9. *Карагезян К. Г.* - ДАН Арм ССР. 1955. Т. 20. N 1. С. 27-32.
10. *Карагезян К. Г.* - ДАН СССР. 1958. Т. 118.
11. *Карагезян К. Г., Саакян С. С.* - Укр. биохим. журнал. 1967. Т. 39. N 4. С. 424-429.
12. *Карагезян К. Г., Овакимян С. С., Мирза-Авакян Г. Л.* - Кровообращение. 1969. Т. 2. N 6. С. 27-32.
13. *Карагезян К. Г., Овакимян С. С., Мирза-Авакян Г. Л.* - ДАН СССР. 1970. Т. 191. N 1. С. 250-252.
14. *Карагезян К. Г., Овакимян С. С., Мирза-Авакян Г. Л.* - Вопр. мед. химии. Т. 16. Вып. 5. С. 503-508.
15. *Овакимян С. С.* Фосфолипиды фибриногена и изменения их содержания в процессе фибринообразования. Автореф. Канд. дис. Ереван. 1970. 31 с.
16. *Гезалян Дж. И., Варданян В. П., Агаджанов М. И., Аветисян А. А.* - Арм. хим. журнал. 1994. N 1-3.
17. *Гезалян Дж. И., Сарибекян Ж. Р., Агаджанов М. И., Аветисян А. А.* - Арм. хим. журнал. 1994. N 1-3.
18. *Гезалян Дж. И., Галстян Ш. П., Аветисян А. А.* - Арм. хим. журнал. 1994. N 1-3.
19. *Гезалян Дж. И.* - Арм. хим. журнал. 1994. N 1-3.
20. *Предтеченский Г. В., Боровская В. М., Марголина А. Г.* Лабораторные методы исследования. М. Медицина. 1950.
21. *Карагезян К. Г., Саакян С. С.* - Укр. биохим. журнал. 1967. Т. 39. N 4. С. 424-429.
22. *Бурлакова Е. Б.* - Российский хим. журнал. 1999. Т. 43. С. 3-11.
23. *Духович Ф. С., Горбатова Е. Н., Курочкин В. К., Петрунин В. А.* - Российский хим. журнал. 1999. Т. 43. С. 12-15.
24. *Блюменфельд Л. А.* - Российский хим. журнал. 1999. Т. 43. С. 15-20.
25. *Ашмарин И. П., Лелекова Т. В.* - Российский хим. журнал. 1999. Т. 43. С. 21-28.
26. *Клемкова З. С., Антипов Б. Г., Черников Ф. Р., Гусинина М. М., Рыбакова Е. Ю.* - Российский хим. журнал. 1999. Т. 43. С. 34-39.
27. *Ло Ш., Ли В.* - Российский хим. журнал. 1999. Т. 43. С. 44-48.
28. *Веселовский В. А., Веселова Т. В., Чернавский Д. С.* - Российский хим. журнал. 1999. Т. 43. С. 49-54.
29. *Пальмин Н. П., Мальцева Е. Л., Пынзарь Е. И., Бурлакова Е. Б.* - Российский хим. журнал. 1999. Т. 43. С. 55-63.
30. Действие фенозана и экзогенного ацетилхолина на ацетилхолинэстеразу и систему липидной пероксидации в мембранах клеток головного мозга. Российский хим. журнал. 1999. Т. 43. С. 63-71.
31. *Карагезян К. Г.* - Вопр. биохимии мозга (Тр. Ин-та биохимии АН Арм ССР). 1964. Т. 1. С. 163-172.
32. *Карагезян К. Г., Бунятыан Г. Х., Казарян Б. А., Гулян Э. А.* - ДАН 1965. Т. 1. С. 163-172.
33. *Карагезян К. Г., Мирзоян С. А., Акопян В. П., Макарян Л. Т.* - ДАН Арм. ССР. 1966. Т. 13. N 2. С. 112-116.
34. *Карагезян К. Г., Саакян С. С.* - 2-ая Всесоюз. конф. по проблемам свертывания крови. Баку. 1996. С. 128.
35. *Карагезян К. Г., Саакян С. С.* - Укр. биохим. журнал. 1967. Т. 39. N 9. С. 114-116.
36. *Карагезян К. Г., Мирзоян С. А., Акопян В. П., Саакян С. С.* - Журн. эксперим. и клин. мед. 1967. Т. 7. N 6. С. 3-11.
37. *Карагезян К. Г.* - Журн. эксперим. и клин. мед. 1968. Т. 8. N 1. С. 3-10.