

На правах рукописи

ТЯНЬ МИНГАН

АНТИТРОМБОГЕННЫЕ СВОЙСТВА НОВЫХ ПРОИЗВОДНЫХ ИНДОЛА

14.03.06 Фармакология, клиническая фармакология

АВТОРЕФЕРАТ

диссертации на соискание ученой степени

кандидата медицинских наук

Волгоград - 2014

Работа выполнена в ГБОУ ВПО «Волгоградский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации

Научный руководитель:

Доцент кафедры фармакологии
ВолгГМУ, доктор медицинских наук

КУЧЕРЯВЕНКО Аида Фатиховна

Официальные оппоненты:

Заслуженный деятель науки РФ
доктор медицинских наук,
профессор, заведующая
лабораторией психофармакологии
ФГБУ «НИИ фармакологии
им. В.В. Закусова»

ВОРОНИНА Татьяна Александровна

Заслуженный деятель науки РФ,
доктор медицинских наук,
профессор, заведующий кафедрой
фармакологии Белгородского
государственного университета.

ПОКРОВСКИЙ Михаил Владимирович

Ведущее учреждение: ГБОУ ВПО «Московский государственный медико-стоматологический университет имени А.И. Евдокимова» Минздрава России

Защита диссертации состоится « » 2014 г. в ч. на заседании Диссертационного Совета Д 208.008.02 ГБОУ ВПО «Волгоградский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации по адресу 400131, г. Волгоград, пл. Павших Борцов, 1.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке и на сайте (www.volgmed.ru) ГБОУ ВПО «Волгоградский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации

Автореферат разослан « » 2014 г.

Ученый секретарь
Диссертационного Совета,
доктор биологических наук

Любовь Ивановна Бугаева

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность темы исследования. Тромбообразование принадлежит ключевая роль в патогенезе ишемической болезни сердца, инсульта, осложнений сахарного диабета и других нарушений кровоснабжения органов и тканей [Чазов, Е.И., 2008; Мирзоян, Р.С., 2009; Тюренков, И.Н., 2013; Спасов, А.А., 2013; Дедов, И.И., 2013]. Уменьшить риск таких нарушений можно, используя препараты, снижающие повышенную функциональную активность тромбоцитов, так как именно агрегация последних выполняет первостепенную роль в начальных, пусковых механизмах свертывания крови [Кубатиев, А.А., 2004; Мельникова, Е., 2011; Рока-Мойя, Я.М., 2014]. Антиагрегантная терапия проводится с использованием препаратов, которые показали в многоцентровых исследованиях способность уменьшать риск развития тромбозов и предотвращать острую коронарную смерть [Geraldo, R.B., 2010; Петров, В.И., 2010; Суслина, З.А., 2011; Гиляревский, С.Р., 2012; Кадыков, А.С., 2013]. Современная антиагрегантная терапия представлена ингибитором циклооксигеназы (ЦОГ) тромбоцитов - ацетилсалициловой кислотой, блокаторами P2Y₁₂ рецепторов тромбоцитов - тииенопиридинами (клопидогрел, тиклопидин, прасугрел), блокаторами гликопротеиновых рецепторов IIb/IIIa тромбоцитов для внутривенного применения (абциксимаб, тирофибан, эптифибатид, фрамон), а также комбинацией ацетилсалициловой кислоты с клопидогрелем [Чарная, М.А., 2009; Мишалов, В.Г., 2012; Голухова, Е.З., 2013]. Однако у этих препаратов существует много недостатков и побочных эффектов. Среди них желудочно-кишечные кровотечения, гастропатии, тромбоцитопеническая пурпура, также описано наличие резистентности к ацетилсалициловой кислоте и клопидогрелю [Сулимов В.А., 2012]. Несмотря на высокую эффективность вышеперечисленных лекарственных средств, число инфарктов и инсультов, к сожалению, с каждым годом продолжает расти. Трудность фармакологической коррекции повышения тромбогенного потенциала крови заключается в том, что на тромбоците находится большое количество мишеней патогенеза агрегации, а вышеперечисленные препараты блокируют только один из путей активации. Поэтому поиск, изучение и создание новых препаратов с антиагрегантной активностью является краеугольной проблемой современной кардиологии в предупреждении тромбозов.

Химический класс производных индола может проявлять различные виды биологической активности и является перспективным для разработки высокоэффективных ингибиторов агрегации тромбоцитов (АТ) [Mashayekhi, V., 2013]. В ранее проведенных исследованиях на кафедре фармакологии Волгоградского государственного медицинского университета была выявлена способность гетероциклических азотосодержащих систем, уменьшать АТ [Спасов, А.А., 2006, 2014; Анисимова, В.А., 2013; Кучерявенко, А.Ф., 2013]. Исходя из этого, поиск соединений с высокой антиагрегантной активностью среди новых производных индола является актуальным.

Тема утверждена на заседании Ученого Совета ВолгГМУ (протокол № 8 от 11.04.2012 г.) и включена в план НИР.

Степень разработанности. Актуальной проблемой современной клинической практики является потребность в высокоэффективных антиагрегантных средствах с наименьшими побочными эффектами [Макаров, В.А., 2006]. В последние годы достигнут прогресс в изучении известных и новых механизмов нарушения функциональной активности тромбоцитов, однако количество средств фармакологической коррекции данной патологии весьма ограничено [Postula, M, 2010; Cattaneo, M. 2011]. В настоящее время в основе применения антитромбоцитарных препаратов лежат принципы доказательной медицины, которые в полной мере учитывают эффективность и наличие побочных действий. Однако основными недостатками антиагрегантных средств являются кровотечения и гастропатии. Поэтому лечение повышенного тромбогенного потенциала крови требует пристального внимания в отношении предотвращения новых тромботических случаев и возникновения данных осложнений. Немаловажным является то, что практически все препараты, за исключением ацетилсалициловой кислоты, импортируются из-за рубежа. Поэтому стоимость данных лекарственных средств достаточно высока.

Цель исследования. Поиск ингибиторов агрегации тромбоцитов среди новых производных индола в ряду замещенных амидов и аминоспиртов и изучение их антитромбогенной активности.

Задачи исследования.

1. Выполнить поиск антиагрегантных веществ *in vitro* среди новых производных индола.
2. Провести анализ влияния заместителей на уровень антиагрегантной активности замещенных амидов и аминоспиротов в ряду индола.
3. Исследовать острую токсичность соединений, проявляющих наибольшую активность, рассчитать их терапевтический индекс и выбрать наиболее эффективное вещество для доклинического изучения специфической фармакологической активности.
4. Изучить влияние наиболее активного соединения на тромбогенный потенциал крови крыс в норме и при экспериментальном сахарном диабете.
5. Оценить влияние выбранного вещества на вязкостные параметры крови в норме и в условиях экспериментального диабета.
6. Провести углубленное изучение влияния наиболее активного соединения на рецепторные и пострецепторные механизмы активации тромбоцитов.
7. Провести оценку общетоксикологических свойств наиболее активного соединения.

Научная новизна исследования. Впервые было изучено влияние новых производных ряда индола – N-[(1-R¹-амино) карбонил-2-(1-R²-1H-индол-3-ил) винил]-R³-амидов и 1-R¹-амино-3-(3-R²-1H-индол-1-ил)-2-пропанолов – на процессы агрегации тромбоцитов. Впервые установлена взаимосвязь между структурой новых соединений, и их способностью угнетать функциональную активность тромбоцитов. Показано, что данный вид активности у замещённых амидов ряда индола определяется строением заместителей и их нахождением у атома углерода в положении 7, а у аминоспиротов ряда индола – радикалами в положении N⁹.

Выявлено новое оригинальное вещество Sbt-828, проявляющее выраженные антиагрегантные свойства и получены данные о его влиянии на сосудисто-тромбоцитарный гемостаз, коагуляцию и фибринолиз *in vitro* и *in vivo*. Впервые показано, что соединение Sbt-828 оказывает антитромботическое действие на моделях тромбоза сонной артерии крыс, индуцированного поверхностной аппликацией хлорида железа (III) и электрическим током, а также на модели системного клеточного тромбоза на мышцах.

Теоретическая и практическая значимость работы. Результаты выявленных закономерностей между антиагрегантной активностью новых производных индола и их химической структурой могут быть основой для направленного поиска новых соединений, ингибирующих процессы агрегации тромбоцитов. Получены данные о наличии антитромботической активности у соединения Sbt-828 на моделях экспериментальных тромбозов сонной артерии крыс, индуцированных поверхностной аппликацией хлорида железа (III) и электрическим током в норме и при экспериментальном сахарном диабете. Соединение Sbt-828 менее выражено влияет на время кровотечения по сравнению с ацетилсалициловой кислотой.

Методология и методы исследования. В связи с поставленными задачами выбраны современные высокоинформативные методические подходы, имеющиеся в Волгоградском государственном медицинском университете. В качестве объектов исследования использованы кролики-самцы породы «Шиншилла», а также половозрелые самки и самцы мышей и крыс. Исследование антитромбогенных свойств соединения Sbt-828 проведено согласно методическим рекомендациям по изучению антиагрегантной и антитромботической активности лекарственных средств [Макаров В.А., 2012] с использованием методов статистической обработки данных.

Основные положения, выносимые на защиту

1. N-[(1-R¹-амино) карбонил-2-(1-R²-1H-индол-3-ил) винил]-R³-амиды и 1-R¹-амино-3-(3-R²-1H-индол-1-ил)-2-пропанола – перспективные классы соединений для поиска новых высокоэффективных ингибиторов агрегации тромбоцитов.
2. Соединение Sbt-828 оказывает выраженную антиагрегантную активность *in vitro* и *in vivo* на интактных животных и животных с экспериментальной патологией.
3. Вещество Sbt-828 оказывает антитромботическое действие *in vivo* при моделировании артериальных тромбозов сонной артерии крыс (индуцированного поверхностной аппликацией хлорида железа (III), электрическим током) и системного адреналин-коллагенового тромбоза на мышах.

4. Соединение Sbt-828 при введении в дозах до 100 мг/кг не вызывает изменений функционального состояния вегетативной нервной системы и эмоционального статуса экспериментальных животных, не влияет на двигательную координацию, поведенческие реакции, частоту дыхания, ректальную температуру и болевую чувствительность.

Внедрение результатов исследования. Полученные данные о способности новых соединений ингибировать процессы агрегации тромбоцитов, а также анализ влияния заместителей на уровень антиагрегантной активности в перспективных рядах замещенных амидов и аминоспиртов ряда индола используется при синтезе новых веществ на кафедре химии природных и высокомолекулярных соединений химического факультета Южного Федерального университета (г. Ростов на Дону). В работе НИИ фармакологии ВолгГМУ, ГБУ Волгоградского медицинского научного центра, кафедры фармакологии ВолгГМУ применяется новый комплексный подход к изучению антиагрегантной активности веществ. Результаты работы включены в лекционные курсы на кафедрах фармакологии и биофармации ФУВ ВолгГМУ, на кафедрах фармакологии Ростовского государственного медицинского университета и Саратовского государственного медицинского университета им. В.И. Разумовского.

Степень достоверности и апробация результатов. Высокая степень достоверности полученных результатов подтверждается достаточным объемом выполненных экспериментальных исследований, проведенных на кроликах, мышах и крысах обоего пола; использованием современных методов и методических подходов, высокотехнологического оборудования в соответствии с рекомендациями по доклиническому изучению лекарственных средств с антитромбогенной активностью, а также параметрических и непараметрических критериев статистической обработки данных.

Основные материалы диссертации докладывались и обсуждались на XVII Региональной конференции молодых исследователей Волгоградской области, 2012 г.; на IV Съезде фармакологов России «Инновации в современной фармакологии» Казань, 2012 г.; 70-й открытой научно-практической конференции молодых ученых с международным участием «Актуальные проблемы экспериментальной и клинической медицины», Волгоград, 2012 г.; на первой Всероссийской научно-

практической конференции молодых ученых «Проблемы разработки новых лекарственных средств» Москва, 2013.

По теме диссертации опубликовано 12 работ (из них 2 статьи в ведущих рецензируемых научных журналах, рекомендованных ВАК Минобрнауки РФ).

Личный вклад автора. Автором самостоятельно проведен поиск и анализ отечественных и зарубежных источников литературы по исследованной проблеме. Вклад автора является определяющим и заключается в непосредственном участии во всех этапах исследования по изучению фармакологической активности и механизма антиагрегантного действия нового производного индола – соединения Sbt-828: решения поставленных задач и обсуждения результатов. Автору принадлежит ведущая роль в выполнении экспериментальных исследований на всех его этапах. При написании диссертационной работы автором лично выполнен сбор первичных данных, статистическая обработка, анализ и обобщение полученных результатов, формулировка выводов и оформление рукописи.

Структура и объем диссертации. Диссертация изложена на 180 страницах машинописного текста, иллюстрирована 21 рисунком и 36 таблицами. Состоит из введения, обзора литературы, экспериментальной части (главы 2 – 7), обсуждения результатов, выводов и списка литературы, включающего 51 отечественных и 123 зарубежных источника.

ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

В первой главе представлен анализ отечественной и зарубежной литературы на тему: «Молекулярные основы тромбогенеза». В первом разделе описаны физиологические и патофизиологические свойства тромбоцитов, приведены основные мишени для действия антиагрегантных средств. Второй раздел литературного обзора посвящен анализу известных лекарственных средств, ингибирующих процессы агрегации тромбоцитов (АТ), в основе разделения которых лежат принципы доказательной медицины, учитывающие эффективность и наличие побочных действий. В заключительном разделе обзора рассматривается химический класс производных индола как потенциальных высокоактивных антитромбогенных средств.

Вторая глава диссертации посвящена подробному описанию материалов и методов исследования. В качестве объектов исследования использованы 29 новых химических соединений в ряду индола, относящихся к группам гидрохлоридов N-[(1-RR¹-амино)карбонил-2-(1-R²+1H-индол-3-ил)винил]-R³-амидам, и 1-R¹-амино-3-(3-R²-1H-индол-1-ил)-2-пропанолам, которые были синтезированы на кафедре химии природных и высокомолекулярных соединений химического факультета Южного Федерального университета к.х.н. К.Ф.Суздаевым.

Эксперименты были выполнены на 14 кроликах-самцах породы «Шиншилла» весом 3,5-4,5 кг, 225 белых нелинейных крысах обоего пола массой 250-300 г. и 215 белых нелинейных половозрелых мышах обоего пола массой 20-25 г. Все животные были доставлены из питомников: ООО «Питомник РАМТН» (г.Москва), ФГУП ПЛЖ «Рапполово» РАМН (Ленинградская обл., д. Рапполово). Содержание животных осуществлялось в стандартных условиях вивария ВолгГМУ на полноценной диете (ГОСТ Р 50258-92) с соблюдением правил лабораторной практики при проведении доклинических исследований в РФ, регламентированных ГОСТ Р 51000.3 96 [1996] и ГОСТ Р 51000.4 46 [1996], а также правил и Международных рекомендаций «Европейской конвенции о защите позвоночных животных, используемых для экспериментов или в иных научных целях» [The European Convention, 1986]. Острую токсичность соединений изучали в соответствии с требованиями и инструкциями Федеральной службы по надзору в сфере здравоохранения и социального развития [Миронов А.Н., 2012]. Протокол экспериментальной части исследования согласован с Региональным этическим комитетом (Протокол № 154 -2012).

Изучение влияния веществ на функциональную активность тромбоцитов *in vitro* проводили по методу Born G., в модификации Габбасова В.А. (1989). Для активации АТ применяли АДФ в конечной концентрации 5 мкМ. В качестве препарата сравнения использовали ацетилсалициловую кислоту (АСК).

При анализе зависимости антиагрегантной активности от химической структуры производных индола с целью определения границ класса соединений с высокой антиагрегантной активностью был выполнен кластерный анализ данных по показателю Δ% (10⁻⁴). Кластеризацию осуществляли вероятностным методом гисторамм [Мандель И. Д., 1988].

Острую токсичность определяли на белых нелинейных мышах–самцах массой 20-22 грамма при внутрибрюшинном введении. В качестве объективного показателя условной широты терапевтического действия использовали условный терапевтический индекс соединений, который определяли как отношение показателя LD₅₀ к ЕС₅₀.

Моделирование и степень внутрисосудистой АТ выполняли согласно методу J. F. Pinon (1984). Влияние соединений на внутрисосудистую агрегацию кровяных пластинок оценивали через 1,5 часа после перорального введения в дозе 50 мг/кг. Индуктор агрегации АДФ вводили внутривенно в дозе 1 мг/кг.

Исследования антитромботической активности на моделях артериальных тромбозов, индуцированных аппликацией 50% раствора хлорида железа (III) и воздействием анодного электрического тока на сонную артерию крыс, проводили на наркотизированных хлоралгидратом (400 мг/кг внутрибрюшинно) животных через 2 часа после перорального введения соединения Sbt-828 согласно методам Kurz K.D. (1990) и Guglielmi G. et al. (1991) соответственно. В качестве препарата сравнения использовали АСК. Производное индола изучали в изоэквимольной дозе АСК (20мг/кг). Для исследования действия Sbt-828 на время образования тромба использовали ультразвуковой компьютеризированный аппарат «Минимакс-Допплер–К» (Санкт-Петербург).

Модель генерализованного адреналин-коллагенового тромбоза на мышах воспроизводили согласно методу Di Minno G. (1983). В качестве тромботического агента применяли смесь растворов коллагена в дозе 0,5 мг/кг и адреналина в дозе 0,06 мг/кг. Вещество Sbt-828 в изоэквимольной дозе АСК (20мг/кг) вводили перорально за 2 часа до моделирования тромбоза. При проведении морфологического исследования выявляли и оценивали признаки тромбообразования в стенке артериальных сосудов мышечного типа. Документацию гистологических препаратов проводили цифровой камеры Olympus (Japan, 4.0 мегапикселей) на базе микроскопа Micros (Austria) с использованием объектива x10, x40 и окуляра x10*.

* Выражаем глубокую признательность зав. кафедрой патологической анатомии, д.м.н. А.В.Смирнову за помощь в проведении морфологических исследований.

Исследование действия соединения на время кровотечения из хвостовой вены мышей проводили согласно методу [Gratacap M., 2009]. По действию на данный параметр соединение Sbt-828 и препарат сравнения АСК были изучены в дозах, равных ED_{50} , полученных на модели внутрисосудистой агрегации тромбоцитов при пероральном введении животным за 2 часа до исследования.

Изучение действия соединения Sbt-828 на параметры гемостаза проводили на животных с аллоксановой интоксикацией, которую вызывали путем внутрибрюшинного введения аллоксана в дозе 150 мг/кг [Chougale A., 2007]. Эксперименты проводили на животных с тяжелой формой экспериментального сахарного диабета (СД), у которых развивалась стойкая гипергликемия с содержанием глюкозы более 17 ммоль/л. При изучении влияния нового производного индола на АТ и вязкость крови (ВК) осуществляли в течение недели ежедневное пероральное в дозе, соответствующей ED_{50} , полученной на модели внутрисосудистой АТ. Препараты сравнения гликлазид и пентоксифиллин были изучены в дозе 10 мг/кг и 4 мг/кг.

Влияние препаратов на АТ крыс с аллоксановым диабетом «ex vivo» проводили по методу Born G.(1962) в модификации Габбасова З.А. и др (1989). Для определения ВК использовали вискозиметр ротационного типа-анализатора крови реологического (АКР-2) при шести скоростях сдвига (10^{c-1} , 20^{c-1} , 50^{c-1} , 100^{c-1} , 200^{c-1} , 300^{c-1}), которые моделируют различную интенсивность кровотока в сосудах [Добровольский Н.А., 1998]. Действие соединения на агрегацию эритроцитов оценивали по индексу агрегации эритроцитов (ИАЭ), который рассчитывали как отношение вязкости крови при самой низкой скорости сдвига (10^{c-1}) к самой высокой (300^{c-1}) [Парфенов А.С., 1994]. Вязкость крови была определена при стандартизированном гематокрите -40%.

Действие соединения Sbt-828 на АТ «in vitro», исследовали по методу Born G, в модификации Габбасова В.А.(1989). В качестве агонистов АТ использовали АДФ и адреналин в конечной концентрации 5мкМ, коллаген - 4 мкг/мл, арахидоновую кислоту - 50 мкМ, агонист тромбоксановых рецепторов - U46619 - 3 мкМ и тромбин в концентрации 0,5 ед/мл. Исследования выполняли как на

богатой тромбоцитами плазме кроликов по способу, описанному Люсовым В.А., Белоусовым Ю.Б. (1971), так и на отмытых тромбоцитах.

Влияние вещества на пуриновые P2Y₁ и P2Y₁₂-рецепторы тромбоцитов «in vitro», изучали методом малоуглового светорассеяния [Сакаев М.Р., 2000]. Регистрацию проводили на приборе «Лайт-Скан» (НПФ «Люмекс», Россия). В качестве веществ сравнения использовали Reactive blue 2 (Basilen blue) и PPADS.

При изучении влияния соединения Sbt-828 на баланс «ПГІ₂-ТХА₂» в организме крыс, соединение и препарат сравнения вводились перорально за 2 часа до исследования в дозе, соответствующей ED₅₀, полученной на модели внутрисосудистой АТ. Исследования по влиянию на синтез ТХА₂ проводили по методу J.B. Smith (1976). Для изучения влияния вещества на биосинтез ТХА₂ использовали тест определения уровня малонового диальдегида (МДА). Измерения проводили на спектрофотометре APEL PD-303 UV (Япония), при длине волны, равной 532 нм. Антиагрегационную активность сосудистой стенки исследовали согласно методу D. E. MacIntyre (1978), в модификации В.П. Балуды (1980).

Влияние соединения Sbt-828 на уровень внутриклеточного кальция в отмытых тромбоцитах кролика выполняли по методу Cho M. et al (2006) с использованием флуоресцентного зонда Fura-2/AM на спектрофлуориметре Hitachi MPF - 400 (Япония) при длине волны возбуждения 340 nm и 380 nm и длине волны испускания 510 nm. В качестве препаратов сравнения были выбраны антагонист ионов кальция верапамил и АСК. Для стимуляции выхода интрацеллюлярного кальция из внутриклеточных депо был использован тромбин в концентрации 0,5 ед/мл. Расчет концентрации катионов кальция проводился с помощью уравнения Schaeffer and Blaustein (1989).

Уровень мембраносвязанного кальция в тромбоцитах определяли с использованием кальций-чувствительного флуоресцентного зонда хлортетрациклина в концентрации 20 мкМ согласно методу Gasvelli A.H. и Hutchison J.D (1971).

Влияние исследуемого соединения на показатели коагулограммы крови крыс определяли на гемокоагулометре «SOLAR» (Белоруссия) с использованием наборов реактивов производства «Технология–стандарт» (Россия), методиками,

которые основаны на автоматическом определении клоттингового времени (время свертывания) [Баркаган З.С., 1999].

Фибринолитическую активность нового производного индола изучали на основании метода измерения времени полного лизиса эуглобулиновой фракции, полученной из плазмы крови при осаждении в кислой среде и содержащей факторы свертывания крови и фибринолиза.

Изучение общетоксических свойств выполняли, используя многотестовое наблюдение по S. Irwin (1964). Соединение Sbt-828 вводили внутривенно однократно лабораторным мышам в возрастающих дозах: 10 мг/кг, 50 мг/кг, 100 мг/кг, 125 мг/кг и 150 мг/кг. Наблюдение проводили в течение трех часов после введения соответствующей дозы соединения.

Статистическую обработку данных проводили с помощью встроенных функций программы Excel из пакета Office XP (Microsoft, США) (среднее арифметическое значение, стандартная ошибка средней арифметической), программ «Statistica 6.0» (StatSoft, США) и «Graph.Pad.Prism.5.0» (США). Для статистической обработки данных скрининга использовали непараметрический метод сравнения независимых групп с помощью t-критерия Манна-Уитни («Statistica 6.0»). Обсчет результатов испытаний по влиянию соединений на выживаемость мышей при моделировании генерализованного тромбоза проводился с помощью точного критерия Фишера в программе «Statistica 6.0». Статистическую обработку данных, полученных при гистологических исследованиях, проводили с использованием программы «Видео Тест Морфо-4.

Во второй главе описан экспериментальный поиск высокоактивных соединений с антиагрегантной активностью *in vitro* среди новых производных индола. В результате исследований из 29 изученных веществ было выявлено 7 соединений, проявляющих высокую способность угнетать АТ. У данных веществ была изучена дозозависимая активность и определены EC_{50} . Наибольшую активность в отношении ингибирования АТ проявили два соединения под шифрами Sbt-815 и Sbt-828. EC_{50} вещества Sbt-815 составила $1,5 \times 10^{-5} M$, а соединения Sbt-828 – $4,45 \times 10^{-5} M$. Полученные результаты превосходили препарат сравнения в 47 и 16 раз соответственно. По терапевтическому индексу вещества Sbt-815 и Sbt-828 превышали АСК в 13 и 4,4 раза соответственно (табл.1).

Таблица 1. Антиагрегантная активность ($ЭК_{50}$), величина острой суточной токсичности ($ЛД_{50}$), и терапевтический индекс (ТИ) соединений Sbt-815, Sbt-828 и АСК

№	Шифр Соединения	EC_{50} , 1×10^{-5} М	LD_{50} мг/кг	ТИ $LD_{50}/ЭК_{50}$
1	Sbt-815	$1,5 \times 10^{-5}$	200	31,2
2	Sbt-828	$4,45 \times 10^{-5}$	220	10,5
3.	Ацетилсалициловая кислота	$7,1 \times 10^{-4}$	310	2,4

На следующем этапе был проведён анализ зависимости между антиагрегантной активностью и химической структурой новых производных индола. В результате было выявлено, что в группе замещённых амидов ряда индола вклад в наличие антиагрегантной активности могут вносить диаминоэтильные заместители в положении R^1 , а также фенильный и 2-фтор и 2-метоксифенильные заместители в положении R^3 . На основе анализа зависимости антиагрегантной активности от структуры в группе производных аминоспиртов ряда индола можно сделать вывод, что изменения силы антиагрегантного действия у высокоактивных веществ данной группы зависит от радикалов в положении N^9 . Так, выраженное антиагрегантное действие двух наиболее активных соединений Sbt-815 и Sbt-828 определяется метил-(n-бутил)-аминовым и тиенилкарбоксиэтильным заместителями соответственно в положении N^9 .

Соединение Sbt-828 в дозе 50 мг/кг оказывало высокую способность предотвращать внутрисосудистую АТ, превосходя АСК в 2,9 раза, что подтверждает высокий антитромбоцитарный эффект данного соединения, полученный в опытах *in vitro* (рис.1). Что касается антиагрегантного действия соединения Sbt-815, оно по выраженности действия уступало препарату сравнения, что, возможно, может быть связано с фармакокинетическими особенностями данного вещества. Поэтому для дальнейшего более глубокого изучения антиагрегантной активности на различных моделях экспериментальной патологии и механизма антиагрегантного действия с учетом влияния на основные звенья патогенеза агрегации тромбоцитов было выбрано вещество Sbt-828.

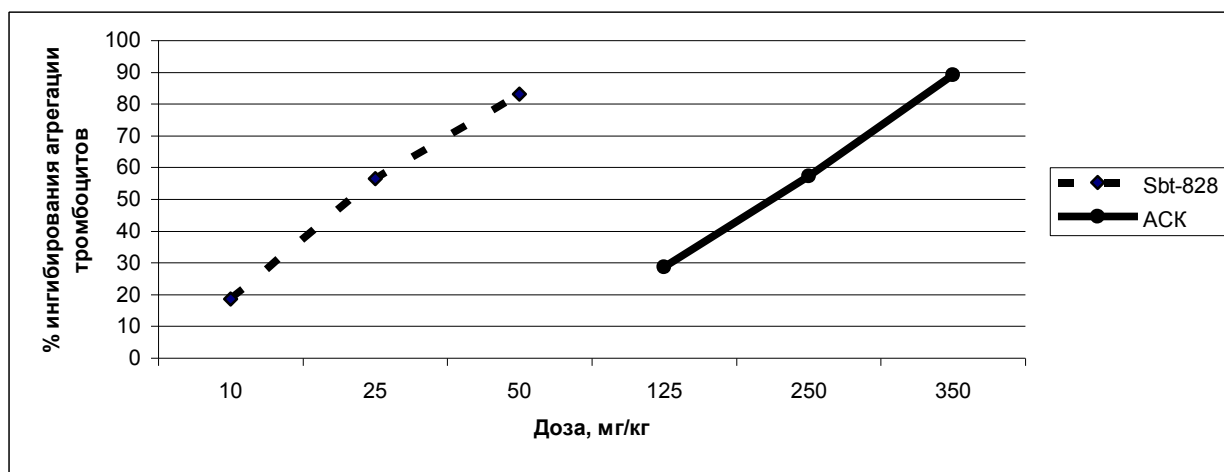


Рис.1. Влияние соединения Sbt-828 и ацетилсалициловой кислоты (АСК) на внутрисосудистую агрегацию тромбоцитов крыс, индуцированную АДФ (1 мг/кг).

В четвертой главе описаны антитромботические эффекты соединения Sbt-828 и АСК на различных моделях артериальных тромбозов и их влияние на время кровотечения из хвостовой вены мышей. Сравнительный анализ антитромботической активности показал преимущество соединения Sbt-828 перед АСК (рис.3). На моделях артериального тромбоза, индуцированного аппликацией 50% хлорида железа (III) и анодного тока на сонную артерию крыс по ED_{50} вещество Sbt-828 превосходило АСК в 3,5 и 1,8 соответственно (табл.2).

Таблица 2. Сравнение значений ED_{50} соединения Sbt-828 и АСК на моделях артериальных тромбозов, индуцированных аппликацией 50% раствора хлорида железа (III) и электрического тока на сонную артерию крыс.

№ п/п	Шифр Соединения	Тромбоз, индуцированный 50% р-ром хлорида железа (III)	Тромбоз, индуцированный, электрическим током
		ED_{50} , мг/кг	
1.	Sbt-828	32,7	34,3
2.	Ацетилсалициловая кислота	114,7	61,9

Соединение Sbt-828 уменьшало смертность белых мышей при системном тромбозе, вызванном введением смеси тромботических агентов в хвостовую вену животных. При введении вещества Sbt-828 после воздействия тромботических агентов выживаемость животных составила 90%. Полученный результат в 3 раза превысил эффект препарата сравнения (рис.2).

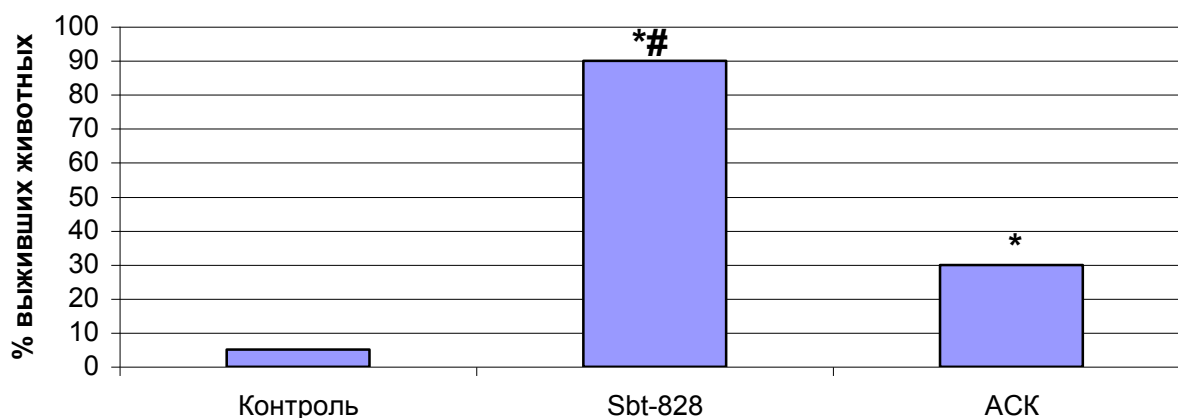


Рис.2. Влияние соединения Sbt-828 и АСК на выживаемость мышей в условиях генерализованного тромбоза

Примечание: * -($p \leq 0,05$) - изменения статистически значимы по отношению к контролю, критерий Фишера; #-($p < 0,05$)- изменения статистически значимы по отношению к группе мышей, получавших ацетилсалициловую кислоту

Наличие антитромботической активности у исследованных веществ подтверждается гистологическими исследованиями легких животных (табл.3). При микроскопическом исследовании выявлено достоверное уменьшение относительной и средней площади тромбов на срезе легкого по сравнению с контрольной группой. Соединение Sbt-828 снижало относительную площадь тромбов на срезе легкого на 33,7%. Тогда как ацетилсалициловая кислота снижала данный показатель на 18,6 % (табл.3).

Таблица 3. Влияние соединения Sbt-828 в дозе эквимольной дозе АСК кислоты на изменение некоторых морфометрических параметров тромбов в сосудах легких мышей. ($M \pm m$), (n=5)

N п/п	Название вещества	Относительная площадь тромбов, %	Средняя площадь тромба на срезе, мкм^2	Периметр Тромба
1.	Контроль (физ. p-p)	$10,21 \pm 2,22$	$3939,8 \pm 889,0$	$262,9 \pm 26,4$
2.	Sbt-828	$6,773 \pm 0,67^{*}\#$	$2727,1 \pm 544,4$	$236,4 \pm 33,7$
3.	АСК	$8,327 \pm 0,15$	$3037,7 \pm 314,4$	$249,4 \pm 27,1$

*- ($p \leq 0,05$) - данные статистически значимы по отношению к контролю,

-($p \leq 0,05$) данные статистически значимы относительно препарата сравнения, критерий Манна-Уитни; n-число тестируемых животных.

Таким образом, соединение Sbt-828 по своей антитромботической активности, проявленной на различных моделях артериальных тромбозов,

превосходит препарат сравнения, что свидетельствует о возможной связи данного вида активности с влиянием на патогенетические звенья АТ.

При исследовании действия соединения Sbt-828 на время кровотечения из хвостовой вены мышей было выявлено удлинение данного параметра, что свидетельствует об ингибировании агрегации тромбоцитов. Однако, в сравнении с ацетилсалициловой кислотой, время кровотечения под действием соединения Sbt-828 было короче, что делает возможным предположить в будущем наличие слабовыраженных побочных эффектов в виде кровотечений (рис.3).

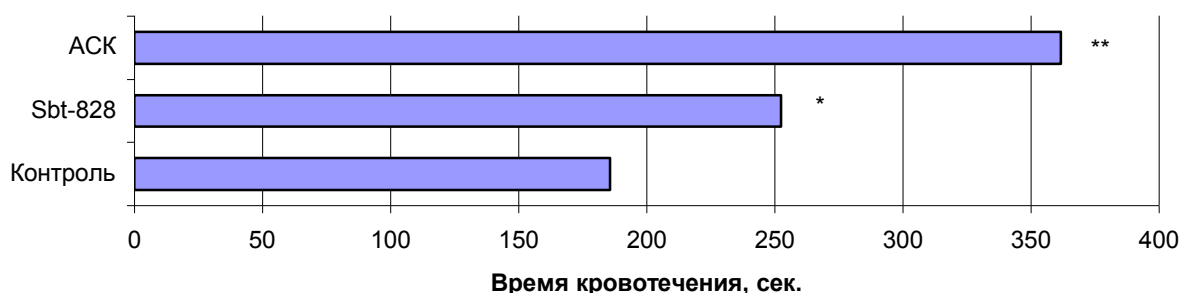


Рис.3. Влияние соединения Sbt-828 и ацетилсалициловой кислоты на время кровотечения у мышей. Примечание: АСК – ацетилсалициловая кислота; $n=7$ (количество тестируемых животных в каждой группе).

Примечание: * - $p<0,05$; ** - $p<0,01$ – изменения статистически значимы по отношению к контролю.

В пятой главе представлены данные о влиянии соединения Sbt-828 на параметры гемостаза при экспериментальном СД. Данные исследования были выполнены в связи с тем, что функциональные нарушения тромбоцитарного звена гемостаза являются важным составляющим микроангиопатий при СД, поэтому, дополнительная антитромбогенная защита, помимо самостоятельного положительного эффекта коррекции гликемии, может и должна приниматься во внимание при лечении данной патологии [Natarajan A., 2008; Lopes R., 2011; Дедов И.И., 2013]. Для этого во всех группах животных за два месяца до исследования была создана тяжелая форма аллоксановой интоксикации. Оценку эффективности действия вещества и препарата сравнения на гемостаз проводили после недельного внутрижелудочного введения животным с экспериментальным СД. По сравнению с интактными животными уровень глюкозы у крыс с тяжелой формой аллоксанового диабета увеличивался в 3,7 раза. В группе животных с аллоксановой интоксикацией наблюдалось статистически значимое повышение АТ

по сравнению с интактными животными. Соединение Sbt-828 достоверно снижало данный показатель на 41,2% и превосходило препарат сравнения гликлазид в 1,8 раза (рис.4).

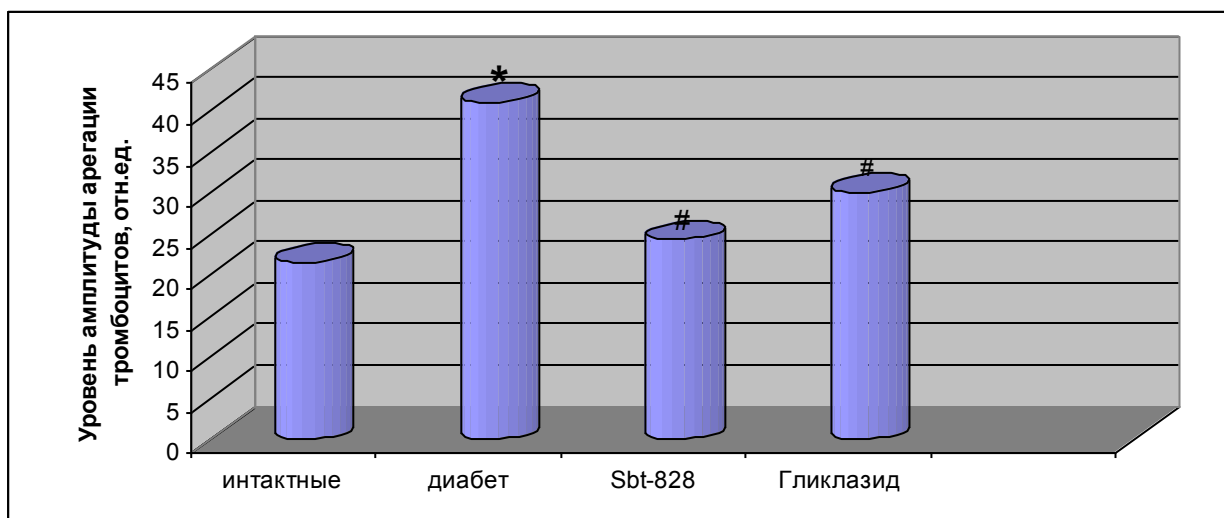


Рис. 4. Влияние соединения Sbt-828 и гликлазида при курсовом введении на АТ крыс с экспериментальным аллоксановым диабетом *ex vivo* в дозах равных ED₅₀, полученных на модели внутрисосудистой АТ.

Примечание: # - $p < 0,05$ – изменения статистически значимы относительно агрегации крыс с экспериментальным диабетом, * - $p < 0,05$ - изменения статистически значимы относительно интактных животных.

При СД помимо повышения реактивности тромбоцитов также повышается синдром ВК, на фоне которого могут изменяться гидродинамические факторы сосудистого тромбоза. [Плотников М.Б., 2005]. Соединение Sbt-828 снижало вязкость крови крыс с экспериментальным диабетом, превосходя пентоксифиллин. При этом наиболее выраженное достоверное действие, исследуемое вещество оказывало при низкосдвиговых скоростях. Соединение Sbt-828 уменьшало значение индекса агрегации эритроцитов, снижая его значение на 25,5%, Препарат сравнения пентоксифиллин уменьшал индекс агрегации эритроцитов больных животных на 10,4% (рис.5).

В связи с нарушением гемостаза при СД возникает прогрессирование атеросклероза, что может привести к возникновению тромбозов [Arikawa E., 2006]. Поэтому была изучена антитромботическая активность вещества Sbt-828 на модели артериального тромбоза, индуцированного электрическим током, у крыс с аллоксановой интоксикацией. Вещество Sbt-828 пролонгировало время образования тромба у крыс с экспериментальным диабетом на 91,3%, тогда как гликлазид увеличивал это время на 61,2% (рис.6).

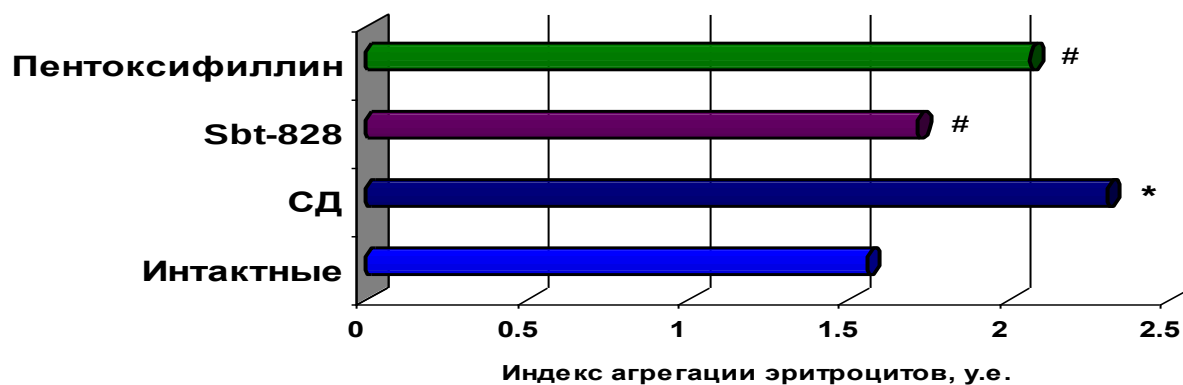


Рис. 5. Влияние соединения Sbt-828 в дозе, равной ED_{50} , полученной на модели внутрисосудистой АТ и пентоксифиллина в дозе 4 мг/кг при курсовом введении (гл.3), на индекс агрегации эритроцитов крыс с экспериментальным диабетом. Примечание: # - $p < 0,05$ – изменения статистически значимы относительно индекса агрегации эритроцитов крыс с экспериментальным диабетом; * - $p < 0,05$ – изменения статистически значимы относительно группы интактных животных.

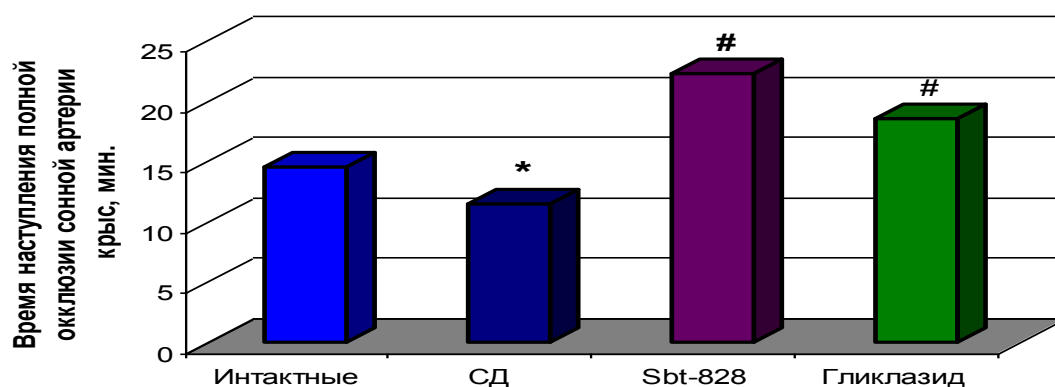


Рис. 6. Влияние соединения Sbt-828 и гликлазида при курсовом введении на время наступления полной окклюзии сонной артерии крыс с аллоксановой интоксикацией на модели экспериментального тромбоза, индуцированного электрическим током. Примечание: * - $p < 0,05$ - достоверность относительно времени наступления окклюзии сонной артерии у контрольной группы крыс с экспериментальным диабетом.

Шестая глава посвящена изучению механизма антиагрегантного действия соединения Sbt-828. На мембране тромбоцитов имеются рецепторы к различным индукторам агрегации тромбоцитов. Индукторы взаимодействуют со специфическими рецепторами на плазматической мембране тромбоцитов, что служит причиной дальнейших эффектов, приводящих к активации тромбоцитов. В связи с этим в начале изучения механизма действия нового производного индола было исследовано, не является ли вещество конкурентным антагонистом

индукторов АТ. EC_{50} антиагрегантной активности изученных соединений в отношении индукторов АТ вызванной АДФ, адреналином, коллагеном, арахидоновой кислотой, U46619 и тромбином представлены в таблице 4.

Таблица 4. Влияние соединения Sbt-828 на агрегацию тромбоцитов кролика, вызванную различными индукторами.

N п/п	Индукторы агрегации тромбоцитов	Концентрация индуктора	Sbt-828 - EC_{50} , М
1.	АДФ	5 мкМ	$4,45 \times 10^{-5}$
2.	Адреналин	5 мкМ	$7,1 \times 10^{-5}$
3.	Арахидоновая кислота	50 мкМ	$1,1 \times 10^{-6}$
4.	Тромбин	0,5 ед/мл	$3,7 \times 10^{-5}$
5.	Коллаген	20 мкг/мл	$3,4 \times 10^{-5}$
6.	U46619	3 мкМ	$2,2 \times 10^{-5}$

Анализируя данные показатели, необходимо отметить, что наибольшую активность вещество проявило в отношении индуктора арахидоновой кислоты, что позволяет нам предположить наличие влияния соединения на синтез продуктов метаболизма последней, в частности, на циклооксигеназный путь синтеза TXA_2 . Кроме того, в пользу данного механизма антиагрегантного действия свидетельствует подавление данным веществом коллаген-индуцированной АТ, а также выраженное блокирование АТ, вызванной агонистом тромбоксановых рецепторов. Подавление веществом АТ, вызванной тромбином, дает возможность предположить, что соединение может вмешиваться в регуляцию процессов синтеза вторичных посредников, особенно инозитолфосфатного пути активации тромбоцитов. Однако, возможно это происходит через ингибирование образования TXA_2 , который вызывает активацию фосфолипазы С, запускающей этот путь АТ. Наиболее низкую антиагрегантную активность соединение Sbt-828 проявило в отношении индуктора адреналина, что указывает на отсутствие прямого блокирующего действия на α адренорецепторы.

$P2Y_{12}$ - рецептор тромбоцитов играет ключевую роль в АТ и продукции TXA_2 [Nawarskas J.J., 2011]. Соединение Sbt-828 проявило высокую ингибирующую активность в концентрации 1 мкМ в отношении АТ, вызванной активацией $P2Y_{12}$ - рецепторов. При этом новое производное индола превосходило эффект неселективного ингибитора этого подтипа АДФ-рецепторов вещества PPADS, что

может указывать на способность вещества вызывать активацию аденилатциклазного пути (рис. 7).

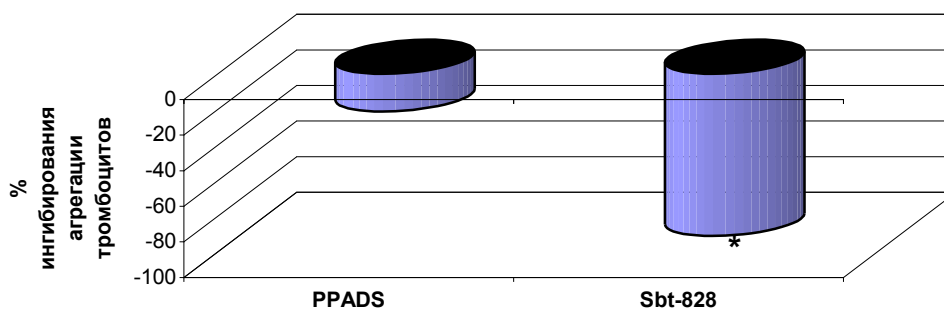


Рис. 7. Влияние соединения Sbt-828 в концентрации 1 мкМ на степень агрегации тромбоцитов кролика в кальцеевой среде, индуцированной 200 нМ АДФ

*- $p \leq 0,001$ -изменения статистически значимы по отношению к веществу сравнения, критерий Манна-Уитни

Одним из важнейших механизмов агрегации тромбоцитов является изменение баланса продуктов метаболизма арахидоновой кислоты простаглицина (PGI_2) и TXA_2 . При проведении экспериментов было показано, что вещество Sbt-828 достоверно снижало уровень малонового диальдегида (МДА) в тромбоцитах крыс, стимулированных тромбином, и превосходило по активности ацетилсалициловую кислоту в 1,6 раза (табл. 5).

Таблица 5. Влияние соединения Sbt-828 и ацетилсалициловой кислоты (АСК) на изменение уровня МДА в тромбоцитах крыс, индуцированных тромбином. (25 ед/мл)

Название вещества	Дозы соединений, мг/кг	Уровень МДА в интактных тромбоцитах (отн. ед)	Уровень МДА в тромбоцитах после индукции тромбином (отн. Ед)
Контроль		$1,68 \pm 0,11$	$6,61 \pm 0,47$
Sbt-828	42	$1,63 \pm 0,1$	$1,93 \pm 0,11^*$
АСК	192	$1,45 \pm 0,5$	$3,02 \pm 0,46^*$

*- $p < 0,01$ - данные статистически значимы по отношению к контролю (критерий Манна-Уитни)

Известным фактом является то, что стенки сосудов артерий содержат значительно больше простаглицина – мощного антиагрегационного фактора, чем другие ткани [Lyu D., 2010]. В эксперименте было показано, что стенка аорты крыс высвобождает в инкубируемую среду фактор, который по действию подобен простаглицину. При внутривенном введении крысам адреналина уменьшалась антиагрегационная активность стенки аорты. Хорошо известно, что

ацетилсалициловая кислота снижает синтез эндотелием простациклина [Лупанов В.П., 2009]. В отличие от нее соединение Sbt-828 не оказывало влияния на образование простациклино-подобной субстанции стенкой аорты у интактных животных и восстанавливало ее антиагрегационную функцию, сниженную адреналином (рис.8).

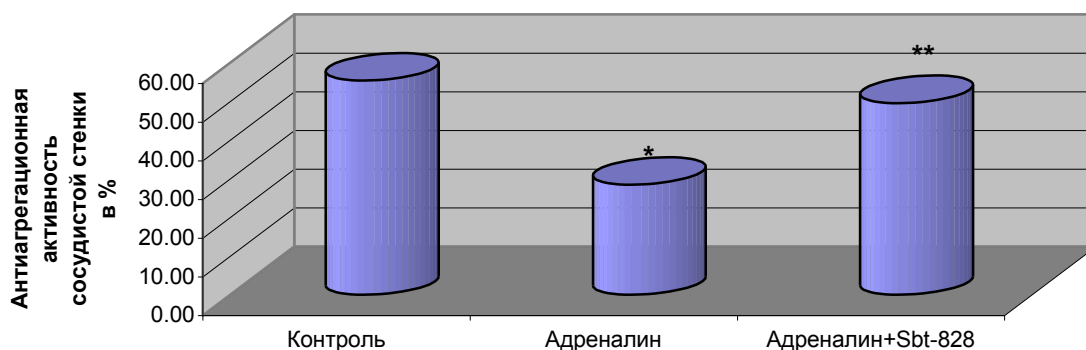


Рис.8. Влияние соединения Sbt-828 на антиагрегационную активность сосудистой стенки, сниженную адреналином ($M \pm m$). * - $p < 0,05$ - изменения статистически значимы по отношению к контролю; ** - $p < 0,05$ - по отношению к сниженной антиагрегационной активности сосудистой стенки после внутривенного введения адреналина.

Результатом всех процессов, которые происходят при активации и агрегации тромбоцитов по различным механизмам действия, является повышение уровня кальция в тромбоцитах [Colomer J., 2010]. Важную роль в регуляции функции тромбоцитов играет внутриклеточный Ca^{2+} [Harper A.G., 2009]. Для определения влияния соединения Sbt-828 на уровень внешнего и внутреннего кальция эксперименты были выполнены в два этапа как в присутствии, так и в отсутствие физиологических концентраций Ca^{2+} . Прирост флуоресценции Fura-2/AM под действием тромбина, в присутствии внеклеточного Ca^{2+} указывает на суммарное повышение уровня внутриклеточного Ca^{2+} как за счет входа в клетку, так и за счет мобилизации его из внутриклеточных депо. Увеличение флуоресценции Fura-2/AM, вызванное тромбином при отсутствии внеклеточного Ca^{2+} , указывает на высвобождение Ca^{2+} из внутриклеточных депо. Соединение Sbt-828 дозозависимо подавляло концентрацию внутриклеточного кальция в тромбоцитах в присутствии физиологических концентраций Ca^{2+} . Препарат сравнения ацетилсалициловая кислота не оказывала эффекта и снижала прирост внутриклеточного кальция всего на 1,7 % по сравнению с контролем, а верапамил

снижал уровень внутриклеточного кальция на 33,3%, уступая при этом веществу Sbt-828 (рис.9).

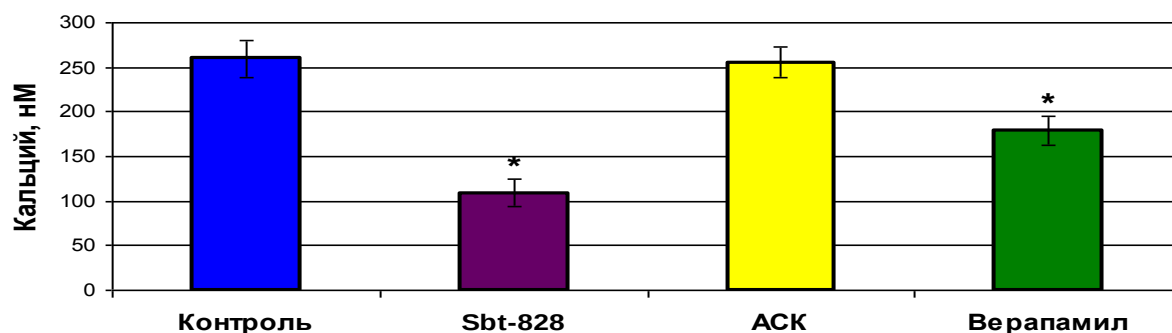


Рис. 9. Влияние соединения Sbt-828, ацетилсалициловой кислоты и верапамила в дозе 100 мкМ на прирост уровня внутриклеточного кальция индуцированный тромбином.

Примечание: * - $p < 0,05$ -изменения статистически значимы относительно контроля, критерий Манна-Уитни

Полученный результат свидетельствует о способности соединения Sbt-828 и верапамила снижать суммарный прирост ионов Ca^{2+} за счет входа в клетку и мобилизации из внутренних источников. ED_{50} соединения Sbt-828 при этом составила 34 мкМ (табл.6)

Таблица 6. ED_{50} соединения Sbt-828 при влиянии на уровень внутриклеточного кальция в тромбоцитах, индуцированного тромбином в концентрации 0,5 ед/мл в кальциевой среде (опыты *in vitro*) ($M \pm m$)

№ п/п	Названия веществ	Дозы соединений, мкМ	Уровень внутриклеточного кальция, нМ	ED_{50} , мкМ
1.	Суспензия тромбоцитов		$50,9 \pm 2,34$	
2.	Суспензия тромбоцитов.+тромбин	Контроль	$263,7 \pm 3,96$	
3.	Суспензия тромбоцитов+тромбин+Sbt-828	100	$109,1 \pm 3,03^*$	34,0
		10	$156,4 \pm 3,11^*$	
		1	$214,92 \pm 5,24$	

* - $p < 0,001$ -изменения статистически значимы относительно значений, полученных в контроле

На втором этапе экспериментов было изучено действие нового производного индола только на уровень внутриклеточного кальция, который высвобождается из внутриклеточных депо. Соединение Sbt-828 и верапамил в данном тесте оказались неэффективными, так как уровень внутриклеточного Ca^{2+} в пробе с данными веществами соответствовали значениям, полученным в контроле.

При изучении действия вещества Sbt-828 на параметры свертывания крови статистически значимых изменений получено не было. Однако соединение Sbt-828 проявило выраженную фибринолитическую активность, которая составила 57,9% по сравнению с исходными данными.

В главе 7 описано изучение общетоксических свойств соединения Sbt-828. При однократном внутрибрюшинном введении данного вещества было выявлено, что во всех исследуемых дозах оно практически не оказывало влияния на эмоциональное поведение животных, не вызывало развитие побочных вегетативных эффектов в виде птоза и экзофтальма. Начиная с дозы 100 мг/кг, наблюдались обратимые единичные признаки поражения только со стороны центральной нервной системы (двигательная координация) и высшей нервной деятельности (поведенческие реакции). В максимально вводимой дозе соединения Sbt-828 (150 мг/кг) у животных регистрировались выраженные токсические симптомы (угнетение мышечной координации и реактивности, снижение рефлексов, урежение дыхания, снижение ректальной температуры).

Глава 8 посвящена обсуждению полученных результатов, на основании которых в исследованиях *in vitro* были выявлены два наиболее активных соединения Sbt-815 и Sbt-828. Однако, в связи с тем, что вещество Sbt-815 не проявило антиагрегантной активности в опытах *in vivo* для дальнейшего, глубокого изучения данного вида активности на моделях экспериментальной патологии и механизма ингибирования агрегации тромбоцитов было выбрано вещество Sbt-828. В результате экспериментального изучения показана высокая антитромботическая активность данного вещества при различных видах артериальных тромбозов, а также при аллоксановой интоксикации. Проведенный экспериментальный анализ механизма действия вещества Sbt-828 показал его положительное влияние на различные звенья патогенеза агрегации тромбоцитов и фибринолитическую активность. Однако, наиболее выраженное действие изученное вещество оказало на сосудисто-тромбоцитарный гемостаз блокируя агрегацию тромбоцитов, вызванную арахидоновой кислотой и коллагеном, а также снижая синтез TXA_2 , что указывает на его способность вмешиваться в циклооксигеназный путь агрегации тромбоцитов. Согласно литературным данным производные индола являются ингибиторами фермента циклооксигеназы и синтеза

ТХА₂ [Bhana N., 2001]. Исходя из этого, а также на основании полученных нами экспериментальных данных можно предположить, что механизм антиагрегантного действия нового производного индола соединения Sbt-828 связан с ингибированием фермента циклооксигеназы и соответственно образования ТХА₂. Также вклад в механизм антиагрегантного действия может вносить способность данного вещества блокировать P2Y₁₂ рецепторы тромбоцитов. Таким образом, влияние изученного соединения на различные мишени патогенеза агрегации тромбоцитов, а также наличие у него фибринолитической активности может иметь важное значение для дальнейшего исследования фармакологических и токсикологических свойств соединения Sbt-828.

ВЫВОДЫ

1. Производные индола в ряду замещенных амидов и аминоспиртов являются новым химическим классом антитромбогенных веществ.
2. В результате проведенного скрининга 29 соединений среди замещённых амидов и аминоспиртов ряда индола было выявлено высокоактивное соединение под шифром Sbt-828, превосходящее в исследованиях *in vitro* и *in vivo* препарат сравнения ацетилсалициловую кислоту.
3. Антиагрегантная активность замещённых амидов ряда индола связана со строением заместителей и их сочетанием у атома углерода в положении 7. Наиболее высокую активность проявили соединения, имеющие в положении С⁷ диэтиламиноэтильный заместитель. У аминоспиртов ряда индола активность соединений определяется радикалами в положении N⁹. Наличие тиенилкарбоксииэтильного заместителя или его замена на метил-(n-бутил)-аминовый заместитель приводит к увеличению способности веществ ингибировать агрегацию тромбоцитов.
4. Наиболее активное соединение Sbt-828 по способности ингибировать процессы АДФ-индуцированной агрегации тромбоцитов *in vitro* превосходит препарат сравнения АСК в 16 раз и по условному терапевтическому индексу в 4,4 раза, а по влиянию на внутрисосудистую агрегацию тромбоцитов *in vivo* в 8,8 раза.
5. Вещество Sbt-828 оказывает выраженное антитромботическое действие на различных моделях артериальных тромбозов. На моделях тромбозов, индуцированных аппликацией хлорида железа(III) и электрического тока на

сонную артерию крыс, соединение Sbt-828 - превосходит в 3,5 и 1,8 раза по активности ацетилсалициловую кислоту, а также предотвращает гибель 90% животных на модели генерализованного адреналин-коллагенового тромбоза на мышцах.

6. Соединение Sbt-828 при пероральном курсовом введении животным с экспериментальным аллоксановым диабетом оказывает антитромботическое действие на модели артериального тромбоза, вызванное повреждением стенки артерий электрическим током, снижает вязкость крови, превосходя препарат сравнения пентоксифиллин.

7. Новое производное индола Sbt-828 в различной степени выраженности блокирует агрегацию тромбоцитов, вызванную АДФ, адреналином, арахидоновой кислотой, коллагеном, тромбином, агонистом тромбоксановых рецепторов U46619, оказывая наиболее выраженное действие в отношении агрегации, индуцированной арахидоновой кислотой.

8. Вещество Sbt-828 снижает уровень проагреганта и вазоконстриктора ТХА₂, превосходя препарат сравнения ацетилсалициловую кислоту, что подтверждается снижением количества МДА в условиях патологии *ex vivo*, вызванной тромбином, и не оказывает влияния на антиагрегационную активность сосудистой стенки.

9. Исследование общетоксикологических свойств соединения Sbt-828 показало, что начиная с дозы 100 мг/кг, наблюдались обратимые единичные признаки нарушения двигательной координации и поведенческих реакций. В максимально вводимой дозе соединения Sbt-828 (200 мг/кг) у животных регистрировались симптомы нейротоксического эффекта опытного вещества на дыхательный, терморегуляторный, болевой центры, а так же на нейродвигательную проводимость, что подтверждалось урежением дыхания, снижением ректальной температуры и болевой чувствительности, признаками угнетения мышечной координации и реактивности, а так же снижением рефлексов.

СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

Статьи в ведущих рецензируемых научных журналах, рекомендованных Минобрнауки РФ:

1. Антиагрегантная активность новых производных индола/ Спасов А.А., Кучерявенко А.Ф., Суздалев К.М. , **Тянь М.** ///Вестник ВолгГМУ. -2014, №1(49) – С. 131
 2. Антитромботическая активность соединения РУ-891 / Спасов А.А.,Анисимова В.А.,Кучерявенко А.Ф., **Тянь М.**// Эксп. и клин. фармакол.-2013.- Т.76, № 6 С.25-26
- Статьи в журналах и сборниках материалов конференций:*

3. Антитромбогенная активность нового конденсированного производного бензимидазла на экспериментальной модели *in vivo*/ Спасов А.А., Кучерявенко А.Ф., **Тянь М.**, Гурова В.В., Салазникова О.А.// Конференция IX микроциркуляция и гемореология от ангиогенеза до центрального кровообращения Ярославль 2013
4. Антитромбогенная активность нового индола на моделях артериального тромбоза *in vivo* / **Тянь М.**//I Всероссийская научно-практическая конференция молодых ученых «Проблемы разработки новых лекарственных средств», НИИ им. Закусова, г. Москва, 2013 г. – С.135.
5. Влияние нового производного индола продукцию тромбоксана A₂/ Спасов А.А., Кучерявенко А.Ф., **Тянь М.**//Конференция IX микроциркуляция и гемореология от ангиогенеза до центрального кровообращения Ярославль.- 2013.-с.63
6. Антитромбогенная активность новых производных индола *in vivo*/ Букатина Т.М., Яромич И.В. , Суздалев К.Ф., **Тянь М.** // Материалы 71-й открытой научно-практической конференции молодых ученых и студентов с международным участием « Актуальные проблемы экспериментальной и клинической медицины» (24-27апреля 2013 г.). Сб. тезисов.
7. Подструктурный анализ амидных производных индолов с антиагрегантной активностью/ Суздалев К.М. , **Тянь М.** , Спасов А.А., Кучерявенко А.Ф. // Сборник материалов материалов конгресса тезисы докладов Москва 2013г.
8. Поиск соединений с антиагрегантной активностью среди 1-R-3-ароилметилмидазолил бромидов/ Салазникова О.А., Анисимова В.А. , **Тянь М.**//Вестник ВолгГМУ. Прил. - 2012, Волгоград, – С.131-132
9. Поиск соединений с антиагрегантной активностью среди новых производных индола/ Суздалев К.М. , **Тянь М.** Вестник ВолгГМУ. Прил. - 2012, Волгоград, – С.134-135
10. QSAR-анализ антиагрегантной активности производных индола / Сиротенко В.С., Наход А.А., Гребенников А.С., **Тянь М.**// Вестник ВолгГМУ. Прил. - 2012, Волгоград, – С.133
11. Антитромбогенная активность конденсированного производного бензимидазола / Спасов А.А., Кучерявенко А.Ф., **Тянь М.**// IV Съезд фармакологов России «Инновации в Современной фармакологии»2012 г. Казань, 2012 ,с. 174
12. Изучение антиагрегантной активности нового производного индола/ **Тянь М.**// Материалы юбилейной 70-й открытой научно-практической конференции молодых ученых и студентов с международным участием «Актуальные проблемы экспериментальной и клинической медицины», Волгоград, 2012 г. – С. 336.

СПИСОК УСЛОВНЫХ СОКРАЩЕНИЙ И ОБОЗНАЧЕНИЙ

АДФ – аденозиндифосфорная кислота

АТ-агрегация тромбоцитов

АСК - ацетилсалициловая кислота

ВК-вязкость крови

ПГ_{I2} - простагландин

СД - сахарный диабет

ТХА₂ - тромбоксан A₂

ЦОГ - циклооксигеназа

ЕС₅₀ - эффективная концентрация, в которой вещество ингибирует процессы агрегации тромбоцитов на 50%

ED₅₀ - эффективная доза, в которой вещество ингибирует процессы агрегации тромбоцитов на 50%

Sbt- лабораторный шифр соединения

U 46619 - агонист тромбоксановых рецепторов

На правах рукописи

ТЯНЬ МИНГАН

АНТИТРОМБОГЕННЫЕ СВОЙСТВА НОВЫХ ПРОИЗВОДНЫХ ИНДОЛА

14.03.06 Фармакология, клиническая фармакология

АВТОРЕФЕРАТ

диссертации на соискание ученой степени

кандидата медицинских наук

Волгоград - 2014