

УДК 547.398 + 547.583

<https://www.doi.org/610.34907/JPQAI.2020.20.33.006>

ВЛИЯНИЕ РЯДА ПРОИЗВОДНЫХ 1,4-ДИКАРБОНОВЫХ КИСЛОТ НА ВРЕМЯ СВЕРТЫВАНИЯ КРОВИ

Н.В. Колотова, канд. хим. наук, доцент кафедры аналитической химии, ФГБУ «Пермская государственная фармацевтическая академия» (ПГФА) Минздрава России, г. Пермь, nina.kolotowa2015@yandex.ru

А.В. Старкова, канд. мед. наук, доцент кафедры физиологии, ФГБУ «Пермская государственная фармацевтическая академия» (ПГФА) Минздрава России, г. Пермь, allaperm@list.ru

Исследовано влияние шести монозамещенных амидов и восьми ацилгидразидов янтарной, малеиновой, цитраконовой и фталевой кислот на гемостаз на коагулометре АПГ4-02-П. опыты проводили на цитратной (3,8%) крови (9:1) кроликов. Для определения активности в кювету помещали 50 мкл крови и добавляли 50 мкл 0,2% раствора исследуемого соединения. В контроле вместо вещества добавляли 50 мкл изотонического раствора хлорида натрия. В качестве препарата сравнения использовали 50 мкл гепарина в концентрации 1 ЕД/мл крови или 50 мкл раствора препарата «Этамзилат» в концентрации 0,2%. Степень влияния соединений на гемостаз определяли по изменению времени свертывания цитратной крови в контроле и опыте. Из 14 исследованных производных 1,4-дикарбонновых кислот 10 соединений оказали влияние на гемостаз. Пять соединений проявили антикоагулянтный эффект. Гемостатическое действие проявили пять соединений. Эффект двух соединений аналогичен действию препарата «Этамзилат».

Ключевые слова: амиды и гидразиды 1,4-дикарбонновых кислот, прямая антикоагулянтная и гемостатическая активность

Лекарственные средства, влияющие на гемостаз, применяют в различных областях

медицины. Антикоагулянты широко используют в хирургической и терапевтической практике для профилактики и лечения заболеваний, вызывающих тромбоз. Однако у имеющих в настоящее время прямых антикоагулянтов имеется целый ряд недостатков: реакции в местах инъекций, развитие тромбоцитопении, риск возникновения геморрагических осложнений, усиление тромбообразования после отмены препарата и высокая стоимость лекарственных препаратов [1,2].

Профилактика и остановка кровотечений имеют важнейшее значение в гематологии, хирургии, травматологии, онкологии и акушерстве, поскольку для прекращения серьезных кровотечений необходимо использование гемостатических средств. С этой целью применяют препараты, имеющие различные механизмы воздействия на свертываемость крови. Гемостатики, используемые в настоящее время, обладают рядом недостатков, которые ограничивают их применение [3–5].

Все это обуславливает актуальность поиска и изучения новых соединений, оказывающих влияние на гемостаз.

В литературе есть данные, что амиды и гидразиды 1,4-дикарбонновых кислот обладают гемостатической и антикоагулянтной активностями [6–13].

Целью нашего исследования является дальнейшее изучение влияния на гемостаз монозамещенных амидов и гидразидов янтарной, малеиновой, цитраконовой и фталевой кислот, полученных по известным методикам [12–14], а также выявление зависимости «биологическое действие – структура соединений».

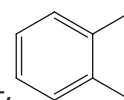
МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Объектами изучения биологической активности явились монозамещенные амиды и гидразиды янтарной, малеиновой и цитраконовой кислот. Общая формула исследованных соединений:



где

X-Y: $-\text{CH}_2-\text{CH}_2-$, $-\text{CH}=\text{CH}-$, $-\text{CH}=\text{C}(\text{CH}_3)-$,

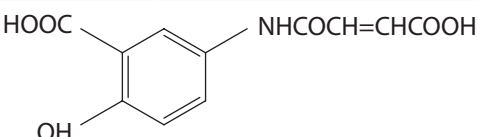
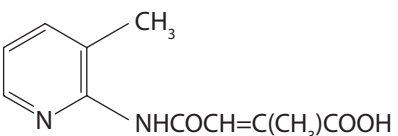
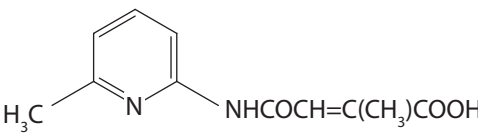


R: ацил-NH-, ацил-CONHNH- (**ацил:** алифатические, ароматические и гетероциклические заместители, см. табл.).

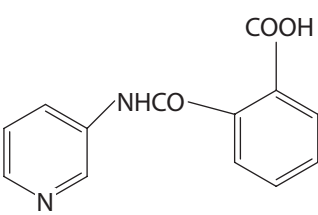
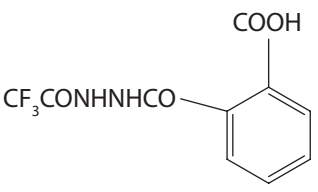


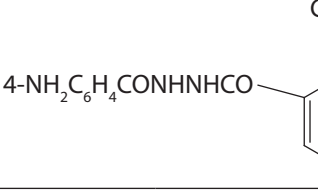
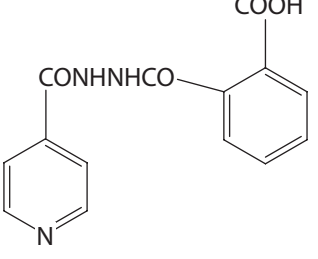
Изучение влияния соединений на гемостаз проводили на коагулометре АПГ4-02-П. Для исследования использовали цитратную (3,8%) кровь (9:1) кроликов. Для определения активности в кювету помещали 50 мкл крови и добавляли 50 мкл 0,2% раствора исследуемого соединения, для контроля вместо вещества добавляли 50 мкл изотонического раствора хлорида натрия. В качестве препаратов

Таблица

ВЛИЯНИЕ СОЕДИНЕНИЙ НА ВРЕМЯ СВЕРТЫВАНИЯ КРОВИ

| n/n | Формулы соединений | Кол-во кроликов, контроль | Время свертывания, сек. контроль | Кол-во кроликов, опыт | Время свертывания, сек. опыт | % изменения свертываемости | P |
|-----|---|---------------------------|----------------------------------|-----------------------|------------------------------|----------------------------|-------|
| 1. | $4-\text{CH}_3\text{CONHC}_6\text{H}_4\text{NHCOCH}_2-\text{H}_2\text{COOH}$ | 10 | 163,1±4,88 | 10 | 185,1±7,59 | -13,3 | <0,05 |
| 2. | $(\text{C}_6\text{H}_5)_2\text{C}=\text{NNHCOCH}_2-\text{CH}_2\text{COOH}$ | 10 | 127,9±4,93 | 10 | 103,2±5,84 | +19,3 | <0,02 |
| 3. | $4-\text{CH}_3\text{C}_6\text{H}_4\text{CONHNHCOCH}_2-\text{H}_2\text{COOH}$ | 10 | 116,3±4,80 | 10 | 118,2±4,07 | -1,6 | >0,05 |
| 4. | $2-\text{CF}_3\text{C}_6\text{H}_5\text{NHCOCOOH}$ | 10 | 95,3±7,14 | 10 | 101,1±4,64 | -6,1 | >0,05 |
| 5. |  | 10 | 125,1±2,30 | 10 | 135,9±3,98 | -8,6 | <0,05 |
| 6. |  | 10 | 121,5±4,07 | 10 | 91,9±2,98 | +24,4 | <0,02 |
| 7. |  | 10 | 110,8±3,80 | 10 | 125,4±5,13 | -13,2 | <0,05 |

Окончание таблицы

| n/n | Формулы соединений | Кол-во кроликов, контроль | Время свертывания, сек. контроль | Кол-во кроликов, опыт | Время свертывания, сек. опыт | % изменения свертываемости | P |
|---------|---|---------------------------|----------------------------------|-----------------------|------------------------------|----------------------------|--------|
| 8. | $2\text{-OH-C}_6\text{H}_5\text{CONHNHCOCH=C(CH}_3\text{)COOH}$ | 10 | 105,1±4,70 | 10 | 138,7±3,97 | -31,9 | <0,001 |
| 9. |  | | 145,1±3,08 | 10 | 119,1±3,29 | +17,9 | <0,001 |
| 10. |  | 10 | 98,1±7,39 | 10 | 100,5±6,77 | -2,4 | >0,05 |
| 11. |  | 10 | 115,4±5,14 | 10 | 99,6±5,48 | +13,7 | >0,05 |
| 12. |  | 10 | 141,6±5,09 | 10 | 120,2±4,23 | +15,1 | <0,01 |
| 13. |  | 10 | 92,7±3,05 | 10 | 72,6±3,80 | +21,7 | <0,01 |
| 14. |  | 10 | 122,1±4,46 | 10 | 138,1±3,94 | -13,6 | <0,05 |
| Эталоны | Этамзилат | 10 | 144,1±7,83 | 10 | 121,0±7,20 | +16,0 | <0,05 |
| | Гепарин | 10 | 145,7±9,64 | 10 | 618,3±55,88 | -324,4 | <0,001 |

сравнения добавляли 50 мкл гепарина в концентрации 1 ЕД/мл крови или 50 мкл раствора препарата «Этамзилат» в концентрации 0,2%. Затем пробы инкубировали в течение 60 сек., добавляли 50 мкл 1% раствора хлорида кальция и приступали к измерению времени свертывания крови. Каждое соединение изучалось на крови 10 животных.

Результаты исследования влияния соединений на свертывание крови обработаны способом вариационной статистики по методу Фишера – Стьюдента с помощью программы статистической обработки StatBase [15] и приведены в таблице.

Оценка биологической активности в экспериментах на животных осуществлялась в соответствии с требованиями Фармакологического комитета, изложенных в Руководстве по проведению доклинических исследований лекарственных средств [16]. Содержание животных соответствовало правилам лабораторной практики при проведении доклинических исследований в РФ (ГОСТ Р 51000.3-96 «Общие требования к испытательным лабораториям») и приказу МЗ РФ №267 от 19.06.2003 «Об утверждении правил лабораторной практики» (GLP), с соблюдением международных рекомендаций Европейской конвенции по защите позвоночных животных, используемых при экспериментальных исследованиях (1997 г.).

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Из 14 исследованных соединений пять производных 1,4-дикарбоновых кислот оказывают гемостатическое действие, два из них (соед. 6, 13) превышают активность препарата «Этамзилат», два соединения (2 и 9) действуют аналогично препарату сравнения. 3-Метил-2-пиридиламид цитраконовой кислоты (соед. 6) в 1,5 раза превышает активность препарата «Этамзилат», тогда как

такие же производные малеиновой и фталевой кислот обладают антикоагулянтным действием, а производное янтарной кислоты не оказывает влияния на гемостаз [8,10]. Перенос метильной группы из положения 3 (соед. 6) в положение 6 (соед. 7) приводит к смене влияния на свертывание крови с гемостатического на антикоагулянтное. 6-Метил-2-пиридиламид фталевой кислоты обладает антикоагулянтным действием, а такой же амид янтарной кислоты неактивен [8]. 4-Аминобензоилгидразид фталевой кислоты (соед. 13) в 1,35 раза превышает активность «Этамзилата», такое же производное малеиновой кислоты менее активно [8], а калиевые, натриевые и аммониевые соли фталевой и янтарной кислот не оказывают влияния на гемостаз [8, 10]. Пять соединений (1, 5, 7, 8, 14) проявили антикоагулянтный эффект, значительно уступающий действию гепарина. Наибольшей антикоагулянтной активностью обладает 2-гидроксibenзоилгидразид цитраконовой кислоты (соед. 8), хотя ранее для производных цитраконовой кислоты было обнаружено только гемостатическое действие [11]. Изоникотиноилгидразид фталевой кислоты (соед. 14) проявил незначительный антикоагулянтный эффект, такое же производное малеиновой кислоты неактивно, а изоникотиноилгидразид цитраконовой кислоты проявил гемостатическое действие, превышающее активность «Этамзилата» [8,10]. Феноксиацетилгидразид фталевой кислоты (соед. 11) не оказывает влияния на гемостаз, тогда как метоксиацетилгидразид этой кислоты обладает гемостатическим действием [10], то есть замена метоксильной группы на феноксигруппу приводит к потере активности.

ВЫВОДЫ

1. Монозамещенные амиды и гидразиды 1,4-дикарбоновых кислот являются

перспективными соединениями, оказывающими влияние на гемостаз, и для них характерны антикоагулянтная и гемостатическая активности.

2. Среди исследованных субстанций обнаружены пять соединений с гемостатическим эффектом (два из них превышают действие «Этамзилата») и пять соединений с прямой антикоагулянтной активностью.

БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

1. Blommel M.L., Blommel A.L. *Dabigatran etexilate: a novel oral direct thrombin inhibitor* // *Am.J. Health Syst. Pharm.* – 2011. – Vol. 68 (16). – Pp. 1506–1519.
2. Mak K.-H. // *European heart journal.* – 2011. – Vol. 32. – Pp. 20–22.
3. Бояринцев В.В., Назаров В.Б., Фрончек Э.В., Самойлов А.С., Юдин А.Б., Коваленко Р.А. Доклиническая оценка эффективности местных гемостатических препаратов (экспериментальное исследование) // *Медицина катастроф.* – 2010. – №3. – С. 23–25.
4. Pusateri A., McCarthy S., Gregory K. et al. *Effect of a Chitosan-Based Hemostatic Dressing on Blood Loss and Survival in a Model of Severe Venous Hemorrhage and Hepatic Injury in Swine* // *Journal of Trauma-Injury Infection & Critical Care.* – 2003. – Vol. 54. – Pp. 177–182.
5. Alam Hasan B., Chen Z., Miller D. // *Ibid.* – 2004. – Vol. 56 (5). – Pp. 974–983.
6. D'Angelo J. // *Isr.J. Cyet.* – 1997. – Vol. 37. – Pp. 81–85.
7. Козьминных В.О., Сыропятов Б.Я. Замещенные амиды и гидразиды малеиновой кислоты // *Хим.-фарм. журнал.* – 1993. – Т. 27. – №2. – С. 43–47.
8. Сыропятов Б.Я., Колотова Н.В., Долженко А.В. Влияние на гемостаз производных янтарной и малеиновой кислот // *Вопросы биологической, медицинской и фармацевтической химии.* – 2012. – №5. – С. 31–36.
9. Колотова Н.В., Старкова А.В., Чащина С.В. Синтез и биологическая активность монозамещенных гидразидов итаконовой и диметилмалеиновой кислот // *Вопросы обеспечения качества лекарственных средств.* – 2016. – №3 (13). – С. 15–23.
10. Сыропятов Б.Я., Колотова Н.В. Влияние на гемостаз производных фталевых кислот // «Инновации в науке», сборник трудов XVI Международной заочной научно-практической конференции, 28 января 2013 г., Москва. – 2013. – С. 139–147.
11. Сыропятов Б.Я., Колотова Н.В. Влияние производных цитраконовой кислоты на гемостаз // *Вопросы биологической, медицинской, и фармацевтической химии.* – 2015. – №6. – С. 54–56.
12. Колотова Н.В., Старкова А.В. Биологическая активность ряда ацилгидразидов 1,4-дикарбоновых кислот // *Вестник ВГУ.* – 2018. – №1. – С. 131–137.
13. Dolzhenko A.V. // *Pharmaceutical Chemistry Journal.* – 2002. – Vol. 36. – Pp. 174–176.
14. Dolzhenko A.V. // *Pharmaceutical Chemistry Journal.* – 2003. – Vol. 37. – Pp. 229–231.
15. Прозоровский В.В. Статистическая обработка результатов фармакологических исследований // *Психофармакология и биологическая наркология.* 2007. – Т. 7. – Вып. 3–4. – С. 2090–2120.
16. Миронов А.Н. Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств. – Москва: ГрифиК, 2012, ч. 1. – 197 с.

INFLUENCE OF A SERIES OF 1,4-DICARBONIC ACID DERIVATIVES AT THE TIME OF BLOOD COLLECTION

N.V. Kolotova, A.V. Starkova

Perm State Pharmaceutical Academy, Perm, Russia

The effect of six monosubstituted amides and eight acylhydrazides of succinic, maleic, citraconic and phthalic acids on hemostasis on the coagulometer APG4-02-P was studied. The experiments were performed on citrated (3.8%) blood (9:1) rabbits. To determine the activity, 50 µl of blood was placed in the cuvette and 50 µl of a 0.2% solution of the test compound was added. In the control, instead of the substance, 50 µl of isotonic sodium chloride solution was added. As the reference preparation, 50 µl of heparin was used at a concentration of 1 U/ml of blood or 50 µl of a solution of the preparation Etamsilat at a concentration of 0.2%. The degree of influence of the compounds on hemostasis was determined by the change in the clotting time of citrated blood in the control and experiment. Of the fourteen studied derivatives of 1,4-dicarboxylic acids, ten compounds had an effect on hemostasis. Five compounds exhibited anticoagulant effects. Five compounds exhibited a hemostatic effect. The effect of the two compounds is similar to that of Etamsilat.

Keywords: amides and hydrazides of 1,4-dicarboxylic acids, direct anticoagulant and hemostatic activity