

Влияние новой калиевой соли на основе 3-тиетанилзамещенного триазола на систему гемостаза

А.В. Самородов, Ф.Х. Камилов, А.Р. Халимов, Е.Э. Клен,
Ф.А. Халиуллин

ГБОУ ВПО «Башкирский государственный медицинский университет» Минздрава России,
Уфа

Контактная информация: Самородов Александр Владимирович, avsamorodov@gmail.com

В данной работе представлены результаты исследования активности новой калиевой соли 2-[3-бром-1-(тиетанил-3)-1,2,4-триазалил-5-тио]уксусной кислоты в отношении системы гемостаза. Установлено, что калиевая соль 2-[3-бром-1-(тиетанил-3)-1,2,4-триазалил-5-тио]уксусной кислоты проявляет высокую антиагрегационную активность в условиях *in vitro* и *in vivo* и эффективность в качестве средства профилактики генерализованного тромбоза в эксперименте в сравнении с применяемыми в практике лекарственными средствами. Результаты проведенного исследования позволяют считать данное соединение перспективным антитромботическим средством.

Ключевые слова: производные 3-тиетанилзамещенного триазола, система гемостаза, антитромботическая активность.

Введение

Тромбогеморагические заболевания в настоящее время являются наиболее распространенными видами патологии человека, удерживающими первое место среди причин инвалидизации и смертности, а также в значительной степени определяющие качество и среднюю продолжительность жизни населения [6]. Несмотря на широкий выбор лекарственных препаратов, селективных средств коррекции системы гемостаза на сегодняшний день не существует. Результаты предыдущих исследований, проведенных на кафедрах биологической и фармацевтической химии ГБОУ ВПО «Башкирского государственного медицинского университета» Минздрава России, направленных на поиск антиагрегантов среди новых производных

азотсодержащих гетероциклов, демонстрируют высокий потенциал отдельных соединений данного класса производных [7].

Целью данной работы явилось представление первичных результатов исследования новой калиевой соли 2-[3-бром-1-(тиетанил-3)-1,2,4-триазалил-5-тио]уксусной кислоты [1] (соединение I) в отношении системы гемостаза.

Материалы и методы

Дизайн исследования.

Вся экспериментальная работа выполнена в соответствии с рекомендациями «Руководства по доклиническому изучению новых фармакологических веществ» [2] и проведена в несколько этапов. На первом этапе в условиях

in vitro, на крови здоровых доноров, оценили влияние соединения I и препаратов сравнения на адгезивно-агрегационную функцию тромбоцитов и коагуляционный компонент гемостаза. Вторым этапом оценили эффективность антитромботического эффекта соединения I и препаратов сравнения на исходно компрометированных тромбоцитах в условиях *in vitro*: методом активированной тромбоэластографии смоделировали гиперактивность системы гемостаза с последующей оценкой эффективности препаратов сравнения и впервые синтезированного соединения I; в условиях *ex vivo* осуществили анализ функциональной активности тромбоцитов при различных тромбо-ишемических процессах для получения тромбоцитов в состоянии гиперагрегации и установили эффективную концентрацию (IC50) впервые синтезированного соединения I и препаратов-антиагрегантов. Завершили исследование изучением эффективности соединения I и препаратов сравнения при экспериментальном тромбозе на мышах.

Экспериментальная часть работы в условиях *in vitro* выполнена на крови доноров-мужчин и пациентов с остро возникшим тромбозом. Моделирование гиперактивности системы гемостаза в условиях *in vitro* методом активированной тромбоэластографии выполнено на крови здоровых доноров-мужчин в возрасте 18-24 лет. Исследование было одобрено этическим комитетом ГБОУ ВПО «Башкирский государственный медицинский университет» Минздрава России (№ 2 от 17.10.2012 г.). От всех участников исследования было получено информированное согласие до момента забора крови.

В исследовании, направленном на изучение эффективности потенциальных антиагрегантов в условиях состоявшегося тромбоза, была использована кровь пациентов, находящихся в анестезиолого-реанимационном отделении I Республиканской клинической больницы им. Г.Г. Куватова (г. Уфа) в период 2012-2014 гг., со следующими заболеваниями: острый коронарный синдром (ОКС) – 22 пациента; тромбоэмболия легочной артерии (ТЭЛА) – 29 пациентов; тромбоз глубоких вен (ТГВ) / мезентериальный тромбоз (МТ) – 23 пациента. Исходные показатели агрегации тромбоцитов госпитализированных пациентов были получены при заборе венозной крови до начала проведения антитромботической/тромболитической терапии, согласно плану проведения интенсивной терапии. Анализ подвергали только результаты на образцах крови пациентов с установленным позже диагнозом, соответствующим указанным выше нозологиям. При выявлении у пациента тромбоцитов в состоянии гиперагрегации проводили определение зависимости «концентрация-эффект» исследуемого соединения и препаратов сравнения с расчетом IC50 – концентрации, при которой агрегация тромбоцитов снижается на 50%.

Взятие крови и центрифугирование. Забор крови проводили с использованием систем вакуумного забора крови BD Vacutainer® (Dickinson and Company, США). В качестве стабилизатора венозной крови использовали 3,8% раствор цитрата натрия в соотношении 9:1.

Все тесты проводили на обогащенной и обедненной тромбоцитами плазмах. Образцы богатой тромбоцитами плазмы получали центрифугировани-

ем цитратной крови при 100g в течение 10 мин, бестромбоцитарной плазмы – при 300g в течение 15 мин. В работе использовалась центрифуга ОПН-3.02 (ОАО ТНК «ДАСТАН», Киргизия).

Агрегация тромбоцитов. Исследование влияния соединения I и препаратов сравнения на агрегацию тромбоцитов в условиях *in vitro* на крови человека осуществляли с помощью лазерного анализатора агрегации тромбоцитов «Биола 230LA» (ООО НПФ «БИОЛА», Россия) [4]. В качестве индуктора агрегации использовали адезиндифосфат (АДФ) в концентрации 20 мкг/мл, коллаген – 5 мг/мл, адреналин – 5 мкг/мл и ристомидин – 10 мг/мл производства «Технология-Стандарт» (г. Барнаул, Россия).

Коагуляционный компонент гемостаза. Определение антикоагуляционной активности соединения I и гепарина натрия проводили общепризнанными клоттинговыми тестами на турбидиметрическом гемокоагулометре Solar CGL 2110 (ЗАО «СОЛАР», Беларусь). Изучались показатели активированного парциального тромбопластинового времени (АПТВ), протромбинового времени (ПВ) и концентрации фибриногена по A. Clauss [2]. Определение антикоагуляционной активности исследуемых веществ проводили в концентрации 10^{-3} г/мл. В работе использовались реактивы фирмы «Технология-Стандарт» (г. Барнаул, Россия).

Тромбоэластография. Тромбоэластографию проводили на аппарате TEG 5000 (Haemoscope Corporation, США). При анализе тромбоэластограмм определяли общую тенденцию коагуляции (R), функциональную активность тромбоцитов и фибриногена (MA, Angle),

активность фибринолиза (CLT) и физико-механические свойства образовавшихся сгустков (G). В качестве активатора ТЭГ использовали 0,2 М раствор CaCl_2 , рекомбинантный тканевой фактор (Innovin®, Dade Behring, Германия) и тромбин («Технология-Стандарт», Россия).

Экспериментальные исследования в условиях *in vivo* выполнены с соблюдением Международных рекомендаций Европейской конвенции по защите позвоночных животных для экспериментальных животных, правил лабораторной практики при проведении доклинических исследований в РФ (ГОСТ 3 51000.3-96 и 51000.4-96, ГОСТР 50258-92) и приказа Минздрава России № 199н от 01.04.2016 г. «Об утверждении Правил надлежащей лабораторной практики».

Животные содержались в стандартных условиях вивария при естественном режиме освещения, температуре воздуха $20 \pm 2^\circ\text{C}$ и влажности 55-60% в пластиковых клетках с подстилкой из древесных опилок. За 24 ч до начала исследовательской работы прекращали кормление без ограничения доступа к воде.

Моделирование коллаген-адреналинового тромбоза.

Исследовательская работа, направленная на изучение профилактического эффекта соединения I и пентоксифиллина, как аналогового препарата при моделировании генерализованного коллаген-адреналинового тромбоза, выполнена на 60-ти белых беспородных мышам-самцах половозрелого возраста массой 20-22 г. Моделирование генерализованного тромбоза проводили по методу G.S. Di Minno [5]. Для определения

антитромботического эффекта за 1 ч до моделирования тромбоза контрольной группе мышей внутрибрюшинно вводили физ. раствор, экспериментальным группам – исследуемые вещества в эквимоллярных концентрациях и аналогичном объеме. Моделирование генерализованного тромбоза проводили введением индукторов агрегации в хвостовую вену мышей. В качестве триггера тромбоза использовали смесь растворов коллагена и адреналина (0,5 и 0,06 мг/кг соответственно). Длительность наблюдения за животными составляла 14 суток.

Препараты сравнения.

В качестве препаратов сравнения в экспериментах использовали 3,7-диметил-1-(5-оксогексил)ксантин (Пентоксифиллин, ОАО «Дальхимфарм», Россия), 2-ацетилоксибензойную кислоту (Ацетилсалициловая кислота, «Фармацевтическая фабрика Шандонг Ксинхуа Фармасьютикал Ко., ЛТД», Китай) и гепарин натрия (ОАО «Синтез», Курган, Россия).

Статистическая обработка.

Результаты исследования обработаны с применением статистического пакета Statistica 10.0 (StatSoft Inc, США). Проверку на нормальность распределения фактических данных выполняли с помощью критерия Шапиро-Уилка. Для описания групп использованы медиана и межквартильный интервал. Дисперсионный анализ проводили с помощью критерия Краскела-Уоллиса (для независимых наблюдений) и Фридмана (для повторных наблюдений). Выживаемость оценивали от времени инъекции в хвостовую вену взвеси коллагена и адреналина до момента гибели или по истечении 14-ти суток наблюдений. Анализ выживаемости проведен при

помощи метода Каплана-Мейера. Различия выживаемости между группами оценивались при помощи критерия Вилкоксона. Критический уровень значимости (p) для статистических критериев принимали равным 0,05. Величину IC_{50} соединения I и препаратов сравнения рассчитывали с помощью нелинейного фиттинга кривых, описывающих антиагрегационную активность (%) по логарифмическому уравнению с четырьмя параметрами, используя программное обеспечение GraphPad Prism (GraphPad Software, Inc., США).

Результаты и их обсуждение

Результаты исследования влияния соединения I и препаратов сравнения на индуктор-индуцированную агрегацию тромбоцитов представлены в табл. 1. Установлено, что соединение I превосходит пентоксифиллин и ацетилсалициловую кислоту как по уровню, так и по спектру антиагрегационной активности - IC_{50} , при которой агрегация тромбоцитов, индуцированная АДФ, снижается на 50%, и для соединения I составляет $1,6 \times 10^{-3}$ М/л, для пентоксифиллина – $2,2 \times 10^{-3}$ М/л.

Следующим этапом установили влияние соединения I и гепарина натрия на коагуляционный компонент системы гемостаза. Соединение I проявляет антикоагуляционную активность исключительно удлинением активированного парциального тромбопластинового времени в среднем на 63,1% относительно контроля, что значительно превышает активность препарата сравнения в аналогичной концентрации (табл. 2). Влияния на другие показатели коагулограммы соединения I и препарата сравнения не отмечалось.

Таблица 1

Показатели антиагрегационной активности пентоксифиллина и соединения I при индуктор-индуцированной агрегации тромбоцитов Ме (25-75)

Вещество	Концентрация, М/л	АДФ, 20 мкг/мл	Коллаген, 5 мг/мл	Адреналин, 5 мкг/мл	Ристомин, 10 мг/мл	IC50, М/л
Соединение I	2×10^{-3}	61,0 (58,7-64,3) $p_1=0,002$ $p_2=0,0001$	100,0 (100,0-100,0) $p_1<0,00001$ $p_2<0,00001$	23,7 (19,6-26,5) $p_1<0,0001$ $p_2<0,0001$	0,0 (0,0-0,0)	$1,6 \times 10^{-3}$
	10^{-3}	26,4 (23,5-27,1) $p_1=0,0003$ $p_2<0,001$	20,4 (16,7-24,1) $p_1=0,001$ $p_2=0,0007$	12,1 (9,8-14,5) $p_1=0,002$ $p_2=0,003$	0,0 (0,0-0,0)	
	$5 \cdot 10^{-4}$	13,6 (10,4-15,4)	0,0 (0,0-0,0)	0,0 (0,0-0,0)	0,0 (0,0-0,0)	
Пентоксифиллин	4×10^{-3}	63,7 (58,9-9,2) $p_1=0,003$ $p_2=0,001$	0,0 (0,0-0,0)	0,0 (0,0-0,0)	0,0 (0,0-0,0)	$2,2 \times 10^{-3}$
	2×10^{-3}	48,4 (42,7-56,5) $p_1<0,00005$	0,0 (0,0-0,0)	0,0 (0,0-0,0)	0,0 (0,0-0,0)	
	10^{-3}	12,7 (10,5-15,6) $p_1<0,006$	0,0 (0,0-0,0)	0,0 (0,0-0,0)	0,0 (0,0-0,0)	
	5×10^{-4}	0,0 (0,0-0,0)	0,0 (0,0-0,0)	0,0 (0,0-0,0)	0,0 (0,0-0,0)	
Аспирин	2×10^{-3}	13,7 (10,8-16,4)	11,6 (9,5-14,7)	0,0 (0,0-0,0)	0,0 (0,0-0,0)	$4,2 \times 10^{-3}$
	10^{-3}	0,0 (0,0-0,0)	0,0 (0,0-0,0)	0,0 (0,0-0,0)	0,0 (0,0-0,0)	

Примечание: представлены медиана и межквартильный интервал, IC50 рассчитан для АДФ-индуцированной агрегации тромбоцитов, н/д – нет данных $n=7$; p_1 – уровень статистической значимости различий признаков в сравнении с контролем; p_2 – уровень статистической значимости различий признаков группы препарата сравнения и соединения I.

Таблица 2

Влияние соединения I и препарата сравнения на коагуляционные свойства плазмы

Соединение	n	АПТВ, % к контролю	ПВ, % к контролю	Фибриноген, % к контролю
Соединение I	7	63,1 (56,5-64,3)*	0,0 (0,0-0,0)	0,0 (0,0-0,0)
Гепарин	7	54,7 (51,3-57,4)	0,0 (0,0-0,0)	0,0 (0,0-0,0)

Примечание: представлены медиана и межквартильный интервал, $n=7$;

АПТВ – активированное парциальное (частичное) тромбопластиновое время, ПВ – протромбиновое время; * – уровень статистической значимости различий признаков группы гепарина натрия и соединения I ($p=0,003$).

Результаты регистрации тромбоэластограмм образцов цитратной крови (ЦК), активированных тканевым фактором (ТФ) и тромбином (ТР) (табл. 3), демонстрируют снижение показателя R, характеризующего время образования первых нитей фибрина (представляет собой энзиматическую часть коагуляции). Время R сокращается в среднем на 24% ($p \leq 0,001$) при внесении тканевого фактора и на 43,5% ($p \leq 0,0001$) – тромбина. Показатель Angle, характеризующий скорость роста фибриновой сети и её структурообразование, статистически значимо увеличивается под влиянием

активаторов свертывания. Данный показатель удлиняется в среднем на 15,1% ($p \leq 0,001$) при действии тканевого фактора и на 23,5% – тромбина ($p \leq 0,001$). Показатель MA, характеризующий функциональное состояние фибриногена и активность тромбоцитов, при действии тромбина и тканевого фактора удлиняется в среднем на 22,7% относительно контроля. Наиболее значимым в нашем исследовании является показатель прочности сгустка – G. Данный показатель в условиях активации свертывания тканевым фактором и тромбином статистически значимо увеличивается

Таблица 3

Динамика показателей тромбоэластограмм в присутствии изучаемых веществ в зависимости от активатора, Ме (25-75)

Показатель		ЦК, n=7	ЦК+ТФ, n=7	ЦК+ТР, n=7
Контроль	R, min	12,8(10,3-15,6)	9,7(7,4-10,6)	7,2(5,1-8,7)
	Angle, deg	44,7(39,8-49,4)	51,4(49,1-53,8) ^β	56,3(53,6-59,8) ^β
	MA, mm	57,3(54,2-61,2)	69,4(65,2-71,8) ^β	68,4(66,1-70,2) ^β
	G, dyn/cm ²	5,7(4,5-8,1)	17,5(13,6-20,7) ^β	18,6(16,4-19,2) ^{α†}
	CLT, min	38,7(35,4-42,4)	44,6(42,3-47,8) ^α	45,6(43,2-47,4)
Пентокси-филлин	R, min	14,6(13,2-15,8)	9,5(8,4-10,4)	8,4(7,2-9,4)
	Angle, deg	33,7(29,6-35,2)*	43,7(41,9-45,6)**	47,8(44,8-48,2)**
	MA, mm	41,8(39,8-45,6)*	53,7(51,2-55,6)**	61,7(59,2-62,8)**
	G, dyn/cm ²	4,1(3,6-4,4)**	11,5(10,6-13,5)*	13,9(12,5-14,7)*
	CLT, min	36,2(31,2-38,7)	42,1(39,6-44,2)	43,1(39,7-44,7)
Аспирин	R, min	13,6(11,2-14,4)	9,1(8,5-11,3)	9,3(8,1-10,7)
	Angle, deg	33,7(29,6-35,2)**	46,4(41,2-48,5)*	41,2(37,9-44,7)*
	MA, mm	36,3(31,2-39,5)*	44,7(41,2-48,5)**	39,5(37,5-43,1)*
	G, dyn/cm ²	3,7(3,1-4,6)*	8,4(7,2-9,4)**	7,9(7,6-8,2)**
	CLT, min	38,4(36,7-39,4)	39,6(37,4-40,2)	36,2(34,1-39,8)
Соединение I	R, min	13,1(12,3-15,4)	8,2(7,6-9,4)	7,4(5,9-7,0)
	Angle, deg	22,4(20,4-23,1)**	35,8(35,4-37,7)**	38,5(34,6-40,7)**
	MA, mm	23,5(22,4-25,3)**	25,9(24,9-29,3)**	31,4(29,1-34,1)**
	G, dyn/cm ²	2,7(2,0-3,1)**	6,9(5,3-7,5)**	7,4(6,8-8,5)**
	CLT, min	37,1(34,9-36,5)	34,9(32,6-36,4)	36,2(35,1-39,6)

Примечание: α – $p < 0,05$; β – $p < 0,001$ – ЦК+ТФ или ЦК+ТР в сравнении с ЦК;

* – $p < 0,05$; ** – $p < 0,001$ – в сравнении с контролем; † – $p < 0,05$ – ЦК+ТФ в сравнении с СВ+ТР.

в 2,5 раза. Результаты, полученные на данном этапе, полностью соотносятся с данными литературы и объясняются особой ролью избытка тромбина и тканевого фактора в развитии тромбоза [3].

Препараты сравнения оказывают различное влияние на показатели активированных тромбоэластограмм. Действие ацетилсалициловой кислоты и пентоксифиллина характеризуется значимым снижением показателя максимальной амплитуды (МА). Однако их антиагрегационная активность эффективнее реализуется при активации свертывания тканевым фактором в сравнении с тромбином. Ацетилсалициловая кислота в данных условиях эксперимента эффективнее пентоксифиллина устраняет гиперкоагуляцию, вызванную избытком тромбина и тканевого фактора. В присутствии антиагрегантов показатели, ответственные за коагуляционный компонент гемостаза (R и Angle), изменений не претерпевают. Соединение I проявляет антиагрегационную активность, аналогичную препаратам сравнения: эффективность больше на ТФ-активированной тромбоэластограмме. При

этом показатели МА тромбоэластограммы статистически значимо снижаются в сравнении с контрольными значениями и препаратами сравнения. Показатель прочности сгустка (G) в присутствии соединения I практически снижается до значений тромбоэластограмм, регистрируемых без активации тромбином и тканевым фактором. Таким образом, впервые синтезированное соединение I демонстрирует потенциально высокую антитромботическую активность на модели гиперкоагуляции системы гемостаза.

Следующим этапом оценили эффективность новой калиевой соли на основе тиетансодержащего триазола, как потенциального антиагреганта, на крови пациентов с состоявшимся тромбозом, в условиях *ex vivo*, и сравнили с данными, полученными на интактных тромбоцитах здоровых добровольцев (табл. 1). Результаты исследования эффективности препаратов сравнения и соединения I на исходно компрометированных тромбоцитах представлены в табл. 4. Аналоговый препарат – пентоксифиллин в условиях *in vitro* способен эффек-

Таблица 4

Показатели антиагрегационной активности изученных веществ на крови пациентов с тромбозом, Me (25-75)

Концентрация, М/л		40×10 ⁻⁴	20×10 ⁻⁴	10×10 ⁻⁴	5×10 ⁻⁴	IC50, М/л
Антиагрегационная активность, %	Пентоксифиллин	42,8* (41,1-44,8)	25,8* (21,5-26,5)	6,9** (4,6-8,1)	0,0 (0,0-0,0)	4,4×10 ⁻³
	Аспирин	51,8** (55,7-61,3)	30,4* (27,8-33,4)	17,9* (16,2-21,4)	0,0 (0,0-0,0)	3,9×10 ⁻³
	Соединение I	54,6* (47,2-59,6)	27,6* (23,1-32,5)	12,1* (7,7-16,2)	0,0 (0,0-0,0)	3,4×10 ⁻³

Примечание: представлена АДФ-индуцированная агрегация тромбоцитов;

* – $p < 0,05$, ** – $p < 0,001$ – уровень статистической значимости различий в сравнении с концентрацией 40×10⁻⁴ М/л; α – $p < 0,05$; β – $p < 0,001$ – уровень статистической значимости различий в группах интактных (табл. 1) и тромбоцитов в состоянии гиперагрегации.

тивно корректировать гиперактивность тромбоцитов. Концентрация, при которой АДФ-индуцированная агрегация тромбоцитов снижается на 50%, составляет $4,4 \times 10^{-3}$ М/л. Сопоставление показателей зависимости «концентрация-эффект» для интактных тромбоцитов (табл. 1) и тромбоцитов в состоянии гиперактивности демонстрирует двукратное увеличение дозы для достижения аналогичного эффекта. IC50 пентоксифиллина в группе контроля составила $2,2 \times 10^{-3}$ М/л. Ацетилсалициловая кислота, аналогично пентоксифиллину, в условиях *in vitro* способна корректировать гиперактивность тромбоцитов. При этом расчетное IC50 ацетилсалициловой кислоты составляет $4,2 \times 10^{-3}$ М/л для контрольной группы и $3,9 \times 10^{-3}$ М/л – в условиях гиперактивности тромбоцитов. Таким образом, эффективность аспирина в условиях *in vitro* при исходно компрометированных тромбоцитах возрастает.

Впервые синтезированное соединение I в условиях *in vitro* проявляет антиагрегационную активность, превосходящую показатели препаратов сравнения. При этом наблюдается эффект, подобный пентоксифиллину: IC50 для интактных тромбоцитов превышает практически в 2 раза аналогичный показатель для тромбоцитов в состоянии гиперактивности. IC50 для соединения

I на тромбоцитах в состоянии гиперактивности составляет $3,4 \times 10^{-3}$ М/л.

Дальнейшая работа выполнена в условиях *in vivo*. Результаты исследования антитромботического эффекта соединения I и пентоксифиллина при генерализованном коллаген-адреналиновым тромбозе представлены в табл. 5. В группе контроля инъекция взвеси адреналина и коллагена приводит к гибели всех животных в течение трех суток. При этом более 50% мышей погибло в течение первого часа эксперимента. Легкие, извлеченные после гибели животных, были темно-красного цвета, по всей площади наблюдались множественные тромбы. Пентоксифиллин статистически значительно ($p < 0,01$) снижает падеж мышей по сравнению с контролем. Выживаемость в группе пентоксифиллина на 14-е сутки наблюдения составила 58,3%. Основной падеж пришелся на первые сутки после введения индукторов тромбоза. Макроскопическая оценка извлеченных легких демонстрирует значительное снижение зоны тромбоэмболического поражения. В экспериментальной группе животных, получивших соединение I, гибель статистически значительно меньше в сравнении с контролем ($p_1 < 0,01$) и препаратом сравнения ($p < 0,001$). На 14-е сутки эксперимента показатель выживаемости при внутрибрюшинном введении соединения I составил 75,1%. Основная

Таблица 5
Показатели выживаемости при моделировании системного коллаген-адреналинового тромбоза, $M \pm SD$

Соединение	Контроль	Пентоксифиллин	Соединение I	p2
Время жизни, ч	$2,0 \pm 1,8$	$165,8 \pm 157,6^*$	$206,9 \pm 135,2^*$	$< 0,001$

Примечание: * – уровень статистической значимости различий признаков в контрольной и опытной группах ($p_1 < 0,01$); p2 – уровень статистической значимости различий признаков в группах, получавших пентоксифиллин и соединение I, при $\chi^2 = 33,1$.

гибель животных пришлось на первые сутки наблюдения. Легкие животных, которым вводили соединение I, имели нормальную окраску с минимальными точечными потемнениями. Выживаемость животных в группе, получавших соединение I, значительно превышает таковую в контрольной группе и на 25% – в группе у животных, получавших пентоксифиллин.

Заключение

Таким образом, калиевая соль 2-[3-бром-1-(тиетанил-3)-1,2,4-триазол-5-тио]уксусной кислоты демонстрирует высокую антиагрегационную активность в условиях *in vitro* и *in vivo*, а также эффективность в качестве средства профилактики генерализованного тромбоза в эксперименте, что позволяет считать данное соединение перспективным антитромботическим средством.

Список литературы

1. Клен Е.Э., Халиуллин Ф.А., Спасов А.А., Макарова Н.Н., Багаутдинова Л.Ф., Науменко Л.В. Синтез и гемореологические свойства

новых производных 1,2,4-триазола // Хим.-фарм. журн. 2008. Т. 42. № 9. С. 15-17.

2. Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств. Ч. 1. - М.: Гриф и К. 2012. 944 с.
3. *Badimon J.J., Lettino M., Toschi V.* Local inhibition of tissue factor reduces the thrombogenicity of disrupted human atherosclerotic plaques: Effects of TFPI on plaque thrombogenicity under flow condition // *Circulation*. 1999. No. 14. P. 1780-1787.
4. *Born G.V.* Aggregation of blood platelets by adenosine diphosphate and its reversal // *Nature*. 1962. Vol. 194. P. 927-929.
5. *DiMinno G.S.* Mouse antithrombotic assay: a simple method for the evaluation of antithrombotic agents *in vivo*. Potentiation of antithrombotic activity by ethyl alcohol / G.S. DiMinno // *J. Pharmacol. exp. ther.* 1983. Vol. 225. P. 57-60.
6. *Patrono C., Andreotti F., Arnesen H.* Antiplatelet agents for the treatment and prevention of atherothrombosis // *European Heart J.* 2011. Vol. 32. P. 2922-2932.
7. *Samorodov A., Kamilov F., Timirkhanova G., Samorodova A., Khaliullin F., Murataev D.* Antithrombotic activity of new 1-ethylxanthine cyclohexylammonium salt // *FASEB J.* 2014. No. 28. P. 1054-5.

The study of new potassium salt based on 3-thietanil-substituted triazole in respect to hemostasis system

A.V. Samorodov, F.Kh. Kamilov, A.R. Khalimov, E.E. Klen, F.A. Khaliullin

The paper shows preliminary preclinical findings of new potassium salt of 2-[3-bromine-1-(thietanil-3)-1,2,4-triazol-5-thio]acetic acid in regards to hemostasis system. The research has determined that potassium salt of 2-[3-bromine-1-(thietanil-3)-1,2,4-triazol-5-thio]acetic acid shows high antiaggregational activity under condition *in vitro* and *in vivo*, it is more efficient as means to experimentally prevent generalized thrombosis in comparison with the practically applied therapeutic agents. The findings allow to consider this compound a promising antithrombotic drug.

Key words: 3-thietanil-substituted triazole derivatives, hemostasis, antithrombotic activity.