

**Фенольные соединения водяники чёрной (*Empetrum nigrum* L.) ингибируют тромбин-индуцированную активацию тромбоцитов****Научный руководитель – Рукояткина Наталия Ильинична***Пронин Н.А.<sup>1</sup>, Демина Е.В.<sup>2</sup>*

1 - Санкт-Петербургский государственный химико-фармацевтический университет, Санкт-Петербург, Россия, *E-mail: nikita-pronin-2016@mail.ru*; 2 - Санкт-Петербургский государственный химико-фармацевтический университет, Санкт-Петербург, Россия, *E-mail: ekaterina.demina@spcpu.ru*

Тромбозы играют важную роль в патогенезе сердечно-сосудистых заболеваний, что обуславливает необходимость применения антиагрегантных лекарственных препаратов. Однако их применение ограничивается возникающей у части пациентов резистентностью (к ацетилсалициловой кислоте, клопидогрелу) [4]. В связи с этим становится актуальным вопрос поиска новых средств данной группы, в том числе растительного происхождения.

На кафедре фармакогнозии СПХФУ из надземной части водяники чёрной (*Empetrum nigrum* L.) были выделены шесть фенольных соединений различных групп: 9,10-дигидрофенантрены - 4,7-дигидрокси-2,3-диметокси-9,10-дигидрофенантрен (**EN17**), 6-гидрокси-2,3,4-триметокси-9,10-дигидрофенантрен (**EN20**), 5-гидрокси-2,3,4-триметокси-9,10-дигидрофенантрен (**EN55**); дигидрохалконы - 4'-гидрокси-2'-метоксидигидрохалкон (**EN23**), 2',4'-дигидроксидигидрохалкон (**EN59**); халконы - 2',4'-дигидрокси-халкон (**EN58**). Формулы представлены на рис. 1. Показано, что 9,10-дигидрофенантрены способны ингибировать активацию тромбоцитов *in vitro* [2]. В литературе также описан антитромбоцитарный эффект некоторых дигидрохалконов и халконов других растений [1,3]. Однако аналогичные свойства биологически активных веществ водяники чёрной до сих пор не изучались. В работе продемонстрировано влияние всех шести веществ на тромбин-индуцированную активацию тромбоцитов.

Исследование проводилось на тромбоцитах, полученных от здоровых доноров (n=6). Степень активации тромбоцитов оценивалась методом проточной цитометрии по уровню связывания меченого флуоресцентным красителем Alexa Fluor 647 фибриногена с  $\alpha$ IIb $\beta$ 3-интегриновыми рецепторами. Растворы веществ в диметилсульфоксиде (исходная концентрация 10 мМ) вводились в пробы до достижения концентраций 30  $\mu$ М, 90  $\mu$ М. После 30 минут инкубации при 37<sup>0</sup>С тромбоциты (кроме контроля) активировались тромбином (рабочая концентрация 50 мU/ml). Реакция тормозилась фосфатным буфером PBS.

Результаты представлены на рис. 2 и рис. 3. Все производные 9,10-дигидрофенантрена и дигидрохалконы дозозависимо ингибируют активацию тромбоцитов, причём в концентрации 30  $\mu$ М эффект наиболее выражен у EN59 и EN23 (58,7 $\pm$ 8,6% и 62,1 $\pm$ 10,7% от контрольной активации соответственно). При 90  $\mu$ М самую высокую активность проявляют EN55 и EN59 (18,7 $\pm$ 4,93% и 32,05 $\pm$ 5,6% соответственно). Эффект EN58 - халкона - не является дозозависимым при данных концентрациях, уже при 30  $\mu$ М активация снижается до 21,5 $\pm$ 3,9%, но при увеличении концентрации до 90  $\mu$ М она повышается до 29,1 $\pm$ 3,3%. Более слабыми свойствами обладают EN17 и EN20. Данные являются статистически значимыми (p $\leq$ 0,05).

Полученные данные позволяют судить о том, что пять из шести исследованных соединений способны к дозозависимому ингибированию активации тромбоцитов, причём наиболее выраженно этот эффект проявляется у дигидрофенантрена (в высокой дозе) - EN55 - дигидрохалконов - EN23 и EN59 - и у халкона - EN58 - но без дозозависимости в данном диапазоне. Для установления механизмов действия необходимо дополнительное изучение

их влияния на ингибирующие сигнальные пути тромбоцитов.

Работа выполнена в ФГБУН "Институт эволюционной физиологии и биохимии им. И.М. Сеченова" РАН.

### Источники и литература

- 1) Chen JJ, Lee HH, Shih CD, Liao CH, Chen IS, Chou TH. New dihydrochalcones and anti-platelet aggregation constituents from the leaves of *Muntingia calabura* // *Planta Med.* 2007 Jun;73(6):572-7. doi: 10.1055/s-2007-967196.
- 2) Hu JM, Chen JJ, Yu H, Zhao YX, Zhou J. Five new compounds from *Dendrobium longicornu* // *Planta Med.* 2008 Apr;74(5):535-9. doi: 10.1055/s-2008-1074492
- 3) Ohkura N, Ohnishi K, Taniguchi M, Nakayama A, Usuba Y, Fujita M, Fujii A, Ishibashi K, Baba K, Atsumi G. Anti-platelet effects of chalcones from *Angelica keiskei* Koidzumi (*Ashitaba*) in vivo // *Pharmazie.* 2016 Nov 2;71(11):651-654. doi: 10.1691/ph.2016.6678
- 4) Floyd CN, Ferro A. Antiplatelet drug resistance: Molecular insights and clinical implications // *Prostaglandins & Other Lipid Mediators* [Internet]. Elsevier BV; 2015 Jul;120:21–7. doi: 10.1016/j.prostaglandins.2015.03.011

### Иллюстрации

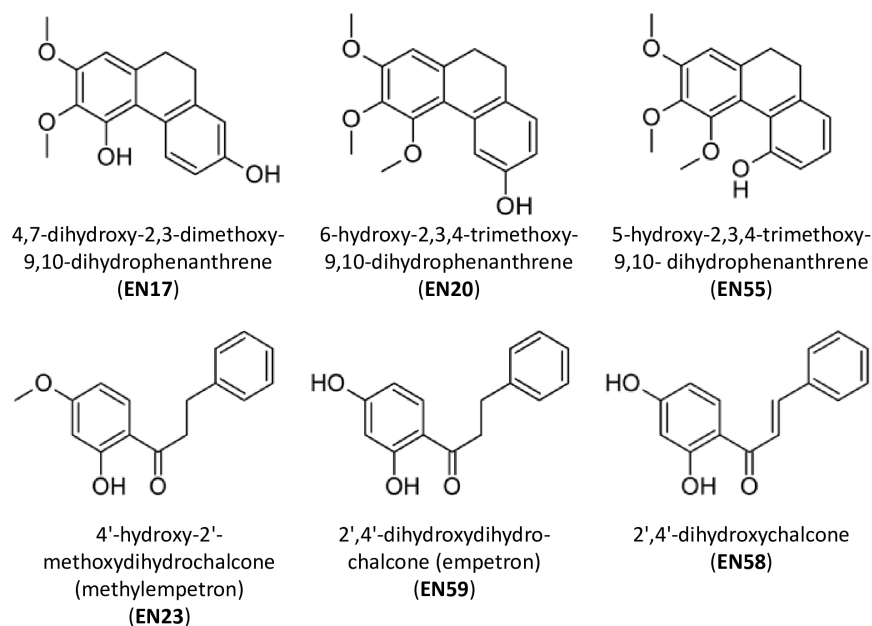


Рис. 1. Структурные формулы исследуемых веществ

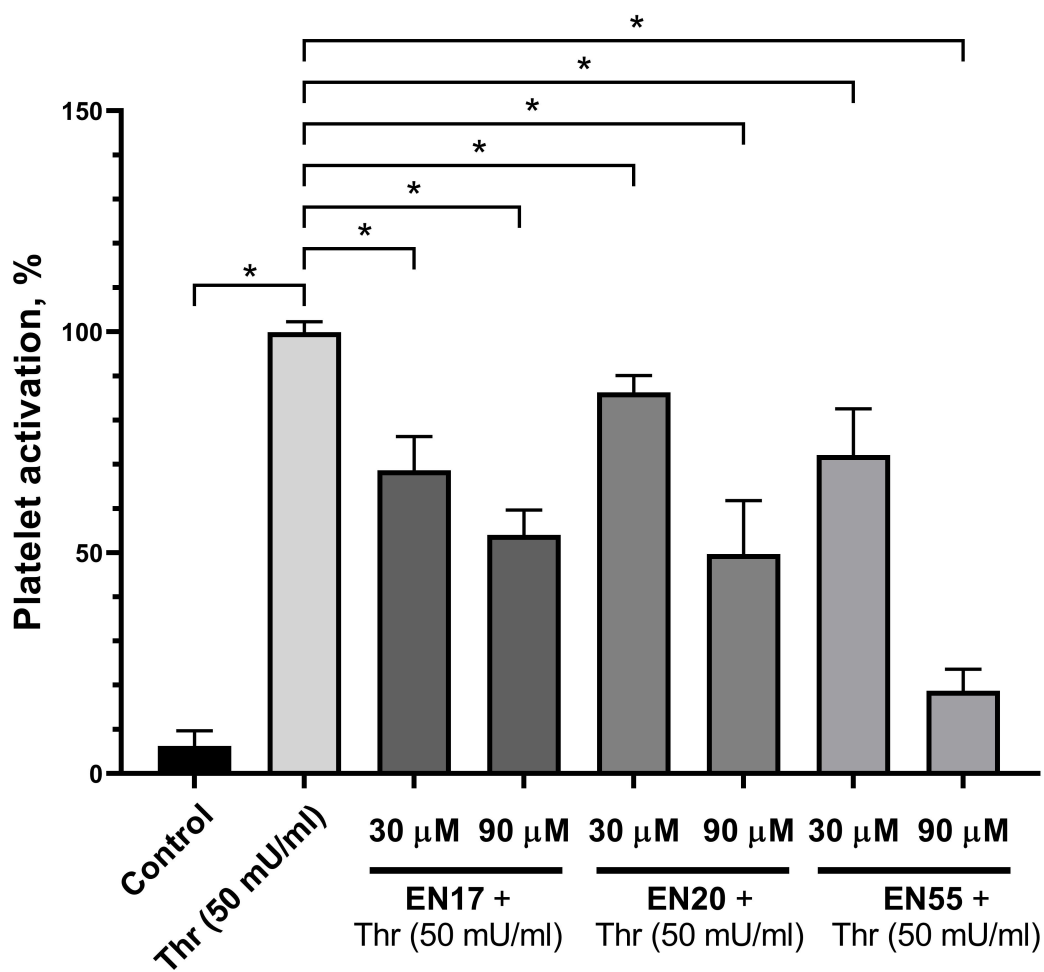


Рис. 2. Влияние EN17, EN20, EN55 (дигидрофенантронов) на активацию тромбоцитов

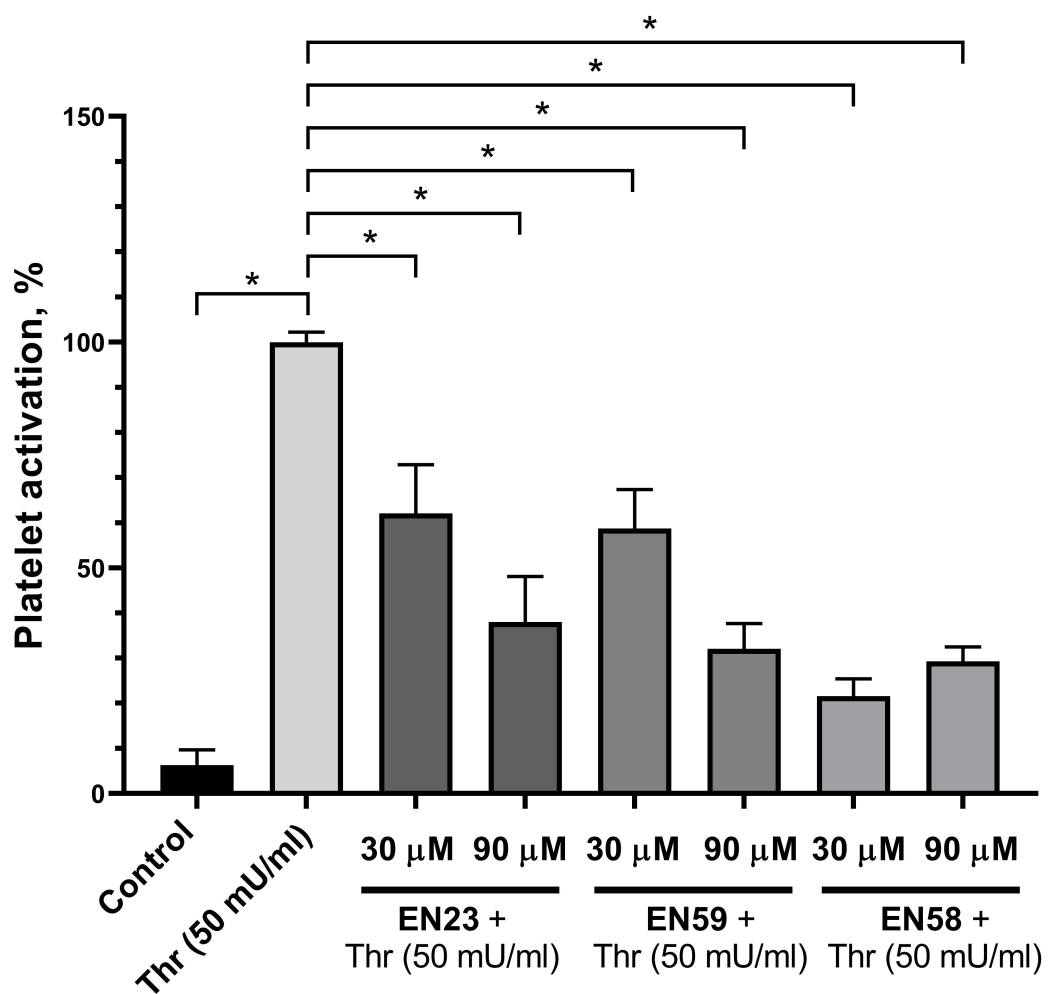


Рис. 3. Влияние EN23, EN59, EN58 (дигидрохалконов и халкона) на активацию тромбоцитов