

ВЛИЯНИЕ КАЛИЕВОЙ СОЛИ 2-[3-БРОМ-1-(ТИЕТАНИЛ-3)-1,2,4-ТРИАЗОЛИЛ-5-ТИО]УКСУСНОЙ КИСЛОТЫ НА СИСТЕМУ ГЕМОСТАЗА

В.Г. Кукес⁴, академик РАН, доктор медицинских наук, профессор, **Н.Б. Лазарева**⁴, доктор медицинских наук, профессор, **Д.Б. Никитюк**³, член-корр. РАН, доктор медицинский наук, профессор, **А.Л. Ураков**^{1,2,3}, доктор медицинских наук, профессор, **А.В. Самородов**^{1,2}, кандидат медицинских наук, **Ф.Х. Камилов**², доктор медицинских наук, профессор, **Е.Э. Клен**², доктор фармацевтических наук, профессор, **Ф.А. Халиуллин**², доктор фармацевтических наук, профессор

¹Ижевская государственная медицинская академия;

Российская Федерация, 426034, Ижевск, ул. Коммунаров, д. 281;

²Башкирский государственный медицинский университет;

Российская Федерация, 450000, Уфа, ул. Ленина, д. 3;

³ФИЦ питания, биотехнологии и безопасности пищи;

Российская Федерация, 109240, Москва, Устьинский пр., д. 2/14;

⁴Первый Московский государственный медицинский университет им. И.М. Сеченова (Сеченовский Университет);

Российская Федерация, 119991, Москва, Трубецкая ул., д.8, стр. 2

Введение. Ранее проведенные исследования синтезированных производных азотсодержащих гетероциклов продемонстрировали выраженную антитромботическую активность у некоторых представителей данного ряда. В эксперименте *in vitro* установлена высокая эффективность калиевой соли 2-(3-бром-1-(тиетанил-3)-1,2,4-триазолил-5-тио)уксусной кислоты (соединение I) как средства профилактики тромбоза.

Цель работы – доклиническое исследование соединения I в отношении системы гемостаза в условиях *in vivo*.

Материал и методы. Исследования выполнялись на белых нелинейных половозрелых крысах-самцах возрастом 3,5–4,0 мес, массой 150–200 г. В качестве препарата сравнения использовали пентоксифиллин. Изучаемое соединение и аналоговый препарат вводили животным внутривенно. Образцы плазмы, богатой тромбоцитами, и бестромбоцитарной получали центрифугированием цитратной крови. Определяли общую тенденцию коагуляции, функциональную активность тромбоцитов и фибриногена, активность фибринолиза и физико-механические свойства образовавшихся сгустков. Время свертывания цельной венозной крови регистрировали по методу Сухарева. В работе использовали аппарат TEG 5000 для тромбоэластографии, анализатор агрегации тромбоцитов «Биола 230LA», селективный анализатор гемостаза STA-Coagpart, тепловизор ThermoTracer TH9100XX. 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.

Результаты. Установлено, что калиевая соль 2-(3-бром-1-(тиетанил-3)-1,2,4-триазолил-5-тио)уксусной кислоты превосходит пентоксифиллин по спектру и уровню антиагрегационной активности.

Заключение. Доклинические исследования новой калиевой соли 2-(3-бром-1-(тиетанил-3)-1,2,4-триазолил-5-тио)уксусной кислоты на систему гемостаза подтвердили ее потенциальную эффективность как антиагрегационного средства профилактики тромбоза.

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

E-mail: avsamorodov@gmail.com

ВВЕДЕНИЕ

Одним из современных направлений в разработке новых лекарственных средств является синтез аналогов и производных препаратов, применяемых в клинической практике. Результаты ранее проведенных исследований по поиску потенциальных антиагрегантов среди впервые синтезированных производных азотсодержащих гетероциклов демонстрируют выраженную антитромботическую активность у

некоторых представителей данного ряда [1,2]. На сегодняшний день завершён первый этап доклинического исследования новой калиевой соли 2-[3-бром-1-(тиетанил-3)-1,2,4-триазолил-5-тио]уксусной кислоты [3] (соединение I) в отношении системы гемостаза. Установлена высокая эффективность данной соли как средства профилактики тромбоза в эксперименте в условиях *in vitro* [4].

Цель работы – доклиническое исследование соединения I в отношении системы гемостаза в условиях *in vivo*.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Экспериментальная работа выполнена в соответствии с рекомендациями «Руководства по доклиническому изучению новых фармакологических веществ» [5]. В условиях *in vivo* при внутрибрюшинном введении крысам изучали влияние соединения I и пентоксифиллина на адгезивно-агрегационную функцию тромбоцитов, коагуляционный компонент гемостаза, систему фибринолиза и реакцию высвобождения тромбоцитов.

Экспериментальные исследования выполнялись на 84 белых нелинейных половозрелых крысах-самцах возрастом 3,5–4,0 мес, массой 150–200 г. 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 эксперимента прекращали кормление животных без ограничения доступа к воде. Все эксперименты выполнялись с обязательным соблюдением Международных рекомендаций Европейской конвенции по защите позвоночных животных, используемых для экспериментов, а также в соответствии с правилами лабораторной практики при проведении доклинических исследований в РФ (ГОСТ 3 51000.3-96 и 51000.4-96, ГОСТР 50258-92) и приказом Минздравсоцразвития России № 708н от 23.08.2010 «Об утверждении Правил лабораторной практики» (GLP). Непосредственно перед экспериментальной работой лабораторные крысы были разделены на 3 группы по 28 животных в каждой: 1-я группа внутрибрюшинного введения пентоксифиллина, 2-я группа внутрибрюшинного введения соединения I и 3-я группа контрольных крыс.

Для определения влияния соединения I и пентоксифиллина на систему гемостаза интактным крысам внутрибрюшинно вводили исследуемые вещества в эквивалентных концентрациях за 1 ч до забора крови. Животных наркотизировали диэтиловым эфиром, кровь забирали из яремной вены путем венесекции. В качестве стабилизатора венозной крови использовали 3,8% раствор цитрата натрия в соотношении 9:1. Все тесты выполняли на обогащенной и обедненной тромбоцитами плазмах. Образцы богатой тромбоцитами плазмы получали центрифугированием цитратной крови при 100g в течение 10 мин, бестромбоцитарной плазмы – при 300g в течение 15 мин. В работе использовалась центрифуга ОПН-3.02.

Тромбоэластографию проводили на аппарате TEG 5000. При анализе тромбоэластограмм определяли общую тенденцию коагуляции (R, CI, TMA, TPI), функциональную активность тромбоцитов и фибриногена (MA, Angle), активность фибринолиза (CLT, CL30, LY30) и физико-механические свойства образовавшихся сгустков (E, G). В качестве активатора ТЭГ использовали 0,2 М раствор хлорида кальция.

Влияние соединения I и пентоксифиллина на агрегацию тромбоцитов исследовали с помощью ла-

зерного анализатора агрегации тромбоцитов «Биола 230LA» (Россия) [5]. В качестве индуктора агрегации использовали аденозиндифосфат (АДФ) в концентрации 20 мкг/мл, коллаген в концентрации 5 мг/мл, адреналин в концентрации 5 мкг/мл и ристомицин в концентрации 10 мг/мл. Анализ агрегатограмм осуществляли с помощью программного обеспечения AGGR, учитывая следующие показатели: общий характер агрегации (одноволновая, двухволновая; полная, неполная, обратимая, необратимая), значение максимальной агрегации, максимальной скорости агрегации ($tg\ \alpha$), средний размер тромбоцитарных агрегатов в относительных единицах (МРА).

Показатели, характеризующие состояние эндотелия, активность коагуляционного звена гемостаза и маркеры процессов тромбообразования и фибринолиза при действии изучаемых веществ, регистрировали на автоматизированном селективном анализаторе гемостаза STA-Compact с определением: протромбинового времени (ПВ), тромбинового времени (ТВ), активированного парциального тромбопластинового времени (АПТВ), каолинового времени, рептилазного времени, количества D-димеров, активности фактора Виллебранда и активности антитромбина III. В ходе работы применяли оригинальные наборы реагентов производства Roche Diagnostics.

Время свертывания цельной венозной крови регистрировали по методу Сухарева. Для этого надрезом кончика хвоста крысы получали венозную кровь, тут же набирали 350 мкл крови в капилляр от прибора Панченкова с последующими наклонами капилляра на $40\text{--}45^\circ$. По секундомеру отмечали момент окончания свертывания цельной крови [6]. В качестве препарата сравнения, исходя из принципа химического подобия [5], в экспериментах использовали 3,7-диметил-1-(5-оксогексил)-ксантин (пентоксифиллин, раствор для инъекций 20 мг/мл) – 5 мл.

Для исключения неконтролируемого воздействия локальной температуры на динамику химических и биохимических процессов все лабораторные исследования выполняли в условиях инфракрасного мониторинга динамики локальной температуры взаимодействующих сред с помощью тепловизора ThermoTracer TN9100XX. Температура окружающей среды в исследуемой комнате была $24\text{--}25^\circ\text{C}$, температурное окно тепловизионной камеры было установлено в диапазоне от 25 до 36°C [7, 8].

Результаты исследования обрабатывали с применением статистического пакета Statistica 10,0. 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. Критический уровень значимости p для статистических критериев принимали равным 0,05.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Изучение влияния соединения I на систему гемостаза в условиях *in vivo* начали с тромбоэластографии, позволяющей оценить систему гемостаза в комплексе по основным ключевым звеньям (табл. 1). На тромбоэластограммах крыс, получивших внутривенно пентоксифиллин, отмечалось незначительное смещение общего коагуляционного потенциала в сторону гипокоагуляции: индекс тромбодинамического потенциала (ТрП) в контрольной группе составлял в среднем 15,1/с, а в группе крыс, получивших пентоксифиллин, – 7,7/с ($p=0,001$). Однако показатель ТМА у животных, экспонированных аналоговым препаратом, не отличался от такового в контрольной группе ($p=0,8$). Параметр, характеризующий функциональную активность тромбоцитов (МА), в группе крыс, получивших пентоксифиллин, был на 11,6% ($p=0,00001$) меньше по сравнению с контролем. При этом Angle, отображающий функциональное состояние фибриногена, при введении животным пентоксифиллина ($p=0,4$) оставался на уровне контрольных значений. Показатели тромбоэластограмм крыс, получивших соединение I, демонстрировали снижение функциональной активности тромбоцитов: значение МА снижалось в 1,8 раза ($p=0,00001$) по сравнению с контролем. Это приводит к статистически значимому смещению коагуляционного потенциала в сторону гипокоагуляции. Параметр ТМА удлинялся на 26,3% ($p=0,0005$), а ТрП сократился в 4,7 раза ($p=0,00001$) относительно контроля.

Результаты комплексного метода оценки состояния системы гемостаза свидетельствовали о более выраженном антиагрегационном действии соединения I по сравнению с пентоксифиллином. Принципиальное значение в данном случае имеет изменение величины МА на фоне нормального уровня тромбоцитов и фибриногена. Показатель МА в группе крыс, получивших соединение I, снижается в 1,6 раза ($p=0,00001$) по сравнению с животными, которым вводили пентоксифиллин. Это приводит к статистически значимому снижению общего коагуля-

ционного потенциала в сторону гипокоагуляции – параметр ТМА удлинялся в группе крыс «соединения I» в 1,2 раза ($p=0,0001$), а ТрП уменьшался в 2,4 раза ($p=0,0002$) в сравнении с группой крыс, получивших пентоксифиллин. Изменяются и механико-физические свойства сгустка: показатель E снижался в группе «соединения I» в 1,4 раза ($p=0,00001$), показатель G – в 1,7 раза ($p=0,0001$) по сравнению с показателями пентоксифиллина. ТЭГ-маркеры фибринолиза в присутствии пентоксифиллина и соединения I оставались на уровне контрольных значений.

На следующем этапе экспериментов изучали влияние соединения I и пентоксифиллина на коагуляционный компонент гемостаза и маркеры тромбообразования (табл. 2). Согласно результатам проведенного исследования, пентоксифиллин при внутривенном введении крысам не проявляет активность в отношении коагуляционного звена системы гемостаза. Ни по одному из изучаемых биохимических констант статистически значимых различий с группой контроля при введении пентоксифиллина не обнаруживалось. Это полностью соотносится с данными литературы о биологической активности пентоксифиллина [9].

При изучении действия соединения I на контактную фазу гемокоагуляции регистрировалось удлинение времени свертывания по Сухареву на 24,5% ($p<0,0001$) по сравнению с данными, полученными в контрольной группе. На активность факторов свертывания внутреннего и внешнего путей активации (АПТВ и ПВ) и концентрацию фибриногена по Clauss исследуемое соединение влияния не оказывало. Активность АТ III в присутствии соединения I

Таблица 1

ПОКАЗАТЕЛИ ТРОМБОЭЛАСТОГРАФИИ ПРИ ВНУТРИБРЮШИННОМ ВВЕДЕНИИ КРЫСАМ СОЕДИНЕНИЯ I И ПЕНТОКСИФИЛЛИНА, Me (25–75)

Показатель	Контроль, n=7	Пентоксифиллин, n=7	p_1	Соединение I, n=7	p_2	p_3
SP, мин	10,3 (7,5–12,3)	8,6 (6,9–9,4)	0,4	16,7 (15,4–17,8)	0,001	0,0001
R, мин	11,6 (9,7–13,2)	9,9 (8,5–10,4)	0,3	13,6 (11,9–14,7)	0,3	0,04
Angle, град	43,7 (42,4–44,3)	39,9 (36,4–45,1)	0,4	36,5 (32,7–38,1)	0,01	0,6
МА, мм	55,9 (51,2–57,8)	49,6 (46,7–2,3)	0,003	30,3 (28,6–32,9)	0,0001	0,001
ТМА, мин	35,4 (32,4–38,5)	33,4 (32,5–7,3)	0,8	44,7 (40,5–45,1)	0,0005	0,0001
G, дин/см ²	6,3 (5,7–6,4)	4,6 (4,1–4,3)	0,01	2,6 (2,3–3,2)	0,00001	0,0001
E, дин/см ²	127,3 (115,4–142,3)	101,5 (98,5–09,4)	0,0007	71,5 (68,4–76,3)	0,000001	0,00001
ТрП, /с	15,1 (13,2–17,1)	7,7 (7,1–8,6)	0,001	3,2 (2,6–4,3)	0,00001	0,0002
CL30, %	97,5 (91,3–99,5)	100,0 (100,0–100,0)	0,7	98,8 (97,5–99,3)	0,4	0,6
LY30, %	0,6 (0,2–0,9)	0,0 (0,0–0,0)	0,8	0,0 (0,0–0,0)	0,3	0,8
CLT, мин	36,9 (32,4–38,3)	36,5 (33,1–38,4)	0,3	34,3 (31,2–35,9)	0,3	0,1
CI	0,38 (0,1–0,7)	-1,8 (-1,1/-2,7)	0,3	-4,6 (-3,7/-5,2)	0,00001	0,0001

Примечание: Здесь и в табл. 2 и 3: уровень статистической значимости различий признаков: p_1 – группы пентоксифиллина в сравнении с контролем; p_2 – группы соединения I в сравнении с контролем; p_3 – группы пентоксифиллина по сравнению с группой соединения I; n – количество животных в группе.

ВЛИЯНИЕ СОЕДИНЕНИЯ I И ПЕНТОКСИФИЛЛИНА НА СИСТЕМУ ГЕМОСТАЗА ПРИ ВНУТРИБРЮШИННОМ ВВЕДЕНИИ КРЫСАМ, Ме (25–75)

Показатель	Контроль, n=7	Пентоксифиллин, n=7	P ₁	Соединение I, n=7	P ₂	P ₃
Время свертывания по Г.В. Сухареву, с	94,2 (91,3–95,3)	98,8 (96,3–99,4)	0,2	121,1 (117,8–123,6)	0,001	0,001
Каолиновое время, с	81,4 (80,3–82,4)	83,2 (81,5–84,7)	0,6	83,4 (81,6–85,2)	0,6	0,1
АПТВ, с	23,1 (21,6–24,7)	23,4 (22,7–24,8)	0,7	22,6 (21,3–25,1)	0,5	0,4
ТВ, с	27,2 (26,4–28,9)	28,3 (27,5–29,6)	0,2	26,5 (25,9–28,3)	0,7	0,4
ПВ, с	12,4 (11,5–13,9)	12,9 (11,5–14,3)	0,3	13,4 (12,5–14,9)	0,4	0,3
Фибриноген, с	24,3 (22,5–26,7)	25,9 (24,7–26,3)	0,2	23,7 (22,6–25,6)	0,7	0,4
Рептилазное время, с	19,8 (17,5–20,5)	18,6 (16,5–19,9)	0,14	18,9 (17,1–21,3)	0,4	0,5
АТ III, %	95,4 (94,7–97,5)	97,2 (95,3–98,2)	0,4	96,4 (94,3–98,2)	0,7	0,6
D-димеры, мкг/мл	2,2 (1,7–2,6)	3,0 (2,7–3,2)	0,2	2,1 (1,9–2,4)	0,4	0,7
Активность ф. Виллебранда, МЕ/дл	78,0 (75,4–79,6)	77,4 (75,6–78,9)	0,1	77,9 (77,3–78,4)	0,6	0,7

и пентоксифиллина оставалась на уровне контрольных значений. Не изменяется и маркер состоявшегося тромбоза – концентрация D-димеров.

Результаты исследования влияния соединения I и пентоксифиллина на активность сосудисто-тромбоцитарного звена гемостаза при внутрибрюшинном введении крысам в эквимолярных концентрациях представлены в табл. 3. Показатели максимальной агрегации тромбоцитов при действии АДФ и коллагена в присутствии пентоксифиллина снизились в среднем на 45,4% (p=0,03) и 7,6% (p=0,6) соответственно

относительно контроля. Средний размер тромбоцитарных агрегатов статистически уменьшился в сравнении с контрольной группой на 37% (p=0,01) при индукции агрегации АДФ и 10,7% (p=0,04) коллагеном. На адреналин- и ристомидин-индуцированную агрегацию тромбоцитов значимого влияния пентоксифиллин не оказывал. При этом, несмотря на отсутствие антиагрегационного эффекта при адреналин-индуцированной агрегации тромбоцитов, средний размер агрегатов статистически значимо меньше и составляет 3,1 о.е. (p=0,01), при контрольных – 4,8 о.е.

Таблица 3

ПОКАЗАТЕЛИ АГРЕГАЦИИ ТРОМБОЦИТОВ ПРИ ВНУТРИБРЮШИННОМ ВВЕДЕНИИ КРЫСАМ СОЕДИНЕНИЯ I И ПЕНТОКСИФИЛЛИНА, Ме (25–75)

Показатель	Контроль, n=7	Пентоксифиллин, n=7	P ₁	Соединение I, n=7	P ₂	P ₃
Тромбоциты • 10 ⁹ /л	724,4 (703,4–741,8)	723,8 (707,1–734,5)	0,7	721,4 (709,3–732,6)	0,6	0,5
Коллаген, мм	55,9 (53,6–58,2)	51,6 (49,4–54,3)	0,6	10,6 (7,4–15,2)	<0,0001	<0,0001
lag-период, с	62,7 (61,4–64,3)	64,8 (62,4–66,7)	0,3	95,6 (91,6–100,3)	0,0001	<0,001
МРА кол., о.е.	6,5 (5,3–7,2)	5,8 (4,9–6,2)	0,04	2,3 (1,7–2,9)	0,0003	0,0006
tg α кол., с	38,5 (36,9–40,2)	37,6 (35,8–39,1)	0,7	43,1 (40,4–49,3)	0,001	0,0002
АДФ, мм	52,4 (47,9–54,3)	28,6 (24,5–31,6)	0,03	16,5 (14,7–20,3)	<0,0001	<0,001
МРА АДФ, о.е.	6,7 (5,2–7,4)	4,2 (3,7–4,8)	0,01	2,3 (2,0–2,6)	0,001	0,0004
tg α АДФ, с	44,7 (41,2–45,4)	46,2 (44,7–48,6)	0,2	56,9 (54,3–58,1)	0,001	0,007
Адреналин, мм	49,8 (47,6–51,3)	47,6 (46,7–48,4)	0,3	24,5 (26,3–31,1)	0,004	0,0003
МРА адрен., о.е.	4,8 (4,1–5,3)	3,1 (2,7–3,8)	0,01	2,0 (1,7–2,2)	0,0005	0,002
tg α адрен., с	34,1 (32,7–36,5)	38,9 (36,7–40,2)	0,5	48,1 (45,1–50,4)	0,0001	0,001
Ристомидин, мм	57,3 (56,4–59,3)	55,6 (53,7–59,2)	0,7	54,5 (52,6–58,1)	0,3	0,1
МРА рист., о.е.	6,2 (5,7–6,6)	4,7 (4,1–5,3)	0,3	6,1 (5,3–6,4)	0,6	0,7
tg α рист., с	47,5 (45,2–49,3)	44,6 (43,2–46,9)	0,6	46,3 (44,1–48,9)	0,3	0,4

Скорость агрегации тромбоцитов оставалась на уровне контрольных значений для всех индукторов. Соединение I проявляло значимую антиагрегационную активность при действии всех индукторов за исключением ристомидин-индуцированной агрегации тромбоцитов. При этом по всем показателям, измеряемым анализатором агрегации тромбоцитов, соединение I статистически значимо превосходило аналоговый препарат. Анализ агрегатограмм, регистрируемых на коллагениндуцированной агрегации тромбоцитов, при действии соединения I демонстрировал статистически значимое удлинение lag-фазы в среднем на 52,5% ($p < 0,05$) и практически полное отсутствие агрегации тромбоцитов под действием коллагена.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В результате доклинических исследований новой калиевой соли 2-[3-бром-1-(тиетанил-3)-1,2,4-триазолил-5-тио]уксусной кислоты при внутривенном введении крысам установлены ее достоинства. Она превосходит аналоговый препарат пентоксифиллин как по уровню, так и по спектру антиагрегационного эффекта. Таким образом, новую калиевую соль 2-[3-бром-1-(тиетанил-3)-1,2,4-триазолил-5-тио]уксусной кислоты можно считать потенциально эффективным антиагрегационным средством.

ЛИТЕРАТУРА/REFERENCES

1. Samorodov A.V., Kamilov F.Kh., Khaliullin F.A., Shabalina Y.V., Khalimov A.R., Murataev D.Z. Antithrombotic effect of new cyclohexylammonium salt 2-(1-ethyl-3-methyl-7-(dioxothietanyl-3)anthinyl-8-thio)

acetic acid on experimental venous thrombosis. 7th European Congress of Pharmacology (EPHAR2016), Congress Book 2016; 167.

2. Samorodov A., Kamilov F., Timirkhanova G., Samorodova A., Khaliullin F., Murataev D. Antithrombotic activity of new 1-ethylxanthine cyclohexylammonium salt. Federation of American Societies for Experimental Biology Journal, 2014; 28: 1054.5.

3. Клен Е.Э., Халиуллин Ф.А., Спасов А.А., Макарова Н.Н., Багаудинова Л.Ф., Науменко Л.В. Синтез и гемореологические свойства новых производных 1,2,4-триазола. Химико-фармацевтический журнал, 2008; 42 (9): 15-17. (Klen E.E., Khaliullin F.A., Spasov A.A., Makarova N.N., Bagautdinova L.F., Naumenko L.V. Synthesis and rheological properties of new derivatives of 1,2,4-triazole. Himiko-farmatsevticheskiy zhurnal, 2008; 42 (9): 15-17 (in Russian)).

4. Самородов А.В., Камиллов Ф.Х., Халимов А.Р., Клен Е.Э., Халиуллин Ф.А. Влияние новой калиевой соли на основе 3-тиетанилзамещенного триазола на систему гемостаза. Биомедицина, 2016; 3: 59-67. (Samorodov A.V., Kamilov F.Kh., Khalimov A.R., Klen E.E., Khaliullin F.A. The effect of the new potassium salt based on 3-triazole diethanolamine on hemostasis. Biomedicina, 2016; 3: 59-67 (in Russian)).

5. Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств. Часть 1. М.: Гриф и К, 2012; 944. (The guidelines for preclinical studies of pharmaceuticals. Part 1. Moscow: Griff I K, 2012; 944 (in Russian)).

6. КИШКУН А.А. Руководство по лабораторным методам диагностики. М.: ГЭОТАР-Медиа, 2002; 346. (Kishkun A.A. A manual of laboratory methods for diagnosis. Moscow: GEOTAR-Media, 2002; 346 (in Russian)).

7. Urakov A.L., Kasatkin A.A., Urakova N.A., Ammer K. Infrared thermographic investigation of fingers and palms during and after application of cuff occlusion test in patients with hemorrhagic shock. Thermology International, 2014; 24 (1): 5-10.

8. Urakov A.L., Urakova N.A., Kasatkin A.A. Thermal imaging improves the accuracy hemorrhagic shock diagnostics: The concept and practical recommendations. LAP LAMBERT Academic Publishing, 2016; 60.

9. Trental®. Product monography. Sanofi-aventis Canada Inc., 16.12.2008. (Electronic resource). Mode of access: <http://www.sanofi.ca/products/en/trental>

Поступила 21 декабря 2016 г.

EFFECT OF 2-[3-BROMO-1-(THIETANYL-3)-1,2,4-TRIAZOLYL-5-THIO]ACETIC ACID POTASSIUM SALT ON THE HEMOSTATIC SYSTEM

Professor, Academician of the Russian Academy of Sciences V.G. Kukes⁴, MD; Professor N.B. Lazareva⁴, MD; Professor D.B. Nikityuk³, MD, Corresponding Member of the Russian Academy of Sciences; Professor A.L. Urakov^{1,2,3}, MD; A.V. Samorodov^{1,2}, MD; Professor F.Kh. Kamilov², MD; Professor E.E. Klen², PhD; Professor F.A. Khaliullin², PhD

¹Izhevsk State Medical Academy; 281, Communards St., Izhevsk 426034, Russian Federation;

²Bashkir State Medical University; 3, Lenin St., Ufa 450000, Russian Federation;

³Federal Research Center of Nutrition, Biotechnology, and Food Safety; 2/14, Ustyinsky Proezd, Moscow 109240, Russian Federation;

⁴I.M. Sechenov First Moscow State Medical University; 8, Trubetskaya St., Build. 2, Moscow 119991, Russian Federation

SUMMARY

Introduction. Earlier investigations of synthesized derivatives of nitrogen-containing heterocycles have demonstrated that some representatives of this series have pronounced antiplatelet activity. An in vitro experiment has established the high efficacy of 2-(3-bromo-1-(thietanyl-3)-1,2,4-triazolyl-5-thio)acetic acid (compound I) potassium salt as an agent for preventing thrombosis.

Objective: to conduct a preclinical study of the in vivo effect of compound I on the hemostatic system.

Material and methods. Investigations were performed in outbred mature male albino rats aged 3.5-4.0 months, weighing 150-200 g. Pentoxifylline was used as a drug of comparison. The test compound and its analogue were intraperitoneally administered to the animals. Platelet-rich and platelet-free plasma samples were obtained by citrate blood centrifugation. The overall trend of coagulation, the functional activity of platelets and fibrinogen, the activity of fibrinolysis, and the physicochemical properties of the clots formed were determined. The clotting time of whole venous blood was recorded using the Sukharev method. A TEG 5000 thromboelastograph hemostasis device, a Biola 230LA platelet aggregation analyzer, a selective STA-Compact hemostasis analyzer, and a ThermoTracer TH9100XX thermal imaging camera were applied. The normal distribution of the actual data was checked using the Shapiro-Wilk test. The median and interquartile ranges were employed to describe the groups. Analysis of variance was carried out using the Kruskal-Wallis test.

Results. 2-(3-Bromo-1-(thietanyl-3)-1,2,4-triazolyl-5-thio)acetic acid potassium salt was ascertained to be superior to pentoxifylline in the spectrum and level of anti-aggregation activity.

Conclusion. The preclinical studies of the effect of the novel 2-(3-bromo-1-(thietanyl-3)-1,2,4-triazolyl-5-thio)acetic acid potassium salt on the hemostatic system confirmed its potential efficacy as an anti-aggregation agent for preventing thrombosis.

Key words: 3-thiethanyl-substituted triazole derivatives, hemostatic system, anti-aggregation activity.