

**ВИВЧЕННЯ АНТИАГРЕГАНТНОЇ ТА АНТИКОАГУЛЯНТНОЇ АКТИВНОСТІ
7-(2'-ГІДРОКСИ-3'-ІЗОПРОПОКСИ)ПРОПІЛ-3-МЕТИЛ-8-
(4'-ФЕНІЛПІПЕРАЗИН-1'-ІЛ)-КСАНТИНУ В ЩУРІВ НА ФОНІ
ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЇ ГІПЕРЛІПІДЕМІЇ**

Проведено дослідження антиагрегантної та антикоагулянтної активності сполуки 7-(2'-гідрокси-3'-ізопропокси)пропіл-3-метил-8-(4'-фенілпіперазин-1'-іл)-ксантину при гіперліпідемії. Ця сполука впливає на першу та другу ланки гемостазу. Зокрема, антиагрегантна активність проявлялася за рахунок зменшення індексу активації тромбоцитів, ступеня агрегації та збільшення часу агрегації, антикоагулянтна дія – за рахунок зниження автокоагуляційного тесту, протромбінового індексу і фібриногену. Причому за рядом показників сполука 25 не поступалася препаратам порівняння – синкумару, ацетилсаліцилової кислоті та пентоксифіліну.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: сполука 7-(2'-гідрокси-3'-ізопропокси)пропіл-3-метил-8-(4'-фенілпіперазин-1'-іл)-ксантин, антиагрегантна та антикоагулянтна активність.

ВСТУП. Сучасні підходи до профілактики та лікування хворих на атеросклероз передбачають застосування антиагрегантних та антикоагулянтних засобів [2]. Відомо, що тромбоцити містять у своїх гранулах інгібітор активатора плазміногена. Вивільнення цих речовин при активації тромбоцитів може обмежувати лізування тромбів. Мабуть, при блокуванні ксантинами реакції “вивільнення” з тромбоцитів блокується і викид інгібіторів фібринолізу на відміну від аспірину [3].

З даних літератури, до того ж, відомо, що похідні ксантину проявляють периферичну вазодилататорну, антиагрегантну, кардіонейропротекторну, гіполіпідемічну дію за механізмом, пов'язаним з інгібуванням ізоферментів 3',5'-фосфодіестерази РДЕ₁ – РДЕ₅ при активації А₁- і А₂-аденозинових рецепторів [4].

У зв'язку з цим, метою даної роботи було вивчити антиагрегантну й антикоагулянтну активність речовини з найбільш вираженими гіполіпідемічною і антиатероматозною діями 7-(2'-гідрокси-3'-ізопропокси)пропіл-3-метил-8-(4'-фенілпіперазин-1'-іл)-ксантину (сполука 25), яку було обрано на підставі даних раніше проведеного скринінгу похідних 3-метилксантину при експериментальній гіперліпідемії.

МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ. Після заздалегідь проведеного скринінгу нами була вивчена ан-

тиагрегантна й антикоагулянтна активність речовини з найбільш вираженими гіполіпідемічною і антиатероматозною діями 7-(2'-гідрокси-3'-ізопропокси)пропіл-3-метил-8-(4'-фенілпіперазин-1'-іл)-ксантину (сполука 25). Досліди проведено на 58 щурах лінії Вістар обох статей масою 220–260 г. Об'єктом дослідження була плазма крові, яку забирали з черевного відділу аорти тварин на 6-ту добу після моделювання експериментальної гіперліпідемії в щурів: пероральне зондове введення дорослим щурам-самцям (які сформовано в групі по 7–9 тварин) холестерину в добовій дозі 40 мг/кг та фактора порушення ліпідного метаболізму й посилення всмоктування стероїдів у кишечнику – 0,125 % олійного розчину ергокальциферолу (вітамін D₂) в добовій дозі 8 мл/кг [5, 7]. Водну суспензію сполуки 25 вводили per os через годину після введення гіперліпідемогенної суміші протягом 5 днів. На 6-й день після наркотизації етиловим естером здійснювали забір крові з біфуркації аорти. Препаратами порівняння було обрано класичні антиагреганти ацетилсаліцилову кислоту і пентоксифілін, непрямий антикоагулянт синкумар та антиатеросклеротичний препарат аторвастатин. Формували також групи тварин: інтактну, контрольну (по 9 щурів) (введення суміші холестерол-ергокальциферол без додання препаратів) та групи тварин, яким вводили еталонні препарати – аторвастатин

(по 8 тварин) в дозі 20 мг/кг, ацетилсаліцилової кислоти в дозі 50 мг/кг, пентоксифілін в дозі 7,1 мг/кг, синкумар в дозі 0,28 мг/кг, сполуку 25 вводили в дозі 57 мг/кг згідно з LD₅₀ [4]. Антиагрегантний стан при експериментальній гіперліпідемії оцінювали за такими показниками: час агрегації в секундах, швидкість агрегації у %/хв, ступінь агрегації у % (за допомогою агрегометра) [6], проводячи гемолізат-агрегаційний тест, ми визначали індекс активації тромбоцитів (ІАТ), що характеризує міру активації тромбоцитів [1]. Для оцінки стану коагуляційного гемостазу були обрані показники гемостазиограми, що відображають найбільш суттєво стан антикоагулянтної системи: автокоагуляційний тест (АКТ) у %, фібринолітична активність (ФА) у %, антитромбін ІІІ (АТ ІІІ) у %, протромбіновий індекс (ПТІ) у %, кількість фібриногену за Рутберг у г/л [6].

Агрегатограми досліджували на агрегометрі "СОЛАР", який призначений для дослідження агрегації тромбоцитів турбідиметричним методом шляхом безперервного виміру змін коефіцієнта світлопропускання досліджуваного розчину. В основу принципу роботи агрегометра покладено метод Берн (метод світлопропускання) [3].

РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ. В результаті дослідження стану судинно-тромбоцитарного гемостазу було виявлено (табл. 1), що при експериментальній гіперліпідемії спосте-

рігалось значне збільшення індексу активації тромбоцитів (на 163,6 %) і міри агрегації (на 24,1 %). При цьому час агрегації трохи скорочувався (на 4,2 %), а швидкість агрегації знижувалася (на 12,5 %). Разом із тим, стан вторинного коагуляційного гемостазу супроводжувався (табл. 2) збільшенням протромбінового індексу на 18,20 %. При цьому спостерігалася також зміна системи фібринолізу. Так, мали місце підвищення рівня автокоагуляційного тесту на 16,8 %, зниження фібринолітичної активності на 13,8 %, незначне збільшення вмісту антитромбіну ІІІ, що відображало коагуляційну активність, на 8,96 %. Звертало на себе увагу також помірне зростання рівня фібриногену на 20,09 %.

У результаті проведеного дослідження (табл. 1) найбільш суттєво індекс активації тромбоцитів знижувався при введенні ацетилсаліцилової кислоти і досліджуваної сполуки 25 (на 55,94 і 46,37 % відповідно). Помірне зменшення цього показника спостерігалось при застосуванні синкумару (на 35,64 %) та пентоксифіліну (на 30,27 %).

Таким чином, оцінюючи первинний судинно-тромбоцитарний гемостаз за рівнем автокоагуляційного тесту, що відображає динаміку активації тромбопластин-тромбінової активності в досліджуваній крові, а також характеризує зовнішній механізм утворення активної протромбінази, можемо констатувати, що досліджувана сполука 25 незначно поступала-

Таблиця 1 – **Зміна антиагрегантного стану крові щурів під впливом сполуки 25 при експериментальній гіперліпідемії**

Сполука, препарат, група	Час агрегації, с	Швидкість агрегації, %/хв	Ступінь агрегації, %	Індекс активації тромбоцитів, ум. од.
Інтактна (n=9)	462,4±5,17	44,8±3,93	73,5±4,56	0,99±0,03
Контрольна (n=9)	443,0±10,1 p ₁ <0,05 -4,2	39,2±4,02 p ₁ >0,05 -12,5	91,2±3,93 p ₁ <0,05 +24,1	2,61±0,33 p ₁ <0,05 +163,6%
Аторвастатин (n=8)	445,2±5,75 p ₂ >0,05 +0,5	37,4±3,02 p ₂ <0,05 -4,6	91,0±4,16 p ₂ >0,05 -0,2	2,76±0,28 p ₂ >0,05 +5,74
Ацетилсаліцилова кислота (n=8)	484,0±6,14 p ₂ <0,05 +9,2	42,2±4,46 p ₂ >0,05 +7,6	76,8±6,13 p ₂ <0,05 -16,0	1,15±0,23 p ₂ >0,05 -55,94
Пентоксифілін (n=8)	431,5±8,67 p ₂ <0,05 -2,6	34,4±4,50 p ₂ >0,05 -12,2	91,0±4,80 p ₂ <0,05 -0,2	1,82±0,15 p ₂ <0,05 -30,27
Синкумар (n=8)	663,2±16,50 p ₂ >0,05 +49,7	19,4±3,33 p ₂ <0,05 -50,5	42,0±4,46 p ₂ <0,05 -54,0	1,68±0,21 p ₂ >0,05 -35,64
Сполука 25 (n=8)	497,4±6,61 p ₂ <0,05 +12,3	46,0±4,33 p ₂ <0,05 +17,3	75,4±6,70 p ₂ <0,05 -17,3	1,40±0,17 p ₂ >0,05 -46,37

Примітка. p₁ – достовірність відносно контрольної групи до інтактної; p₂ – достовірність відносно контрольної групи до дослідної.

Таблиця 2 – Зміна показників гемостазиограми крові щурів під впливом сполуки 25 при експериментальній гіперліпідемії

Сполука, препарат, група	АКТ, %	ФА, %	АТ III, %	ПТІ, %	Фібриноген, г/л
Інтактна	83,2±4,74	16,0±0,61	87,0±6,80	84,6±5,30	4,33±0,33
Контрольна	97,2±5,97 +16,8	13,8±0,88 -13,8	94,8±6,55 +8,96	100,0±5,20 +18,20	5,20±0,26 +20,09
Аторвастатин	95,5±6,54 p<0,01 -1,8	13,8±0,73 p<0,01 ±0	93,4±5,53 p<0,01 -1,5	97,1±5,33 p>0,05 -2,90	5,00±0,28 p<0,01 -3,8
Аспірин	87,0±5,70 p>0,05 -10,5	7,7±0,95 p<0,01 -44,2	57,0±6,30 p<0,01 -39,9	86,1±4,40 p<0,01 -13,90	3,90±0,30 p<0,01 -25,0
Пентоксифілін	96,0±6,28 p<0,01 -1,2	12,9±0,90 p<0,01 -6,5	88,2±5,74 p>0,05 -6,9	92,8±7,36 p>0,05 -7,2	4,37±0,40 p<0,01 -16,0
Синкумар	73,0±4,40 p>0,05 -25,0	5,5±0,81 p<0,01 -60,0	53,2±5,90 p<0,01 -43,9	72,4±5,50 p<0,01 -27,6	3,06±0,28 p<0,01 -41,1
Сполука 25	80,0±4,81 p<0,05 -17,7	8,4±0,23 p<0,01 -39,1	73,0±9,06 p<0,05 -23,0	79,8±4,36 p<0,05 -20,2	4,24±0,41 p<0,01 -18,4

ся ацетилсаліцилової кислоти та перевищувала таку дію пентоксифіліну і синкумару.

Досліджувана речовина 7-(2'-гідрокси-3'-ізопропокси)пропіл-3-метил-8-(4'-фенілпіперазин-1'-іл)-ксантин помірно знижувала ступінь агрегації на 17,3 %, але при цьому підвищувала швидкість агрегації на 17,3 %. Час агрегації ця сполука подовжувала на 12,3 %.

Ступінь агрегації препарати порівняння – синкумар і ацетилсаліцилова кислота знижували, відповідно, на 54,0 і 16,0 %. Ці ж препарати зменшували швидкість агрегації на 50,5 і 12,2 % відповідно. Час агрегації подовжувався на 49,7 і 9,25 % відповідно при введенні синкумару й ацетилсаліцилової кислоти. Еталонний антиатеросклеротичний препарат аторвастатин проявляв індиферентні властивості відносно первинного судинно-тромбоцитарного гемостазу.

При аналізі вторинного коагуляційного гемостазу (табл. 2) найбільш значно рівень автокоагуляційного тесту знижувався при введенні щурам синкумару (на 25,0 %), помірно – сполуки 25 (на 17,7 %) та ацетилсаліцилової кислоти (на 10,5 %). Синкумар також найбільш виражено (на 41,1 %) знижував рівень фібри-

ногену, а сполука 25, пентоксифілін та ацетилсаліцилова кислота – помірно (на 18,4, 16,0 і 25,0 % відповідно).

Протромбіновий індекс найбільш істотно зменшувався при введенні синкумару і сполуки 25 (на 27,6 і 0,2 % відповідно). Ацетилсаліцилова кислота цей показник знижувала на 13,9 %. Звертав на себе увагу факт зниження фібринолітичної активності при введенні синкумару, сполуки 25 і ацетилсаліцилової кислоти (на 60,0, 39,1 і 44,2 % відповідно), а також антитромбіну III цими ж засобами (на 43,9, 23,0 і 39,9 % відповідно).

ВИСНОВКИ. 1. Досліджувана сполука 25 має антиагрегантну дію, знижуючи виразно індекс активації тромбоцитів, ступінь агрегації та збільшуючи час агрегації.

2. Антикоагулянтний ефект цієї сполуки проявляється за рахунок зниження рівня автокоагуляційного тесту, протромбінового індексу та фібриногену.

3. Досліджувана сполука 25 за рядом показників не поступається препаратам порівняння – синкумару, ацетилсаліцилової кислоті та пентоксифіліну.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Баркаган Л. З. Гемолизат агрегационный тест / Л. З. Баркаган, Б. Ф. Архипов, В. М. Кучерский // Лаб. дело. – 1986. – № 3. – С. 138–143.

2. Климов А. Н. Липиды, липопротеиды и атеросклероз / А. Н. Климов, Н. Г. Никульчева. – СПб. : Питер Пресс, 1995. – 297 с.

3. Методические рекомендации по работе в области исследования агрегационной функции тромбоцитов. – Харьков, 2003.

4. Синтез и гиполипидемическая активность 7,8-дизамещенных 3-метилксантина / Н. И. Романенко, Б. А. Прийменко, В. С. Якушев [и др.] // Запорож. мед. журн. – 2004. – № 3 (24). – С. 127–129.

5. Стефанов О. В. Доклінічні дослідження

лікарських засобів / О. В. Стефанов. – К. : Авіцена, 2001. – 521 с.

6. Baugman D. G. Methods Enzymol / D. G. Baugman – 1970. – № 19. – P. 145–1581.

7. Yousufzai S. Y. K. 3-Hydroxy-3-Methylglutaric Acid and Experimental Atherosclerosis in Rats / S. Y. K. Yousufzai, M. Siddiqi // Experientia. – 1976. – **32**, № 8. – P. 1033–1034.

И. М. Белай, А. А. Остапенко, Н. И. Романенко
ЗАПОРОЖСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ

ИЗУЧЕНИЕ АНТИАГРЕГАНТНОЙ И АНТИКОАГУЛЯНТНОЙ АКТИВНОСТИ 7-(2'-ГИДРОКСИ-3'-ИЗОПРОПОКСИ)ПРОПИЛ-3-МЕТИЛ-8-(4'-ФЕНИЛПИПЕРАЗИН-1'-ИЛ)-КСАНТИНА У КРЫС НА ФОНЕ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ ГИПЕРЛИПИДЕМИИ

Резюме

Проведено исследование антиагрегантной и антикоагулянтной активности соединения 7-(2'-гидрокси-3'-изопропокси)пропил-3-метил-8-(4'-фенилпиперазин-1'-ил)-ксантина при гиперлипидемии. Это соединение влияет на первое и второе звенья гемостаза. В частности, антиагрегантная активность проявлялась за счет снижения индекса активации тромбоцитов, степени агрегации и увеличения времени агрегации, антикоагулянтное действие – за счет снижения аутокоагуляционного теста, протромбинового индекса и фибриногена. Причем по ряду показателей соединения 25 не уступало препаратам сравнения – синкумару, ацетилсалициловой кислоте и пентоксифиллину.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: соединение 7-(2'-гидрокси-3'-изопропокси)пропил-3-метил-8-(4'-фенилпиперазин-1'-ил)-ксантин, антиагрегантная и антикоагулянтная активность.

I. M. Bilay, A. O. Ostapenko, M. I. Romanenko
ZAPORIZHIAN STATE MEDICAL UNIVERSITY

STUDY OF THE ANTIADGESION AND ANTICOAGULATION ACTIVITY OF 7-(2'-HYDROXY-3'-ISOPROPOXY) PROPYL-3-METHYL-8-(4'-FENILPIPERAZIN-1'-YL)-XANTHINE IN RATS ON THE BACKGROUND OF THE EXPERIMENTAL HYPERLIPIDEMY

Summary

In the work the study of antiplatelet and anticoagulant activity of compound 7-(2'-hydroxy-3'-isopropoxy) propyl-3-methyl-8-(4'-fenilpiperazin-1'-yl)-xanthine at hyperlipidemia has been conducted. This compound affects the first and second hemostasis. In particular, antiplatelet activity has been shown by reducing the index of platelet activation, aggregation degree and the increase of time aggregation. Anticoagulant effect has been manifested by reducing of autocoagulation test, prothrombin index and fibrinogen. Moreover, a number of indicators compound 25 is not inferior to comparator products sinkumar, acetylsalicylic acid and pentoxifylline.

KEY WORDS: compound 7-(2'-hydroxy-3'-isopropoxy)propyl-3-methyl-8-(4'-fenilpiperazin-1'-yl)-xanthine, antiplatelet and anticoagulant activity.

Отримано 25.05.11

Адреса для листування: А. О. Остапенко, вул. Бородинська, 7, кв. 18, Запоріжжя, 69096, Україна.