

ФАРМАКОЛОГИЯ СИСТЕМЫ КРОВИ

АНТИКОАГУЛЯНТНАЯ АКТИВНОСТЬ *IN VITRO* СУЛЬФАТИРОВАННОГО АРАБИНОГАЛАКТАНА И ЭКСТРАКТА КОРЫ КЕДРА

Н. Н. Дрозд¹, С. А. Кузнецова², Е. С. Лапикова¹, А. И. Давыдова¹,
В. А. Макаров¹, Б. Н. Кузнецов², А. И. Бутылкина², Н. Ю. Васильева³, Г. П. Скворцова²

Исследовали *in vitro* способность экстрактов из коры кедр сибирского (*Pinus sibirica Du Tour*) и сульфатированного арабиногалактана из древесины лиственницы (*Larix sibirica Ledeb.*) удлинять время свертывания плазмы крови человека, а также ингибировать амидолитическую активность тромбина (аПа) и фактора свертывания Ха (аХа). Выявили способ, с помощью которого у экстракта коры кедр аХа активность увеличивается в 3,7 раза, аПа — в 2,5 раза. Сульфатированный арабиногалактан удлинял время свертывания в тесте активированного частичного тромбопластинового времени. Эффективная концентрация, при которой время свертывания увеличивалось в 2 раза (в сравнении с контролем) составила $2,94 \pm 0,33$ мг/мл. Способность ингибировать активность фактора Ха у арабиногалактана не обнаружена.

Ключевые слова: антикоагулянты, сульфатированный арабиногалактан, экстракт коры кедр, тромбин, фактор Ха

ВВЕДЕНИЕ

Используемый в клинической практике антикоагулянт прямого типа действия нефракционированный гепарин (НФГ) является сульфатированным полисахаридом (СП) с молекулярной массой 2–40 кД (в среднем 15 кД), вызывает ряд побочных эффектов: остеопороз, тромбоцитопению, геморрагии. Он неэффективен при врожденном или приобретенном дефиците антитромбина, не ингибирует связанный с фибрином тромбин [12]. НФГ получают с небольшим выходом из легких крупного рогатого скота или слизистой оболочки кишечника свиней. Появление губковидных энцефалопатий [болезнь Крейтцфельда-Якоба, Creutzfeldt-Jakob disease (nvCJD); фатальная семейная бессонница, fatal family insomnia (FFI); синдром Герстмана-Штраусслера-Шейнкера, Gerstmann-Strausler-Scheinker syndrom (GSS)], связанных с прионовыми белками (PrPsc) [6], обнаруживаемыми в тканях млекопитающих (крупный и мелкий рогатый скот), предполагает поиск альтернативных источников веществ с антикоагулянтными и антитромботическими свойствами. Такими источниками являются грибы, низшие и высшие растения, морские беспозвоночные,

членистоногие. Морские водоросли, лишайники, грибы содержат сульфатированные полисахариды — фулканы, галактаны, которые имеют антитромбиновую активность [18]. Для придания молекулам полисахаридов необходимых свойств их деполимеризуют [13], в них встраивают функциональные группы [9], объединяют [конъюгируют] с молекулами других полисахаридов [7]. Структура макромолекулы СП играет важную роль при проявлении антикоагулянтной активности (АА). Так, под действием модифицированного аргинином хитозана (конъюгат хитозан-аргинин) происходят конформационные изменения молекулы тромбина. Введение функциональных групп для получения химически модифицированного N-propanoyl-, N-hexanoyl- и N,O-quaternary substituted сульфата хитозана приводит к увеличению антикоагулянтной активности. При изменении положительного заряда поверхности полимерного биоматериала на основе хитозана с боковыми цепями из полиэтиленгликоля и гексанала на нейтральный или отрицательный, при добавлении SO_3^- групп снижается адгезия тромбоцитов и возрастает биосовместимость с кровью, которая положительно коррелирует с содержанием полиэтиленгликоля внутри полимера [15]. Одним из доступных видов растительных полисахаридов является арабиногалактан, который содержится в древесине лиственницы сибирской в количестве до 20 % мас. Антикоагулянтной активностью обладают экстракты некоторых видов коры, а также разных частей травянистых, кустарниковых и древовидных растений. Так, препарат Русногенол [10] из коры сосны приморской (*Pinus maritima*) препятствует адгезии и агрегации тромбоцитов, явля-

¹ Лаборатория патологии и фармакологии гемостаза (руководитель — проф. В. А. Макаров) Гематологического научного центра РАМН, Москва, 125167, Новый Зыковский проезд, 4а.

² Лаборатория каталитической химии угля и биомассы (руководитель — проф. Б. Н. Кузнецов) Института химии и химической технологии СО РАН, Красноярск, 660049, Карла Маркса, 42.

³ Кафедра органической химии (руководитель — проф. Б. Н. Кузнецов) Сибирского федерального университета, Красноярск, 660041, проспект Свободный, 79.

ется эффективным антиоксидантом и капилляропротектором [14].

Целью настоящего исследования являлось изучение *in vitro* антикоагулянтной активности экстрактов коры кедр сибирского (*Pinus sibirica Du Tour*), полученных разными способами, а также сульфатированного арабиногалактана (САГ). Источник несulfатированного арабиногалактана — древесина лиственницы.

МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

В качестве образцов для исследования использовали экстракты коры кедр. Химический состав исходной коры кедр сибирского (*Pinus sibirica Du Tour*): (в % от массы абсолютно сухой коры): целлюлоза — 22,15; пентозаны — 7,11; лигнин — 30,0; экстрактивные вещества — 29,37; легкогидролизуемые полисахариды — 17,25; трудногидролизуемые полисахариды — 19,33; зольность — 0,87.

При получении образца № 1 (ЭКК-1) кору кедр экстрагировали кипящей водой, отгоняли воду на ротационном испарителе, высушивали продукт при температуре 40 °С. Полученный сухой продукт подвергали экстракции этилацетатом в аппарате Сокслета, затем этилацетат отгоняли до 1/10 от первоначального объема. Конечный продукт высаживали хлороформом, отфильтровывали и сушили. Аналогичным способом производят из коры сосны приморской препарат Руспогенол, который является эффективным антиоксидантом и антикоагулянтом. Руспогенол, экстракт коры приморской сосны состоит из процианидинов разной длины — от димеров до гептамеров, построенных на основе катехина и эпикатехина. Препарат содержит также фенолокислоты (кофейная, феруловая, *n*-гидроксibenзойная) и глюкозилированные производные флавонолов и фенолокислот.

Образец № 2 (ЭКК-2) получали экстракцией коры кедр этилацетатом в аппарате Сокслета. Вначале кору кедр экстрагировали гексаном для удаления смолистых веществ, затем этилацетатом. После отгонки этилацетата экстракт высушивали при комнатной температуре. Известно, что этилацетатом из коры хвойных пород извлекается сложная смесь фенолокислот и флавоноидов. Флавоноидные соединения представлены мономерными, олигомерными и полимерными продуктами.

Сульфатирование арабиногалактана для получения образца № 3 (САГ) проводилось в среде диметилформамида (ДМФА) без предварительной подготовки. Навеску арабиногалактана (0,7 г) диспергировали в 15 мл ДМФА, вносили 1 мл триэтиламина (ТЭА) для создания слабощелочной среды, способствующей поляризации ОН-группы. В качестве сульфатирующего агента использовали 4 г пиридин-SO₃ комплекса. Сульфатирующий агент добавляли порциями по одному грамму через 1 ч. Сульфатирование проводили в течение 4 часов при перемешивании и температуре 25 °С. По окончании реакции смесь разбавляли вдвое ледяной водой, перемешивали до растворения осадка, проводили нейтрализацию ТЭА до pH 5. Сульфатированный арабиногалактан осаждали 5-кратным объемом 96 % этанола. После 2-кратной промывки этанолом и однократной — ацетоном полисахарид высушивали в эксикаторе над СаСl₂. ИК-спектр сульфатированного арабиногалактана снимали в таблетках КВг на приборе BRUKER. ИК-спектр САГ: 1078 см⁻¹ (ν_{СОС}), 3418 см⁻¹ (ν_{ОН}). Присутствие в ИК-спектрах сульфатированного арабиногалактана слабой полосы поглощения 1490 см⁻¹, соответствующей валентным колебаниям S=O, обусловлено малой степенью сульфатирования. Найдено (%): С 39,46; Н 6,10; S 0,75. [(C₆H₁₀O₅)₆ · C₅H₈O₄]_n.

Степень замещения по сульфатным группам составила не более 2 · 10⁻³. Степень замещения рассчитывали по формуле: $CZ_s = \frac{984 \cdot \omega_s}{3000 - \omega_s \cdot 81}$, где ω_s — массовая доля серы, 984 — масса элементарного звена арабиногалактана [(C₆H₁₀O₅)₆ · C₅H₈O₄]_n, 3000 — средняя молекулярная масса арабиногалактана [3].

Действие экстрактов коры кедр и сульфатированного арабиногалактана на изменение времени свертывания плазмы крови человека исследовали в коагулологических тестах активированного частичного тромбопластинового времени (аЧТВ, оценка влияния на внутренний путь свертывания крови) и РеаКлот-Гепарин НПО “Ренам” (оценка влияния на активность фактора Ха) [4]. В экспериментах использовали лиофильно высушенную плазму человека, произведенную в НПО “Ренам”. Ингибирование амидолитической активности тромбина и фактора Ха исследуемыми образцами изучали по изменению скорости расщепления

Таблица 1. Влияние образцов на внутренний путь свертывания крови в тесте активированного частичного тромбопластинового времени (аЧТВ, с)

Образец	Конечная концентрация, мг/мл											
	0	0,2	0,33	0,4	0,5	0,67	0,8	1	1,5	2	2,5	3
№1 ЭКК-1		32,1 ± 3,3	33 ± 2,8	35,6 ± 3,7	41 ± 3,9*	49,9 ± 2,6*	51,1 ± 4,5**	58,7 ± 4,7***	60 ± 5,1***	63,3 ± 7,2***	85,3 ± 7,7***	133 ± 9,3***
№2 ЭКК-2		44,2 ± 3,5*	52,9 ± 5**	54,4 ± 4,8**	58,9 ± 4,4***	100 ± 11***	189 ± 15***	265,9 ± 21***				
№3 САГ	31,9 ± 2,7	32 ± 2,8	31,8 ± 3,0	33,1 ± 2,6	33,4 ± 2,5	34 ± 2,2	34,3 ± 2,5	34,7 ± 2,8	37,2 ± 2,8	40,1 ± 3,2*	47,3 ± 3,6*	66,5 ± 5,2***

Примечание. Здесь и в табл. 2–4 различия с данными, полученными в пробах без антикоагулянтов достоверны (конечная концентрация — 0 мг/мл) при: * — *p* < 0,05; ** — *p* < 0,01; *** — *p* < 0,001.

Таблица 2. Влияние экстрактов коры кедр сибирского на активность фактора Ха (с) в тесте РеаКлот-Гепарин

Образец	Конечная концентрация, мг/мл								
	0	0,27	0,34	0,45	0,67	1,34	2	4	5
№1 ЭКК-1	20,9 ± 1,7	20,9 ± 2	21,1 ± 2,1	21 ± 2	22,2 ± 1,9	23 ± 1,9	28,3 ± 2,3*	40 ± 3,5**	53,2 ± 3,8***
№2 ЭКК-2		21 ± 1,1	22,5 ± 2,2	23,4 ± 3,5	27,8 ± 2,8*	44,8 ± 5**	63,5 ± 5,4***		

хромогенных субстратов S-2238 или S-2222 при $\lambda = 405$ нм [16]. Для расчета специфических анти-тромбиновой (анти-фактор Па, аПа) и анти-фактор Ха (аХа) активностей использовали калибровочные кривые 5-го Международного стандарта нефракционированного гепарина (NIBSC). Ингибирование амидолитической активности тромбина и фактора Ха с вычислением концентраций образцов, при которых скорость амидолитической реакции снижалась в два раза (IC_{50}) в сравнении с контролем, определяли по [11].

Оценка значимости различий двух средних арифметических рядов экспериментальных данных проводили по *t*-критерию Стьюдента. Для определения связи между двумя признаками в рядах экспериментальных данных использовали корреляционный анализ.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Была сопоставлена антикоагулянтная активность *in vitro* экстрактов коры кедр сибирского, полученных разными способами, сульфатированного арабиногалактана (САГ) и стандартного образца — нефракционированного гепарина. В тесте аЧТВ исследованные образцы в конечных концентрациях 0,2 – 3 мг/мл удлиняли время появления фибринового сгустка плазмы крови человека (табл. 1). Наибольшей АА обладал образец экстракта коры кедр № 2. Концентрация, при которой время свертывания плазмы увеличивалось в 2 раза (2аЧТВ), в сравнении с контрольным ($31,9 \pm 2,7$) составила $0,54 \pm 0,02$ мг/мл (табл. 5). Образцы № 1 и № 3 показали меньшую, в сравнении с образцом № 2, способность удлинять время свертывания плазмы. Для НФГ, выбранного в качестве стандарта, подобная величина составила $0,00033 \pm 0,1$ мг/мл. Антитромбиновая активность (аПа) образцов, рассчитанная по гепарину, достигала $0,053 - 0,2$ ЕД/мг и коррелировала с эффективной концентрацией 2аЧТВ.

Образец экстракта коры кедр № 2 в большей степени удлинял время появления фибринового сгустка плазмы человека в тесте РеаКлот-Гепарин (определе-

ние влияния исследуемых веществ на активность фактора Ха в коагулологическом тесте), табл. 2, чем образец № 1, в диапазоне концентраций 0,27 – 5 мг/мл. При добавлении образца № 3 время свертывания плазмы не увеличивалось. Концентрация образцов № 1 и № 2, при которой время свертывания плазмы увеличивалось в 2 раза (2РеаКлот), достигала $4,5 \pm 0,7$ и $1,3 \pm 0,19$ мг/мл соответственно (табл. 5). Активность против фактора Ха (аХа) для образцов № 1 и № 2, рассчитанная по гепарину, составила $0,012 - 0,044$ ЕД/мг и коррелировала с концентрацией 2РеаКлот (табл. 5).

Способность экстрактов коры кедр и сульфатированного арабиногалактана ингибировать активность тромбина и фактора Ха в присутствии антитромбина определяли в амидолитических тестах с применением хромогенных субстратов S 2238/S 2222. Образцы № 2 и № 3 в конечных концентрациях 0,042 – 1 мг/мл снижали скорость гидролиза тромбином хромогенного субстрата (табл. 3). Наибольшей активностью обладал образец экстракта коры кедр № 2. Концентрации IC_{50} для образцов № 2 и № 3 составили $0,32 \pm 0,05$ мг/мл и $0,83 \pm 0,04$ мг/мл соответственно (табл. 5), что в 2000 раз больше, чем для стандарта гепарина ($0,00014 \pm 0,00005$ мг/мл). Отмечена корреляция с аПа активностью образцов, рассчитанной по стандарту гепарина. Образец № 1 не ингибировал амидолитическую активность тромбина в присутствии антитромбина.

Ингибирование амидолитической активности фактора Ха (табл. 4) у образца № 2 выражено в большей степени, чем у образца № 1 в концентрациях 0,11 – 2,4 мг/мл. Концентрации IC_{50} для образцов № 1 и № 2 составили $1,71 \pm 0,22$ мг/мл и $2,15 \pm 0,34$ мг/мл соответственно (табл. 5). Эти значения коррелируют с аХа активностью, рассчитанной по гепарину ($0,005 \pm 0,00067$ мг/мл и $0,01 \pm 0,0024$ мг/мл). Образец № 3 не ингибировал амидолитическую активность фактора Ха с помощью антитромбина.

Таблица 3. Ингибирование экстрактами коры кедр (образцы № 1 и № 2) и сульфатированным арабиногалактаном (образец № 3) амидолитической активности тромбина (А 405/мин)

Образец	Конечная концентрация, мг/мл							
	0	0,042	0,084	0,21	0,42	0,6	0,84	1
№1 ЭКК-1		0,194 ± 0,011	0,199 ± 0,024	0,210 ± 0,020	0,220 ± 0,018	0,230 ± 0,011	0,240 ± 0,019	
№2 ЭКК-2		0,202 ± 0,022	0,184 ± 0,017	0,142 ± 0,037	0,064 ± 0,006***	0,05 ± 0,007***		
№3 САГ	0,195 ± 0,023	0,190 ± 0,012	0,193 ± 0,017	0,175 ± 0,015	0,150 ± 0,010**	0,114 ± 0,012**	0,099 ± 0,008***	0,057 ± 0,006***

Таблица 4. Ингибирование экстрактами коры кедр сибирского амидолитической активности фактора Ха (А 405/мин)

Образец	Конечная концентрация, мг/мл						
	0	0,11	0,22	0,55	1,1	1,9	2,4
№1 ЭКК-1		0,281 ± 0,023	0,285 ± 0,025	0,270 ± 0,033	0,192 ± 0,022*	0,150 ± 0,012**	0,110 ± 0,010***
№2 ЭКК-2	0,270 ± 0,018	0,272 ± 0,035	0,253 ± 0,022	0,198 ± 0,024*	0,175 ± 0,019**	0,132 ± 0,011***	0,066 ± 0,009***

Таблица 5. Сопоставление специфической антикоагулянтной активности образцов

Образец	Коагулологические методы исследования				Амидолитические методы исследования			
	2 АЧТВ, мг/мл	aIIa, ЕД/мг	2 РеаКлот, мг/мл	aХа, ЕД/мг	IC ₅₀ aIIa, мг/мл	aIIa, ЕД/мг	IC ₅₀ aХа, мг/мл	aХа, ЕД/мг
№1 ЭКК-1	2,09 ± 0,31	0,085 ± 0,009	4,5 ± 0,7	0,012 ± 0,001	нет	0	2,15 ± 0,34	0,005 ± 0,00067
№2 ЭКК-2	0,54 ± 0,02*	0,2 ± 0,05*	1,3 ± 0,19*	0,044 ± 0,006*	0,32 ± 0,054	0,0091 ± 0,0007	1,71 ± 0,22	0,01 ± 0,0024*
№3 САГ	2,94 ± 0,33	0,053 ± 0,004	не определить	0	0,83 ± 0,04	0,001 ± 0,0006	не определить	0
5 Межд. ст. НФГ	0,00033 ± 0,0001	203,1	0,00047 ± 0,00008	220	0,00014 ± 0,00005	203,1	0,00065 ± 0,00006	220

Примечание. 5 Межд. ст. НФГ — 5-й Международный стандарт нефракционированного гепарина.

Известно, что сульфатированные полисахариды и некоторые растительные экстракты способны ингибировать активность сериновых протеиназ свертывающей системы крови [1].

Руспогенол способен снижать индуцированную курунием и коллагеном агрегацию тромбоцитов у человека [8]. Кору кедр используют для получения биологически активного соединения резвератрола [2]. Резвератрол (3,5,4-тригидростилбен) — фитоалексин, который синтезируется в некоторых растениях (сосна, виноград, арахис).

Для увеличения времени свертывания плазмы крови человека в 2 раза в сравнении с контролем в тесте аЧТВ экстракта № 2 требовалось в 3,9 – 5,4 раза меньше, чем экстракта № 1 и САГ (табл. 1 и 5). С2S-3 гибрид DL-галактана, выделенный из красной морской водоросли *Cryptonemia Crenulata* (*Halymeniaceae, Halymeniales*), проявляет антикоагулянтную активность [17].

В коагулологическом тесте РеаКлот- Гепарин для увеличения свертывания плазмы крови человека в 2 раза в сравнении с контролем экстракта № 2 требовалось в 3,5 раз меньше, чем экстракта № 1 (табл. 2 и 5). САГ не удлинял время свертывания плазмы в тесте РеаКлот-Гепарин. Известно, что с увеличением степени сульфатирования АК активность СП возрастает [1]. По-видимому, для изменения антикоагулянтной активности СПГ необходимо получить образцы с большей степенью сульфатирования. Ингибирование тромбина и фактора Ха в присутствии антитромбина исследовали с использованием специфических хромогенных субстратов. Один из экстрактов коры кедр сибирского № 1 не ингибировал амидолитическую активность тромбина посредством антитромбина (табл. 3). Экстракт № 2 и САГ в единицах гепарина имели меньшую в 22 и 53 раза aIIa активность в сравнении с измеренной в коагулологическом тесте (табл. 5), что свидете-

льствует о необходимости для проявления антитромбиновой активности наличия другого плазменного ингибитора сериновых протеиназ — кофактора гепарина II. Определение у сульфатированных галактанов и фуканов морских беспозвоночных упорядоченных структур открыло новые перспективы для исследования фармакологической активности этих молекул и определения структурных различий в аффинности к специфическим белкам. Сульфатированный альфа-L-галактан, но не альфа-L-фукан усиливает ингибирование тромбина с помощью антитромбина [5].

Активность экстрактов против фактора Ха в единицах гепарина была также ниже, но только в 2,4 и 4,4 раза для образцов № 1 и № 2 соответственно (табл. 4 и 5). На основании изложенного, можно предположить, что исследованные образцы имеют механизм антикоагулянтного действия, несколько отличный от такового у гепарина.

Необходимы дополнительные исследования химического состава экстрактов коры кедр сибирского для определения их действующего начала, а также способов химической модификации, увеличивающих антикоагулянтную активность. Потребуется также определить влияние на антитромботическую активность способов введения экстрактов и их действующего начала. В случае небольшой молекулярной массы, при неплотном расположении зарядов по молекуле невысокая антикоагулянтная активность может быть компенсирована снижением числа неспецифических взаимодействий с другими плазменными белками [19]. Кроме того, следует проанализировать влияние экстрактов и САГ на агрегацию тромбоцитов в отсутствии индукторов и при их использовании.

ВЫВОДЫ

1. Образцы экстрактов коры кедр сибирского и сульфатированного арабиногалактана проявляют антикоагулянтную активность.

2. Выявлен способ, с помощью которого у экстракта коры кедр аХа активность увеличивается в 3,7 раза, аIIa — в 2,5 раза.

3. Наличие связи между эффективными концентрациями экстрактов коры кедр сибирского и их аIIa/аХа активность по гепарину свидетельствует о сходных механизмах действия этих веществ на внутренний путь свертывающей системы крови на ингибирование фактора Ха.

4. Отсутствие способности ингибировать амидолитическую активность тромбина посредством только антитромбина у экстракта № 1 и снижение этой способности в 20 раз в сравнении с коагулологическим определением у экстракта № 2 свидетельствует о том, что для проявления антитромбиновой активности этих образцов необходимо наличие другого плазменного ингибитора сериновых протеиназ — кофактора гепарина II.

5. Сульфатированный арабиногалактан не влияет на активность фактора Ха в коагулологическом и амидолитическом тестах.

ЛИТЕРАТУРА

1. Е. Н. Медведева, В. А. Бабкин, Л. А. Остроухова, *Хим. растит. сырья*, № 3, 27 – 37 (2003).

2. RU 2294919, опубл. 10.03.2007.
3. М. А. Торлопов, С. В. Фролова, *Хим. растит. сырья*, № 3, 63 – 67 (2007).
4. S. M. Bates and J. I. Weitz, *Circulation*, **112**(4), 53 – 60 (2005).
5. C. F. Becker, J. A. Guimaraes, P. A. Mourao, and H. Verli, *J. Mol. Graph. Model*, **26**(1), 391 – 399 (2007).
6. J. D'iaz-Nido, F. Wandosell, and J. Avila, *Peptides*, **23**(7), 1323 – 1332 (2002).
7. J. Du, S. Zhang, R. Sun, L. Zhang, C.-D. Xiong, and Y.-X. Peng, *J. Biomed. Mater. Res. B Appl. Biomater.*, **72**(2), 299 – 304 (2005).
8. J. Golanski, J. Muchova, R. Golanzi, et al., *Postepy Hig Med Dosw (online)*, **60**, 316 – 321(2006).
9. M. Kort, R. C. Buijsman, and C. A. A. Boeckel, *DDT*, **10**(11), 769 – 779 (2005).
10. J. Masquelier, Pat. USA № 4698360 (1987).
11. B. H. Monien, B. L. Henry, A. Raghuraman, et al., *Bioorg. Med. Chem.*, **14**(23), 7988 – 7998 (2006).
12. S. A. Mousa, *Semin Thromb Hemost*, **33**(5), 524 – 533 (2007).
13. C. Noti and P. Seeberger, *Chemistry & Biology*, **12**(7), 731 – 756 (2005).
14. L. Packer, G. Rimbach, and F. Virgili, *Free Radical Biology & Medicine*, **27**(5/6), 704 – 724 (1999).
15. S. Sagnella and K. Mai-Ngam, *Colloids Surf B Biointerfaces*, **42**(2), 147 – 155 (2005).
16. J. B. Segal, M. B. Streiff, L. V. Hofmann, et al., *Ann. Intern. Med.*, **146**(3), 211 – 222 (2007).
17. L. B. Talarico, M. E. Duarte, R. G. Zibetti, et al., *Planta Med.*, **73**(14), 1464 – 1468 (2007).
18. N. Volpi, *Cur. Med. Chem.*, **13**(15), 1799 – 810 (2006).
19. S.-J. Yoon, M. S. Pereira, M. S. G. Pavao, et al., *Thrombosis Research*, **106**(1), 51 – 58 (2002).

Поступила 11.02.08

ANTICOAGULANT ACTIVITY OF ARABINO GALACTANE SULFATE AND CEDAR CRUST EXTRACT STUDIED *IN VITRO*

N. N. Drozd¹, S. A. Kuznetsova², E. S. Lapikova¹, A. I. Davydova¹, V. A. Makarov¹,
B. N. Kuznetsov², A. I. Butylkina², N. Yu. Vasil'eva³, and G. P. Skvortsova²

¹ Laboratory of Hemostasis Pathology and Pharmacology, Scientific Hematological Center, Russian Academy of Medical Sciences, Novo-Zykovskii proezd 4a, Moscow, 125167, Russia

² Department of Catalytical Chemistry of Carbon and Biomass, Institute of Chemistry and Chemical Technology, Siberian Branch, Russian Academy of Sciences, ul. Karla Marksa 42, Krasnoyarsk, 660049, Russia

³ Department of Organic Chemistry, Siberian Federal University, Svobodnyi pr. 79, Krasnoyarsk, 660041, Russia

We have studied *in vitro* the ability of the Siberian cedar crust (SCC) extract (*Pinus sibirica* Du Tour) and arabinogalactan sulphate (AGS) extracted from wood of Siberian pine-tree (*Larix sibirica* Ledeb.) to increase the human blood plasma coagulation time and also to inhibit the amyolytic activity of thrombin (aIIa) and the coagulation factor Xa (aХа). A method has been developed by means of which SCC increases the aХа activity by a factor of 3.7 and the aIIa activity by a factor of 2.5. The AGS preparation increased the blood plasma coagulation time in the test for activated partial thromboplastin time. An effective concentration, at which the time of plasma coagulation was increased by a factor of 2 (in comparison to the control) was 2.94 ± 0.33 mg/ml. AGS did not exhibit the ability to inhibit the Xa activity.