

ЛИТЕРАТУРА

1. Айламазян Э. К. Гестоз: теория и практика / Э. К. Айламазян, Е. В. Мозговая. — М.: МЕДпресс-информ, 2008. — 272 с.
2. Антошина Н. Л., Михалевич С. И. // Медицинские новости. — 2005. — № 3.
3. Барашнев Ю. И. Перинатальная неврология. — М.: Триада-X, 2005. — 670 с.
4. Евтушенко И. Д., Красноносенских Т. П., Балашов П. П. // Бюллетень СО РАМН. — 2003. — № 2 (108). — С. 9—11.
5. Иванова Л. Б., Карамышева В. И., Перфилова В. Н. и др. // Проблемы репродукции. — 2012. — № 1. — С. 28—30.
6. Миронов А. Н., Бунатян Н. Д. и др. Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств. Часть первая. — М.: Гриф и К, 2012. — 944 с.

7. Робертус А. И. Эндотелиопротективные свойства ГАМК при недостаточности половых гормонов: Автореф. дис. ... канд. биол. наук. — Волгоград, 2010. — 25 с.
8. Тулякова О. В. // Экология человека. — 2012. — № 7. — С. 38—41.
9. Тюрников И. Н., Перфилова В. Н., Иванова Л. Б. и др. // Регионарное кровообращение и микроциркуляция. — 2012. — № 2. — С. 61—65.
10. Тюрников И. Н., Перфилова В. Н. Кардиоваскулярные и кардио-протекторные свойства ГАМК / И. Н. Тюрников, В. Н. Перфилова. — Волгоград: ВолгГМУ, 2008. — 204 с.
11. Beausejour A. // Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol. — 2003. — Vol. 285. — P. 375—383.

Контактная информация

Михайлова Людмила Ивановна — аспирант кафедры фармакологии и биофармации ФУВ, ВолгГМУ, e-mail: mih-li@mail.ru

УДК 615.15:547.751

АНТИАГРЕГАНТНАЯ АКТИВНОСТЬ НОВЫХ ПРОИЗВОДНЫХ ИНДОЛА

М. Тянь, А. Ф. Кучерявенко, А. А. Спасов, К. Ф. Суздальев

*Волгоградский государственный медицинский университет,
кафедра фармакологии, Научно-исследовательский институт физической и органической химии
Южного федерального университета, Ростов-на-Дону*

На экспериментальной модели АДФ-индуцированной агрегации тромбоцитов плазмы кроликов была изучена антиагрегантная активность новых производных индола. 7 исследованных веществ превышали по ЭК₅₀ препарат сравнения ацетилсалициловую кислоту.

Ключевые слова: индол, антиагрегантная активность, ацетилсалициловая кислота.

ANTIAGGREGATION ACTIVITY OF NOVEL INDOL DERIVATIVES

M. Tyan, A. F. Kucheryavenko, A. A. Spasov, K. F. Suzdalev

Antiaggregation activity of a novel indol derivatives was investigated in vitro in comparison with the antiaggregant drug acetylsalicylic acid (ASA) using the method of ADP- induced aggregation of platelets in rabbits. Both the standard antiaggregant drug acetylsalicylic acid and the studied compound showed a dose-dependent antiaggregation activity. 7 novel indol derivatives showed an effect better than that of acetylsalicylic acid.

Key words: indol, antiaggregation activity, acetylsalicylic acid.

Тромбоциты являются ключевыми медиаторами тромбообразования [8]. Изучение столь важного значения красных кровяных телец показало ведущую роль препаратов, ингибирующих функцию тромбоцитов, в профилактике и лечении тромбозов и стимулировало дальнейшее изучение новых и известных антиагрегантных средств, показавших свою эффективность в широкомасштабных исследованиях [6]. Известные к настоящему времени данные позволяют без сомнения утверждать, что, используя антитромбоцитарные вмешательства при различных проявлениях активации тромбоцитарного звена гемостаза, можно существенно уменьшить риск развития осложнений [5]. Доступные в настоящее время антиагрегантные препараты оказывают влияние на некоторые этапы в процессе активации,

адгезии, высвобождения активных веществ и агрегации тромбоцитов и тем самым заметно влияют на риск развития тромбозов.

В клинической практике наиболее широкое применение нашли антиагрегантные препараты, такие как: ацетилсалициловая кислота, подавляющая циклооксигеназный путь агрегации тромбоцитов и блокаторы P2Y₁₂-рецепторов — Тиклопидин, Клопидогрель, Прасургель, Тикангрелор, Кангрелор [1, 10]. Эти препараты проявляют различные механизмы действия, основной точкой приложения для данных лекарственных средств является стадия необратимой агрегации. Кроме того, эти препараты обладают рядом недостатков — позднее наступление основного терапевтического эффекта, повышение риска кровотечений различного генеза, нейт-

ропения, тромбоцитопения, аллергические реакции развитие резистентности при длительных курсах лечения [9]. Это объясняет актуальность выявления и изучения новых соединений с антиагрегантной активностью. Согласно литературным данным, химический класс производных индола считается перспективным для создания на его основе новых препаратов с антиагрегантной активностью [7, 11]. Поэтому нами был проведен поиск ингибиторов агрегации тромбоцитов среди новых производных индола.

ЦЕЛЬ РАБОТЫ

Целью настоящего исследования явилось изучение антиагрегантной активности новых производных индола на модели АДФ-индуцированной агрегации тромбоцитов *in vitro*.

МЕТОДИКА ИССЛЕДОВАНИЯ

В данной работе проведено экспериментальное исследование влияния 28 новых производных индола под шифром Sbt [НИИ ФОХ ЮФУ] на процессы агрегации тромбоцитов *in vitro*. Из них 24 относятся к гидрохлоридам N-[(1-RR¹-амино)карбонил-2-(1-R²+1H-индол-3-ил)винил]-R³-амидам, а 4 соединения — к гидрохлоридам 1-R¹R²-амино-3-(3-R²-1H-индол-1-л)-2-пропанолам. Эксперименты выполнены на 10 кроликах, весом 3—3,5 кг, содержащихся в условиях вивария (температура 22—24 °С, относительная влажность воздуха 40—50 %) с естественным световым режимом на стандартной диете (ГОСТ Р 50258-92), соблюдая правила качественной лабораторной практики при проведении доклинических исследований в РФ (ГОСТ 3 51000.3-96 и 1000.4-96), а также правила и Международные рекомендации Европейской конвенции по защите позвоночных животных, используемые при экспериментальных исследованиях (1997).

Для исследования была выбрана модель АДФ-индуцированной агрегации тромбоцитов по методу Born G, в модификации Габбасова В. А., воспроизведенная на двухканальном лазерном анализаторе агрегации тромбоцитов «Биола» 220 LA (Россия) [2]. Исследования выполняли на богатой тромбоцитами плазме кролика, которую получали по методу Люсова В. А. и Белоусова Ю. Б. [3]. В качестве индуктора агрегации использовали аденозин-5-дифосфорную кислоту (АДФ) («Serva», Венгрия), в конечной концентрации 5 мкМ. Соединения и препарат сравнения ацетилсалициловая кислота изучались в концентрации 100 мкМ. Уровень агрегации оценивался по значению степени агрегации, определяемой, как максимальное приращение светопропускания после добавления индуктора. Для оценки активности соединений определяли Δ % ингибирования функциональной активности тромбоцитов. Для расчета ЕС₅₀ (эффективная концентрация, подавляющая процесс агрегации тромбоцитов на 50 %), который проводили с использованием метода регрессионного анализа, вещества изучались в концентрации 100, 10 и 1 мкМ.

Исследование токсичности наиболее активных соединений выполнялось в соответствии с требованиями и инструкциями Федеральной службы по надзору в сфере здравоохранения и социального развития [4]. Острая токсичность определялась на 75 белых нелинейных мышах-самцах массой 20—22 г при внутрибрюшинном введении. Гибель животных регистрировалась в течение двух недель. Величину токсикологического показателя LD₅₀ рассчитывали по методу Личфилда-Вилкоксона.

Статистическая обработка экспериментальных данных проводилась с использованием критерия Манна-Уитни при помощи пакета статистических программ программного обеспечения Microsoft Excell 2006.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

В ходе проведенного исследования было установлено, что производные индола в различной степени выраженности оказывают антиагрегантный эффект *in vitro*. Так, из 28 новых производных индола 11 соединений статистически значимо превосходили ацетилсалициловую кислоту, эффект 13 веществ был сравним с действием препарата сравнения, остальные 5 соединений уступали ему по активности (табл. 1).

Вещества под шифрами Sbt-815, Sbt-820, Sbt-130, Sbt-79, Sbt-143 и Sbt-814 блокировали процесс агрегации тромбоцитов более чем на 50 %. Поэтому данные соединения были изучены в диапазоне концентраций от 1 × 10⁻³ М до 1 × 10⁻⁶ М. В результате проведенных исследований все данные соединения оказали дозозависимый антиагрегантный эффект, поэтому для них была рассчитана величина ЭК₅₀.

Таблица 1

Влияние новых производных индола двух групп на агрегацию тромбоцитов, индуцируемую АДФ (опыты *in vitro*)

№ п/п	Шифр соединения	Ингибирование агрегации тромбоцитов Δ % ($M \pm m$) в концентрации 100 мкМ
1	Sbt-815	92,14 ± 4,23 [#]
2	SBT-820	63,2 ± 3,6 [#]
3	Sbt-79	55,20 ± 2,25 [#]
4	Sbt-130	53,52 ± 1,11 [#]
5	Sbt-143	52,46 ± 7,15 [#]
6	Sbt-814	51,8 ± 13,1 [#]
7	SS-33	47,37 ± 6,20 [#]
8	SS-31	47,26 ± 10,50 [#]
9	Sbt-708	45,20 ± 2,75 [#]
10	SS-43	44,48 ± 7,90 [#]
11	Sbt-26	44,2 ± 2,3 [#]
12	SS-56	42,86 ± 1,80 [#]
13	Sbt-713	42,53 ± 4,84 [#]
14	Sbt-46	42,40 ± 0,75 [#]
15	Sbt-68	41,10 ± 2,21 [#]
16	Sbt-140	41,05 ± 6,27 [#]

Окончание таблицы 1

№ п/п	Шифр соединения	Ингибирование агрегации тромбоцитов $\Delta\%$ ($M \pm m$) в концентрации 100 мкМ
16	Sbt-140	$41,05 \pm 6,27^*$
17	SS-46	$39,32 \pm 8,80^*$
18	Sbt-8	$37,97 \pm 2,50^*$
19	SS-41	$38,90 \pm 9,50^*$
20	SS-35	$37,14 \pm 4,10^*$
21	Sbt-109	$30,49 \pm 1,02^*$
22	Sbt-178	$29,14 \pm 3,56^*$
23	Sbt-5	$24,25 \pm 4,62^*$
24	Sbt-11	$21,25 \pm 5,24^*$
25	SS-34	$18,64 \pm 4,00$
26	SS-32	$11,67 \pm 6,20$
27	SS-36	$10,43 \pm 3,10$
28	Sbt-25	$9,14 \pm 6,84$
29	Ацетилсалициловая кислота	$32,75 \pm 1,10^*$

Статистическая достоверность различий по сравнению с исходными показателями: * $p < 0,05$; #статистическая достоверность по сравнению с препаратом сравнения.

Для ацетилсалициловой кислоты этот показатель составил 71 мкМ. Соединение Sbt-815 оказалось наиболее активным и по $ЭК_{50}$ превосходило препарат сравнения в 47 раз. Остальные 5 соединений по показателям величины $ЭК_{50}$ были активнее ацетилсалициловой кислоты в 7—8 раз. Полученные результаты представлены в табл. 2.

Как видно из табл. 2, наиболее активными в отношении ингибирования агрегации тромбоцитов оказались соединения Sbt-815 и Sbt-820, поэтому у них была определена острая токсичность и рассчитан терапевтический индекс. Для вещества Sbt-815 острая токсичность составила 200 мг/кг, а для соединения Sbt-820 — 144 мг/кг. Таким образом, по терапевтическому индексу соединение Sbt-815 превосходит ацетилсалициловую кислоту в 13 раз, а Sbt-820 — в 1,7 раза (табл. 3).

Далее была изучена зависимость антиагрегантной активности новых производных индола от их химической структуры. Так как в целом все изученные вещества ингибировали АДФ-индуцированную агрегацию тромбоцитов *in vitro* и отличались лишь по степени выраженности эффекта, можно предположить, что в антиагрегантную активность данного класса вносит положительное влияние базовая структура, а именно индол. Анализ влияния заместителей на высокий уровень антиагрегантной активности новых производных индола производился для заместителей в положении R^1 , R^2 и R^3 .

В группе веществ, относящихся к гидрохлоридам $N-[(1-RR^1\text{-амино})карбонил-2-(1-R^2+1H\text{-индол-3-ил})винил]-R^3\text{-амидам}$, значимый вклад в антиагрегантную активность, по-видимому, вносит диэтиламиноэтильный заместитель в положении R^1 , а также этильный и метильный радикалы в положении R^2 . При анализе заместителей в положении R^3 четкой зависимости антиагрегантной активности от наличия данных радикалов обнаружить не удалось.

В отношении соединений группы гидрохлоридов $1-R^1R^2\text{-амино-3-(3-R^2-1H-индол-1-л)-2-пропанол}$ было

Таблица 2

Эффективная концентрация ($ЭК_{50}$) новых производных индола и ацетилсалициловой кислоты

№	Шифр соединения	Ингибирование агрегации $\Delta\%$ ($M \pm m$)				$ЭК_{50}$ (10^{-5})
		10^{-3} М	10^{-4} М	10^{-5} М	10^{-6} М	
1	Sbt-130	—	$53,52 \pm 1,11^*$	$41,41 \pm 6,27^*$	$24,60 \pm 2,18^*$	8,15
2	Sbt-79	—	$55,20 \pm 2,25^*$	$20,6 \pm 1,1^*$	$7,03 \pm 1,99^*$	8,73
3	Sbt-143	—	$52,46 \pm 7,15^*$	$23,50 \pm 1,85^*$	$11,07 \pm 1,15^*$	9,2
4	Sbt-814	—	$51,8 \pm 13,1^*$	$33,04 \pm 9,80^*$	$15,98 \pm 7,15^*$	9,17
5	Sbt-820	—	$63,2 \pm 3,6^*$	$37,37 \pm 1,55^*$	$41,3 \pm 1,1^*$	8,0
6	Sbt-815	---	$92,14 \pm 4,23^*$	$52,40 \pm 6,49^*$	$44,30 \pm 9,45^*$	1,5
7	Ацетилсалициловая кислота	$53,4 \pm 4,23^*$	$29,3 \pm 3,4^*$	$3,1 \pm 1,9$	0	71,0

Статистическая достоверность различий по сравнению с исходными показателями * $p < 0,05$.

Таблица 3

Антиагрегантная активность ($ЭК_{50}$), величина острой суточной токсичности ($ЛД_{50}$), и терапевтический индекс (ТИ) новых производных индола и ацетилсалициловой кислоты

№	Шифр соединения	$ЭК_{50}$, 1×10^{-5} М	$ЛД_{50}$ мг/кг	ТИ $ЛД_{50}/ЭК_{50}$
1	Sbt-820	$8,0 \times 10^{-5}$	144	4,1
2	SBT-815	$1,5 \times 10^{-5}$	200	31,2
3	Ацетилсалициловая кислота	$7,1 \times 10^{-4}$	310	2,4

обнаружено, что значимый вклад в изученный вид активности, возможно, вносят фенилкарбоксиэтильные радикалы в положении R². При анализе второго радикала R² четкой зависимости активности от наличия данного радикала обнаружить не удалось.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В результате изучения 28 новых производных индола на предмет ингибирования агрегации тромбоцитов *in vitro* показано, что данный класс является перспективным для изучения данного вида активности.

Были найдены высокоактивные соединения под шифрами Sbt-815 и Sbt-820, которые по условному терапевтическому индексу превосходят препарат сравнения ацетилсалициловую кислоту в 13 и 1,7 раза соответственно, что свидетельствует о целесообразности дальнейшего более углубленного фармакологического изучения данных соединений.

ЛИТЕРАТУРА

1. Бубнова М. Г. // Российский кардиологический журнал. — 2010. — № 4. — С. 115—120.
2. Габбасов З. А., Попов Е. Г., Гаврилова И. Ю. и др. // Лабораторное дело. — 1989. — № 10. — С. 15—18.

3. Люсов В. А. // Лабораторное дело. — 1975. — № 8. — С. 463—468.

4. Миронов А. Н. Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств / Под общ. ред. д. м. н. А. Н. Миронова. — М., 2012. — С. 939.

5. Adewall S., Badimon L., Drouet L., et al. // Fundam. Clin. Pharmacol. — 2011. — Vol. 25 (5). — P. 564—571.

6. Angiolillo D. J., Capodanno D., Goto S. // Eur Heart J. — 2010. — Vol. 31 (1). — P. 17—28.

7. Bhana N., Mc Clellan K. J. // Drugs Aging. — 2001. — Vol. 18 (5). — P. 369—368.

8. Broos K., Feys H. B., De Meyer S. F. // Blood Rev. — 2011. — Vol. 25 (4). — P. 155—167.

9. Miyata S., Miyata T., Kada A., et al. // Brain Nerve. — 2008. — Vol. 11. — P. 1357—1364.

10. Mousa S. A., Jeske W. P., Fareed J. // Clin. Appl. Thromb. Hemost. — 2010. — Vol. 16 (2). — P. 170—176.

11. Park M. K., Rhee Y. H., Lee H. J., Lee E. O., et al. // Phytother Res. — 2008. — P. 58—64.

Контактная информация

Кучерявенко Аида Фатиховна — к. м. н., старший преподаватель кафедры фармакологии, Волгоградский государственный медицинский университет, e-mail: aidakucheryavenko@yandex.ru