

УДК 615.225.4:547.581.2



СИНТЕЗ, АНТИАГРЕГАЦИОННАЯ И АНТИТРОМБОТИЧЕСКАЯ АКТИВНОСТИ НОВЫХ ПРОИЗВОДНЫХ ГИДРОКСИБЕНЗОЙНЫХ КИСЛОТ С ТАУРИНОВЫМ ФРАГМЕНТОМ

А.К. Брель, Н.В. Атапина, Ю.Н. Будаева, С.В. Лисина, С.С. Царук, Д.В. Куркин, И.Н. Тюренков

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Волгоградский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации
400131, Россия, г. Волгоград, пл. Павших борцов 1

E-mail: rodina.natasha@inbox.ru

Получено 30.09.2020

Принята к печати 20.03.2021

Высокая распространенность тромботических нарушений, недостаточная эффективность или безопасность анти-тромботической терапии является актуальной проблемой современного здравоохранения. Основным средством профилактики тромбоза является ацетилсалициловая кислота. Несмотря на многолетнюю историю аспирина привлекает исследователей в области медицинской химии, биологии и медицины. Разработка новых антиагрегантов, в том числе и химической модификацией молекулы ацетилсалициловой кислоты остается актуальной. Модификация молекулы ацетилсалициловой кислот с использованием аминокислот и получением их солевых форм, позволяет сохранять антиагрегантные или антитромботические свойства, а также сообщить дополнительные фармакодинамические эффекты. В современной науке уделяется немало внимания серосодержащей аминокислоте таурин. При анализе современной научной литературы обнаружено протективное действие таурина при сахарном диабете и сердечно-сосудистых заболеваниях, дисфункции печени, желудочно-кишечного тракта, заболеваниях почек.

Цель. Синтез новых соединений, определение их физических характеристик и оценка антиагрегантной и антитромботической активности *in vitro* и *in vivo*.

Материалы и методы. Для подтверждения структуры, синтезированных новых производных гидроксibenзойных кислот с тауриновым фрагментом методом ацелирования, использовали тонкослойную хроматографию, ЯМР спектры. Исследования *in vitro* проводили на модели АДФ-индуцированной агрегации тромбоцитов по методике Born G. в модификации Габбасова В.А. Исследования *in vivo* проводили на модели артериального тромбоза, индуцированного аппликацией хлоридом железа на следующих группах животных: интактные, с экспериментальным сахарным диабетом и трех годовалые, так же была проведена оценена скорость кровотока из хвостовой вены.

Результаты. Были синтезированы новые соединения, представляющие собой производные орто-, мета- и пара-гидроксibenзойных кислот с остатком таурина. Описана методика получения соединений N-гидроксibenзоил таурина и их солевых форм, определены спектральные характеристики и температура плавления. Синтезированные соединения по растворимости превосходят ацетилсалициловую кислоту, не уступают ей в антиагрегантной и антитромботической активности. Представлены результаты оценки антиагрегантной активности *in vitro* в широком диапазоне концентраций от 10^{-4} М до 10^{-8} М. Выявлено, что дикалиевая соль N-(2-гидроксibenзоил)таурина проявляет меньшую антиагрегантную активность, чем дикалиевая соль N-(3-гидроксibenзоил)таурина. Наиболее выраженную антиагрегантную активность проявляет соединение N-(4-гидроксibenзоил)таурин. В экспериментах *in vivo* на модели артериального тромбоза у 3-летних или животных с экспериментальным сахарным диабетом, тромбоз сонной артерии происходил быстрее, чем у молодых или интактных. Однократное предварительное пероральное введение исследуемых соединений пролонгировало время образования тромба, что позволяет сделать заключение о наличии у них антитромботического действия. Дикалиевая соль N-(3-гидроксibenзоил)таурина в проведенном исследовании проявляет более выраженную чем у ацетилсалициловой кислоты активность.

Заключение. На фоне моделируемых патологий, исследуемые препараты проявили ожидаемую антитромботическую активность, по выраженности не уступающую выявленной у ацетилсалициловой кислоты.

Ключевые слова: антиагреганты; антиагрегантная активность; антитромботическая активность; ацетилсалициловая кислота; агрегация тромбоцитов; таурин

Список сокращений: ESC – европейская ассоциация кардиологии; DMSO-d₆ – диметилсульфоксид-d6; GAPDH – глицеральдегид-3-фосфатдегидрогеназа; HUVECs – эндотелиальные клетки человека; АДФ – аденозинди дифосфорная кислота; АСК – ацетилсалициловая кислота; АФК – активные формы кислорода; НПВП – нестероидные противовоспалительные препараты; СД – сахарный диабет; ЭСД – экспериментальный сахарный диабет; ССЗ – сердечно-сосудистые заболевания; ЦОГ – циклооксигеназа; ЖКТ – желудочно-кишечный тракт

Для цитирования: А.К. Брель, Н.В. Атапина, Ю.Н. Будаева, С.В. Лисина, С.С. Царук, Д.В. Куркин, И.Н. Тюренков. Синтез, антиагрегационная и антитромботическая активности новых производных гидроксibenзойных кислот с тауриновым фрагментом. *Фармация и фармакология*. 2021;9(3):222-234. DOI: 10.19163/2307-9266-2021-9-3-222-234

© А.К. Брель, Н.В. Атапина, Ю.Н. Будаева, С.В. Лисина, С.С. Царук, Д.В. Куркин, И.Н. Тюренков, 2021

For citation: A.K. Brel, N.V. Atapina, Y.N. Budaeva, S.V. Lisina, S.S. Tsaruk, D.V. Kurkin, I.N. Tyurenkov. Synthesis, antiaggregation and antitrombotic activities of new derivatives of hydroxybenzoic acids with tauric fragment. *Pharmacy & Pharmacology*. 2021;9(3):222-234. DOI: 10.19163/2307-9266-2021-9-3-222-234

SYNTHESIS, ANTIAGGREGATION AND ANTITROMBOTIC ACTIVITIES OF NEW DERIVATIVES OF HYDROXYBENZOIC ACIDS WITH TAURIC FRAGMENT

A.K. Brel, N.V. Atapina, Y.N. Budaeva, S.V. Lisina, S.S. Tsaruk, D.V. Kurkin, I.N. Tyurenkov

Volgograd State Medical University
1, Pavshikh Bortsov Sq., Volgograd, Russia, 400131

E-mail: rodina.natasha@inbox.ru

Received 30 Sep 2020

Accepted 20 March 2021

A high prevalence of thrombotic disorders, insufficient effectiveness or safety of antithrombotic therapy is an urgent problem of modern healthcare. The main means of preventing thrombosis is acetylsalicylic acid. Despite its long history, aspirin attracts researchers in the fields of medicinal chemistry, biology, and medicine. The development of new antiplatelet agents, including chemical modification of the acetylsalicylic acid molecule, remains relevant. Modification of the acetylsalicylic acid molecule using amino acids and obtaining their salt forms makes it possible to maintain antiplatelet or antithrombotic properties, as well as to impart additional pharmacodynamic effects. In modern science, a lot of attention is paid to the sulfur-containing amino acid taurine. An analysis of modern scientific literature revealed the protective effect of taurine in diabetes mellitus and cardiovascular diseases, liver dysfunction, gastrointestinal tract, and kidney diseases.

The aim of the article is to study synthesis of new compounds, determination of their physical characteristics and assessment of their antiplatelet and antithrombotic activities *in vitro* and *in vivo*.

Materials and methods. To confirm the structure of the synthesized new derivatives of hydroxybenzoic acids with a taurine fragment by the acylation method, thin layer chromatography and NMR spectra were used. *In vitro* studies were carried out on the model of ADP-induced platelet aggregation according to the Born G. methods modified by V.A. Gabbasov. *In vivo*, the studies were carried out on the model of arterial thrombosis induced by the application of iron chloride in the following groups of animals: intact, with experimental diabetes mellitus and three-year-olds; the rate of bleeding from the tail vein was also evaluated.

Results. New compounds – derivatives of ortho-, meta- and para-hydroxybenzoic acids with a taurine residue – were synthesized. A procedure for the preparation of N-hydroxybenzoyl taurine compounds and their salt forms have been described; their spectral characteristics and melting points have been determined. The synthesized compounds are superior to acetylsalicylic acid in solubility and are not inferior to it in antiplatelet and antithrombotic activities. The results of the *in vitro* antiplatelet activity assessment in a wide concentration range from 10^{-4} M to 10^{-8} M, are presented. It has been revealed that the dipotassium salt of N-(2-hydroxybenzoyl)taurine exhibits a less antiplatelet activity than the dipotassium salt of N-(3-hydroxybenzoyl)taurine. The most pronounced antiplatelet activity is exhibited by the compound N-(4-hydroxybenzoyl)taurine. In *in vivo* experiments on the model of arterial thrombosis in 3-year-olds or animals with experimental diabetes mellitus, carotid artery thrombosis occurred faster than in young or intact animals. A single preliminary oral administration of the test compounds prolonged the time of the thrombus formation, which makes it possible to conclude that they have an antithrombotic effect. In this study, the dipotassium salt of N-(3-hydroxybenzoyl)taurine exhibits a more pronounced activity than that of acetylsalicylic acid.

Conclusion. Against the background of the modeled pathologies, the studied drugs showed the expected antithrombotic activity, in terms of the severity not inferior to that found in acetylsalicylic acid.

Keywords: antiplatelet agents; antiplatelet activity; antithrombotic activity; acetylsalicylic acid; platelet aggregation; taurine
Abbreviations: ESC – European Society of Cardiology; DMSO- d_6 – dimethyl sulfoxide- d_6 ; GAPDH – glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase (glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase); HUVECs – Human Umbilical Vein Endothelial Cells (human endothelial cells); ADP – adenosine diphosphoric acid; ASA – acetylsalicylic acid; ROS – reactive oxygen species; NSAIDs – non-steroidal anti-inflammatory drugs; DM – diabetes mellitus; CVD – cardiovascular disease; COX – cyclooxygenase; GI tract – gastrointestinal tract

ВВЕДЕНИЕ

Сердечно-сосудистые заболевания занимают лидирующие позиции в статистике смертности населения в большинстве развитых стран [1-4] и являются основной причиной смертности в большинстве Европейских стран [5]. Главной целью Европейской ассоциации кардиологов (ESC, European Society of Cardiology) на протяжении 70-ти лет является совершенствование стандартов диагностики и лечения

сердечно-сосудистых заболеваний (ССЗ), в том числе и оптимизация проведения антиагрегантной и антиромботической терапии [6]. В первую очередь, это уменьшение числа, возникающих из-за нарушения баланса в системе гемостаза, тромбозов – основной причины инсультов, инфарктов миокарда и ампутаций конечностей [7, 8].

Кардиоваскулярные заболевания являются причиной смерти более 50% людей в странах со средним

уровнем дохода и <30% людей в странах с высоким [9]. Наблюдаемая разница возникла из-за результативного внедрения профилактических мероприятий и высокотехнологичной медицинской помощи, оптимизации применения и повышения качества лекарственных средств, что в совокупности и привело к снижению гибели от ССЗ [10].

Ключевым фактором, определяющим прогноз большинства заболеваний сердечно-сосудистой системы, является проблема низкой эффективности предупреждения артериальных тромбозов. Своевременное проведение профилактических мероприятий увеличивает продолжительность жизни, улучшает ее качество, снижает траты на лечение и реабилитацию пациентов.

Антиагреганты, подавляя функциональную активность тромбоцитов, препятствуют внутрисосудистой гемокоагуляции, их применение доказано снижает риск тромбозов при многих социально-значимых заболеваниях [11].

Попытки улучшить фармакодинамические или фармакокинетические свойства известных препаратов является распространенным подходом к разработке новых лекарственных средств.

Инновационные фармацевтические препараты должны угнетать функциональную активность тромбоцитов более эффективно и безопасно, чем известные антиагрегантные средства и при этом оказывать плейотропные эффекты. Ацетилсалициловая кислота, блокаторы рецепторов АДФ – P2Y₁₂ (тиклопидин, клопидогрел, прасугрел, тикангрелор, кангрелор), антагонисты гликопротеинов IIb/IIIa имеют высокие показатели эффективности и безопасности [12], но в тоже время проблема тромботических осложнений в полной мере не решена.

Ацетилсалициловая кислота продолжает оставаться самым назначаемым антиагрегантом. Ряд распространённых заболеваний, таких как сахарный диабет, метаболический синдром, ожирение рассматриваются, как независимый фактор высокого риска развития сердечно-сосудистых осложнений. В последних рекомендациях [13] по первичной профилактике атеросклеротических осложнений сахарного диабета (СД) в качестве средства базисной терапии указываются низкие дозы ацетилсалициловой кислоты. Это свидетельствует о несомненном признании достоинств этого препарата, его терапевтической широте и доступности. Химическая модификация молекул, обладающих выраженной фармакологической активностью, продолжает оставаться одним из методов разработки лекарственных средств. Дериватизация молекулы АСК и добавление в её структуру аминокислоты таурин, в совокупности с получением солевых форм даёт возможность усилить антиагрегантное действие или уменьшить тяжесть побочных эффектов, сообщить дополнительное фармакологическое дей-

ствие, повысить эффективность синтеза и/или облегчить производство [14–16]. На протяжении всей истории применения ацетилсалициловой кислоты и особенно интенсивно в последние два десятилетия, химики пытаются модифицировать её молекулу, чтобы сообщить ей новые, в основном, фармакодинамические эффекты, такие как вазодилатирующий или способность генерировать активные формы кислорода (АФК) в опухолевых клетках, проявлять антибактериальную и антипролиферативную и/или противоопухолевую активности. Так ангидридные конъюгаты аспирина с жирными кислотами легче проходят через клеточные мембраны, и вызывают более выраженную дозозависимую агрегацию тромбоцитов. Аспирин-липидные конъюгаты действуют посредством ингибирования пути циклооксигеназы (ЦОГ) – тромбоксан-синтазы (TXAS). Все конъюгаты гидролизуются до исходных молекул аспирина и жирной кислоты контролируемым образом. Ангидриды аспирина-жирных кислот обладают большей биодоступностью (свободная карбоксильная группа в аспирине остается ионизированной разновидностью при физиологическом pH и плохо абсорбируется через клеточные мембраны) и антиагрегантной активностью (одним из оснований для создания гибридного «codrug» является то, что пролекарство аспирин-жирная кислота-ангидрид гидролизуются с выделением не одного, а двух активных молекул, которые независимо друг от друга ингибируют ЦОГ), меньшей ulcerогенностью [17].

Ацетилсалициловая кислота и аналоги короткоцепочечных жирных кислот, таких как бутирил-салициловая кислота, проявляют выраженное антимикробное действие в отношении *Salmonella Typhimurium*. [18].

Число работ обнаруживающих противоопухолевую активность нестероидных противовоспалительных препаратов (НПВП) и, в частности АСК, в последние несколько лет продолжает увеличиваться [19, 20]. Так производные аспирина на основе циннамальдегида изучаются в качестве потенциального средства для лечения колоректального рака [21–23].

Включение иона металла в молекулу ацетилсалициловой кислоты может сообщить ей дополнительные фармакодинамические свойства, что позволяет сохранять способность к ингибированию ЦОГ. Однако появляется способность к генерации АФК металлической частью конъюгата, что может помочь преодолеть устойчивость опухолевых клеток или микроорганизмов. Развитие металлоорганических производных АСК является одним из направлений биоорганической химии и превратилось в мощную альтернативу традиционным подходам в разработке биоактивных соединений [24]. К примеру, новые производные аспирина, включающие в свою молекулу оксид азота (NO-аспирины) более безопасны в отношении слизистой оболочки желудочно-кишеч-

ного тракта (ЖКТ), и оказывают выраженные цитотоксические эффекты в отношении рака легкого [25]. IPA / NO-аспирин являются пролекарствами, которые более безопасны и оказывают более выраженные фармакодинамические эффекты вероятно, из-за улучшенного клеточного поглощения и доставки. Содержащие оксид азота соединения аспирина были не токсичными для нормальных эндотелиальных клеток (HUVECs; не влияет на жизнеспособность до 100 мкМ), но оказывали токсическое действие на некоторые клеточные линии рака, что указывает на специфическую для рака чувствительность, которая является перспективной для химиотерапии или химиопрофилактики. Избирательная цитотоксичность пролекарств на основе NO-аспирина может быть связана с их влиянием на активность гликолитического белка GAPDH (тиоловая группа GAPDH подавляется донорами HNO, которые образуются при гидролизе IPA / NO-аспирина в организме) от активности которого зависит скорость гликолиза в опухолевых клетках. Применение содержащих оксид азота соединений аспирина (IPA / NO-аспирин) приводило к усилению функцию мышечных кардиомиоцитов *in vivo*. Это подтверждает, что доноры HNO являются положительными инотропными / лизитропными агентами и увеличивают переходные процессы в Ca²⁺ каналах кардиомиоцитов. Таким образом, пролонгированные формы препаратов, содержащих аспирин и HNO или NO, могут иметь широкое терапевтическое применение в качестве противовоспалительных, противоопухолевых и кардиопротективных агентов [26].

Таурин – органический осмолит, участвующий в регуляции метаболизма клеток, обеспечивает субстрат для образования солей желчных кислот. Играет важную роль в модуляции концентрации внутриклеточного свободного кальция, и, хотя при этом является одной из аминокислот, не включенных в белки, таурин один из наиболее распространенных аминокислот в мозге, сетчатке, мышечной ткани и органах [27]. Производное таурина стимулирует образование менее токсичных фибрилл амилоид-β, что приводит к предотвращению когнитивного дефицита при острой экспериментальной модели болезни Альцгеймера у мышей [28]. Таурин улучшает секрецию инсулина и снижает резистентность к инсулину. Лечение таурином снижало выраженность окислительного стресса в головном мозге, диабетической гепатотоксичности, тяжесть сосудистых заболеваний и травм сердца при диабете [29, 30]. В литературе описано влияние добавок таурина на резистентность к инсулину; баланс железа, цинка и меди; параметры окислительного стресса у контрольных животных и крыс с высокожировой диетой [31].

Таким образом синтез и доклиническое изучение новых производных гидроксибензойных кислот является перспективной и актуальной задачей для современной фармакологии.

ЦЕЛЬ. Синтезировать новые соединения, определить их физические характеристики и оценить антиагрегантную и антитромботическую активности *in vitro* и *in vivo*.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Синтез и определение физических характеристик

Общая методика синтеза дикалиевых солей N-(гидроксибензоил)тауринов была подробно описана авторами ранее [32, 33]. В реактор, снабженный мешалкой, помещали раствор 2-аминоэтансульфоновой кислоты (таурина) в 25.00 мл воды и приливали 6 н. раствор гидроксида натрия. По каплям, в раствор вносили хлорангидрид гидроксибензойной кислоты в течение 1,5 ч при охлаждении. Затем реакционную смесь перемешивали еще 1,5 ч (при охлаждении), контролируя pH среды (pH>7). Полученную смесь выливали в лед и подкисляли хлороводородной кислотой до pH=5, выпавшие кристаллы перекристаллизовывали из изопропанола, отфильтровывали и сушили. Характеристики представленных соединений в таблице 1. Затем в 3-горлый реактор, снабженный мешалкой, обратным холодильником и термометром, загружали 100 ммоль этилата калия, 100,00 мл бензола и 50 ммоль N-(гидроксибензоил)таурина и перемешивали при температуре 100°C в течение 30 мин. После охлаждения продукт отделяли фильтрованием, промывали небольшим количеством спиртового раствора щелочи и сушили.

Температуры плавления определяли капиллярным методом на приборе Stuart SMP-30 (Великобритания) при скорости нагрева 10°C/мин. Чистоту и индивидуальность соединений подтверждали методом тонкослойной хроматографии на пластинах «Silufol UV-254», подвижная фаза н-бутанол – этанол – вода в соотношении 5:2:1, проявление – в парах йода и УФ-светом. Спектры ¹H- ЯМР производных в DMSO-d₆ регистрировали на спектрометре Bruker DRX500 (Bruker, Германия), внутренний стандарт гексаметилдисулоксан 500 МГц. Для интерпретации спектров использовали лицензионный программный продукт фирмы «Advanced Chemistry Development Inc.» под коммерческим названием ACD/HNMR Predictor Pro v. 3.

Исследуемые N-производные таурина синтезированы реакцией ацилирования таурина эквивалентным количеством хлорангидрида 2-, 3- или 4-гидроксибензойной кислоты. Затем гидроксибензоилтаурины переводились в водорастворимую форму путем получения дикалиевых солей (рис. 1).

Исследования *in vitro*

Изучение влияния веществ на функциональную активность тромбоцитов *in vitro* проводилось

по методике Vorn G. в модификации Габбасова В.А. (1989) [34] на двухканальном лазерном анализаторе агрегации тромбоцитов «Биола» 220LA (Россия). Исследования проводились на богатой тромбоцитами плазме крыс по способу, описанному Люсовым В.А., Белоусовым Ю.Б. (1971) [35]. Кровь получали от наркотизированных (хлоралгидрат, 400 мг/кг, в/б Органика, Россия) животных из брюшной аорты [36], стабилизировали 3,8% раствором цитрата натрия (Реахим, Россия) в соотношении 9:1, затем центрифугировали в течение 10 мин при 1000 об/мин на центрифуге CM-6м (ELMI, Латвия). Калибровку прибора проводили по дистиллированной воде, согласно инструкции, светопропускание дистиллированной воды принимали за 100%.

Для получения контрольной пробы в стеклянную кювету агрегометра вносили 300 мкл богатой тромбоцитами плазмы, после включения записи агрегатограммы, на 10 секунде регистрации процесса, в кювету добавляется АДФ («Sigma Aldrich», США), в конечной концентрации 5 мкМ [37].

Для изучения антиагрегантной активности исследуемых соединений в кювету с 270 мкл богатой тромбоцитами плазмы добавляется 30 мкл раствора тестируемого образца в определенной концентрации. Проба инкубировалась в термостатируемых ячейках агрегометра (37°C в течение 3 минут), после чего пробу переносили в регистрирующую ячейку и производили запись агрегатограммы продолжительностью 5 минут.

Производные гидроксibenзойных кислот и ацетилсалициловую кислоту (референтный препарат) изучали в диапазоне концентраций 10^{-4} – 10^{-8} М.

Исследования *in vivo*

Соединения вводили однократно внутривенно через гастральный зонд. Через 60 минут после введения животных наркотизировали (хлоралгидрат в дозе 400 мг/кг, внутривенно), выделяли левую общую сонную артерию и воспроизводили модель внутрисосудистого тромбоза [38]. Под сонную артерию подкладывали пленку Parafilm. Скорость кровотока по сонной артерии регистрировали методом ультразвуковой доплерографии до его полного прекращения в результате тромбоза, который инициировали наложением на сосуд ватного тампона, смоченного 50% раствором хлорида железа (III).

Для определения времени кровотечения животному отсекали 5 мм с кончика хвоста, который затем помещали в колбу с физиологическим раствором ($t=37^\circ\text{C}$) и регистрировали время до момента прекращения истечения крови [37, 39].

Дизайн исследования

Фармакологическое исследование соединений на моделях *in vitro* и *in vivo* были проведены согласно дизайну исследования (рис. 2).

Статистическая обработка результатов

Статистический анализ полученных данных проводили с использованием пакета статистических программ «Microsoft Excel» и программы «Prism 6.0» (Graph Pad Software Inc., США). Данные представляли в виде среднего арифметического значения и его средней ошибки. Сравнение средних данных независимых выборок при нормальном характере распределения вариантов в совокупности данных (выборке) рассчитывали при помощи *t*-критерия Стьюдента. При распределении вариантов в выборке, отличном от нормального, применяли *U*-критерий Манна-Уитни (при сравнении двух групп) и критерий Краскела-Уоллиса (при сравнении более двух групп). Достоверным уровнем отличий считали вероятность не менее 95% ($p<0,05$).

Соблюдение этических стандартов

Эксперименты выполнялись согласно методическим руководствам и нормативным документам ГОСТ ИСО/МЭК 17025-2009, ГОСТ Р ИСО 5725-2002 и правилами лабораторной практики при проведении доклинических исследований в РФ в соответствии с «Принципами надлежащей лабораторной практики» (ГОСТ Р 33044-2014, 2015) и «Об утверждении правил надлежащей лабораторной практики» (Минздрав РФ, приказ № 199н от 1 апреля 2016 г.), с соблюдением директивы 2010/63/EU Европейского парламента и совета Европейского Союза от 22 сентября 2010 года по охране животных, используемых в научных целях.

О соблюдении этических норм получено заключение эксперта из Локального этического комитета ФГБОУ ВО «Волгоградский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения РФ (регистрационный номер IRB 00005839 IORG 0004900(OHRP)).

Эвтаназию животных проводили с соблюдением требований, изложенных в «Международных рекомендациях по проведению медико-биологических исследований с использованием животных» (1997). В течение 24 часов до начала экспериментов все животные находились в условиях полной пищевой депривации со свободным доступом к воде.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Добавление к плазме крови лабораторных животных соединения С-60 (дикалиевая соль N-(3-гидроксibenзоил)таурина) в концентрациях 10^{-7} и 10^{-8} М достоверно уменьшает степень агрегации тромбоцитов на 38% и 37% в сравнении с контрольной группой животных и на 19% и 26% по сравнению с референтным препаратом. Внесение в богатую тромбоцитами плазму крови лабораторных животных соединения С-61 (дикалиевая соль N-(4-гидроксibenзоил)таурина) во всех изученных

концентрациях снижает степень агрегации тромбоцитов. В концентрациях 10^{-4} и 10^{-5} М степень агрегации снижалась на 46% и 44% в сравнение с контрольной группой. При добавлении к богатой тромбоцитами плазме исследуемого соединения в концентрациях 10^{-6} и 10^{-7} М степень агрегации снижалась примерно в 10 раз. В концентрации 10^{-8} М статистически достоверного снижения агрегации не наблюдалось.

Более выраженное антиагрегантное действие исследуемых соединений по сравнению с АСК может быть связано с образованием ковалентной связи таурина с тиольными и тиоэфирными группами атомов или дисульфидными мостиками в молекулярных мишенях, что было показано для хлораминовых и хлориминовых производных таурина [40]. Соединение под лабораторным шифром С-59 (дикалиевая соль N-(2-гидроксibenzoил)таурина) проявило антиагрегантную активность на уровне референтного препарата.

Добавление соединений С-60 и С-61 в концентрациях 10^{-5} – 10^{-7} М к плазме крови здоровых лабораторных животных в максимальной степени и более выражено чем референтный препарат АСК, ограничивало развитие агрегации тромбоцитов. Добавление АСК оказывало антиагрегантное действие только в концентрациях 10^{-5} и 10^{-6} М, что подтверждают результаты многочисленных исследований данного препарата.

Соединения С-59, С-60 и С-61 являются, как и АСК производными гидроксибензойных кислот, поэтому есть основания предполагать, что основной механизм антиагрегантного действия реализуется за счет необратимой инактивации циклооксигеназы-1 после ацетилирования остатка серина в районе активного центра. В результате блокируется синтез тромбоксана A_2 , и тем самым предотвращается вторичная активация тромбоцитов [40].

Исследуемые соединения являются солевой формой производных гидроксибензойных кислот и содержат в своем составе калий, который не только улучшает их растворимость в воде, но и проявляет собственные антиагрегантные свойства, что согласуется с данными литературы [41].

При анализе полученных данных (рис. 3) из проведенных экспериментов, можно сделать вывод, что наиболее выраженное антиагрегантное действие в исследованиях *in vitro* проявляет соединение С-61, значительно превосходя аналогичное действие ацетилсалициловой кислоты.

Одним из важных факторов, определяющих исход заболеваний сердечно-сосудистой системы, является проблема артериальных тромбозов [42], которая неразрывно связана с состоянием системы гемостаза. Тромбозы часто выступают причиной внезапной смерти, инфаркта миокарда, сосудистых осложнений сахарного диабета, ампутации конеч-

ностей. Поэтому поиск и исследования атромбогенного действия потенциальных антитромботических средств актуальны. Доклинические исследования антитромботического действия новых потенциальных молекул должно оцениваться не только на здоровых и молодых животных, но и на тех, которым моделировалось состояние максимально близкое к клиническим условиям назначения антиагрегантов. J.P. Garner в своей работе сделал вывод: о том, что, если мы хотим, чтобы животные модели, отвечали патофизиологии болезней человека и были бы одинаково с ними восприимчивы к действию тестируемых лекарств, тогда мы должны начать выполнять эксперименты на животных, как если бы они проводились на людях [43]. В нашей работе, исследования антитромботического действия новых производных гидроксибензойных кислот, проводились на молодых и здоровых животных, не молодых и здоровых, не молодых и с сахарным диабетом, что соответствует частой клинической ситуации в которой проводится терапия подобными препаратами.

Исследование антитромботической активности новых производных гидроксибензойных кислот производилось на модели артериального тромбоза, индуцированного аппликацией 50% раствором хлоридом железа (III) на сонную артерию здоровых животных, трехлетних (старых) крыс и животных с экспериментальной патологией (сахарный диабет, исследование времени кровотечения из хвостовой вены).

Исследование антитромботической активности новых производных гидроксибензойных кислот на модели артериального тромбоза, индуцированного аппликацией 50% раствора хлорида железа (III), здоровых животных.

В контрольной группе животных, которым вводился растворитель (физиологический раствор), среднее время полной окклюзии сонной артерии составило $14,8 \pm 0,77$ минут.

Препарат сравнения ацетилсалициловая кислота в дозе 36 мг/кг увеличивал время окклюзии на 69% ($p < 0,05$).

Исследуемые соединения с тауриновым остатком под лабораторным шифром С-59 в эквивалентной концентрации с референтным препаратом пролонгировало время образования тромба на 61% в сравнение с контрольной группой. На данной экспериментальной модели тромбоза, соединение С-60 продемонстрировало антитромбогенную активность и по времени полной окклюзии превысило референтный препарат на 3%, а в соотношении с контрольной группой на 73% ($p < 0,05$). Исследуемое соединение С-61 увеличивало время окклюзии сосуда в 2 раза по сравнению с контрольной группой ($p < 0,05$), данные с препаратом сравнения АСК различий не наблюдалось. Результаты представлены (рис. 4).

Таблица 1 – Характеристики полученных N-(гидроксibenзоил)-замещенных тауринов

Соединение	X	Выход, %	Т. пл., °C	Rf*	Спектры ¹ H-ЯМР (DMSO-d ₆), δ, м.д.
N-(2-гидроксibenзоил)таурин	2-OH	63,5	158–160	0,664	6.88–7.78 (4H, м, C ₆ H ₄), 8.0–8.05 (1H, м, NH), 10.70 (1H, с, OH и SO ₂ OH), 2.78–3.60 (4 H, м, C ₂ H ₄)
N-(3-гидроксibenзоил)таурин	3-OH	63,8	199–201	0,636	6.95–7.33 (4H, м, C ₆ H ₄), 7.50–7.83 (1H, м, NH), 9.81 (1H, с, OH и SO ₂ OH), 2.67–3.02 (4 H, м, C ₂ H ₄)
N-(4-гидроксibenзоил)таурин	4-OH	64,2	204–206	0,753	6.76–7.75 (4H, м, C ₆ H ₄), 7.96–8.23 (1H, м, NH), 10.19 (1H, с, OH и SO ₂ OH), 2.23–3.34 (4 H, м, C ₂ H ₄)

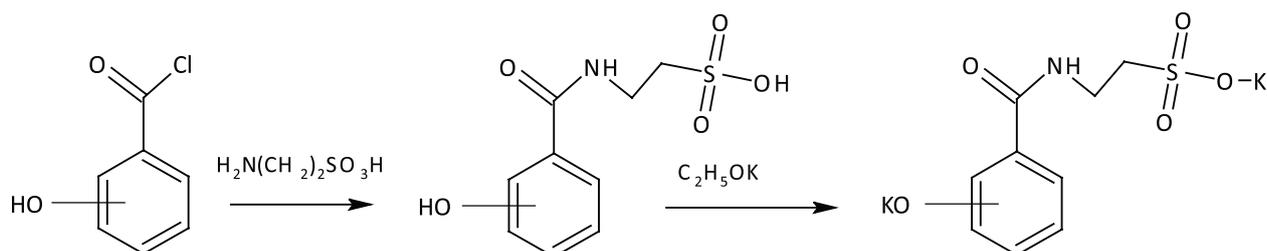


Рисунок 1 – Реакция ацилирования таурина

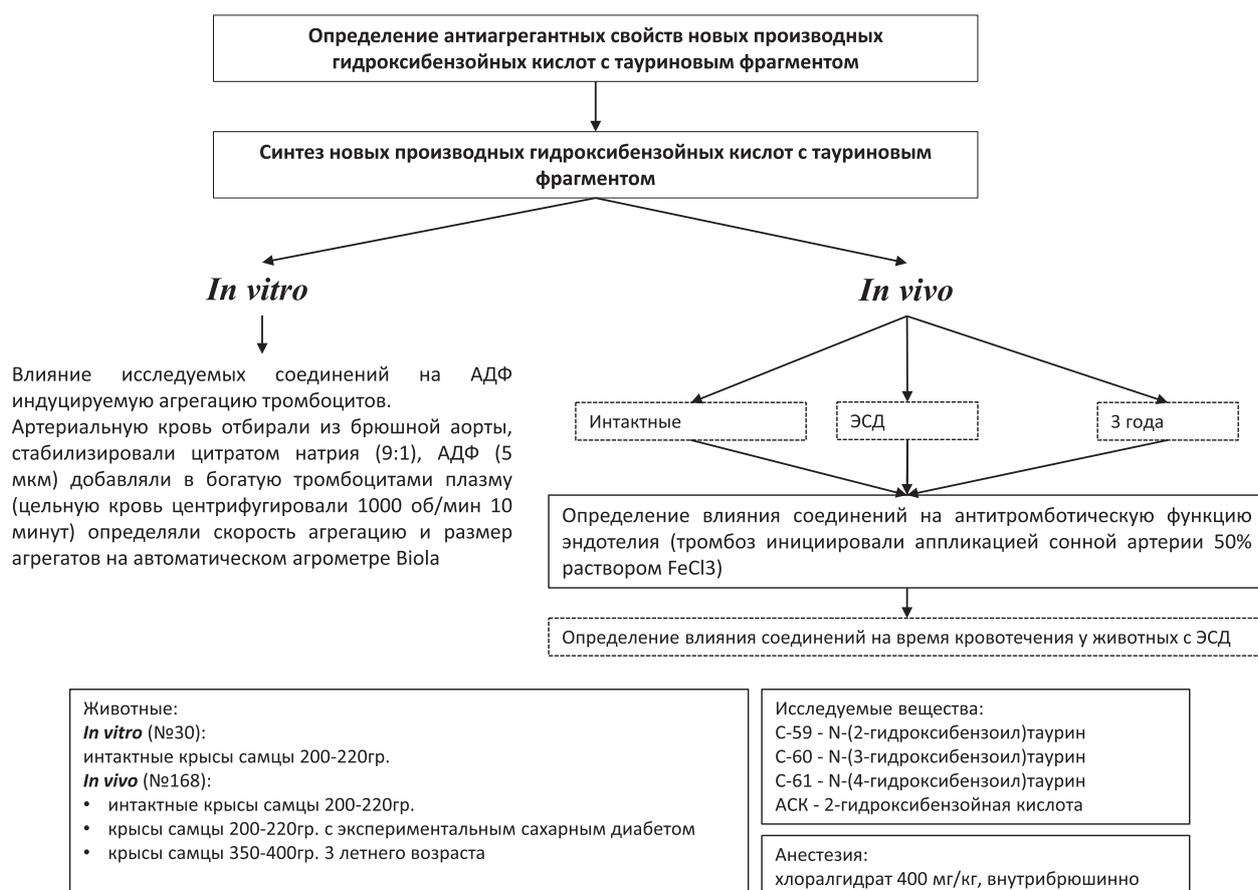


Рисунок 2 – Дизайн исследования

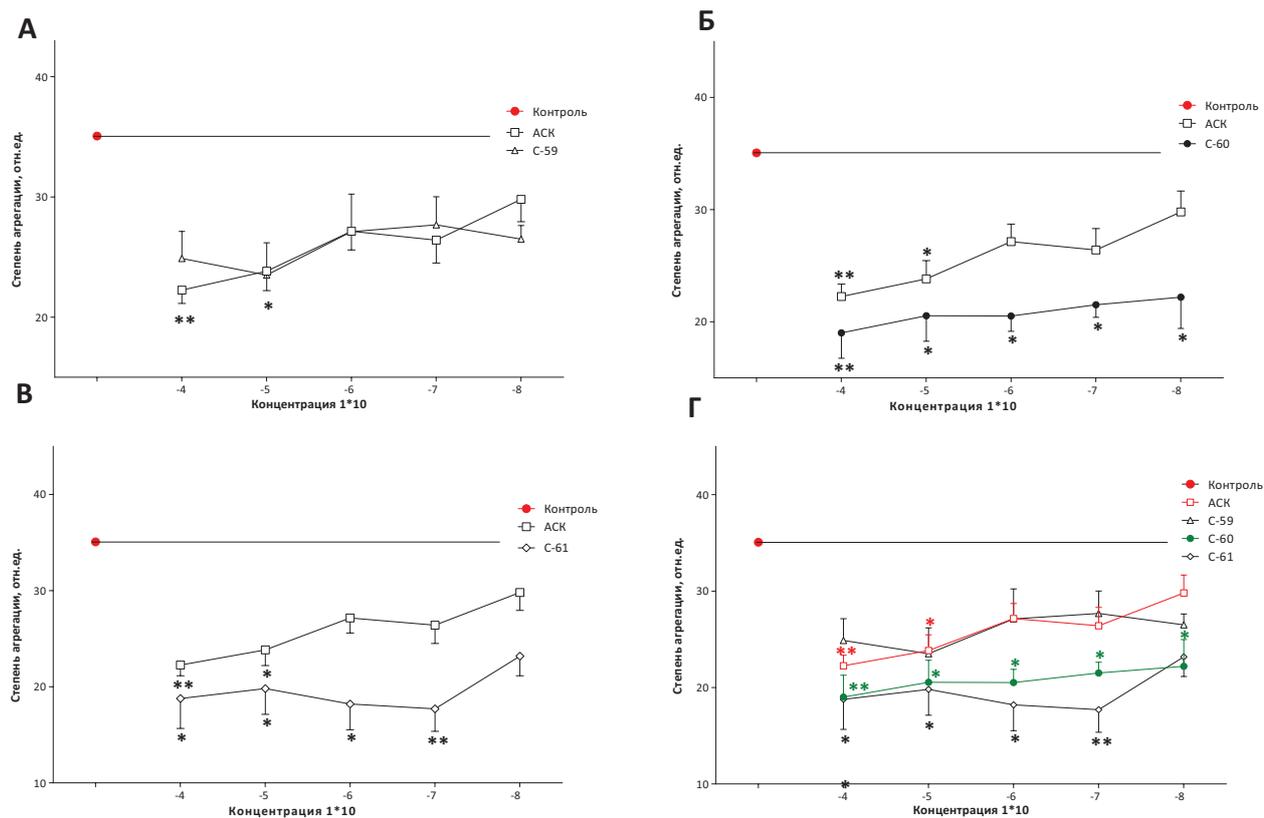


Рисунок 3 – Антиагрегантная активность соединений на модели АДФ-индуцированной агрегации тромбоцитов *in vitro*

Примечание: А – антиагрегантная активность соединения С-59; Б – антиагрегантная активность соединения С-60; В – антиагрегантная активность соединения С-61; Г – объединенная схема исследуемых соединений, референтного препарата и контроля; * – $p < 0,05$; ** – $p < 0,01$ изменения статистически значимы по отношению к контролю критерий Стьюдента с поправкой Бонферрони

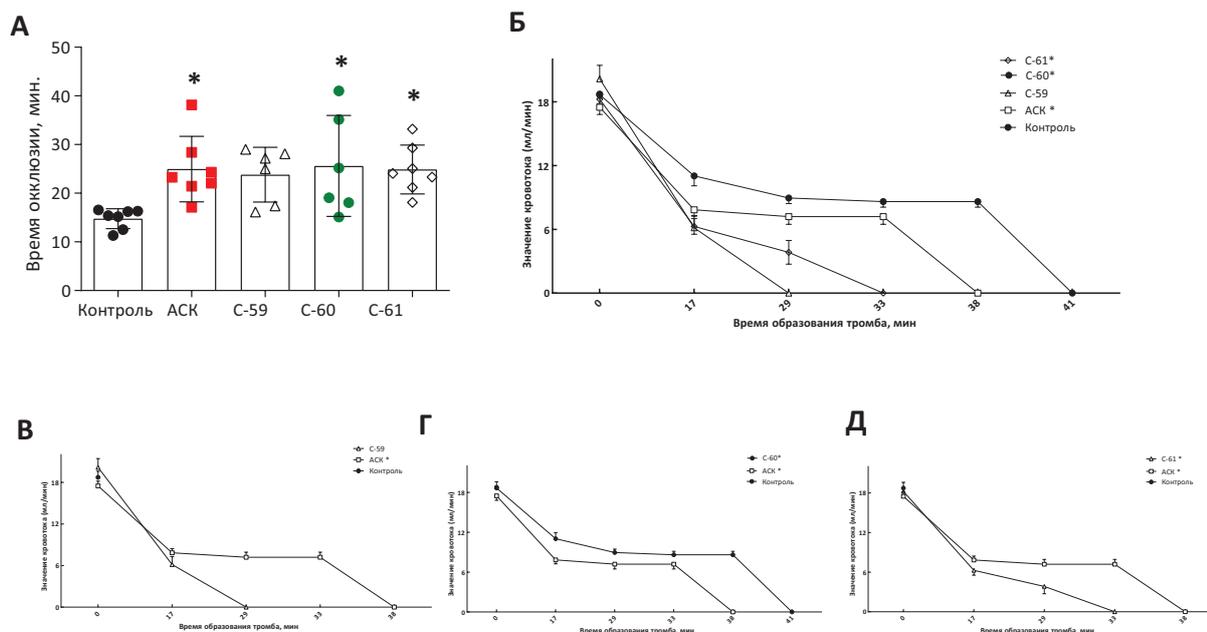


Рисунок 4 – Время образования тромба, после аппликации 50% раствором хлоридом железа на сонную артерию здоровых животных

Примечание: А – объединенная схема динамики тромбообразования исследуемых соединений, референтного препарата и контроля; Б – время полной окклюзии сосудов исследуемых соединений, препарата сравнения и контроля; В – динамика тромбообразования соединения С-59; Г – динамика тромбообразования соединения С-60; Д – динамика тромбообразования соединения С-61; * – $p < 0,05$ изменения статистически значимы по отношению к контролю критерий Стьюдента с поправкой Бонферрони

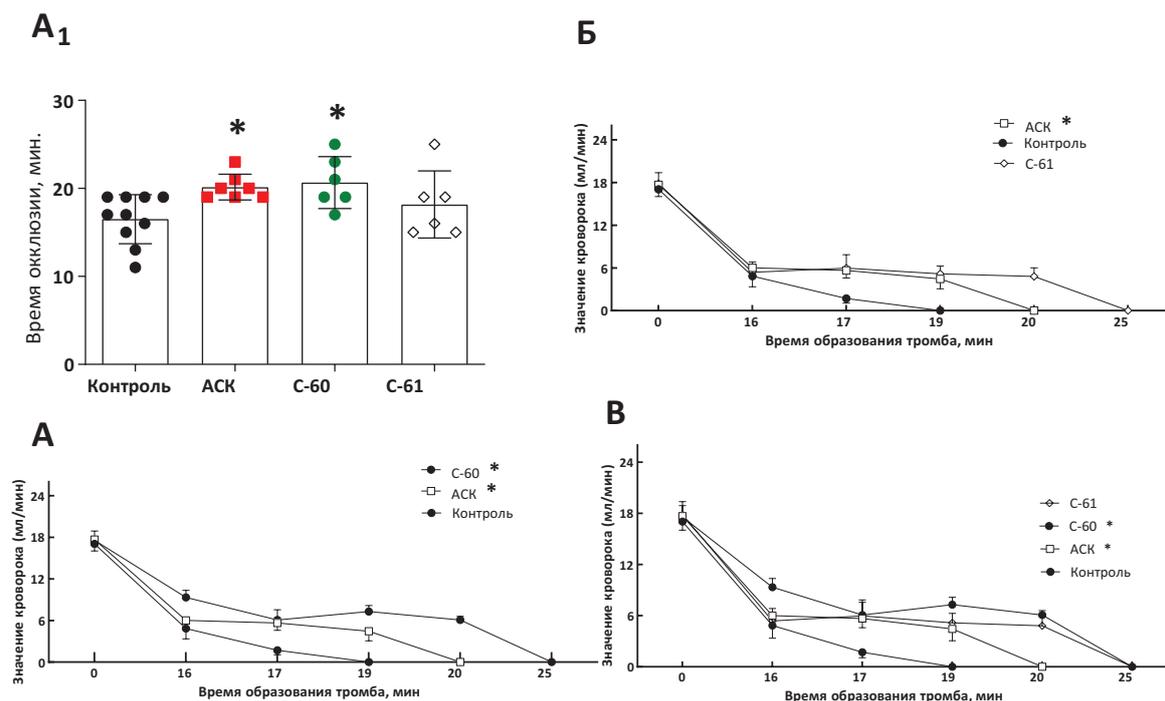


Рисунок 5 – Время образования тромба, после аппликации 50% хлоридом железа на сонную артерию у 3 годовалых (старых) животных

Примечание: А – динамика тромбообразования соединения С-60; А₁ – время полной окклюзии сосудов исследуемых соединений, препарата сравнения и контроля; Б – динамика тромбообразования соединения С-61; В – объединенная схема динамики тромбообразования исследуемых соединений, референтного препарата и контроля; * – $p < 0,05$ изменения статистически значимы по отношению к контролю критерий Стьюдента с поправкой Бонферрони

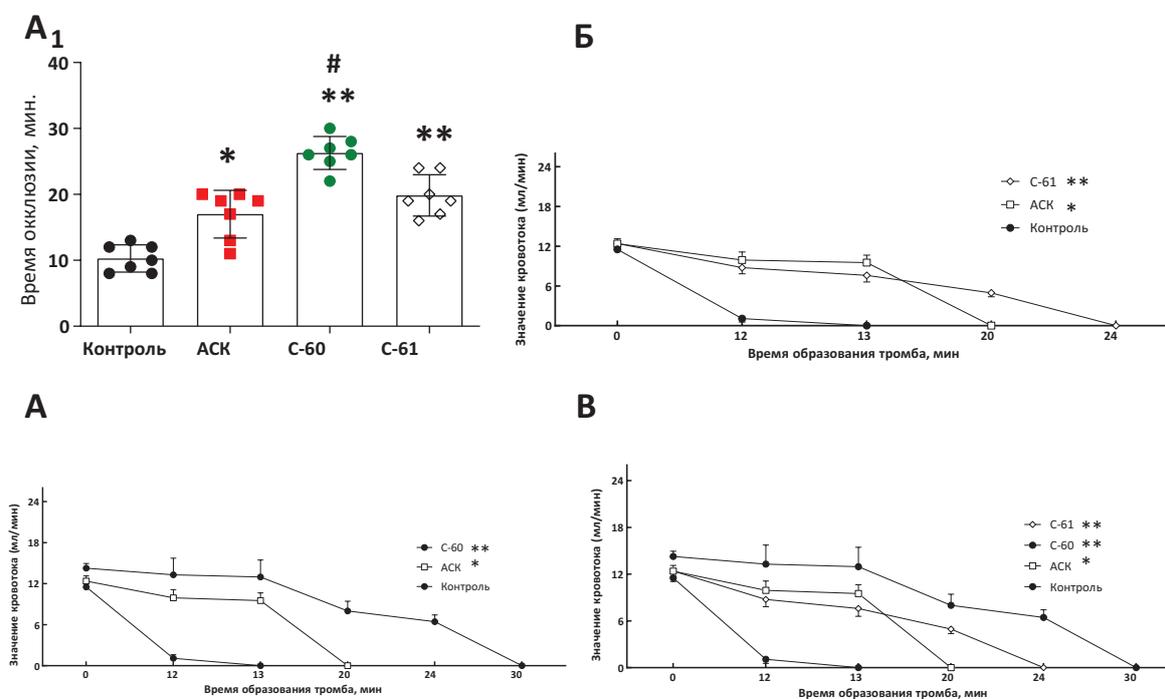


Рисунок 6 – Время образования тромба, после аппликации 50% хлоридом железа на сонную артерию животных с СД

Примечание: А – динамика тромбообразования соединения С-60; А₁ – время полной окклюзии сосудов исследуемых соединений, препарата сравнения и контроля; Б – динамика тромбообразования соединения С-61; В – объединенная схема динамики тромбообразования исследуемых соединений, референтного препарата и контроля; * – $p < 0,05$, ** – $p < 0,01$ изменения статистически значимы по отношению к контролю критерий Стьюдента с поправкой Бонферрони, # – $p < 0,05$ изменения статистически значимы по отношению к эффекту референтного препарата критерий Стьюдента с поправкой Бонферрони

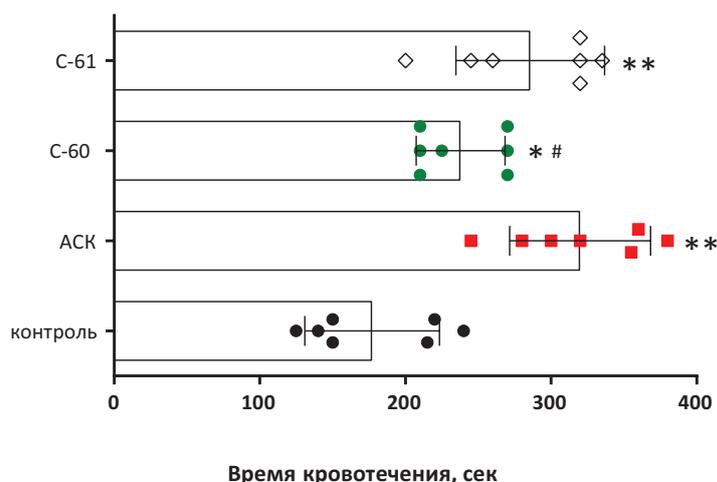


Рисунок 7 – Исследование времени кровотоечения у животных с СД

Примечание: * – $p < 0,05$, ** – $p < 0,01$ изменения статистически значимы по отношению к контролю критерий Стьюдента с поправкой Бонферрони, # – $p < 0,05$ изменения статистически значимы по отношению к эффекту референтного препарата критерий Стьюдента с поправкой Бонферрони

Исследование антитромботической активности новых производных гидроксibenзойных кислот на модели артериального тромбоза, индуцированного аппликацией 50% раствором хлоридом железа, у 3-годовалых (старых) животных

У 3-годовалых (старых) животных проведена оценка антитромботического действия исследуемых соединений при однократном внутривенном введении крысам веществ, представленных на рисунке 5.

Среднее время полной окклюзии сонной артерии у животных контрольной группы составило $16,50 \pm 0,89$ минут. Препарат сравнения ацетилсалициловая кислота в эффективной терапевтической дозе увеличивало время окклюзии до $20,14 \pm 0,55$ минут, что на 22%, данные статистически достоверны, больше контрольной группы животных.

Соединение С-60 в дозе 18 мг/кг пролонгировало время образования тромба до $20,67 \pm 1,20$ минут ($p < 0,05$), что на 25% медленнее по отношению к группе, получавшей физиологический раствор, и на 3% медленнее, чем у группы животных, которым вводили референтный препарат. При введении соединения С-61 в дозе 23 мг/кг, время полной окклюзии составило $18,17 \pm 1,56$ минут, что было на 10% медленнее относительно группы контроля и на 10% меньше группы, получавшей препарат сравнения.

Таким образом, на модели артериального тромбоза сонной артерии 3-годовалых (старых) крыс, соединение С-60 продемонстрировало антитромботическую активность, полная окклюзия сонной артерии проходила медленнее чем под действием ацетилсалициловой кислоты.

Исследование атромбоцитарной активности соединений-лидеров на модели артериального тромбоза у животных с экспериментальным сахарным диабетом

Антитромбогенное действие наиболее активных

соединений (С-60, С-61) было исследовано на животных со стрептозотоцин-никотинамид индуцированным сахарным диабетом.

В результате эксперимента было выявлено, что в контрольной группе животных образование тромба происходило на $10,3 \pm 0,78$ минуте (рис. 6).

Ацетилсалициловая кислота в эффективной терапевтической дозе увеличивала время полной окклюзии до $17,0 \pm 1,36$ минут, что превышало показатели группы контроля на 65%.

Соединение С-60 в дозе 18 мг/кг достоверно пролонгировало время образования тромба до $26,3 \pm 0,94$ мин, что на 156% медленнее относительно значений контроля и на 55% медленнее относительно группы животных, получавших препарат сравнения ($p < 0,01$).

В группе крыс, которым предварительно перорально вводили соединение С-61 в дозе 23 мг/кг, время полной окклюзии сонной артерии составило $19,9 \pm 1,18$ минут, что на 93% медленнее по отношению к контрольной группе ($p < 0,01$) и на 17% медленнее, чем у группы животных, получавших референтный препарат.

Таким образом, исследуемые соединения при однократном пероральном введении животным с экспериментальным сахарным диабетом в дозах, взятых в эквимолярных концентрациях, обладают выраженной антитромботической активностью и превосходят препарат сравнения – ацетилсалициловую кислоту.

Исследования влияния соединений-лидеров и ацетилсалициловой кислоты на время кровотоечения из хвостовой вены животного с сахарным диабетом.

В контрольной группе животных время кровотоечения составило $177,1 \pm 17,45$ секунд. Исследуемые производные в дозах, взятых в эквимолярных

концентрациях, пролонгировали время кровотечения. Референтный препарат увеличивал время кровотечения на 81%, что составило $320,0 \pm 18,29$ секунд.

В группе животных, получавших соединение под лабораторным шифром С-60, время кровотечения пролонгировалось до $237,9 \pm 11,54$ секунд, что на 34% медленнее относительно показателей группы контроля и на 26% быстрее, чем у группы животных, получавших препарат сравнения.

Соединение С-61 увеличивало время кровотечения до $285,7 \pm 19,29$ секунд; что было на 61% медленнее, чем у животных, получавших физиологический раствор и на 11% быстрее относительно группы жи-

вотных, которым вводили ацетилсалициловую кислоту. Результаты представлены на рисунке 7.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

По результатам проведенного исследования (*in vitro*) было установлено, что соединение под лабораторным шифром С-60 проявляет выраженную антиагрегантную активность, в исследованиях *in vivo* пролонгирует образование тромба. Соединение С-60 оказывает более выраженное чем референтный препарат антиагрегантное и антитромботическое действие. Безопасность новых производных гидроксисбензойных аминокислот, по влиянию на скорость кровотечения, сопоставима с показателем АСК.

ФИНАНСОВАЯ ПОДДЕРЖКА

Данное исследование не имело финансовой поддержки от сторонних организаций.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

ВКЛАД АВТОРОВ

А.К. Брель, Ю.Н. Будаева, С.В. Лисина – методология синтеза соединений, интерпретация результатов, написание текста; Н.В. Атапина, С.С. Царук – методология исследований, статистическая обработка результатов интерпретация результатов, написание текста; Д.В. Куркин – работа над концепцией и дизайном исследований, методология исследований, интерпретация и визуализация результатов, написание текста; И.Н. Тюренков – работа над концепцией и дизайном исследований, интерпретация и визуализация результатов.

БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

1. Петров В.И., Шаталова О.В., Маслаков А.С., Горбатенко В.С. Анализ фармакотерапии тромбоза глубоких вен нижних конечностей (фармакоэпидемиологическое исследование) // Флебология. – 2014. – Т. 8, №3 – С. 32–37.
2. Шляхто Е.В., Конради А.О. Основные направления и перспективы трансляционных исследований в кардиологии // Вестник Росздравнадзора. – 2015. – №5 – С. 33–37.
3. Чазов Е.И. К вопросу об атеротромботической болезни // Кардиология. – 2001. – Т. 41, №4 – С. 4–7.
4. Брель А.К., Тюренков И.Н., Лисина С.В., Попов С.С., Верхоляк Д.В., Будаева Ю.Н., Волотова Е.В., Атапина Н.В., Куркин Д.В. Ацетоксисбензоилглицилглицины как потенциальные церебропротекторные препараты // Химико-фармацевтический журнал. – 2018. – Т. 52, №1 – С. 15–18.
5. Townsend N., Wilson L., Bhatnagar P., Wickramasinghe K., Rayner M., Nichols M. Cardiovascular disease in Europe: epidemiological update 2016 // European Heart Journal. – 2016. – Vol. 37, No.42 – P. 3232–3245.
6. European Society of Cardiology [Электронный доступ] // European Society of Cardiology (ESC) CVD Prevention in Clinical Practice (European Guidelines on) Guidelines [published in 2016] Available from: <https://www.escardio.org/Guidelines/Clinical-Practice-Guidelines/CVD-Prevention-in-clinical-practice-European-Guidelines-on>
7. Чарная М.А., Морозов Ю.А. Тромбозы в клинической практике. М.: ГЭОТАР-Медиа. – 2009. – С. 224.
8. Aaron M.W., Gary E.R. Global Burden of Thrombosis: Epidemiologic Aspects // Circulation Research. – 2016. – Vol. 118, No.9 – P.1340–1347. DOI: 10.1161/CIRCRESA-NA.115.306841.
9. Timmis A., Gale C.P, Flather M., Maniadakis N., Notes P.V.A. Cardiovascular disease statistics from the European atlas: inequalities between high- and middle-income member countries of the ESC // European Heart Journal – Quality of Care and Clinical Outcomes. – 2018. – Vol. 4, No. 1 – P. 1–3. DOI:10.1093/ehjqcco/qcx045.
10. Timmis A., Townsend N., Gale C., Grobbee R., Maniadakis N., Flather M., Wilkins E., Wright L., Vos R., Bax J., Blum M., Pinto F., Vardas P., ESC Scientific Document Group. European Society of Cardiology: Cardiovascular Disease Statistics 2017 // European Heart Journal. – 2018. – Vol. 39, No.7 – P. 508–579. DOI: 10.1093/eurheartj/ehx628.
11. Hussain M.A., Al-Omran M., Creager M.A., Anand S.S., Verma S., Bhatt D.L. Antithrombotic Therapy for Peripheral Artery Disease: Recent Advances // Journal of the American College of Cardiology. – 2018. – Vol.71, No.21 – P.2450–2467. DOI: 10.1016/j.jacc.2018.03.483.
12. Kong D., Xue T., Guo B., Cheng J., Liu S., Wei J., Lu Z., Liu H., Gong G., Lan T., Hu W., Yang Y. Optimization of P2Y12 Antagonist Ethyl 6–(4–((Benzylsulfonyl)carbamoyl)piperidin-1-yl)-5-cyano-2-methylnicotinate (AZD1283) Led to the Discovery of an Oral Antiplatelet Agent with Improved Druglike Properties // Journal of Medicinal Chemistry. – 2019. – Vol. 62, No.6 – P. 3088–3106. DOI: 10.1021/acs.jmedchem.8b01971.
13. Introduction: Standards of Medical Care in Diabetes-2020 // Diabetes Care. – 2020. – Vol.43, No.1 – P.1–2. DOI: 10.2337/dc20-Sint

14. Арсланбекова В.А., Верхоляк Д.В., Куркин Д.В., Бакулин Д.А., Атапина Н.В., Брель А.К., Лисина С.В. Церебропротекторная активность производного гидроксibenзойной кислоты – соединения С–38 на модели окклюзии общих сонных артерий у крыс // Вестник ВолГМУ. – 2017. – Т. 4, №64 – С. 54–57.
15. Brel A.K., Zhoglo E.N. Synthesis of hydroxybenzoic acids derivatives containing a fragment of p-aminobenzoic acid // International journal of applied and fundamental research. – 2016. – 8 – P. 370–373.
16. Брель А.К., Лисина С.В., Будаева Ю.Н., Попов С.С. Поиск новых биологически активных производных гидроксibenзойных кислот и перспективы их применения // Сборник материалов IV всероссийской научно-практической конференции с международным участием «Инновации в здоровье нации» 09–10 ноября 2016 г. Санкт-Петербург: ФГБОУ ВО СПбХУ Минздрава России. – 2016. – С. 263–266.
17. Roy J., Adili R., Kulmacz R., Holinstat M., Das A. Development of Poly Unsaturated Fatty Acid Derivatives of Aspirin for Inhibition of Platelet Function // The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutic. – 2016. – Vol. 359, No.1 – P. 134–141. DOI: 10.1124/jpet.116.234781.
18. Yang X., Forster E.R., Darabedian N., Kim A.T., Pratt M.R., Shen A., Hang H. C. Translation of microbiota short-chain fatty acid mechanisms affords anti-infective acyl-salicylic acid derivatives. // ACS Chemical Biology. – 2020. – Vol. 15, No.5 – P. 1141–1147. DOI: 10.1021/acscchembio.9b01009.
19. Christina N.B., Sotiris K.H. Non-Steroidal Anti Inflammatory Drugs (NSAIDs) in Metal Complexes and Their Effect at the Cellular Level // European Journal of Inorganic Chemistry. – 2016. Vol. 2016, No.19 – P. 3048–3071. DOI: 10.1002/ejic.201501480.
20. Rohwer N., Kühl A.A., Ostermann A.I., Hartung N. M., Schebb N. H., Dieter Z., McDonald F.M., Weylandt K.-H. Effects of chronic low-dose aspirin treatment on tumor prevention in three mouse models of intestinal tumorigenesis // Cancer Medicine. – 2020. – Vol. 9, No.7 – P. 2535–2550. DOI: 10.1002/cam4.2881.
21. Lu S., Obianom O.N., Ai Y. Novel cinnamaldehyde-based aspirin derivatives for the treatment of colorectal cancer // Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters. – 2018. – Vol. 28, No. 17 – P. 2869–2874. DOI: 10.1016/j.bmcl.2018.07.032.
22. Debashree B., Robert C.C., Gaurav B., Ridnour L. A., Wink D. A., Miranda K. M. Chemotherapeutic Potential of Diazeniumdiolate-based Aspirin Prodrugs in Breast Cancer // Free Radical Biology and Medicine. – 2015. – Vol. 83 – P. 101–114. DOI: 10.1016/j.freeradbiomed.2015.01.029.
23. Wu X.W., Zheng Y., Wang F.X., Cao J.-J., Zhang H., Zhang D.-Y., Tan C.-P., Ji L.-N., Mao Z.-W. Aspirin Conjugates for Enhanced Metabolic Immuno-Modulation and Mitochondrial Lifetime Imaging // Chemistry A European Journal. – 2019. – Vol. 25, No.28 – P. 7012–7022. DOI: 10.1002/chem.201900851.
24. Kowalski K., Corrigendum: Insight into the Biological Activity of Organometallic Acetylsalicylic Acid (Aspirin) Derivatives // ChemPlusChem A Multidisciplinary Journal Centering on Chemistry. – 2019. – Vol. 84, No.7 – P. 821. DOI: 10.1002/cplu.201900331.
25. Martin-Martin A., Rivera-Dictrer A., Muñoz-Urbe M., López-Contreras F., Pérez-Laines J., Molina-Berrios A., López-Muñoz R. Reconsidering the Role of Cyclooxygenase Inhibition in the Chemotherapeutic Value of NO-Releasing Aspirins for Lung Cancer // Molecules. – 2019. – Vol. 24, No.10 – P. 1924. DOI: 10.3390/molecules24101924.
26. Basudhar D., Bharadwaj G., Cheng R.Y., Jain S., Shi S., Heinecke J. L., Holland R. J., Ridnour L. A., Caceres V. M., Spadari-Bratfisch R.C., Paolucci N., Velázquez-Martínez C. A., Wink D. A., Miranda K M. Synthesis and chemical and biological comparison of nitroxyl- and nitric oxide-releasing diazeniumdiolate-based aspirin derivatives // Journal of Medicinal Chemistry. – 2013. – Vol. 56, No. 20 – P. 7804–7820. DOI: 10.1021/jm400196q
27. Bkaily G., Jazzar A., Normand A., Simon Y., Al-Khoury J., Jacques D. Taurine and cardiac disease: state of the art and perspectives // Canadian Journal of Physiology and Pharmacology. – 2020. – Vol. 98, No.2 – P. 67–73. DOI: 10.1139/cjpp-2019-0313.
28. Kim H.Y., Yang S.H., Yoon J., Jang H., Baek S., Shin J., Kim S. H. Taurine-Carbohydrate Derivative Stimulates Fibrillogenesis of Amyloid-β and Reduce Alzheimer-Like Behaviors // Advances in Experimental Medicine and Biology. – 2017. – Vol. 975, No.1 – P. 225–232. DOI: 10.1007/978-94-024-1079-2_20.
29. Inam-U-L., Piao F., Aadil R.M., Suleman R., Li K., Zhang M., Wu P., Shahbaz M., Ahmed Z. Ameliorative effects of taurine against diabetes: a review // Amino Acids. – 2018. – Vol. 50, No.5 – P. 487–502. DOI: 10.1007/s00726-018-2544-4.
30. Sarkar P., Basak P., Ghosh S., Kundu M., Sil P.C. Prophylactic role of taurine and its derivatives against diabetes mellitus and its related complications // Food and Chemical Toxicology. – 2017. – Vol. 110 – P. 109–121. DOI: 10.1016/j.fct.2017.10.022.
31. Król E., Okulicz M., Kupsz J. The Influence of Taurine Supplementation on Serum and Tissue Fe, Zn and Cu Levels in Normal and Diet-Induced Insulin-Resistant Rats // Biological Trace Element Research. – 2020. – Vol. 198, No.2 – P. 592–601. DOI: 10.1007/s12011-020-02100-3.
32. Брель А.К., Тюренков И.Н., Лисина С.В., Куркин Д.В., Атапина Н.В., Будаева Ю.Н., Волотова Е.В. дикалиевая соль N-(3-гидроксibenзоил)таурина, обладающая антиагрегантной и антитромботической активностью в сочетании с церебропротективным действием // Патент на изобретение RU 2 730 835 C1 Заявка № 2019134137, от 23.10.2019.
33. Лисина С.В., Брель А.К., Волотова Е.В., Атапина Н.В., Тюренков И.Н., Будаева Ю.Н., Куркин Д.В. Дикалиевая соль N-(4-гидроксibenзоил)таурина, обладающая антиагрегантной и антитромботической активностью // Патент на изобретение RU 2731106 C1, 28.08.2020. Заявка № 2019134135 от 23.10.2019
34. Габбасов З.А., Попов Е.Г., Гаврилова И.Ю., Позин Е.Я., Маркосян Р.А. Новый высокочувствительный метод анализа агрегации тромбоцитов // Лабораторное дело. – 1989. – Т. 10 – С.15–18.
35. Люсов В.А., Белоусов Ю.Б. Метод графической регистрации агрегации тромбоцитов и изменения ее при ишемической болезни сердца // Кардиология. – 1971. – №8 – С. 459–461.
36. Hyuk W.K., Jung H.S., Deok H.L., Ok W. J., Nam G. S., Kim M.J., Kwon H., Noh J., Lee J., Kim H., Kim J., Park H. Antiplatelet and antithrombotic effects of cordycepin-enriched WIB-801CE from Cordyceps militaris ex vivo, in vivo, and in vitro. // BMC Complementary Medicine and

- Therapies. – 2016. – Vol. 16, No.1 – P. 508. DOI: 10.1186/s12906-016-1463-8
37. Özgün M.G.T., Şevket E.G., Hüsamettin E., Kumandaş A., Aydingöz S. E., Yılmaz E. Ç., Kırdan T., Midi A. Effects of Algan Hemostatic Agent on bleeding time in a rat tail hemorrhage model // Turkish Journal Of Trauma And Emergency Surgery. – 2020. – Vol. 26, No.6 – P. 853–858. DOI: 10.14744/tjtes.2020.50384.
 38. Kurz K.D., Main B.W., Sandusky G.E. Rat model of arterial thrombosis induced by ferric chloride // Thrombosis Research. – 1990. – Vol.60, No.4 – P. 269–280. DOI:10.1016/0049-3848(90)90106-m
 39. Girish S., Komal H., Ghanshyam P., Maheshwari R., Singh R., Seth A. K. Platelet Augmentation Potential of Polyherbal Formulation in Cyclophosphamide-Induced Thrombocytopenia in Wistar Rats // Folia Medica. – 2021. – Vol. 63, No.1 – P. 67–73. DOI: 10.3897/folmed.63.e49167.
 40. Мурина М.А., Рощупкин Д.И., Сергиенко В.И. Антиагрегантное действие хлораминовых производных структурных аналогов таурина. Рецепторы и внутриклеточная сигнализация // Сборник статей. Институт биофизики клетки Российской академии наук – обособленное подразделение Федерального государственного бюджетного учреждения науки «Федеральный исследовательский центр «Пушкинский научный центр биологических исследований Российской академии наук». – 2019. – С. 838–841.
 41. 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 – С. 59–67.
 42. Haybar H., Khodadi E., Zibara K., Saki N. Platelet Activation Polymorphisms in Ischemia // Cardiovascular & Hematological Disorders-Drug Targets. – 2018. – Vol. 18, No.2 – P. 153–161. DOI: 10.2174/1871529X18666180326121239.
 43. Carson D.S., Garner J.P., Hyde S.A., Libove R. A., Berquist S.W., Hornbeak K.B., Jackson L.P., Sumiyoshi R.D., Howerston C L., Hannah S.L., Partap S., Phillips J.M., Hardan A.Y., Parker K.J. Arginine Vasopressin Is a Blood-Based Biomarker of Social Functioning in Children with Autism // PLoS One. – 2015. – Vol. 10, No.7 – e0132224. DOI: 10.1371/journal.pone.0132224.

АВТОРЫ

Брель Анатолий Кузьмич – доктор химических наук, профессор, заведующий кафедрой химии, Волгоградский государственный медицинский университет. ORCID ID: 0000-0003-3980-2847. E-mail: brelak@yandex.ru

Атапина Наталья Валентиновна – старший преподаватель кафедры химии, Волгоградский государственный медицинский университет. ORCID ID: 0000-0001-8272-5950. E-mail: rodina.natasha@inbox.ru

Будаева Юлия Николаевна – кандидат химических наук, доцент кафедры химии, Волгоградский государственный медицинский университет. ORCID ID: 0000-0003-2034-8285. E-mail: julya82@list.ru

Лисина Светлана Викторовна – кандидат химических наук, доцент, доцент кафедры химии, Волгоградский государственный медицинский университет. ORCID ID: 0000-0002-5080-4854. E-mail: svlisina@gmail.com

Царук Светлана Сергеевна – студент, Волгоградский государственный медицинский университет. ORCID ID: 0000-0002-7726-3787. E-mail: svitlana.tsaruk@yandex.ru

Куркин Денис Владимирович – доктор фармацевтических наук, доцент, заместитель директора по науке НЦИЛС, Волгоградский государственный медицинский университет. ORCID ID: 0000-0002-1116-3425. E-mail: strannik986@mail.ru

Тюренок Иван Николаевич – доктор медицинских наук, заслуженный деятель науки РФ, заслуженный работник высшей школы РФ, член-корреспондент РАН, профессор, заведующий кафедрой фармакологии и фармации Института непрерывного медицинского и фармацевтического образования, Волгоградский государственный медицинский университет. ORCID ID: 000-0001-7574-3923. E-mail: fibfuv@mail.ru