

На правах рукописи

**СИРОТЕНКО ВИКТОР СЕРГЕЕВИЧ**

**АНТИТРОМБОГЕННЫЕ СВОЙСТВА НОВЫХ ТРИЦИКЛИЧЕСКИХ  
ПРОИЗВОДНЫХ ДИАЗЕПИНО[1,2-А]БЕНЗИМИДАЗОЛА**

14.03.06 Фармакология, клиническая фармакология

**АВТОРЕФЕРАТ**

диссертации на соискание ученой степени  
кандидата фармацевтических наук

Волгоград – 2018

Работа выполнена в ФГБОУ ВО «Волгоградский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации

**Научный руководитель:**

Заведующий кафедрой фармакологии и биоинформатики ВолгГМУ, Академик РАН, Заслуженный деятель науки РФ, доктор медицинских наук, профессор

СПАСОВ Александр Алексеевич

**Научный консультант:**

Профессор кафедры фармакологии и биоинформатики ВолгГМУ, доктор медицинских наук, доцент

КУЧЕРЯВЕНКО Аида Фатиховна

**Официальные оппоненты:**

Заведующий кафедрой фармакологии и клинической фармакологии ФГАОУ ВО «Белгородский государственный национальный исследовательский университет», НИУ «БелГУ», доктор медицинских наук, профессор

ПОКРОВСКИЙ Михаил Владимирович

Заведующая кафедрой управления и экономики фармации ФГБОУ ВО СГМУ Минздрава России, доктор фармацевтических наук, доцент

КРИКОВА Анна Вячеславовна

**Ведущее учреждение:** Федеральное государственное бюджетное военное образовательное учреждение высшего образования "Военно-медицинская академия им. С.М. Кирова" Министерства обороны РФ

Защита диссертации состоится «\_\_\_»\_\_\_\_\_2018г. в \_\_\_\_\_ч. на заседании Диссертационного Совета Д 208.008.02 ФГБОУ ВО «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](http://www.volgmed.ru)) ФГБОУ ВО «Волгоградский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации

Автореферат разослан «\_\_\_»\_\_\_\_\_2018г.

Ученый секретарь  
Диссертационного Совета,  
Доктор биологических наук

Любовь Ивановна Бугаева

## ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

**Актуальность темы исследования.** Сердечно-сосудистые заболевания несколько десятилетий занимают лидирующее положение в общей структуре заболеваемости и смертности во всем мире [Петров В.И., 2014; Чазов Е.И., 2001; Шляхто Е.В., 2014]. По данным Всемирной организации здравоохранения в 2016 году было зарегистрировано более 25 млн. осложнений, связанных с тромбообразованием, таких как ишемическая болезнь сердца, острый коронарный синдром, ишемический инсульт, нарушение периферического кровообращения в конечностях, осложнения сахарного диабета и др. [Бокерия Л.А., 2014; Шимановский Н.Л., 2010; McFadyen J.D., 2018; Stea F., 2017]. Поэтому вопрос профилактики этой патологии является краеугольной проблемой в современной медицине.

Основными элементами, которым принадлежит ключевая роль в процессах тромбообразования, являются тромбоциты [Зиганшин А.У., 2017; Swieringa F., 2017]. Адгезия, активация, агрегация являются основными стадиями образования внутрисосудистого сгустка. Пусковым механизмом процесса тромбообразования служит взаимодействие тромбоцитов с эндогенными проагрегантными веществами и молекулами адгезии (фактор Филлебранда и коллаген) [Кубатиев А.А., 2016; Ghasemzadeh M., 2018].

В результате многоцентровых рандомизированных исследований была установлена высокая значимость антитромбоцитарной терапии в лечении и профилактике ишемической болезни, атеросклероза, цереброваскулярных заболеваний, а также периферических сосудистых заболеваний [Hussain M.A., 2018]. Однако несмотря на эффективность и высокую степень доказательности современные лекарственные средства обладают рядом побочных явлений, ограничивающих их практическое применение. Среди них наиболее характерными являются гастротоксичность, риск кровотечений, развитие резистентности, тромбоцитопении [Khodor S., 2016; Chen W.C., 2017; Guerrero C., 2018; Traby L., 2018].

Согласно литературным данным, производные бензимидазола способны подавлять процессы агрегации тромбоцитов [Chang Y., 2017; Yao W.C., 2017]. На кафедре фармакологии и биоинформатики ВолгГМУ проведено большое количество исследований, демонстрирующих высокий фармакологический потенциал производных бензимидазола.

Исходя из вышеперечисленного, поиск новых соединений с антиагрегантной активностью в ряду производных 2,3,4,5-тетрагидро[1,3]дiazеино[1,2-а]бензимидазола является актуальным.

**Степень разработанности.** Антитромбоцитарная терапия несомненно занимает ведущую роль в вопросах профилактики ишемических нарушений [Arkhipov M.V., 2018]. В настоящее время применяется большой арсенал препаратов группы антиагрегантов, в основе разделения которых лежат принципы доказательной медицины, которые в полной мере учитывают эффективность этих средств и наличие побочных эффектов. Однако, наличие большого количества средств ограничивает их применение в практике из-за частых побочных эффектов. Среди последних наиболее характерными для группы антиагрегантов являются кровотечения, гастротоксичность, резистентность [D'Ascenzo F., 2015]. Терапия антитромбоцитарными средствами требует особого внимания и своевременного предотвращения нежелательных эффектов, а также возможного повторения тромботических состояний.

**Цель исследования.** Поиск ингибиторов агрегации тромбоцитов среди новых производных 2,3,4,5-тетрагидро[1,3]дiazеино[1,2-а]бензимидазола и изучение их антитромбогенной активности.

**Задачи исследования.**

1. Выполнить поиск соединений, проявляющих высокую антиагрегантную активность *invitro* и *invivo* среди новых производных 2,3,4,5-тетрагидро[1,3]дiazеино[1,2-а]бензимидазола.
2. Провести анализ влияния заместителей на уровень антиагрегантной активности в ряду производных 2,3,4,5-тетрагидро[1,3]дiazеино[1,2-а]бензимидазола.
3. Изучить влияние наиболее активного соединения на тромбогенный потенциал крови крыс в норме и при экспериментальной патологии.
4. Провести углубленное изучение влияния соединения-лидера на рецепторные и сигнальные механизмы активации тромбоцитов.
5. Исследовать величину острой суточной токсичности соединений, проявляющих наибольшую антиагрегантную активность, рассчитать их условно-терапевтический индекс.

**Научная новизна исследования.** Впервые было изучено влияние новых производных ряда 2,3,4,5-тетрагидро[1,3]дiazеино[1,2-а]бензимидазола на процессы агрегации тромбоцитов. Впервые установлена взаимосвязь между структурой данных соединений, и их способностью угнетать функциональную активность тромбоцитов.

Выявлено новое соединение под шифром ДАБ-15, проявляющее антиагрегантные свойства и получены данные о его влиянии на сосудисто-тромбоцитарный гемостаз *invitro* и *invivo*. Впервые показано, что соединение ДАБ-15 оказывает антитромботическое действие на различных моделях артериальных и

венозного тромбоза, а также при экспериментальном некоронарогенном инфаркте миокарда.

**Теоретическая и практическая значимость работы.** Результаты установленной зависимости между антиагрегантной активностью новых производных 2,3,4,5-тетрагидро[1,3]дiazеино[1,2-а]бензимидазолаи их химической структурой могут служить основой для направленного поиска новых антиагрегантных соединений. Получены данные о наличии антитромботической активности у соединения ДАБ-15 на моделях экспериментальных тромбозов сонной артерии крыс, индуцированных поверхностной аппликацией хлорида железа (III) и воздействием электрического тока в норме и при экспериментальном некоронарогенном инфаркте миокарда, на модели тромбоза легочных артерий, а также показана высокая антитромботическая активность соединения-лидера в отношении тромбоза глубоких вен. Соединение ДАБ-15 менее выражено влияет на время кровотечения по сравнению с препаратами сравнения ацетилсалициловой кислотой и клопидогрелем. Установлено, что исследуемое вещество обладает двойным антитромбоцитарным механизмом действия.

**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 самцы мышей и крыс. Исследование антитромбогенных свойств соединения ДАБ-15 проведено согласно методическим рекомендациям по доклиническому изучению антиагрегантной и антитромботической активности лекарственных средств [Миронов А.Н., 2012] с использованием методов статистической обработки данных.

**Основные положения, выносимые на защиту**

1. Производные 2,3,4,5-тетрагидро[1,3]дiazеино[1,2-а]бензимидазола-перспективный класс соединений для поиска новых высокоэффективных антиагрегантных средств.
2. Соединение ДАБ-15 оказывает выраженную антиагрегантную активность *invitro* и *invivo*.
3. Вещество ДАБ-15 оказывает антитромботическое действие *invivo* при моделировании артериальных тромбозов сонной артерии крыс (индуцированного поверхностной аппликацией хлорида железа (III), воздействием электрического тока), системного адреналин-коллагенового тромбоза на мышцах и на модели тромбоза нижней поллой вены крыс.
4. Антиагрегантное действие соединения ДАБ-15 связано с ингибированием

синтеза тромбксана  $A_2$  и блокированием гликопротеина VI–рецептора к коллагену.

**Внедрение результатов исследования.** Полученные данные о способности новых соединений ингибировать процессы агрегации тромбоцитов, а также анализ влияния заместителей на уровень антиагрегантной активности в ряду производных 2,3,4,5-тетрагидро[1,3]дiazеино[1,2-*a*]бензимидазола используется при синтезе новых веществ в НИИ ФОХ Южного Федерального университета (г. Ростов на Дону). В работе НИИ фармакологии ВолгГМУ, ГБУ Волгоградского медицинского научного центра, кафедры фармакологии и биоинформатики 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 и качеством выполненных исследований, проведенных на кроликах, мышах и крысах самцах; использованием современных методов и методических подходов, высокотехнологического оборудования в соответствии с рекомендациями по доклиническому изучению лекарственных средств с антитромбогенной активностью, а также критериев статистической обработки данных.

Основные материалы диссертации докладывались и обсуждались на XIX, XX и XXII Региональной конференции молодых исследователей Волгоградской области, 2012 г.; 73, 74, 75 и 76-й открытой научно-практической конференции молодых ученых с международным участием «Актуальные проблемы экспериментальной и клинической медицины», Волгоград, 2015, 2016, 2017, 2018гг.; на III-й Всероссийской научно-практической конференции с международным участием «Беликовские чтения», Пятигорск, 2014; на Объединенном Конгрессе «CongressonOpenIssuesinThrombosisandHemostasis» совместно с 8-ой Всероссийской конференции по клинической гемостазиологии и гемореологии Москва, 2016; на XX Менделеевском съезде, Екатеринбург, 2016.

По теме диссертации опубликовано 22 работ (из них 9 статей 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 2,3,4,5-тетрагидро[1,3] diazepino[1,2-a]бензимидазола – соединения ДАБ-15: 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 158 страницах машинописного текста, иллюстрирована 21 рисунком и 36 таблицами. Состоит из введения, обзора литературы, экспериментальной части (главы 2-5), обсуждения результатов, выводов и списка литературы, включающего 31 отечественных и 138 зарубежных источника.

### ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

**В первой главе** представлен обзор отечественных и зарубежных источников литературы. В первом разделе описаны известные антиагрегантные средства, в основе разделения которых лежат принципы доказательной медицины, включающие эффективность и побочное действие. Второй раздел посвящен потенциальным мишеням для антиагрегационной терапии. В заключительном разделе рассмотрен спектр фармакологической активности производных бензимидазола.

**Во второй главе** диссертации подробно описаны материалы и методы исследования. Объектом исследования послужили 19 новых производных 2,3,4,5-тетрагидро[1,3] diazepino[1,2-a]бензимидазола, синтезированных в НИИ Физической и органической химии Южного Федерального университета к.х.н. Л.Н. Диваевой и к.х.н. В.А. Анисимовой.

Эксперименты были выполнены на 24 кроликах самцах породы "Шиншилла" массой 2,5-3,0 кг, 312 белых беспородных крысах самцах массой 250,0-300,0 г, 130 белых половозрелых беспородных мышях самцах массой 20,0-25,0 г и 12 образцах цельной крови (договор №7 от 3 марта 2017 г. с ГБУЗ "Волгоградский областной центр крови"). Животные содержались в стандартных условиях в соответствии с постановлением Главного государственного санитарного врача РФ от 29.08.2014 №51 «Об утверждении СП 2.2.1.3218-14 «Санитарно-эпидемиологические требования к устройству, оборудованию и содержанию экспериментально-биологических клиник (вивариев)» на специальном гигиеническом наполнителе древесном (ООО «Производственный комплекс «ГлавРезерв»). Температурный режим помещения вивария поддерживался от +18 до +22 С. Кролики содержались

в стандартных лабораторных клетках для крупных грызунов. Крысы - в лабораторных клетках для мелких грызунов.

Влияние тестируемых образцов на функциональную активность тромбоцитов *invitro* и *invivo* изучали согласно методу Born G. в модификации Габбасова В.А. (1989) на двухканальном лазерном анализаторе агрегации тромбоцитов Viola LA-220. Индуктором процессов агрегации тромбоцитов была АДФ (5 мкМ). Препаратом сравнения была выбрана ацетилсалициловая кислота (АСК). В случае экспериментов *invivo* дополнительно изучали препарат сравнения клопидогрел.

Острую токсичность определяли на белых лабораторных мышах-самцах массой 20-23 г. при внутрибрюшинном пути введения. Показателем условной широты терапевтического действия служил условный терапевтический индекс (отношение  $LD_{50}$  к  $IC_{50}$ ).

Антитромботическую активность соединения ДАБ-15 исследовали на моделях тромбозов сонной артерии крыс, индуцированных аппликацией 50% раствора хлорида железа (III) и воздействием электрического тока. Эксперименты проводили на наркотизированных хлоралгидратом (400 мг/кг внутрибрюшинно) крысах самцах через 2 часа после внутривенного введения ДАБ-15 согласно методам Kurz K.D. (1990) и Guglielmi G. (1991) соответственно. В качестве препарата сравнения использовали ацетилсалициловую кислоту. Соединение ДАБ-15, АСК и клопидогрел изучали в дозах  $ED_{50}$  антиагрегантной активности *invivo*, которые составили 5,6; 27 и 7,4 мг/кг соответственно. Для исследования действия ДАБ-15 на время образования тромба использовали ультразвуковой аппарат «Минимакс-Допплер-К» (Санкт-Петербург).

Модель генерализованного адреналин-коллагенового тромбоза на мышах проводили по методу DiMinno 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 ДАБ-15, АСК и клопидогрел вводили внутривенно за 2 часа до моделирования тромбоза в дозах  $ED_{50}$  антиагрегантной активности *invivo*. При проведении морфологического исследования выявляли и оценивали признаки тромбообразования в стенке артериальных сосудов мышечного типа. Документацию гистологических препаратов проводили с помощью цифровой камеры Olympus (Japan, 4.0 мегапикселей) на базе микроскопа Micros (Austria) с использованием объектива x10, x40 и окуляра x10<sup>1</sup>.

---

<sup>1</sup> Выражаем глубокую признательность зав. кафедрой патологической анатомии, д.м.н. А.В.Смирнову за помощь в проведении морфологических исследований.



Моделирование тромбоза *ex vivo* проводили по методу GlobalThrombosisTest (по Горогу). Соединение ДАБ-15 растворяли в дистиллированной воде и вводили внутривенно за 2 часа до начала проведения эксперимента в дозе 5,6 мг/кг ( $ED_{50}$  антиагрегантной активности *in vivo*). Контрольным животным вводился растворитель в эквивалентном объеме. Затем осуществляли забор крови из брюшной аорты шприцем объемом 5 мл, содержащим 20 мкМ АДФ [Yamamoto J., 2014]. Далее кровь немедленно помещали в пробирку Горога (рис. 1) без использования стабилизаторов и консервантов крови. В качестве критерия оценки антитромботического действия исследуемого соединения фиксировали время окклюзии и время лизиса при помощи программного обеспечения GTTDraw2.3.

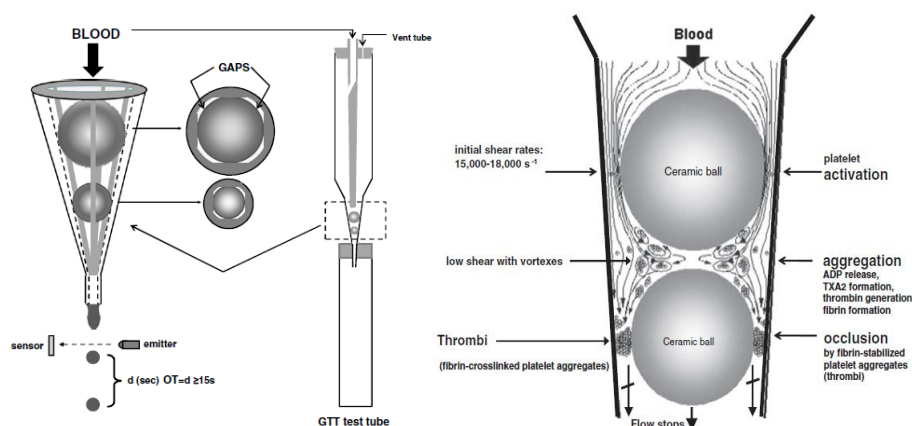


Рис. 1-строение пробирки Горога и принцип метода.

Для моделирования тромбоза нижней поллой вены проводили наркотизацию крыс самцов хлоралгидратом (400 мг/кг внутривенно) проводили послойную лапаротомию, отеснение кишечника, разделение нижней поллой вены и аорты, и осуществляли перевязку нижней поллой вены на 1 см выше места бифуркации. Затем брюшную полость ушивали и через 24 часа крыс повторно наркотизировали и производили лапаротомию с последующим извлечением тромбов из нижней поллой вены. Тромбы взвешивают. Тестируемое соединение ДАБ-15 и препараты сравнения ацетилсалициловая кислота и клопидогрел вводились внутривенно за 2 часа до осуществления перевязки нижней поллой вены, в дозах 5,6, 27 и 7,4 мг/кг соответственно ( $ED_{50}$  антиагрегантной активности *in vivo*). Для чистоты эксперимента включали группу ложно-оперированных животных, которой проводили лапаротомию и ушивание брюшной полости, с целью исключения влияния хирургической манипуляции на образование тромба или гибель животных.

Исследование действия соединения на время кровотока из хвостовой вены мышей проводили согласно методу [Greene T.K., 2010]. Исследуемое соединение ДАБ-15 и препараты сравнения ацетилсалициловая кислота и клопидогрел вводились пластмассовым атравматическим зондом внутрижелудочно за 2 часа до начала эксперимента. Соединение ДАБ-15, ацетилсалициловая кислота и клопидогрел были изучены в дозах ED<sub>50</sub> антиагрегантной активности, полученных в опытах *in vivo*.

Формирование некоронарного инфаркта миокарда проводили изопротеренолом белым беспородным крысам самцам. Изопротеренол вводили двукратно с интервалом 24 часа в дозе 85 мг/кг подкожно в область паховой складки [Mohamed A.R., 2014]. Антитромботическое действие исследовали с использованием модели артериального тромбоза сонной артерии крыс, индуцированного поверхностной аппликацией 50% раствора хлорида железа (III) [Kurz K.D., 1990].

Действие соединения ДАБ-15 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 5 мкМ, коллаген - 4 мкг/мл, арахидоновую кислоту - 50 мкМ, агонист тромбоксановых рецепторов - U46619 - 3 мкМ, PAR1-агонист - 30 мкМ, ристоцетин - 1,25 мг/мл, фактор активации тромбоцитов - 10 мкМ. Исследования выполняли как на богатой тромбоцитами плазме кроликов по способу, описанному Люсовым В.А., Белоусовым Ю.Б. (1971), так и на отмытых тромбоцитах.

Влияние на пуриновые P2Y<sub>1</sub> и P2Y<sub>12</sub> рецепторы тромбоцитов определяли методом малоуглового светорассеяния [Сакаев М.Р., 2000]. Влияние соединения ДАБ-15 на P2Y<sub>1</sub>-рецепторы тромбоцитов оценивали в концентрации 1 мкМ. В аналогичной концентрации проводили исследование вещества сравнения MRS-1279 (высоко селективный блокатор P2Y<sub>1</sub>-рецепторов тромбоцитов). В случае изучения влияния тестируемых образцов на P2Y<sub>12</sub>-рецепторы тромбоцитов в качестве препарата сравнения был использован клопидогрел. Соединение ДАБ-15 и клопидогрел вводились за 2 часа до проведения эксперимента внутрижелудочно.

Влияние соединения ДАБ-15 и препарата сравнения ацетилсалициловой кислоты на уровень тромбоксана B<sub>2</sub> (TxB<sub>2</sub>) и 6-кето простагландина (PGF<sub>1α</sub>) осуществляли методом иммуноферментного анализа с использованием набора на многофункциональном микропланшетном ридере Infinite 200, который воспроизводили спустя 2 часа после однократного внутрижелудочного введения тестируемых образцов с помощью стандартных наборов ELISA kit (Enzo, США) [Rao M.L., 2014].

Исследование влияния на уровень внутриклеточного кальция проводили на кроликах самцах породы Шиншилла. Измерение уровня внутриклеточного кальция проводили дважды: в суспензии отмытых тромбоцитов кроликов, индуцированных тромбином, с помощью флуоресцентного зонда Fura 2-AM в кальциевой ( $\text{CaCl}_2$  1мМ) и безкальциевой среде согласно методике [RyuS.K., 2006] на планшетном ридере TECAN (Австрия).

Влияние на секрецию из плотных гранул тромбоцитов исследовали на цельной крови здоровых добровольцев доноров с использованием люмиагрегометра Chronolog 700 (Chronolog, США) [AmbrosioA.L., 2017]. Исследуемое соединение ДАБ-15 изучали в концентрации 200 мкМ, что в пересчете на человека соответствует дозе 5,6 мг/кг ( $\text{ED}_{50}$  антиагрегантной активности соединения, полученной в опытах *in vivo* на крысах).

Статистические расчеты проводили с помощью встроенных функций программы Microsoft Excel 2007 из пакета Office XP (Microsoft, США) (среднее арифметическое значение, стандартная ошибка средней арифметической), программы «Graph.Pad.Prism5.0» (США). Для статистической обработки данных скрининга использовали непараметрический метод сравнения независимых групп с помощью критерия Манна-Уитни («Graph.Pad.Prism5.0»).

Достоверность эффективности соединения-лидера ДАБ-15 относительно исследуемых препаратов сравнения ацетилсалициловой кислоты и клопидогрела определяли с помощью критерия множественного сравнения one-way ANOVA с поправкой Бонферрони («Graph.Pad.Prism5.0»). Статистическую обработку данных, полученных при гистологических исследованиях, проводили с использованием программы «Видео Тест Морфо-4», для оценки выживаемости животных использовали критерий Фишера.

**В третьей главе** описан скрининг 19 производных диазепино[1,2-*a*]бензимидазола на наличие антиагрегантной активности. Было выявлено 8 соединений, проявивших наибольшую антиагрегантную активность по показателю  $\text{IC}_{50}$ . Величина  $\text{IC}_{50}$  для соединений под шифрами ДАБ-13, ДАБ-12, ДАБ-4, ДАБ-25, ДАБ-9, ДАБ-7 и ДАБ-26, которые составили 7, 11, 13, 19, 21, 73 и 120 мкМ соответственно.

Препарат сравнения ацетилсалициловая кислота в концентрациях 10 мкМ угнетала процесс агрегации тромбоцитов, индуцированный АДФ на 20,8 %, а в концентрации 1 мкМ на 4,6%. Значение  $\text{IC}_{50}$  препарата сравнения составило 104 мкМ.

Наличие данных исследований *in vitro* и острой суточной токсичности позволили в дальнейшем рассчитать условную широту терапевтического действия

(условный терапевтический индекс (УТИ)) (табл. 1). Исследуемое соединение ДАБ-15 по значению УТИ превосходило ацетилсалициловую кислоту в 3,6 раза.

**Таблица 1. Антиагрегантная активность ( $IC_{50}$ ), величина острой суточной токсичности ( $LD_{50}$ ), и условный терапевтический индекс (УТИ) ДАБ-15 и ацетилсалициловой кислоты.**

| № п/п | Тестируемые образцы       | $IC_{50}$ , мкМ | $IC_{50}$ , мг/кг | $LD_{50}$ , мг/кг | УТИ $LD_{50}/EC_{50}$ |
|-------|---------------------------|-----------------|-------------------|-------------------|-----------------------|
| 1.    | ДАБ-15                    | 6,1             | 2,0               | 118               | 59                    |
| 2.    | Ацетилсалициловая кислота | 104             | 18,8              | 310               | 16,48                 |

Далее была изучена зависимость антиагрегантной активности от химической структуры соединений. В ходе проведенного анализа было установлено, что высокий уровень активности обуславливает наличие заместителя только в положении N<sup>11</sup>. Структура заместителя должна содержать бензольное кольцо с атомом галогена в пара-положении и не должна быть пространственно усложнена.

При изучении антиагрегантной активности в условиях целостного организма вещество ДАБ-15 по величине  $ED_{50}$  превосходило препарат сравнения ацетилсалициловую кислоту в 4,8 раза, а препарат сравнения клопидогрел-в 1,3 раза (табл. 2).

**Таблица 2. Антиагрегантная активность соединения ДАБ-15, ацетилсалициловой кислоты и клопидогрела при однократном внутрижелудочном введении белым беспородным крысам самцам на модели АДФ-индуцированной (5 мкМ) агрегации тромбоцитов *in vivo*, ( $M \pm m$ ) (n=6)**

| № п/п | Тестируемые образцы       | Доза, мг/кг | Уровень агрегации тромбоцитов, отн. ед. | $\Delta\%$ ингибирования агрегации тромбоцитов | $ED_{50}$ , мг/кг |
|-------|---------------------------|-------------|---|--|-------------------|
| 1.    | Контроль                  |             | 33,1±2,5                                |  |                   |
| 2.    | ДАБ-15                    | 17          | 4,6±1,2                                 | 85,1±4,1*                                      | 5,6               |
|       |                           | 9           | 11,3±0,7                                | 63,2±2,3*                                      |                   |
|       |                           | 4           | 16,6±1,3                                | 45,8±4,3*                                      |                   |
|       |                           | 2           | 19,4±1,8                                | 36,7±5,8*                                      |                   |
| 3.    | Ацетилсалициловая кислота | 19          | 21,5±1,6                                | 29,7±8,1*                                      | 27                |
|       |                           | 28          | 13,1±0,5                                | 57,3±4*  |                   |
|       |                           | 38          | 10,9±0,8                                | 64,4±5,5*                                      |                   |
| 4.    | Клопидогрел               | 44          | 2,2±0,5                                 | 93,7±1,4*                                      | 7,4               |
|       |                           | 22          | 7,4±1,0                                 | 79,3±2,8*                                      |                   |
|       |                           | 11          | 14,1±0,9                                | 60,4±2,6*                                      |                   |
|       |                           | 5,5         | 20,8±2,6                                | 41,5±7,3*                                      |                   |

\*-данные достоверны по отношению к контролю (критерий Манна-Уитни,  $p \leq 0,05$ )

Примечания: n-число животных в группе

**Четвертая глава** описывает антитромботическое действие соединения-лидера ДАБ-15 на различных моделях артериальных и венозного тромбозов. Так, при моделировании тромбоза сонной артерии аппликацией 50% раствора хлорида железа (III) было установлено, что по величине ED<sub>50</sub> исследуемое соединение превосходило препараты сравнения ацетилсалициловую кислоту и клопидогрел в 5 и 4,8 раза соответственно. В случае инициации тромбоза сонной артерии электрическим током по показателю ED<sub>50</sub> соединение ДАБ-15 в 2,7 раза превосходило ацетилсалициловую кислоту и было сравнимо с клопидогрелем.

По критерию выживаемости на модели системного адреналин-коллагенового тромбоза соединение ДАБ-15 в 1,5 раза превосходит препарат сравнения ацетилсалициловую кислоту и сравнимо с препаратом клопидогрел(рис.2).

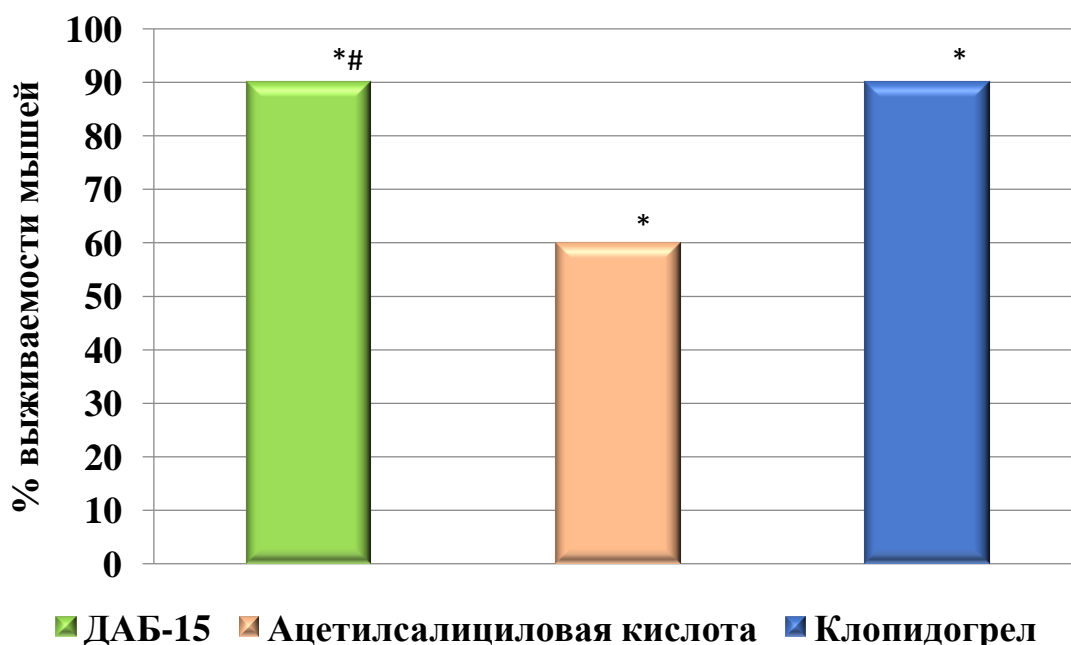


Рис. 2. Влияние соединения ДАБ-15, ацетилсалициловой кислоты и клопидогрела на выживаемость белых беспородных мышей на модели генерализованного адреналин-коллагенового тромбоза

\*-данные достоверны относительно контроля, критерий Фишера ( $p < 0,05$ )

#-данные достоверны относительно препарата сравнения ацетилсалициловой кислоты, критерий Фишера ( $p < 0,05$ )

При гистологической оценке срезов легких мышей было установлено, что по показателю средней площади тромбов на срезах легких мышей соединение-лидер превосходит препараты сравнения ацетилсалициловую кислоту и клопидогрел в 5 и 3,5 раза соответственно. Также соединение тестируемое соединение приводило к снижению периметра тромбов на срезах в 1,9 раза по отношению к ацетилсалициловой кислоте, и в 1,5 в отношении препарата сравнения

клопидогрел. В ходе гистологического исследования также наблюдалось снижение относительной площади тромбов на срезах легких мышей, получавших ДАБ-15. По данному показателю исследуемое соединение превосходило препараты сравнения ацетилсалициловую кислоту и клопидогрел в 1,5 и 1,2 раза соответственно (табл. 4).

**Таблица 3. Влияние соединения ДАБ-15, ацетилсалициловой кислоты и клопидогрела, в дозах ED<sub>50</sub> антиагрегантной активности *in vivo*, на изменение некоторых морфометрических параметров тромбов в сосудах легких мышей (M±m) (n=10)**

| № п/п | Тестируемые образцы       | Доза, мг/кг | Средняя площадь тромбов, мкм <sup>2</sup> | Периметр тромбов, мкм | Относительная площадь тромбов, % |
|-------|---------------------------|-------------|---|-----------------------|----------------------------------|
| 1.    | Контроль                  |             | 13684,6±3662,9                            | 537,6±110,7           | 8,4±1,3                          |
| 2.    | ДАБ-15                    | 5,6         | 918,5±135,7*                              | 218,2±40,0*           | 3,2±0,5*                         |
| 3.    | Ацетилсалициловая кислота | 27          | 4582,1±742,2*                             | 408,1±87,1            | 4,9±0,4*                         |
| 4.    | Клопидогрел               | 7,4         | 3249,9 ±424,2*                            | 320,2±59,9            | 4,0±0,6*                         |

Примечание: n-число животных в группе

\*-данные достоверны по отношению к контролю, критерий one-way ANOVA с поправкой Бонферрони (p<0,05)

В условиях повышенной турбулентности тока крови в тест-системе Горога соединение ДАБ-15 приводило к увеличению времени образования тромба в 1,7 раза по сравнению с группой контроля. При этом тестируемый образец не оказывал влияния на процессы фибринолиза.

В условиях экспериментальной патологии соединение ДАБ-15 продемонстрировало достоверный выраженный антитромботический эффект при однократном внутрижелудочном введении. Среднее время окклюзии в группе животных, получавших тестируемое соединение, составило 27 мин, что почти в 2 раза превосходит контрольные значения.

При однократном внутрижелудочном введении тестируемого образца ДАБ-15 средняя масса тромбов в нижней полой вене крыс составила 44,5 мг, что в 1,5 раза ниже показателей действия препарата сравнения ацетилсалициловой кислоты.

В группе животных, получавших другой препарат сравнения клопидогрел, средняя масса тромбов составила 59,2 мг.

Исследуемое соединение ДАБ-15 достоверно в меньшей степени пролонгировало время кровотечения, чем клопидогрел и недостоверно уступало препарату сравнения ацетилсалициловой кислоте. Клопидогрел приводил к увеличению времени кровопотери на 161,2%. Соединение ДАБ-15 и ацетилсалициловая кислота достоверно пролонгировали исследуемый показатель на 54,8 и 60,4% соответственно (рис. 3).

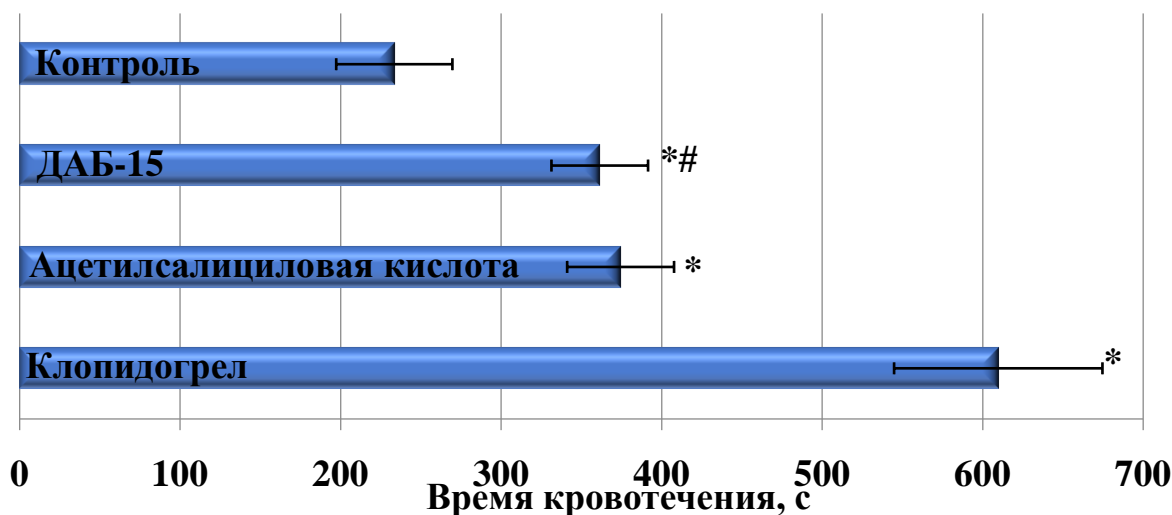


Рис. 3. Влияние соединения ДАБ-15, ацетилсалициловой кислоты и клопидогрела на время кровотечения из хвостовой вены мышей

\*-данные достоверны по отношению к контролю, критерий one-way ANOVA с поправкой Бонферрони ( $p < 0,05$ )

#-данные достоверны по отношению к препарату сравнения клопидогрел, критерий one-way ANOVA с поправкой Бонферрони ( $p < 0,05$ )

**Пятая глава** посвящена детальному изучению механизма антиагрегантной действия соединения ДАБ-15. В таблице 5 приведены значения  $IC_{50}$  антиагрегантной активности ДАБ-15 в отношении различных индукторов агрегации тромбоцитов.

**Таблица 4. Влияние соединения ДАБ-15 на агрегацию тромбоцитов, вызванную различными индукторами**

| № п/п | Индукторы агрегации тромбоцитов | Значение $IC_{50}$ для соединения ДАБ-15, мкМ |
|-------|---------------------------------|---|
| 1.    | АДФ                             | 6,1   |
| 2.    | Адреналин                       | 7,9   |
| 3.    | Коллаген                        | 0,99  |
| 4.    | Арахидоновая кислота            | 9,2   |
| 5.    | Ристоцитин                      | 0   |
| 6.    | U46619                          | 0   |

|    |              |     |
|----|--------------|-----|
| 7. | PAR1-агонист | 7,5 |
| 8. | ФАТ          | 0   |

Наиболее выраженную активность соединение ДАБ-15 проявило в отношении агрегации тромбоцитов, индуцированной коллагеном, при этом значение IC<sub>50</sub> составило 990 нМ.

Методом иммуноферментного анализа, было проведено исследование влияния соединения ДАБ-15 на баланс тромбоксана В<sub>2</sub> и 6-кето - простагландина. В результате проведенных экспериментов показано, что исследуемое соединение приводит к снижению выработки тромбоксана В<sub>2</sub>, превосходя при этом препарат сравнения ацетилсалициловую кислоту в 1,2 раза, а также незначительно увеличивает уровень 6-кето - простагландина (табл. 5).

**Таблица 5. Влияние соединения ДАБ-15 и ацетилсалициловой кислоты на продукцию тромбоксана В<sub>2</sub> в тромбоцитах крыс, стимулированных арахидоновой кислотой, а также на уровень продукции 6-кето-простагландина в дозах ED<sub>50</sub> антиагрегантной активности *in vivo* (M±m) (n=6)**

| № п/п | Тестируемые образцы       | Доза, мг/кг | Уровень ТхВ <sub>2</sub> , пкг/мл | Уровень PGF <sub>1α</sub> , пкг/мл |
|-------|---------------------------|-------------|-----------------------------------|------------------------------------|
| 1.    | Контроль                  |             | 9250,9±790,3                      | 22602,6±998,5                      |
| 2.    | ДАБ-15                    | 5,6         | 4271,8±494,1 <sup>*#</sup>        | 27805,7±1304,5 <sup>**</sup>       |
| 3.    | Ацетилсалициловая кислота | 27          | 5495,3±315,2 <sup>*</sup>         | 12507,6±1937,4 <sup>*</sup>        |

\*-данные достоверны относительно контроля, критерий one-wayANOVA (поправка Бонферони) (p<0,0001)

\*\*-данные достоверны относительно АСК, критерий one-wayANOVA (поправка Бонферони) (p<0,0001)

#-данные достоверны относительно ацетилсалициловой кислоты, критерий one-wayANOVA (поправка Бонферони) (p<0,0001)

Примечания: n-число животных в группе

Различные пути активации тромбоцитов сводятся к увеличению концентрации внутриклеточного кальция, секретируемого из плотных гранул хранения. При участии ионов кальция происходят процессы агрегации тромбоцитов [NgoA.T.P., 2018]. В результате исследования было выявлено, что соединение ДАБ-15 дозозависимо снижает уровень общего кальция в тест-системе с физиологическим содержанием кальция и также приводит к снижению концентрации внутриклеточного кальция в безкальциевой среде (рис. 4).



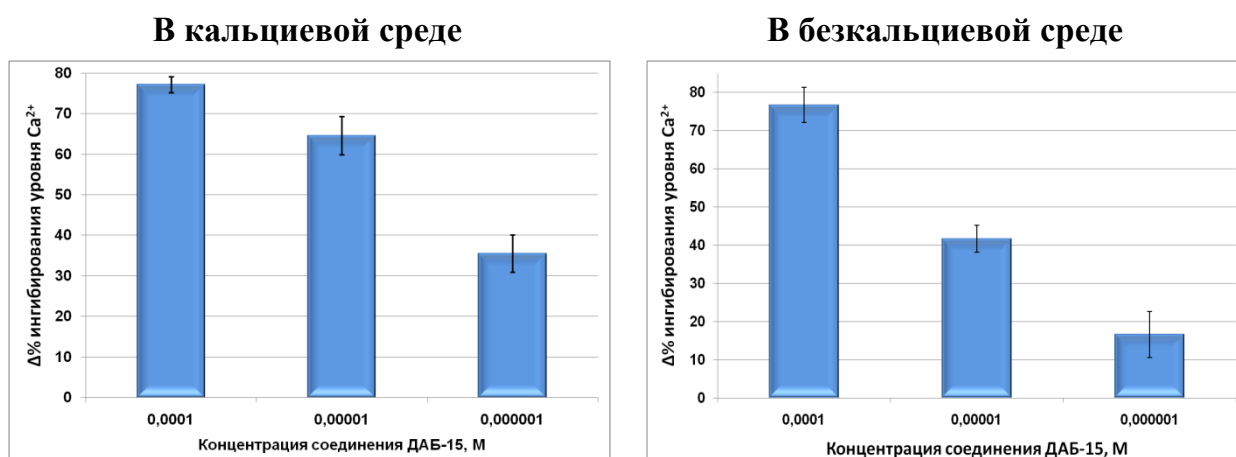


Рис. 4. Влияние соединения ДАБ-15 на общий и внутриклеточный уровень кальция в тромбоцитах кроликов

Изученное соединение снижает уровень секреции АТФ из плотных гранул тромбоцитов. Так на модели АДФ-индуцированной агрегации тромбоцитов люминесцентным методом детекции соединение ДАБ-15 в 1,7 раза уменьшает выброс АТФ из гранул хранения по сравнению с контрольными значениями (рис. 5).

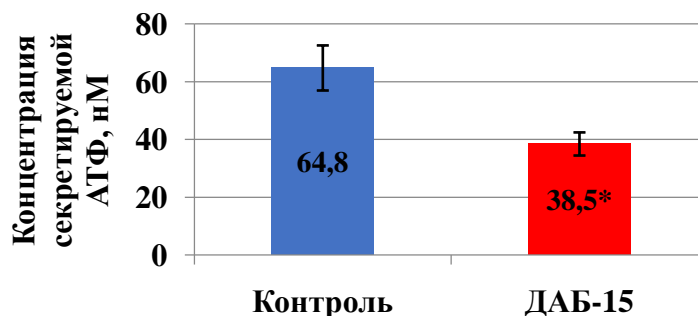


Рис. 5 Влияние соединения ДАБ-15 на секрецию АТФ из гранул хранения тромбоцитов  
Примечания:\*-данные достоверны относительно контроля, критерий Манна-Уитни ( $p < 0,05$ )

В ходе исследования влияния соединения ДАБ-15 на процессы адгезии тромбоцитов было установлено дозозависимое ингибирование данного процесса на микрофибриллах коллагена.  $IC_{50}$  для соединения ДАБ-15 составила 0,5 мкМ.

Глава 6 посвящена обсуждению полученных результатов. Наличие дозозависимого снижения амплитуды агрегации тромбоцитов позволило рассчитать для соединений ДАБ-4, ДАБ-7, ДАБ-9, ДАБ-12, ДАБ-13, ДАБ-15, ДАБ-25 и ДАБ-26 значение  $IC_{50}$ . В результате наибольшую антиагрегантную активность проявило соединение ДАБ-15, которое по значению  $IC_{50}$  превосходило препарат сравнения ацетилсалициловую кислоту по показателю в 17 раз. Поэтому данное

соединение было выбрано для дальнейшего детального изучения.

Важным показателем лекарственных средств является величина их токсичности, поэтому для исследуемого соединения методом регрессионного анализа было рассчитано значение  $LD_{50}$ , которая составила 118 мг/кг. Исходя из величины острой токсичности при внутрибрюшинном пути введения тестируемого соединения и согласно классификации токсичности химических веществ в соответствии с ГОСТом 12.1.007-76 его можно отнести к 3 классу умеренно-токсичных веществ [Березовская И.В., 2003] [Саноцкий И.В., 1975]. В результате проведенных экспериментов показана высокая антитромботическая активность соединения ДАБ-15 на различных моделях артериальных и венозного тромбозов.

Величина  $IC_{50}$  для соединения ДАБ-15 в отношении ингибирования коллаген-индуцированной агрегации тромбоцитов составила 0,99 мкМ. Ключевую роль в процессах адгезии и агрегации тромбоцитов играет коллаген. Стимулируя специфический гликопротеиновый рецептор  $GPVI$  коллаген активирует внутриклеточные ферменты  $PLC\gamma 2$  и  $PLC\beta 2$ , которые катализируют два различных сигнальных пути внутри тромбоцита. Процессы агрегации тромбоцитов и их адгезия протекают в зависимости от концентрации коллагена [Fuentes M., 2018; Consonni A., 2012]. Такой уровень активности позволяет косвенно предположить, что тестируемый образец ДАБ-15 является блокатором  $GPVI$  рецепторов тромбоцитов.

Начальным этапом в процессе тромбообразования является способность тромбоцитов к адгезии на сосудистой стенке. На мембране тромбоцитов имеется два основных гликопротеиновых рецептора адгезии- $GP VI$  и  $Ib/IX/V$ . Связующим звеном между сосудистой стенкой и рецептором адгезии являются микрофибриллы коллагена [Mangin P.H., 2018]. Изучение влияния соединения ДАБ-15 на способность тромбоцитов к адгезии позволило выявить, что тестируемый образец дозозависимо ингибировал адгезию тромбоцитов на микрофибриллах коллагена. Учитывая наличие дозозависимого эффекта, была рассчитана величина  $IC_{50}$  для соединения ДАБ-15, которая составила 0,5 мкМ.

Исходя из полученных данных о выраженном влиянии соединения ДАБ-15 на агрегацию тромбоцитов, индуцированную арахидоновой кислотой *invitro* и уровень проагрегант тромбоксана  $A_2$  при исследовании ИФА-методом можно заключить, что данное вещество может оказывать влияние на синтез тромбоксана  $A_2$ . Также высокую активность соединения ДАБ-15 проявило на модели коллаген-индуцированной агрегации тромбоцитов *invitro*. Блокирующее действие в отношении указанного индуктора может косвенно свидетельствовать об антагонизме к гликопротеиновым рецепторам адгезии ( $GPVI$ ) к коллагену, что

подтверждает также снижение способности тромбоцитов к адгезии на микрофибриллах коллагена под воздействием исследуемого соединения. Таким образом, можно предположить, что соединение ДАБ-15 проявляет комбинированное антиагрегантное действие связанное с ингибированием синтеза тромбосана  $A_2$  и блокированием рецептора к коллагену.

### Выводы

1. Новый химический класс 2,3,4,5-тетрагидро[1,3]дiazеино[1,2-*a*]бензимидазола обладает антиагрегантными свойствами. В ходе проведения скрининговых исследований 19 производных 2,3,4,5-тетрагидро[1,3]дiazеино[1,2-*a*]бензимидазола было выявлено соединение-лидер под шифром ДАБ-15, проявляющее высокую антиагрегантную активность *invitro* и *invivo*.
2. Высокий уровень антиагрегантной активности обуславливает наличие заместителя в положении  $N^{11}$ . Структура заместителя должна содержать ароматическое кольцо с атомом галогена в пара-положении, о чем свидетельствуют данные подструктурного анализа производных 2,3,4,5-тетрагидро[1,3]дiazеино[1,2-*a*]бензимидазола.
3. Исследуемое соединение ДАБ-15 проявляет выраженную антитромботическую активность на модели тромбоза сонной артерии крыс, индуцированного 50 %-ным раствором хлорида железа (III) соединение-лидер по показателю  $ED_{50}$  превосходит препараты сравнения ацетилсалициловую кислоту и клопидогрел в 5 и 4,8 раза соответственно. По значению  $ED_{50}$  ДАБ-15 было активнее ацетилсалициловой кислоты в 2,7 и сравнимо с клопидогрелем на модели тромбоза сонной артерии крыс, индуцированного электрическим током. На модели генерализованного адреналин-коллагенового тромбоза соединение ДАБ-15 также продемонстрировало высокую антитромботическую активность по критерию выживаемости мышей и способности снижать морфометрические параметры тромбов в сосудах легких мышей. Так, соединение-лидер приводило к снижению средней площади тромбов на 93,3%, в то время как ацетилсалициловая кислота и клопидогрел уменьшали данный показатель на 66,5 и 76,3% соответственно. Периметр тромбов снижался под влиянием соединения ДАБ-15, ацетилсалициловой кислоты и клопидогрела на 59,4, 24,1 и 40,4% соответственно.
4. Соединение ДАБ-15 приводит к значительному снижению массы тромбов, извлеченных из нижней полых вен крыс на модели тромбоза глубоких вен.
5. При экспериментальном моделировании некоронарного инфаркта миокарда было установлено, что соединение ДАБ-15 обладает более эффективным антитромботическим действием, чем ацетилсалициловая кислота и клопидогрел.

6. Соединение ДАБ-15 проявляет выраженную активность в отношении индуктора агрегации тромбоцитов коллагена, а также препятствует процессам адгезии тромбоцитов на микрофибриллах коллагена.

7. Исследуемое вещество значительно снижает уровень тромбоксанаВ<sub>2</sub> по сравнению с ацетилсалициловой кислотой, выражено блокирует агрегацию тромбоцитов, индуцированную коллагеном, а также процессы адгезии тромбоцитов на микрофибриллах коллагена, что указывает на наличие у соединения ДАБ-15 двойного антитромбоцитарного механизма действия.

### **ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ**

1. Созданная методология поиска соединений с антиагрегантной активностью может быть использована при синтезе новых веществ и для направленного поиска новых антитромбоцитарных соединений.

2. Рекомендовано проведение фармакокинетических и токсикологических исследований тестируемого образца ДАБ-15 с целью детализации фармакотерапевтического эффекта.

### **СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ**

*Статьи в ведущих рецензируемых научных журналах, рекомендованных Минобрнауки РФ:*

1. Антиагрегантная активность *in vitro* новых производных бензимидазола/Кучерявенко А. Ф., Сиротенко В.С., Гайдукова К. А., Матохин Д. Г., Спасов А. А., Диваева Л. Н., Анисимова В. А., Морковник А. С.//Вестник ВолгГМУ, №1, 2015г., с.89-92.

2. Прототропное равновесие в 1(11)H<sub>2,3,4,5</sub>тетрагидро[1,3]дiazеино[1,2a]бензимидазоле, синтез и фармакологические свойства его N замещенных производных/Морковник А. С., Спасов А. А., Кузьменко Т. А., Кучерявенко А. Ф., Диваева Л. Н., Кошчиенко Ю. В., Анисимова В. А., Кузьмина Л. Г., Рогова Н. В., Кузнецова В. А., Чепляева Н. И., Соловьева О. А., Таран А. С., Воробьев Е. С., Алешин Д. А., Сиротенко В.С., Гайдукова К. А., Богославцева М. В.//Известия Академии наук. Серия химическая", №11, 2015г.

3. Prototropic equilibrium in 1(11)H<sub>2,3,4,5</sub>tetrahydro[1,3]diazepino[1,2-a]benzimidazole, synthesis and pharmacological properties of its N substituted derivatives/A. S. Morkovnik, A. A. Spasov, T. A. Kuz'menko, A. F.Kucheryavenko, L. N. Divaeva, Yu. V. Koshchienko, V. A. Anisimova, L. G. Kuzmina, N. V. Rogova, V. A. Kuznetsova, N. I. Chepljaeva, O. A. Solovyova, A. S. Taran, E. S. Vorobiev, D. A.

Aleshin, V. S. **Sirotenko**, K. A. Gajdukova, M. V. Bogoslavtseva//Russian Chemical Bulletin, International Edition, Vol. 64, No. 11, pp. 2622—2631, November, 2015

4. Производные 2,3,4,5-тетрагидро[1,3]дiazеино[1,2-а]-бензимидазола, обладающие антиагрегантной активностью/Кучерявенко А.Ф., Салазникова О.А., **Сиротенко В.С.**, Гайдукова К.А., Спасов А.А., Диваева Л.Н., Кузьменко Т.А., Анисимова В.А.//Вопросы биологической, медицинской и фармацевтической химии, №8, 2015г., с.9-13.

5. Антиагрегантная активность нового трициклического производного 2,3,4,5-тетрагидро[1,3]дiazеино[1,2-а]бензимидазола/Спасов А.А., Кучерявенко А.Ф., Анисимова В.А., **Сиротенко В.С.**, Гайдукова К.А., Диваева Л.Н., Кузьменко Т.А., Морковник А. С.//Экспериментальная и клиническая фармакология", №5, Т. 79, С.29-32, 2016.

6. Анти тромботическая активность нового производного тетрагидро(1,3)дiazеино(1,2-а)бензимидазола соединения ДАБ-15 на модели артериального тромбоза/Спасов А.А., **Сиротенко В.С.**, Гайдукова К.А., Кучерявенко А.Ф., Морковник А.С., Анисимова В.А., Диваева Л.Н., Кузьменко Т.А.//Вестник ВолгГМУ, №1, 2016г., с.56-58.

7. Анти тромботическая активность нового производного diaзепинобензимидазола соединения ДАБ-15/А.А.Спасов, А.Ф.Кучерявенко, **В.С.Сиротенко**, К.А.Гайдукова, А.С.Морковник, В.А.Анисимова, Л.Н.Диваева, Т.А.Кузьменко//Бюллетень экспериментальной биологии и медицины, 2016, Том 162, № 11.

8. Анти тромбогенная активность соединения ДАБ-15 на экспериментальных моделях артериального и венозного тромбозов/**Сиротенко В.С.**, Гайдукова К.А.//Прил. к жур. Тромбоз, гемостаз и реология, Т.67, №S3, С. 385-386, 2016.

9. Анти тромботическая активность нового трициклического производного diaзепино[1,2-а]бензимидазола на модели тромбоза легочных артерий/А.А. Спасов, А.Ф. Кучерявенко, А.В. Смирнов, **В.С. Сиротенко**, Н.Г. Паньшин, К.А. Гайдукова, В.А. Анисимова, Л.Н. Диваева, Т.А. Кузьменко, А.С. Морковник//Бюллетень экспериментальной биологии и медицины-2016. Т. 162. № 11. С. 585-588.

10. Antithrombotic activity of dab-15, a novel diazepinobenzimidazole compound/Spasov A.A., Kucheryavenko A.F., **Sirotenko V.S.**, Gaidukova K.A., Morkovnik A.S., Anisimova V.A., Divaeva L.N., Kuz'menko T.A.//Bulletin of Experimental Biology and Medicine. 2017. Т. 162. № 5. С. 636-639.

*Статьи в журналах и сборниках материалов конференций:*

11. Поиск новых соединений с антиагрегантной активностью в ряду тетрагидродиазепина[1,2-а]бензимидазола/**Сиротенко В.С.**, Гайдукова К. А., Антонов А. С., Устинов Д. В.//Материалы 72-й открытой научно-практической конференции молодых ученых и студентов ВолгГМУ с международным участием «Актуальные проблемы экспериментальной и клинической медицины», 2014г., стр. 255.
12. Поиск новых соединений с антиагрегантной активностью среди производных диазепинобензимидазола/**Сиротенко В.С.**, Гайдукова К. А.//Материалы XIX Региональной конференции молодых исследователей Волгоградской области , 2014г., стр. 50-51.
13. Антиагрегантная активность новых производных бензимидазола *in vivo*/**Сиротенко В.С.**, Гайдукова К. А.//Материалы 73-й открытой научно-практической конференции молодых ученых и студентов ВолгГМУ с международным участием «Актуальные проблемы экспериментальной и клинической медицины», стр. 246, 2015г.
14. Исследование антиагрегантной активности нового трициклического производного бензимидазола *in vivo*/**Сиротенко В.С.**, Гайдукова К. А., Матохин Д. Г., Кучерявенко А. Ф., Спасов А. А., Анисимова В. А., Диваева Л. Н., Морковник А. С.//Материалы X Международной конференции "Микроциркуляция и гемореология" (Клиника и эксперимент: из лаборатории к постели больного). - Ярославль, 2015. - с. 90.
15. Влияние трициклических производных бензимидазола на АДФ-индуцированную агрегацию тромбоцитов *in vitro*/**Сиротенко В.С.**, Гайдукова К. А., Матохин Д. Г., Кучерявенко А. Ф., Спасов А. А., Анисимова В. А., Диваева Л. Н., Морковник А. С.//Материалы X Международной конференции "Микроциркуляция и гемореология" (Клиника и эксперимент: из лаборатории к постели больного). - Ярославль, 2015. - с. 91.
16. Антиагрегантная активность производных диазепино[1,2-а]бензимидазола/**Сиротенко В.С.**, Гайдукова К. А., Антонов А. С., Устинов Д. В.//Материалы X международной (XIX Всероссийской Пироговской конференции студентов и молодых ученых), Москва, 2015г., с.393.
17. Влияние соединения ДАБ-15 на тромбоцитарно-сосудистый гемостаз/**Сиротенко В.С.**, Гайдукова К. А., Кучерявенко А. Ф., Анисимова В. А., Диваева Л. Н.//Материалы IV Всероссийской научно-практической конференции "Беликовские чтения", г. Пятигорск, 2015., с. 169-170.
18. Поиск новых соединений с антиагрегантной активностью в ряду бензимидазолов/**Сиротенко В.С.**, Гайдукова К. А., Таха М. Х., Родионова Д.

С.//Материалы 74-ой открытой научно-практической конференции молодых ученых и студентов ВолгГМУ с международным участием «Актуальные проблемы экспериментальной и клинической медицины», 2016г.

19. Антиагрегантная активность соединения ДАБ-15/Спасов А.А., Кучерявенко А.Ф., **Сиротенко В.С.**, Гайдукова К.А., Морковник А.С., Анисимова В.А., ДиваеваЛ.Н., Кузьменко Т.А.//Материалы "XX Менделеевский съезд по общей и прикладной химии", Екатеринбург, 2016, с.561.

20. Антитромбогенная активность соединения ДАБ-15 на экспериментальных моделях артериального и венозного тромбозов/**Сиротенко В.С.**, Гайдукова К.А.//Материалы "3-го Всемирного Конгресса "ControversiesinThrombosisandHemostasis (CiTH)" совместно с 8-й Всероссийской конференцией по клинической гемостазиологии и гемореологии", Москва, 2016г.

21. Антитромбогенные свойства нового производного диазепинобензимидазола/**Сиротенко В.С.**,К.А.Гайдукова//Книга: XX Региональная конференция молодых исследователей Волгоградской области, Под ред. В.И.Петрова, 2016, С.39-41.

22. Влияние нового производного диазепино[1,2-а]бензимидазола соединения ДАБ-15 на агрегацию тромбоцитов, вызванную различными индукторами/**Сиротенко В.С.**,К.А.Гайдукова, Д.С.Липов//Материалы 75-ой открытой научно-практической конференции молодых ученых и студентов ВолгГМУ с международным участием «Актуальные проблемы экспериментальной и клинической медицины», 2017г.

## СПИСОК УСЛОВНЫХ ОТНОШЕНИЙ

АДФ – аденозиндифосфорная кислота

АСК - ацетилсалициловая кислота

АТФ - аденозинтрифосфорная кислота

АЦ - аденилатциклаза

ГП - гликопротеины

ДАГ - диацилглицерол

ИФ<sub>3</sub> - инозитол-1,4,5-трифосфат

ПГ - простагландины

ПГИ<sub>2</sub> - простаглицин

ТХА<sub>2</sub> -тромбоксан А<sub>2</sub>

цАМФ - циклический аденозинмонофосфат

цГМФ - циклический гуанозинмонофосфат

ЦОГ - циклооксигеназа

ФАТ - фактор активации тромбоцитов

ЭГТА - этиленгликольтетраацетат натрия

IC<sub>50</sub>- ингибирующая концентрация, в которой вещество ингибирует процессы агрегации тромбоцитов на 50%

ED<sub>50</sub> - эффективная доза, в которой вещество ингибирует процессы агрегации тромбоцитов (продолжает время окклюзии сонной артерии) на 50%

PAR - протеазо-активированные рецепторы

U 46619 - агонист тромбоксановых рецепторов



**СИРОТЕНКО ВИКТОР СЕРГЕЕВИЧ**

**АНТИТРОМБОГЕННЫЕ СВОЙСТВА НОВЫХ ТРИЦИКЛИЧЕСКИХ  
ПРОИЗВОДНЫХ ДИАЗЕПИНО[1,2-А]БЕНЗИМИДАЗОЛА**

14.03.06 Фармакология, клиническая фармакология

**АВТОРЕФЕРАТ**

диссертации на соискание ученой степени  
кандидата фармацевтических наук

Подписано в печать \_\_\_\_\_ г. Формат 60x84 1/16. Бумага офсетная.  
Печать трафаретная. Печ. Л. 1,0. Тираж 100 экз. Заказ № \_\_\_\_.

Отпечатано в типографии издательства «ВолгГМУ»  
400006, г. Волгоград, ул. Дзержинского, 45