

АНТИТРОМБОТИЧЕСКАЯ АКТИВНОСТЬ НОВОГО ПРОИЗВОДНОГО ТЕТРАГИДРО[1,3]ДИАЗЕПИНО[1,2-А]БЕНЗИМИДАЗОЛА СОЕДИНЕНИЯ ДАБ-15 НА МОДЕЛИ АРТЕРИАЛЬНОГО ТРОМБОЗА

А. А. Спасов¹, В. С. Сиротенко¹, К. А. Гайдукова¹, А. Ф. Кучерявенко¹, А. С. Морковник², В. А. Анисимова², Л. Н. Диваева², Т. А. Кузьменко²

¹Волгоградский государственный медицинский университет,
кафедра фармакологии,

²НИИ физической и органической химии Южного федерального университета, Ростов-на-Дону

Проведено исследование антитромбогенной активности нового антиагрегантного соединения ДАБ-15 на модели артериального тромбоза у крыс, индуцированного постоянным электрическим током. В качестве сравнения были выбраны: ацетилсалициловая кислота (АСК), клопидогрел и тиклопидин. Вещество ДАБ-15 оказало дозозависимое антитромботическое действие, превосходящее ацетилсалициловую кислоту и клопидогрел и незначительно уступающее клопидогрелу.

Ключевые слова: антитромботическая активность, тромбоз, агрегация тромбоцитов, соединение ДАБ-15, ацетилсалициловая кислота, тиклопидин, клопидогрел.

ANTITHROMBOTIC ACTIVITY OF DAB-15 USING A MODEL OF ELECTRICALLY-INDUCED THROMBOSIS

A. A. Spasov¹, V. S. Sirotenko¹, K. A. Gajdukova¹, A. F. Kucheryavenko¹, A. S. Morkovnik², V. A. Anisimova², L. N. Divaeva², T. A. Kuz'menko²

¹Volgograd State Medical University,
Department of pharmacology, Russia

²Institute for physical and organic chemistry of South Federal University, Rostov-on-Don

Antithrombotic action of the novel diazepine benzimidazole derivative agent DAB-15 having antiaggregatory activity was investigated in comparison to the antiaggregant drugs (acetylsalicylic acid, ticlopidine and clopidogrel) using the electrically-induced thrombosis model in rats. DAB-15 and the compared antiaggregant drugs of acetylsalicylic acid, ticlopidine and clopidogrel demonstrated dose-dependent antithrombotic activity. The effect of DAB-exceeded those of acetylsalicylic acid and ticlopidine, but was inferior compared to the activity of clopidogrel.

Key words: Antithrombotic activity, thrombosis, DAB-15, acetylsalicylic acid, ticlopidine, clopidogrel.

Химический класс производных бензимидазола является перспективным для выявления новых соединений с антиагрегантной активностью [1, 2, 5].

В проведенных ранее исследованиях в ряду конденсированных производных диазепинобензимидазола, выявлено вещество под шифром ДАБ-15, проявляющее высокую активность в отношении ингибирования агрегации тромбоцитов [3]. Инициатором артериальных тромбозов является агрегация тромбоцитов, поэтому уменьшить риск развития тромбов можно, используя методы фармакологического и физико-химического воздействия [4, 10]. В данном исследовании для изучения антитромботической активности соединения ДАБ-15 была выбрана модель артериального тромбоза, индуцированного электрическим током.

ЦЕЛЬ РАБОТЫ

Изучение антитромботических свойств нового антиагрегантного соединения ДАБ-15, являющегося конденсированным производным диазепинобензимидазола, на модели артериального тромбоза у крыс, индуцированного постоянным электрическим током.

МЕТОДИКА ИССЛЕДОВАНИЯ

Эксперименты выполнены на 96 белых нелинейных крысах — самцах, массой 350—400 г, содержащихся в условиях вивария (температура 22—24 °С, относительная влажность воздуха 40—50 %) с естественным световым режимом на стандартной диете (ГОСТ Р 50258-92), с соблюдением правил лабораторной практики при проведении доклинических исследований в РФ (ГОСТ 3 51000.3-96 и 1000.4-96), а также правил и Международных рекомендаций Европейской конвенции по защите позвоночных животных, используемых при экспериментальных исследованиях (1997).

Изучение антитромботической активности производного 2,3,4,5-тетрагидро[1,3]диазепино[1,2-а]-бензимидазола под шифром ДАБ-15 [НИИ ФОХ ЮФУ] проводили на модели артериального тромбоза у крыс, индуцированного постоянным электрическим током [7] в модификации [6]. В качестве препаратов сравнения использовали ацетилсалициловую кислоту (Sigma, США), клопидогрел (Плагрил, Dr. Reddy's, Индия) и тиклопидин (Ratiopharm, Германия). Вещества растворяли в дистиллированной воде в объеме 2 мл. Животные контрольной группы перорально получали растворитель

в эквивалентном объеме. Соединение ДАБ-15 вводилось в дозах 4,5; 9; 17 и 33 мг/кг, препараты сравнения ацетилсалициловая кислота — в дозах 19, 25, 50 и 100 мг/кг, тиклопидин — в дозах 32, 60 и 120 мг/кг и плагрил — в дозах 5,5; 11; 22 и 44 мг/кг.

Моделирование артериального тромбоза осуществляли спустя 2 часа после перорального введения препаратов животным. Для исследования использовали ультразвуковой компьютеризированный аппарат «Минимакс-Доплер-К» (Санкт-Петербург). Регистрацию кровотока вели до полной окклюзии сосуда (характеризуется отсутствием пульсации сонной артерии выше участка наложения тромбообразующего агента и характерного артериального звукового сигнала).

Эффективность соединения ДАБ-15 и препаратов сравнения оценивали по их способности удлинять время полной окклюзии сонной артерии тромбом.

Также для исследуемого соединения и препаратов сравнения была рассчитана величина ED_{50} (концентрация, в которой изученные соединения увеличивают время окклюзии сосуда тромбом по отношению к контролю на 50 %) методом регрессионного анализа в программе Microsoft Excell 2007.

Статистическая обработка результатов проводилась в программе GraphPad Prism 5.0 (США) с использованием U-критерия Манна-Уитни.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

На модели тромбоза сонной артерии, индуцированного электрическим током, было показано антитромбогенное действие соединения ДАБ-15.

В группе контрольных животных, которым вводился растворитель, среднее время полной окклюзии сонной артерии составило 15,2 минуты, что согласуется с данными, полученными другими авторами [9]. Предварительное введение животным соединения ДАБ-15 и препаратов сравнения пролонгировало данный показатель.

Так, соединение ДАБ-15 в дозе 33 мг/кг достоверно удлиняло время наступления полной окклюзии сонной артерии крыс до 40,3 минут, что увеличивало время образования тромба на 165 % ($p < 0,005$) по сравнению с контрольными значениями (табл., рис.). В дозах 17, 9 и 4,5 мг/кг данное вещество также пролонгировало данный показатель на 86,4 ($p < 0,005$), 51,3 ($p < 0,005$) и 40,35 % ($p < 0,005$) соответственно. ED_{50} соединения ДАБ-15 при этом составила 7,9 мг/кг.

Препарат сравнения, ацетилсалициловая кислота в дозе 20 мг/кг, увеличивал время полной окклюзии сосуда на 33,8 % ($p < 0,005$). При повышении исследуемых доз до 25, 50 и 100 мг/кг препарат увеличивал время образования тромба в сонной артерии крыс на 61,2 ($p < 0,005$), 108,3 и 146,7 % ($p < 0,005$) соответственно (табл., рис.). ED_{50} ацетилсалициловой кислоты при этом составила 22,4 мг/кг.

Тиклопидин в дозе 32 мг/кг пролонгировал время образования тромба на 28,3 % ($p < 0,003$). При повыше-

нии дозы до 60 и 120 мг/кг также увеличивалось время наступления полной окклюзии на 46,9 ($p > 0,003$) и 133,6 % ($p < 0,003$) соответственно (табл., рис.). При этом величина ED_{50} тиклида составила 54,8 мг/кг.

Антитромботическая активность соединения ДАБ-15, ацетилсалициловой кислоты, тиклопидина и плагирила на модели артериального тромбоза, индуцированного постоянным электрическим током ($M \pm m$)

Вещество	Доза, мг/кг	Δ % пролонгирования времени полной окклюзии, ($M \pm m$)	ED_{50} , мг/кг
ДАБ-15	33	$165,0 \pm 8,4^*$	7,9
	17	$86,4 \pm 4,4^*$	
	9	$51,3 \pm 3,8^*$	
	4,5	$40,35 \pm 2,20^*$	
Ацетилсалициловая кислота	19	$33,8 \pm 2^*$	22,4
	25	$61,2 \pm 3,4^*$	
	50	$108,3 \pm 3^*$	
	100	$146,7 \pm 6^*$	
Тиклопидин	32	$28,3 \pm 4,4^*$	54,8
	60	$46,9 \pm 3^*$	
	120	$133,6 \pm 3,7^*$	
Плагрил	44	$152,2 \pm 4,7^*$	6,9
	22	$117,1 \pm 5,6$	
	11	$72,2 \pm 2$	
	5,5	$39,25 \pm 3,14$	

*Данные достоверны по отношению к контролю ($p < 0,005$, критерий Манна-Уитни).

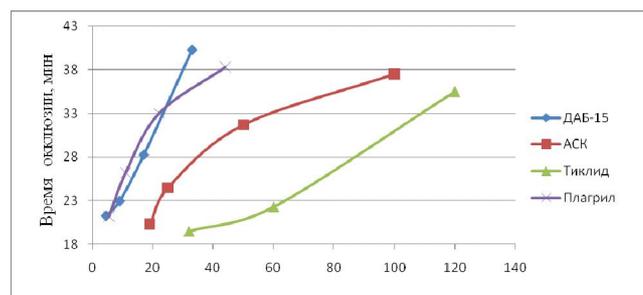


Рис. Влияние соединения ДАБ-15, ацетилсалициловой кислоты, тиклида и плагирила на время полной окклюзии сонной артерии на модели артериального тромбоза, индуцированного электрическим током

Время полной окклюзии сонной артерии под влиянием препарата сравнения плагрил в дозе 44 мг/кг также повышалось на 152,2 % ($p < 0,005$). При снижении доз до 22, 11 и 5,5 мг/кг происходило уменьшение данного показателя на 117,1 ($p < 0,005$), 72,2 ($p < 0,005$) и 39,25 % ($p < 0,005$) соответственно. ED_{50} клопидогреля при этом составила 6,9 мг/кг (табл., рис.).

Таким образом, проведенные исследования выявили преимущество соединения ДАБ-15 перед препаратами сравнения. Так, по ED_{50} данное вещество превосходит ацетилсалициловую кислоту и тиклопидин в 2,8 и 6,9 раза. Однако проявляет равноценную в сравнении с плагирилом антитромботическую активность.

Использование анодного тока в качестве индуктора артериального тромбоза широко распространено в экспериментальных исследованиях, в частности, в опытах на крысах [8]. Данный вид тромбоза связан с ключевой ролью активации тромбоцитарного звена гемостаза в начальных механизмах его развития. В ранее проведенных исследованиях *in vitro* вещество ДАБ-15 проявило высокую антиагрегантную активность, превосходя препарат сравнения ацетилсалициловую кислоту. Полученные данные подтверждаются высокими антитромботическими свойствами соединения ДАБ-15, выявленными в результате экспериментального исследования.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Соединение ДАБ-15 проявило выраженное антитромботическое действие на модели артериального тромбоза, индуцированного постоянным электрическим током, превосходя по активности препараты сравнения ацетилсалициловую кислоту и тиклид и оказывало равноценное действие с препаратом плагрил.

Таким образом, проведенные исследования позволяют заключить, что новое конденсированное производное диазепинобензимидазола соединение ДАБ-15 улучшает тромбогенный потенциал крови, что указывает на необходимость дальнейшего изучения механизма антиагрегантного действия данного соединения с учетом влияния на различные звенья активации тромбоцитарного звена гемостаза.

ЛИТЕРАТУРА

1. Анисимова В. А., Спасов А. А., Кучерявенко А. Ф., Панченко Т. И., Островский О. В., Косолапов В. А., Ларионов Н. П. Синтез и фармакологическая активность 2-(гетарил)имидазо[1,2-А]бензимидазолов // Химико-фармацевтический журнал. — 2002. — Т. 36, № 10. — С. 12—17.
2. Анисимова В. А., Спасов А. А., Толпыгин И. Е., Косолапов В. А., Кучерявенко А. Ф. и др. Синтез и фармакологическая активность солей 3-ацетил-2-*R*-9 диалкиламиноэтилимидазо[1,2-а]бензимидазолов // Химико-фармацевтический журнал. — 2010. — Т. 44, № 3. — С. 8—13.

3. Кучерявенко А. Ф., Сиротенко В. С., Гайдукова К. А., Матюхин Д. Г., Спасов А. А., Диваева Л. Н., Морковник А. С., Кузьменко Т. А., Анисимова В. А. // Вестник Волгоградского медицинского университета. — 2015. — № 1 (53). — С. 89—92.

4. Рока-Мойя, Я. М. Новые аспекты агрегации тромбоцитов / Рока-Мойя Я. М., Билоус В. Л., Жерносеков Д. Д., Гриненко Т. В. // Biopolymers and cell. — 2014. — № 1. — С. 10—15.

5. Спасов А. А., Кучерявенко А. Ф., Майстренко Б. П. // Экспериментальная и клиническая фармакология. — 2009. — Т. 72, № 6. — С. 27—29.

6. Яковлев Д. С., Спасов А. А., Букатина Т. М., Смирнов А. В., Суздальев К. Ф. Анти тромботическая активность нового P2Y₁-антагониста соединения SBT-119 на экспериментальных моделях тромбозов у крыс // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. — 2014. — Т. 158, № 7. — С. 60—63.

7. Guglielmi G., Vinuela F., Dion J., Duckwiler G. Electrothrombosis of saccular aneurysms via endovascular approach. Part 2: Preliminary clinical experience // J Neurosurg. — 1991. — Vol. 75 (1). — P. 8—14.

8. Niitsu Y., Sugidachi A., Ogawa T. Repeat oral dosing of prasugrel, a novel P2Y₁₂ receptor inhibitor, results in cumulative and potent antiplatelet and antithrombotic activity in several animal species // Europ. J. of Pharmacol. — 2007. — Vol. 28. — P. 276—282.

9. Schumacher W. A., Steinbacher T. E., Youssef S., Ogletree M. L. Antiplatelet activity of the long-acting thromboxane receptor antagonist BMS 180,291 in monkeys // Prostaglandins. — 1992. — Nov. — Vol. 44 (5). — P. 389—397.

10. Spasov A. A., Nedogoda V. V., Konan K., Kucheryavenko A. F. Mechanism of reduction of platelet sensitivity to medicines in response to low-energy laser radiation of blood // Гематология и трансфузиология. — 2001. — Т. 46, № 2. — С. 36—39.

Контактная информация

Сиротенко Виктор Сергеевич — аспирант кафедры фармакологии, Волгоградский государственный медицинский университет, e-mail: sirotenko.viktor@yandex.ru