
ОРИГИНАЛЬНЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ

УДК 615.015

АНТИАГРЕГАНТНАЯ И АНТИТРОМБОТИЧЕСКАЯ АКТИВНОСТИ НОВОГО P2Y₁-АНТАГОНИСТА — СОЕДИНЕНИЯ Sbt-119 EX И IN VIVO

Т. М. Митина, Д. С. Яковлев, А. А. Спасов, К. Ф. Суздальев

Кафедра фармакологии ВолГМУ

На экспериментальных моделях исследовались антиагрегантная и антитромботическая активности вещества класса производных индола — Sbt-119 с P2Y₁-антагонистическими свойствами. Было установлено, что соединение по степени блокирования агрегации тромбоцитов и времени тромбообразования превосходит препарат сравнения «Тиклопидин» ($p \leq 0,05$).

Ключевые слова: P2Y₁-антагонист, индол, антиагрегантная активность, антитромботическая активность, тиклопидин, клопидогрель.

ANTIAGGREGANT AND ANTITHROMBOTIC ACTIVITY OF NEW SUBSTANCE P2Y₁-ANTOGANISTS – SBT-119 EX AND IN VIVO

T. M. Mitina, D. S. Yakovlev, A. A. Spasov, K. Ph. Suzdalev

We investigated antiaggregant and antithrombotic activities of indole derivatives Sbt-119 with P2Y₁-antagonistic properties on experimental models. It has been established that this substance surpasses the drug of comparison, Ticlopidin ($p \leq 0, 05$) as to the extent of antiaggregant effect and thrombogenesis time.

Key words: P2Y₁-antagonist, indole, antiaggregant activity, antithrombotic activity, ticlopidin, clopidogrel.

Применение антиагрегантных средств при поражении сердечно-сосудистой системы, нарушении мозгового кровообращения, осложнениях при атеросклеротическом поражении периферических сосудов обусловлено возможностью возникновения повышения функциональной активности тромбоцитов, что, в свою очередь, увеличивает риск развития тромбогенных осложнений, требующих постоянного контроля и профилактической коррекции [1, 9].

В клинической практике наиболее широкое применение нашли антиагрегантные препараты, такие как ацетилсалициловая кислота, подавляющая циклооксигеназный путь агрегации тромбоцитов, и блокаторы P2Y₁₂-рецепторов — тиклопидин, клопидогрель, прасугрель, тикангрелор, кангрелор, элиногрель [4, 7]. Несмотря на различные механизмы реализации своего основного действия, точкой приложения для данных лекарственных средств является стадия необратимой агрегации. Кроме того, эти препараты обладают рядом недостатков — развитием резистентности при длительных курсах лечения, поздним наступлением основного терапевтического эффекта, повышением риска кровотечений различного генеза, нейтропенией, тромбоцитопенией, аллергическими

реакциями и другими [7]. В то же время имеется множество научных публикаций о новой перспективной мишени для создания антиагрегантных и антитромбоцитарных средств — P2Y₁-рецепторов. Именно блокирование данного подтипа пуриновых рецепторов на мембране тромбоцитов предотвращает активацию и последующую агрегацию тромбоцитов на начальной стадии, когда процесс обратим [4, 6, 7]. Это объясняет актуальность выявления и изучения свойств новых соединений с пуринергической антагонистической активностью как потенциальных корректоров функциональной активности тромбоцитов при нарушениях гемостаза. В ранее проведенных экспериментальных работах по исследованию активности веществ было установлено, что соединение класса индолов Sbt-119 подавляет P2Y₁-опосредованные процессы АДФ-индуцированной активации и агрегации тромбоцитов *in vitro*.

ЦЕЛЬ РАБОТЫ

Изучение антиагрегантной активности Sbt-119 на моделях АДФ-, адреналин- и коллаген-индуцированной агрегации *ex vivo* и эффекта при экспериментальном

артериальном тромбозе, индуцированном хлоридом железа (III) *in vivo*.

МЕТОДИКА ИССЛЕДОВАНИЯ

Антиагрегантную активность веществ исследовали по методу G. Born (1962) [8] в модификации В. А. Габбасова (1989) [2] на двухканальном лазерном анализаторе агрегации тромбоцитов «Биола» 220 LA (Россия) [5]. Забор образцов крови крыс из брюшной аорты проводили через два часа после перорального введения веществ. Соединение Sbt-119 и препараты сравнения «Клопидогрель» («Sanofi-syntelabo», Франция) и «Тиклопидин» («Sanofi-syntelabo», Франция) изучались в эквивалентных дозах, соответствующих средней терапевтической дозе тиклопидина, — 6 мг/кг. Обогащенную тромбоцитами плазму получали по методу В. А. Люсова и Ю. Б. Белоусова [3]. В качестве индукторов агрегации использовались АДФ («Sigma», Венгрия) в конечной концентрации 5 мкМ, адреналин («Ренам», Венгрия) — 10 мкМ, коллаген («Ренам», Венгрия) — 50 мкг/мл. Уровень агрегации оценивался по значению степени агрегации, определяемой как максимальное приращение светопропускания после добавления индуктора.

Исследование антитромботической активности соединений проводили на модели артериального тромбоза у крыс, вызванного поверхностной аппликацией наружной сонной артерии 50%-го раствора хлорида железа (III) [10]. Дозы веществ соответствовали дозам изучения антиагрегантной активности. Моделирование артериального тромбоза осуществляли спустя 2 часа после перорального введения соединений.

Данные регистрировались с помощью ультразвукового компьютеризованного доплерографа для исследования кровотока ММ-Д-К («Минимакс-доплер-К», г. Санкт-Петербург, ООО «СП Минимакс»). Об антитромботической активности судили по длительности развития 50, 90 и 95 % снижения кровотока.

Статистическая обработка проводилась с использованием критерия Краскела-Уоллиса с постобработкой тестом Данна для множественных сравнений, а также нелинейного регрессионного анализа, реализованных в программе «Graph.Pad.Prism.5.0».

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

В ходе проведенного исследования по изучению антиагрегантной активности в условиях *ex vivo* было установлено, что соединение Sbt-119 на $(-72,8 \pm 8,27)$, $(-84,6 \pm 8,75)$ и $(-99,7 \pm 0,16)$ Δ % подавляло агрегацию тромбоцитов по отношению к контролю при воздействии индукторов АДФ, адреналина и коллагена соответственно ($p \leq 0,05$). При АДФ-опосредованной агрегации опытное вещество по степени антиагрегантного действия статистически значимо в 18,2 раза превосходило препарат сравнения «Тиклопидин». На моделях адреналин- и коллаген-индуцированной агрегации Sbt-119 по антиагрегантной активности незначительно превосходило тиклопидин. Ана-

лиз данных о влиянии на агрегацию тромбоцитов исследуемого соединения и клопидогреля показал, что при действии всех трех индукторов Sbt-119 по способности подавлять агрегацию не уступает последнему (табл. 1).

Следующий этап исследования заключался в изучении антитромботической активности Sbt-119 и препаратов сравнения. Результаты экспериментов показали, что опытное вещество по способности подавления тромбообразования превосходит тиклопидин и соответствует клопидогрелю (рис.).

Таблица 1

Антиагрегантная активность соединения Sbt-119, тиклопидина и клопидогреля на моделях АДФ-, адреналин- и коллаген-индуцированной агрегации тромбоцитов крыс (*ex vivo*)

Вещество	Индуктор агрегации		
	АДФ	адреналин	коллаген
	изменения агрегации тромбоцитов, Δ %*		
Sbt-119	$-72,80 \pm 8,27^{**}$	$-84,60 \pm 8,75^{**}$	$-99,70 \pm 0,16^{**}$
Тиклопидин	$4,00 \pm 18,86$	$-81,90 \pm 11,45^{**}$	$-99,10 \pm 1,05^{**}$
Клопидогрель	$-84,10 \pm 7,06^{**}$	$-99,00 \pm 1,07^{**}$	$-97,10 \pm 2,92^{**}$

* Изменения по отношению к группе контроля;

** данные достоверны к контролю ($p \leq 0,05$);

° данные достоверны к тиклопидину ($p \leq 0,05$).

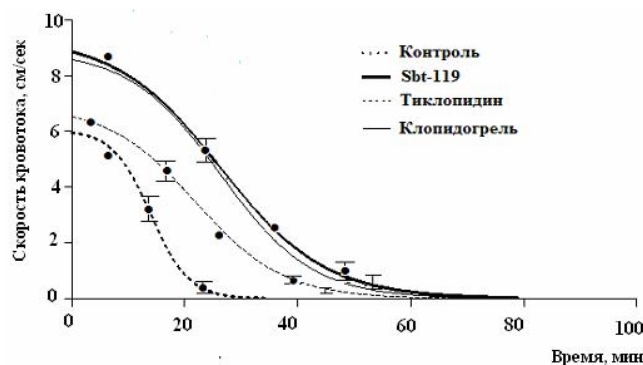


Рис. Влияние соединения SBT-119 и препаратов сравнения на скорость кровотока в наружной сонной артерии крыс в условиях экспериментального тромбоза, индуцированного хлоридом железа (III)

В контрольной группе животных снижение кровотока на 50 % было отмечено через $(13,9 \pm 1,1)$ минут с момента начала воздействия на сосуд хлорида железа (III). На $(21,3 \pm 1,6)$ минуте после повреждения эндотелиальной стенки наружной сонной артерии кровоток снизился на 90 %. Время наступления 95 % окклюзии в контрольной группе составило $(23,8 \pm 2,2)$ минут.

Препараты сравнения — «Тиклопидин» и «Клопидогрель» — на модели артериального тромбоза, инду-

цированного хлоридом железа (III), в 1,5 и 1,8 раза относительно интактной группы удлинляли время тромбообразования в точке 50%-го снижения кровотока ($p \leq 0,05$). По показателям 90 и 95 % окклюзии тиклопидин достоверно превосходил контрольный показатель в 1,8 раз, клопидогрель — в 2,0—2,1 раза.

В опытной группе крыс, получавших SBT-119, скорость кровотока достоверно превосходила показатели контроля в 1,9—2,3 раза. При этом по степени антитромбогенного действия в точках 90 и 95 % падения кровотока данное вещество незначительно превосходило клопидогрель. В то же время по отношению ко второму препарату сравнения «Тиклопидину» Sbt-119 по этим же показателям продемонстрировал выраженный антитромботический эффект, удлинняя время наступления окклюзии в 1,2 раза ($p \leq 0,05$) (табл. 2).

Таблица 2

Влияние соединения SBT-119 и препаратов сравнения на время тромбообразования у крыс на модели артериального тромбоза, индуцированного хлоридом железа (III), мин ($M \pm m$)

Вещество	Время снижения кровотока на 50 %	Время снижения кровотока на 90 %	Время снижения кровотока на 95 %
Контроль	13,9 ± 1,1	21,3 ± 1,6	23,8 ± 2,2
Sbt-119	26,4 ± 2,8*	46,8 ± 2,7*°	53,7 ± 3,2*°
Тиклопидин	21,9 ± 2,8*	39,08 ± 2,40*	44,9 ± 3,4*
Клопидогрель	26,3 ± 1,9*	44,1 ± 2,2*	50,2 ± 3,1*

* Данные достоверны по отношению к контролю ($p \leq 0,05$);

° данные достоверны по отношению к тиклопидину ($p \leq 0,05$).

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, в результате проведенного исследования установлено, что соединение производное индола Sbt-119 проявляет выраженное антиагрегантное действие, не только не уступающее, но и пре-

восходящее по некоторым показателям действие препараты сравнения «Тиклопидин» и «Клопидогрель». По степени антитромботического эффекта соединение Sbt-119 соответствует клопидогрелю. При этом в сравнении с тиклопидином опытное вещество достоверно увеличивает время достижения окклюзии в поврежденном сосуде на 7,8—8,8 %. Наличие антиагрегантной и антитромботической активности у Sbt-119 свидетельствует о целесообразности дальнейшего более углубленного фармакологического изучения данного соединения.

ЛИТЕРАТУРА

1. Баркаган З. С. // Клинич. фармакология и терапия. — 2005. — № 3. — С. 51—53.
2. Габбасов З. А. и др. // Лаб. дело. — 1989. — № 10. — С. 15—18.
3. Люсов В. А. // Лаб. дело. — 1975. — № 8. — С. 463—468.
4. Зиганшин А. У., Зиганшина Л. Е. P2-рецепторы: перспективная мишень для будущих лекарств. — М.: ГЭОТАР-Медиа. — 2009. — 133 с.
5. Спасов А. А., Кучерявенко А. Ф., Салазникова О. А. // Экспериментальная и клиническая фармакология. — 2009. — № 5. — С. 31—34.
6. Baurand A. // Cardiovascular Drug Reviews. — 2003. — Vol. 21, № 1. — P. 67—76.
7. Besada P., Gao Zhan-Guo, Hechler B., et al. // Biochem Pharmacol. — 2008. — Vol. 75, № 6. — P. 1341—1347.
8. Born G. V. R. // Nature. — 1962. — Vol. 194. — P. 927—929.
9. Fitzgerald D. J. // Neurology. — 2001. — Vol. 57. — P. 1—4.
10. Kurz K. D. // Thromb. Res. — 1990. — Vol. 15. — P. 269—280.

Контактная информация

Спасов Александр Алексеевич — академик РАМН, з. д. н. РФ, д. м. н., профессор, зав. кафедрой фармакологии ВолГМУ, e-mail: aspasov@mail.ru