

[https://doi.org/10.33380/2305-2066-2023-12-4\(1\)-1634](https://doi.org/10.33380/2305-2066-2023-12-4(1)-1634)
УДК 615.071 + 615.072 + 615.074 + 615.273.53



Оригинальная статья / Research article

Разработка методов идентификации БАВ, проявляющего антикоагулянтную активность

Е. С. Березина, Е. А. Непогодина, Ф. В. Собин✉, Н. А. Пулина, Н. В. Дозморова

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Пермская государственная фармацевтическая академия» Министерства здравоохранения Российской Федерации (ФГБОУ ВО ПГФА Минздрава России). 614990, Россия, г. Пермь, ул. Полевая, д. 2

✉ Контактное лицо: Собин Федор Владимирович. E-mail: fff-2005@mail.ru

ORCID: Е. С. Березина – <https://orcid.org/0000-0002-4122-2414>; Е. А. Непогодина – <https://orcid.org/0000-0002-0572-8215>;
Ф. В. Собин – <https://orcid.org/0000-0002-8416-6934>; Н. А. Пулина – <https://orcid.org/0000-0002-0435-0484>;
Н. В. Дозморова – <https://orcid.org/0000-0001-8768-860X>.

Статья поступила: 01.11.2023

Статья принята в печать: 12.12.2023

Статья опубликована: 27.12.2023

Резюме

Введение. Сосудистые патологии, связанные с тромбозом, являются распространенными осложнениями и ведущей причиной заболеваемости и смертности среди пациентов различных нозологических групп. Ранее нами получены водорастворимые 2-гидрокси-4-оксо-4-Р-2-бутеноаты тиазолиаммония, проявляющие существенный фармакологический эффект на систему свертывания крови. Обнаружено соединение с выраженным антикоагулянтным действием при различных путях введения. Представляло интерес изучить методы подтверждения подлинности потенциального антикоагулянта.

Цель. Разработка методов идентификации потенциального антикоагулянта 2-гидрокси-4-оксо-(4-хлорфенил)-2-бутеноата тиазолиаммония.

Материалы и методы. Исследования проводились на трех сериях субстанции 2-гидрокси-4-оксо-(4-хлорфенил)-2-бутеноата тиазолиаммония, полученных в лабораторных условиях. Температуру плавления БАВ измеряли капиллярным методом согласно ГФ XV ОФС.1.2.1.0011 «Температура плавления». Растворимость субстанции определяли в соответствии с ГФ XV ОФС.1.2.1.0005 «Растворимость». Спектры поглощения в ИК-области сняты в соответствии с ГФ XV ОФС.1.2.1.1.0002 «Спектрофотометрия в средней инфракрасной области». Спектры поглощения в УФ-области сняты в соответствии с ГФ XV ОФС.1.2.1.1.0003 «Спектрофотометрия в ультрафиолетовой и видимой областях». При проведении качественных реакций были использованы реактивы, приготовленные в соответствии с ГФ XV ОФС.1.3.0001 «Реактивы. Индикаторы».

Результаты и обсуждение. Проведено описание субстанции. Определена температура плавления и растворимость соединения. Сняты спектры в ИК- и УФ-области спектра. Подобраны методики, и проведены качественные реакции подлинности потенциального антикоагулянта.

Заключение. Исследованные характеристики нового БАВ могут быть использованы при стандартизации субстанции по показателям «Описание», «Растворимость», «Идентификация», «Температура плавления». Данные показатели характеризуют физико-химические свойства 2-гидрокси-4-оксо-(4-хлорфенил)-2-бутеноата тиазолиаммония, и в дальнейшем будут включены в проект НД на субстанцию.

Ключевые слова: производные 4-Р-2-гидрокси-4-оксо-2-бутеновых кислот, антикоагулянтная активность, методы идентификации

Конфликт интересов. Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

Вклад авторов. Е. С. Березина, Е. А. Непогодина и Н. В. Дозморова произвели подбор возможных методов идентификации, осуществили проведение опытов по подтверждению подлинности 2-гидрокси-4-оксо-(4-хлорфенил)-2-бутеноата тиазолиаммония, участвовали в написании статьи. Ф. В. Собин синтезировал фармакологически активный компонент, участвовал в проведении эксперимента, принимал непосредственное участие в написании и корректировке статьи. Н. А. Пулина осуществляла научное руководство проведения исследований, корректировала и рецензировала статью. Данная статья была написана и согласована при участии всех авторов.

Финансирование. Исследование выполнено при финансовой поддержке в рамках государственного задания Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Пермская государственная фармацевтическая академия» Министерства здравоохранения Российской Федерации (шифр 720000Ф.99.1.БН62АБ06000), 2023 год.

Для цитирования: Березина Е. С., Непогодина Е. А., Собин Ф. В., Пулина Н. А., Дозморова Н. В. Разработка методов идентификации БАВ, проявляющего антикоагулянтную активность. *Разработка и регистрация лекарственных средств*. 2023;12(4–1):78–83. [https://doi.org/10.33380/2305-2066-2023-12-4\(1\)-1634](https://doi.org/10.33380/2305-2066-2023-12-4(1)-1634)

Development of Methods for Identifying BAS Exhibiting Anticoagulant Activity

Elena S. Berezina, Ekaterina A. Nepogodina, Fedor V. Sobin✉,
Natalya A. Pulina, Natalya V. Dozmorova

Federal State Budgetary Educational Institution of Higher Education "Perm State Pharmaceutical Academy" of the Ministry of Health of the Russian Federation. 2, Poleyaya str., Perm, 614990, Russia

✉ Corresponding author: Fedor V. Sobin. E-mail: fff-2005@mail.ru

ORCID: Elena S. Berezina – <https://orcid.org/0000-0002-4122-2414>; Ekaterina A. Nepogodina – <https://orcid.org/0000-0002-0572-8215>;
Fedor V. Sobin – <https://orcid.org/0000-0002-8416-6934>; Natalya A. Pulina – <https://orcid.org/0000-0002-0435-0484>;
Natalya V. Dozmorova – <https://orcid.org/0000-0001-8768-860X>.

Received: 01.11.2023

Revised: 12.12.2023

Published: 27.12.2023

© Березина Е. С., Непогодина Е. А., Собин Ф. В., Пулина Н. А., Дозморова Н. В., 2023

© Berezina E. S., Nepogodina E. A., Sobin F. V., Pulina N. A., Dozmorova N. V., 2023

Abstract

Introduction. Vascular pathologies associated with thromboembolism are common complications and the leading cause of morbidity and mortality among patients of various nosological groups. Previously, we obtained water-soluble 2-hydroxy-4-oxo-4-R-2-butenates of hetarylammonium, which exhibit a significant pharmacological effect on the blood coagulation system». A compound with a pronounced anticoagulant effect was found in various routes of administration. It was of interest to study various methods of confirming the authenticity of a potential anticoagulant.

Aim. Development of methods for identification of a potential anticoagulant 2-hydroxy-4-oxo-(4-chlorophenyl)-2-butenate of thiazolinammonium.

Materials and methods. The studies were carried out on three series of the substance 2-hydroxy-4-oxo-(4-chlorophenyl)-2-butenate of thiazolinammonium obtained in laboratory conditions. The melting point of BAS was measured by the capillary method according to GF XV OFS.1.2.1.0011 "Melting point". The solubility of the substance was determined in accordance with GF XV of the OFS.1.2.1.0005 "Solubility". The absorption spectra in the IR region were taken in accordance with GF XV of the OFS.1.2.1.1.0002 "Spectrophotometry in the middle infrared region". Absorption spectra in the UV region were taken in accordance with GF XV of the OFS.1.2.1.1.0003 "Spectrophotometry in the ultraviolet and visible regions". In carrying out qualitative reactions, reagents prepared in accordance with GF XV of the OFS were used.1.3.0001 "Reagents. Indicators".

Results and discussion. A description of the substance has been carried out. The melting point and solubility of the compound were determined. Spectra in the IR and UV regions of the spectrum were taken. Methods were selected, and qualitative reactions of authenticity of a potential anticoagulant were carried out.

Conclusion. The studied characteristics of the new BAS can be used in the standardization of the substance according to the indicators "Description", "Solubility", "Identification", "Melting point". These indicators characterize the physico-chemical properties of 2-hydroxy-4-oxo-(4-chlorophenyl)-2-butenate of thiazolinammonium, and will be included in the draft regulatory documentation for the substance in the future.

Keywords: derivatives of 4-R-2-hydroxy-4-oxo-2-butenic acids, anticoagulant activity, identification methods

Conflict of interest. The authors declare that they have no obvious and potential conflicts of interest related to the publication of this article.

Contribution of the authors. Elena S. Berezina, Ekaterina A. Nepogodina and Natalya V. Dozmorova selected possible identification methods, carried out experiments to confirm the authenticity of 2-hydroxy-4-oxo-(4-chlorophenyl)-2-butenate of thiazolinammonium, participated in the writing of the article. Fedor V. Sobin synthesized the pharmacologically active component, participated in the Natalya A. Pulina was directly involved in the writing and correction of the article, carried out the scientific management of the research, corrected and reviewed the article. This article was written and agreed upon with the participation of all the authors.

Funding. The study was carried out with financial support within the framework of the state task of the Federal State Budgetary Educational Institution of Higher Education "Perm State Pharmaceutical Academy" of the Ministry of Health of the Russian Federation (code 720000Ф.99.1.5Н62АБ06000), 2023.

For citation: Berezina E. S., Nepogodina E. A., Sobin F. V., Pulina N. A., Dozmorova N. V. Development of methods for identifying BAS exhibiting anticoagulant activity. *Drug development & registration*. 2023;12(4–1):78–83. (In Russ.) [https://doi.org/10.33380/2305-2066-2023-12-4\(1\)-1634](https://doi.org/10.33380/2305-2066-2023-12-4(1)-1634)

ВВЕДЕНИЕ

Венозная тромбоземболия, включающая тромбоз глубоких вен и тромбоземболию легочной артерии, является распространенным осложнением и ведущей причиной заболеваемости и смертности среди пациентов различных нозологических групп. Одним из вариантов предупреждения данных патологий является прием пероральных антикоагулянтов [1–6]. Известно, что производные 2,4-диоксобутановых кислот являются перспективной матрицей для создания новых химических структур, которые обладают широким спектром биологического действия: анальгетической, противовоспалительной [7–12], антибактериальной [10, 11, 13] и цитотоксической активностью [14]. Ранее нами получены водорастворимые соединения данного ряда, проявляющие существенный фармакологический эффект на систему свертывания крови [15–17]. Обнаружено соединение с выраженным

антикоагулянтным действием при различных путях введения [16, 17], которое рекомендовано для дальнейших комплексных исследований с целью создания нового отечественного конкурентоспособного антикоагулянта.

Одним из этапов изучения «лекарственных кандидатов» является разработка методов идентификации фармакологически активного компонента. Представляло интерес изучить различные методы подтверждения подлинности биологически активного вещества (БАВ) потенциального антикоагулянта 2-гидрокси-4-оксо-(4-хлорфенил)-2-бутеноата тиазолинаммония.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Исследования проводились на трех сериях субстанции 2-гидрокси-4-оксо-(4-хлорфенил)-2-бутеноата тиазолинаммония, полученных в лабораторных условиях.

Растворимость субстанции 2-гидрокси-4-оксо-(4-хлорфенил)-2-бутеноат тиазолиинаммония определяли в соответствии с ГФ XV ОФС.1.2.1.0005 «Растворимость»².

Спектры поглощения в УФ-области сняты для 0,0005%-го раствора БАВ в 0,1 М растворе натрия гидроксида в области от 215 до 400 нм в соответствии с ГФ XV ОФС.1.2.1.1.0003 «Спектрофотометрия в ультрафиолетовой и видимой областях» (спектрофотометр UV-1800, Shimadzu Corporation, Япония)⁴.

Методики качественных реакций:

- 1) к 2 мл 0,0005%-го раствора исследуемого БАВ в растворе натрия гидроксида 0,1 М прибавляют 3–4 капли меди(II) ацетата раствора 5%-го, появляется изумрудно зеленое окрашивание, постепенно образуется осадок зеленого цвета;
- 2) 0,02 г субстанции растворяют при нагревании в 5 мл воды очищенной, охлаждают, прибавляют 3–4 капли железа(III) хлорида раствора 3%-го, появляется желто-коричневое окрашивание;

2. ОФС.1.2.1.0005 «Растворимость». Государственная фармакопея Российской Федерации XV издания. Москва. 2023. Доступно по: <https://pharmacopoeia.regmed.ru/pharmacopoeia/inie-15/1-1-2/1-2-1/rastvorimost/> Ссылка активна на 0.2023.

³ ОФС.1.2.1.1.0002 «Спектрофотометрия в средней инфракрасной области». Государственная фармакопея Российской Федерации XV издания. Москва. 2023. Доступно по: <https://pharmacopoeia.regmed.ru/pharmacopoeia/izdanie-15/1/1-2/1-2-1/1-2-1-1-metody-spektralnogo-analiza/spektrometriya-v-sredney-infrakrasnoy-oblasti/> Ссылка активна на 09.10.2023.

⁴ ОФС.1.2.1.1.0003 «Спектрофотометрия в ультрафиолетовой и видимой областях». Государственная фармакопея Российской Федерации XV издания. Москва. 2023. Доступно по: <https://pharmacopoeia.regmed.ru/pharmacopoeia/izdanie-15/1/1-2/1-2-1/1-2-1-1-metody-spektralnogo-analiza/spektrofotometriya-v-ultrafioletovoy-i-vidimoy-oblastyakh/> Ссылка активна на 09.10.2023.

- 3) 0,1 г субстанции растворяют в 5 мл натрия гидроксида раствора 10%-го и кипятят в течении 3 мин, затем охлаждают и фильтруют. К полученному фильтрату прибавляют 10 капель азотной кислоты разведенной и 10 капель серебра нитрата раствора 2%-го, появляется белый творожистый осадок растворимый в растворе аммиака;
- 4) в петлю медной проволоки, предварительно прокаленной в пламени горелки, помещают анализируемое БАВ, затем вносят в пламя горелки; пламя окрашивается в зеленый цвет;
- 5) 0,02 г анализируемого БАВ растворяют в 5 мл воды очищенной при нагревании, охлаждают, прибавляют 2 мл натрия гидроксида раствора 10%-го и взбалтывают. К полученному раствору добавляют 3 капли свинца(II) ацетата раствора 10%-го, образуется черный осадок;
- 6) 0,02 г субстанции растворяют при нагревании в 5 мл воды очищенной, прибавляют 1 мл натрия гидроксида раствора 10%-го и взбалтывают. К полученному раствору добавляют 3 капли натрия нитропруссиды раствора 10%-го, постепенно появляется фиолетовое окрашивание.

2-Гидрокси-4-оксо-(4-хлорфенил)-2-бутиеноат тиазолиаммония, полученный в лабораторных условиях, представляет собой белый или белый с бежевым оттенком мелкокристаллический порошок, без запаха.

Определение температуры плавления проводили на 3 сериях субстанции капиллярным методом (таблица 1). Полученные результаты позволяют нормировать интервал температуры от 156 до 158 °C (с разложением).

Table 1. The results of the determination of the melting point of 2-hydroxy-4-oxo-(4-chlorophenyl)-2-butenate thiazolinammonium

Серия Series	№ опыта Experience No	Температура плавления, °С Melting point, °C	Среднее значение, °С Average value, °C
1	1	156–157	156–157
	2	156–158	
	3	156–157	
2	1	156–157	157–158
	2	157–158	
	3	157–158	
3	1	156–158	156–158
	2	156–157	
	3	156–158	

Растворимость

Как следует из полученных данных, растворимость БАВ зависит от природы растворителя: субстанция растворима в щелочных растворах (натрия гидроксид, аммиак), умеренно растворима в воде очищенной, спиртах (метиловом, этиловом), диметилформамиде, практически нерастворима в бензоле, четыреххлористом углероде, гексане, эфире. Исходя из этого, можно сделать вывод, что исследуемое БАВ растворимо в полярных растворителях и нерастворимо в неполярных, что соответствует структуре соединения. Результаты исследования представлены в таблице 2.

Таблица 2. Растворимость 2-гидрокси-4-оксо-(4-хлорфенил)-2-бутеноата тиазолиаммония в некоторых растворителях

Table 2. Solubility of 2-hydroxy-4-oxo-(4-chlorophenyl)-2-butenate of thiazolinammonium in some solvents

Растворитель Solvent	Растворимость (согласно ОФС.1.2.1.0005) Solubility (according to OFS.1.2.1.0005)
Гексан Hexane	Практически нерастворим Practically insoluble
Диэтиловый эфир Diethyl ether	Практически нерастворим Practically insoluble
Четыреххлористый углерод Carbon tetrachloride	Практически нерастворим Practically insoluble
Этилацетат Ethyl Acetate	Практически нерастворим Practically insoluble
Н-Бутанол N-Butanol	Практически нерастворим Practically insoluble
Хлористоводородная кислота 1 М Hydrochloric acid 1 M	Практически нерастворим Practically insoluble
Ацетон Acetone	Мало растворим Slightly soluble
Хлороформ Chloroform	Умеренно растворим Moderately soluble
Спирт этиловый 96%-й Ethyl alcohol 96 %	Умеренно растворим Moderately soluble
Метанол Methanol	Умеренно растворим Moderately soluble
Вода очищенная Purified water	Умеренно растворим Moderately soluble
Диметилформамид Dimethylformamide	Умеренно растворим Moderately soluble
Муравьиная кислота Formic acid	Умеренно растворим Moderately soluble
Раствор натрия гидроксида 0,1 М 0.1 M sodium hydroxide solution	Растворим Soluble
Раствор аммония гидроксида 25%-й Ammonium hydroxide solution 25 %	Растворим Soluble

ИК-спектроскопия

ИК-спектр БАВ снят в виде суспензии в вазелиновом масле в интервале 4000 – 400 см⁻¹. Области колебаний (полосы поглощения), характерны для основных фрагментов структуры молекулы БАВ: 3170 см⁻¹ (NH₂, OH), 1682 см⁻¹ (C=O), 1650, 1600 см⁻¹ (C⁴=O, C=N, C=C).

Совокупность всех полос поглощения инфракрасного спектра соединения характеризует его индивидуальность и может использоваться для целей идентификации и включения в проект НД.

Спектрофотометрия в УФ-области

Спектр поглощения 0,0005%-го раствора БАВ в 0,1М растворе натрия гидроксида в интервале от 215 до 400 нм имеет максимум поглощения при 245 нм и минимум при 221 нм, что соответствует гетероциклическому фрагменту структуры (тиазолин); максимум при 333 нм и минимум при 278 нм соответствуют замещенному ароматическому радикалу (4-хлорфенил), сопряженному с карбонильной группой и енольным гидроксилом.

Качественные реакции

Для идентификации 2-гидрокси-4-оксо-(4-хлорфенил)-2-бутеноата тиазолиаммония были апробированы качественные реакции, обусловленные свойствами функциональных групп в структуре соединения: енольного гидроксила, карбоксильной группы, ковалентно связанного галогена (хлора) и серы¹.

Кислотные свойства исследуемого БАВ обусловлены наличием в структуре карбоксильной группы, енольного гидроксила и подтверждаются положительным эффектом реакций с раствором меди(II) ацетата в щелочной среде и раствором железа(III) хлорида. Появление характерного окрашивания свидетельствует об образовании комплексов и солевых форм.

Для подтверждения ковалентно связанного хлора предварительно проводили восстановительную минерализацию в мягких условиях (при нагревании с раствором натрия гидроксида 10%-м), образующийся хлорид-ион доказывали реакцией осаждения раствором серебра нитрата (ОФС.1.2.2.0001 «Общие реакции на подлинность»). Проба Бельштейна дает положительный эффект, что также подтверждает наличие в структуре БАВ ковалентно связанного хлора.

Ковалентно связанную серу доказывали после восстановительной минерализации (раствором натрия гидроксида 10%-го) реакцией осаждения раствором свинца(II) ацетата, при этом образуется черный осадок свинца(II) сульфида. Положительная реакция с натрия нитропруссидом подтверждает наличие ковалентно связанной серы.

В результате проведенных исследований были изучены различные методы подтверждения подлинности 2-гидрокси-4-оксо-(4-хлорфенил)-2-бутеноата тиазолиаммония. Для идентификации могут быть использованы как химические, так и физико-химические методы. Спектральные характеристики в пол-

¹ ОФС.1.2.2.0001 «Общие реакции на подлинность». Государственная фармакопея Российской Федерации XV издания. Москва. 2023. Доступно по: <https://pharmacopoeia.regmed.ru/pharmacopoeia/izdanie-15/1/1-2/1-2-2/obshchie-reaktsii-na-podlinnost/> Ссылка активна на 09.10.2023.

ной мере отражают структуру БАВ, в тоже время, наличие ковалентно связанного хлора и серы может быть подтверждено только качественными реакциями.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Исследованные характеристики нового БАВ могут быть использованы при стандартизации субстанции по показателям «Описание», «Растворимость», «Идентификация», «Температура плавления». Данные показатели характеризуют физико-химические свойства 2-гидрокси-4-оксо-(4-хлорфенил)-2-бутеноат тиазолиаммония, и в дальнейшем будут включены в проект НД на субстанцию.

ЛИТЕРАТУРА

1. Elsebaie M. A. T., Van Es N., Langston A., Büller H. R., Gaddh M. Direct oral anticoagulants in patients with venous thromboembolism and thrombophilia: a systematic review and meta-analysis. *Journal of Thrombosis and Haemostasis*. 2019;17:645–656. DOI: 10.1111/jth.14398.
2. Roberti R., Iannone L. F., Palleria C., Curcio A., Rossi M., Sciacqua A., Armentaro G., Vero A., Manti A., Cassano V., Russo E., De Sarro G., Citraro R. Direct Oral Anticoagulants: From Randomized Clinical Trials to Real-World Clinical Practice. *Frontiers in Pharmacology*. 2021;12:1–14. DOI: 10.3389/fphar.2021.684638.
3. Athanazio R. A., Ceresetto J. M., Rivera L. J. M., Cesarman-Maus G., Galvez K., Marques M. A., Tabares A. H., Ortiz Santacruz C. A., Costa Santini F., Corrales L., Cohen A. T. Direct Oral Anticoagulants for the Treatment of Cancer-Associated Venous Thromboembolism: A Latin American Perspective. *Clinical and Applied Thrombosis/Hemostasis*. 2022;28:1–13. DOI: 10.1177/10760296221082988.
4. Fastner C., Szabo K., Samartzi M., Kruska M., Akin I., Platten M., Baumann S., Alonso A. Treatment standards for direct oral anticoagulants in patients with acute ischemic stroke and non-valvular atrial fibrillation: A survey among German stroke units. *PLoS ONE*. 2022;17(2):e0264122. DOI: 10.1371/journal.pone.0264122.
5. Moster M., Bolliger D. Perioperative Guidelines on Antiplatelet and Anticoagulant Agents: 2022 Update. *Current Anesthesiology Reports*. 2022;12:286–296. DOI: 10.1007/s40140-021-00511-z.
6. Fischer U., Koga M., Strbian D., Branca M., Abend S., Trelle S., Paciaroni M., Thomalla G., Michel P., Nedeltchev K., Bonati L. H., Ntaios G., Gattlinger T., Sandset E.-C., Kelly P., Lemmens R., Sylaja P. N., Aguiar de Sousa D., Bornstein N. M., Gdovinova Z., Yoshimoto T., Tiainen M., Thomas H., Krishnan M., Shim G., Gumbinger C., Vehoff J., Zhang L., Matsuzono K., Kristoffersen E., Desfontaines P., Vanacker P., Alonso A., Yakushiji Y., Kulyk C., Hemelsoet D., Poli S., Paiva Nunes A., Caracciolo N., Slade P., Demeester J., Salerno A., Kneihl M., Kahles T., Giudici D., Tanaka K., Rätzy S., Hidalgo R., Werring D. J., Göddlin M., Arnold M., Ferrari C., Beyeler S., Fung C., Weder B. J., Tatlisumak T., Fenzl S., Rezny-Kasprzak B., Hakim A., Salanti G., Bassetti C., Gralla J., Seiffge D. J., Horvath T., Dawson J. Early versus Later Anticoagulation for Stroke with Atrial Fibrillation. *New England Journal of Medicine*. 2023;388(26):2411–2421. DOI: 10.1056/NEJMoa2303048.
7. Shipilovskikh S. A., Vaganov V. Y., Makhmudov R. R., Rubtsov A. E. Synthesis and Antinociceptive Activity of N-Substituted 4-Aryl-4-oxo-2-[(3-thiophen-2-yl)amino]but-2-enamides. *Russian Journal of General Chemistry*. 2020;90:583–589. DOI: 10.1134/S1070363220040040.
8. Gein V. L., Romanova A. V., Bobrovskaya O. V., Nazarets O. V., Makhmudov R. R., Gradova E. V. Synthesis and Analgesic Activity of Etyl 4-[(4-Aryl-2-hydroxy-4-oxobut-2-enoyl)amino]benzoates. *Russian Journal of General Chemistry*. 2022;92:2231–2234. DOI: 10.1134/S1070363222110056.
9. Lipin D. V., Denisova E. I., Shipilovskikh D. A., Makhmudov R. R., Igidov N. M., Shipilovskikh S. A. Synthesis, Intramolecular Cyclization, and Anti-inflammatory Activity of Substituted 2-[2-(4-R-Benzoyl)hydrazinylidene]-4-oxobutanoic Acids. *Russian Journal of Organic Chemistry*. 2022;58:1759–1768. DOI: 10.1134/S1070428022120041.

10. Sharavyeva, Y. O., Siutkina, A. I., Chashchina, S. V. Novikova V. V., Makhmudov R. R., Shipilovskikh S. A. Synthesis, analgesic and antimicrobial activity of substituted 2-(3-cyano-4,5,6,7-tetrahydrobenzo[b]thiophen-2-ylamino)-4-oxo-4-phenylbut-2-enoates. *Russian Chemical Bulletin*. 2022;71:538–542. DOI: 10.1007/s11172-022-3445-y.
11. Gein V. L., Nazarets O. V., Romanova A. V., Bobrovskaya O. V., Novikova V. V., Makhmudov R. R., Balyukina L. A. Synthesis and Biological Activity of 4-Aryl-2-hydroxy-4-oxo-N-(2-sulfamoylphenyl)but-2-enamides. *Russian Journal of General Chemistry*. 2023;93:1023–1027. DOI: 10.1134/S107036322305002X.
12. Igidov S. N., Turyshchev A. Y., Chashchina S. V., Shipilovskikh D. A., Chernov I. N., Zvereva O. V., Silaichev P. S., Igidov N. M., Shipilovskikh S. A. Synthesis and anti-inflammatory activity of N-arylamides of 4-aryl- and 4-(thiophen-2-yl)-2-[2-(furan-2-carbonyl)hydrazono]-4-oxobutanoic acids. *Russian Chemical Bulletin*. 2023;72:2241–2248. DOI: 10.1007/s11172-023-4021-9.
13. Собин Ф. В., Пулина Н. А., Новикова В. В. Изучение противогрибковой активности экспериментальных мягких лекарственных форм на основе гидразонопроизводного гетариламида 4-фенил-2-гидрокси-4-оксо-2-бутеновой кислоты. *Разработка и регистрация лекарственных средств*. 2022;11(4):43–47. DOI: 10.33380/2305-2066-2022-11-4(1)-43-47.
14. Mahdian M., Ebadi A., Bahmani A., Dastan D., Zolfogol M. A., Chahardoli G. Synthesis, Molecular Modeling, and Biological Evaluation of New N-(Benzo[d]thiazol-2-yl)-3-amino-but-2-enamide Derivatives as Cytotoxic Agents, Organic Preparations and Procedures International. *Organic preparations and procedures international*. 2023. DOI: 10.1080/00304948.2023.2260727.
15. Pulina N. A., Sobin F. V., Syropyatov B. Ya., Mokin P. A., Kovaleva M. Yu. Synthesis and anticoagulant activity of α -oxocarboxylic acid derivatives. *Pharmaceutical Chemistry Journal*. 2013;46(12):711–714. DOI: 10.1007/s11094-013-0875-8.
16. Старкова А. В., Сыропятов Б. Я., Собин Ф. В., Пулина Н. А. Оценка влияния 4-хлорфенил-2-гидрокси-4-оксо-2-бутеноата тиазолиаммония на показатели гемостаза у кроликов и мышей при внутривенном введении. *Вопросы биологической, медицинской и фармацевтической химии*. 2014;9:18–21.
17. Старкова А. В., Карпенко Ю. Н., Сыропятов Б. Я., Собин Ф. В., Пулина Н. А. Изучение влияния концентрации в крови 4-хлорфенил-2-гидрокси-4-оксо-2-бутеноата тиазолиаммония на антикоагулянтный эффект при подкожном введении. *Пермский медицинский журнал*. 2018;35(1):88–94. DOI: 10.17816/pmj35188-94.

REFERENCES

1. Elsebaie M. A. T., Van Es N., Langston A., Büller H. R., Gaddh M. Direct oral anticoagulants in patients with venous thromboembolism and thrombophilia: a systematic review and meta-analysis. *Journal of Thrombosis and Haemostasis*. 2019;17:645–656. DOI: 10.1111/jth.14398.
2. Roberti R., Iannone L. F., Palleria C., Curcio A., Rossi M., Sciacqua A., Armentaro G., Vero A., Manti A., Cassano V., Russo E., De Sarro G., Citraro R. Direct Oral Anticoagulants: From Randomized Clinical Trials to Real-World Clinical Practice. *Frontiers in Pharmacology*. 2021;12:1–14. DOI: 10.3389/fphar.2021.684638.
3. Athanazio R. A., Ceresetto J. M., Rivera L. J. M., Cesarman-Maus G., Galvez K., Marques M. A., Tabares A. H., Ortiz Santacruz C. A., Costa Santini F., Corrales L., Cohen A. T. Direct Oral Anticoagulants for the Treatment of Cancer-Associated Venous Thromboembolism: A Latin American Perspective. *Clinical and Applied Thrombosis/Hemostasis*. 2022;28:1–13. DOI: 10.1177/10760296221082988.
4. Fastner C., Szabo K., Samartzi M., Kruska M., Akin I., Platten M., Baumann S., Alonso A. Treatment standards for direct oral anticoagulants in patients with acute ischemic stroke and non-valvular atrial fibrillation: A survey among German stroke units. *PLoS ONE*. 2022;17(2):e0264122. DOI: 10.1371/journal.pone.0264122.
5. Moster M., Bolliger D. Perioperative Guidelines on Antiplatelet and Anticoagulant Agents: 2022 Update. *Current Anesthesiology Reports*. 2022;12:286–296. DOI: 10.1007/s40140-021-00511-z.
6. Fischer U., Koga M., Strbian D., Branca M., Abend S., Trelle S., Paciaroni M., Thomalla G., Michel P., Nedeltchev K., Bonati L. H., Ntaios G., Gattlinger T., Sandset E.-C., Kelly P., Lemmens R., Sylaja P. N., Aguiar de Sousa D., Bornstein N. M., Gdovinova Z., Yoshimoto T., Tiainen M., Thomas H., Krishnan M., Shim G., Gumbinger C., Vehoff J., Zhang L., Matsuzono K., Kristoffersen E., Desfontaines P., Vanacker P., Alonso A., Yakushiji Y., Kulyk C., Hemelsoet D., Poli S., Paiva Nunes A., Caracciolo N., Slade P., Demeester J., Salerno A., Kneihl M., Kahles T., Giudici D., Tanaka K., Rätzy S., Hidalgo R., Werring D. J., Göddlin M., Arnold M., Ferrari C., Beyeler S., Fung C., Weder B. J., Tatlisumak T., Fenzl S., Rezny-Kasprzak B., Hakim A., Salanti G., Bassetti C., Gralla J., Seiffge D. J., Horvath T., Dawson J. Early versus Later Anticoagulation for Stroke with Atrial Fibrillation. *New England Journal of Medicine*. 2023;388(26):2411–2421. DOI: 10.1056/NEJMoa2303048.
7. Shipilovskikh S. A., Vaganov V. Y., Makhmudov R. R., Rubtsov A. E. Synthesis and Antinociceptive Activity of N-Substituted 4-Aryl-4-oxo-2-[(3-thiophen-2-yl)amino]but-2-enamides. *Russian Journal of General Chemistry*. 2020;90:583–589. DOI: 10.1134/S1070363220040040.
8. Gein V. L., Romanova A. V., Bobrovskaya O. V., Nazarets O. V., Makhmudov R. R., Gradova E. V. Synthesis and Analgesic Activity of Etyl 4-[(4-Aryl-2-hydroxy-4-oxobut-2-enoyl)amino]benzoates. *Russian Journal of General Chemistry*. 2022;92:2231–2234. DOI: 10.1134/S1070363222110056.
9. Lipin D. V., Denisova E. I., Shipilovskikh D. A., Makhmudov R. R., Igidov N. M., Shipilovskikh S. A. Synthesis, Intramolecular Cyclization, and Anti-inflammatory Activity of Substituted 2-[2-(4-R-Benzoyl)hydrazinylidene]-4-oxobutanoic Acids. *Russian Journal of Organic Chemistry*. 2022;58:1759–1768. DOI: 10.1134/S1070428022120041.

- moto T., Tiainen M., Thomas H., Krishnan M., Shim G. C., Gumbinger C., Vehoff J., Zhang L., Matsuzono K., Kristoffersen E., Desfontaines P., Vanacker P., Alonso A., Yakushiji Y., Kulyk C., Hemelsoet D., Poli S., Paiva Nunes A., Caracciolo N., Slade P., Demeesterre J., Salerno A., Kneihsl M., Kahles T., Giudici D., Tanaka K., Rätty S., Hidalgo R., Werring D. J., Göldlin M., Arnold M., Ferrari C., Beyeler S., Fung C., Weder B. J., Tatlisumak T., Fenzl S., Rezný-Kasprzak B., Hakim A., Salanti G., Bassetti C., Gralla J., Seiffge D. J., Horvath T., Dawson J. Early versus Later Anticoagulation for Stroke with Atrial Fibrillation. *New England Journal of Medicine*. 2023;388(26):2411–2421. DOI: 10.1056/NEJMoa2303048.
7. Shipilovskikh S. A., Vaganov V. Y., Makhmudov R. R., Rubtsov A. E. Synthesis and Antinociceptive Activity of N-Substituted 4-Aryl-4-oxo-2-[(3-thiophen-2-yl)amino]but-2-enamides. *Russian Journal of General Chemistry*. 2020;90:583–589. DOI: 10.1134/S1070363220040040.
8. Gein V. L., Romanova A. V., Bobrovskaya O. V., Nazarets O. V., Makhmudov R. R., Gradova E. V. Synthesis and Analgesic Activity of Etyl 4-[(4-Aryl-2-hydroxy-4-oxobut-2-enoyl)amino]benzoates. *Russian Journal of General Chemistry*. 2022;92:2231–2234. DOI: 10.1134/S1070363222110056.
9. Lipin D. V., Denisova E. I., Shipilovskikh D. A., Makhmudov R. R., Igidov N. M., Shipilovskikh S. A. Synthesis, Intramolecular Cyclization, and Anti-inflammatory Activity of Substituted 2-[2-(4-R-Benzoyl)hydrazinylidene]-4-oxobutanoic Acids. *Russian Journal of Organic Chemistry*. 2022;58:1759–1768. DOI: 10.1134/S1070428022120041.
10. Sharavyeva, Y. O., Siutkina, A. I., Chashchina, S. V., Novikova V. V., Makhmudov R. R., Shipilovskikh S. A. Synthesis, analgesic and antimicrobial activity of substituted 2-(3-cyano-4,5,6,7-tetrahydrobenzo[b]thiophen-2-ylamino)-4-oxo-4-phenylbut-2-enoates. *Russian Chemical Bulletin*. 2022;71:538–542. DOI: 10.1007/s11172-022-3445-y.
11. Gein V. L., Nazarets O. V., Romanova A. V., Bobrovskaya O. V., Novikova V. V., Makhmudov R. R., Balyukina L. A. Synthesis and Biological Activity of 4-Aryl-2-hydroxy-4-oxo-N-(2-sulfamoyl-phenyl)but-2-enamides. *Russian Journal of General Chemistry*. 2023;93:1023–1027. DOI: 10.1134/S107036322305002X.
12. Igidov S. N., Turyshev A. Y., Chashchina S. V., Shipilovskikh D. A., Chernov I. N., Zvereva O. V., Silaichev P. S., Igidov N. M., Shipilovskikh S. A. Synthesis and anti-inflammatory activity of N-arylamides of 4-aryl- and 4-(thiophen-2-yl)-2-[2-(furan-2-carbonyl)hydrazono]-4-oxobutanoic acids. *Russian Chemical Bulletin*. 2023;72:2241–2248. DOI: 10.1007/s11172-023-4021-9.
13. Sobin F. V., Pulina N. A., Novikova V. V. Study of Antifungal Activity of Experimental Soft Dosage Form Based on the Hydrazone Derivative of Getarylamine 4-phenyl-2-hydroxy-4-oxo-2-butenic Acid. *Drug development & registration*. 2022;11(4):43–47. (In Russ.) DOI: 10.33380/2305-2066-2022-11-4(1)-43-47.
14. Mahdian M., Ebadi A., Bahmani A., Dastan D., Zolfigol M. A., Chehardoli G. Synthesis, Molecular Modeling, and Biological Evaluation of New N-(Benzo[d]thiazol-2-yl)-3-amino-but-2-enamide Derivatives as Cytotoxic Agents, Organic Preparations and Procedures International. *Organic preparations and procedures international*. 2023. DOI: 10.1080/00304948.2023.2260727.
15. Pulina N. A., Sobin F. V., Syropyatov B. Ya., Mokin P. A., Kovalova M. Yu. Synthesis and anticoagulant activity of α -oxocarboxylic acid derivatives. *Pharmaceutical Chemistry Journal*. 2013;46(12):711–714. DOI: 10.1007/s11094-013-0875-8.
16. Starkova A. V., Syropyatov B. Ya., Sobin F. V., Pulina N. A. Evaluation of the effect of thiazoline ammonium 4-chlorophenyl-2-hydroxy-4-oxo-2-butenate on hemostasis in rabbits and mice during intragastric administered. *Questions of biological medical and pharmaceutical chemistry*. 2014;9:18–21. (In Russ.)
17. Starkova A. V., Karpenko Y. N., Syropyatov B. Y., Sobin F. V., Pulina N. A. Study of influence of blood thiazoline ammonium 4-chlorophenyl-2-hydroxy-4-oxo-2-butenate concentration on anticoagulant effect upon subcutaneous administration. *Perm Medical Journal*. 2018;35(1):88–94. (In Russ.) DOI: 10.17816/pmj35188-94.