

ФАРМАКОЛОГИЯ СИСТЕМЫ КРОВИ

ВЛИЯНИЕ НОВЫХ СОЕДИНЕНИЙ КЛАССА 1,3,4-ТИАДИАЗИНОВ НА АГРЕГАЦИЮ ТРОМБОЦИТОВ *IN VITRO* И *EX VIVO*

Ю. С. Логвинова¹, Т. М. Васильева¹, В. А. Макаров¹, О. Н. Чупахин²,
Л. П. Сидорова², Н. М. Перова², В. Л. Русинов²

Исследовано влияние ряда новых оригинальных 4'-хлорфенил-, 4'-бромфенил-, 4'-фторфенил-1,3,4-тиадиазинов на агрегацию тромбоцитов человека *in vitro*. Все изученные 1,3,4-тиадиазины снижали агрегацию тромбоцитов, индуцированную как АДФ, так и арахидоновой кислотой. Наиболее активными соединениями являлись L-19, H-30, L-37. Исследовали также влияние внутривенного введения различных доз L-19 на агрегацию тромбоцитов и некоторые параметры плазменного гемостаза *ex vivo*.

Ключевые слова: агрегация тромбоцитов, 1,3,4-тиадиазины

ВВЕДЕНИЕ

Тромбозы играют ведущую роль в возникновении сердечно-сосудистых заболеваний (нарушения коронарного и мозгового кровообращения, патология сосудов конечностей, брюшной полости, нарушения кровообращения после операций, на фоне травм и др.). Тромбозы нередко встречаются как у взрослых, так и у детей и новорожденных [4].

Важнейшую роль в формировании тромбов играет агрегация тромбоцитов. Вследствие взаимодействия различных агонистов (АДФ, арахидоновая кислота, адреналин и т.д.) и тромбоцитарных рецепторов происходит активация тромбоцитов. Активированные тромбоциты перекрестно взаимодействуют друг с другом, что приводит к формированию тромбоцитарной пробки [12]. Тромбоциты также предоставляют фосфолипидную поверхность для сборки теназных и протромбиназных комплексов [7].

Поэтому фармакологическая модуляция агрегационной активности тромбоцитов является одним из ведущих направлений в коррекции нарушений системы гемостаза.

В настоящее время существует ряд соединений, обладающих антиагрегационным эффектом [1]. Тем не менее реальный выбор препаратов ограничен сложностями, возникающими при употреблении различных антиагрегантов. Основными проблемами являются низкая избирательность действия некоторых из них, неоднозначность влияния на способность тромбоци-

тов к агрегации и антиагрегационную активность стенки сосуда, а также ограничения, обусловленные низкой стабильностью при хранении.

Интерес исследователей привлекает новый класс веществ, принадлежащих к группе тиадиазинов. Тиадиазины обладают широким спектром фармакологической активности, которая определяется различными радикалами, включенными в структуру этих веществ [2]. Описаны антибактериальные, противовирусные, противогрибковые, противовоспалительные, антиоксидантные и сосудорасширяющие свойства различных тиадиазинов [3, 8 – 11, 13].

Некоторые 1,3,4-тиадиазины обладают антиагрегационным эффектом. N-1-замещенные производные пиразино[2,3-с][1,2,6]тиадиазин-2,2-диоксида незначительно снижают агрегацию тромбоцитов человека и кроликов, индуцированную АДФ, арахидоновой кислотой и коллагеном [6].

Таким образом, тиадиазины представляют класс соединений, на основе которых возможно создание более эффективных антиагрегантов, действующих на различные пути активации и агрегации тромбоцитов. Целенаправленный синтез данного класса соединений может значительно увеличить эффективность и избирательность их действия. Целью настоящей работы было изучение антиагрегационных свойств новых синтезированных 1,3,4-тиадиазинов.

МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

В работе изучено влияние 6 образцов новых производных 1,3,4-тиадиазинов на агрегационную активность тромбоцитов человека *in vitro*. Исследованы 3 группы веществ:

- 1) 4'-хлорфенил-1,3,4-тиадиазины:
 - а) 2-морфолино-5-(4'-хлорфенил)-6Н-1,3,4-тиадиазин, гидробромид (L-19);

¹ Лаборатория патологии и фармакологии гемостаза (зав. — проф. В. А. Макаров) Гематологического научного центра РАМН, Москва, 125167, Нов. Зыковский пр., 4а; E-mail: yuliyas8405@mail.ru

² Кафедра органической химии (зав. — акад. РАН О. Н. Чупахин) Уральского государственного технического университета, Екатеринбург, 620002, ул. Мира, 19. E-mail: chupakhin@ios.uran.ru

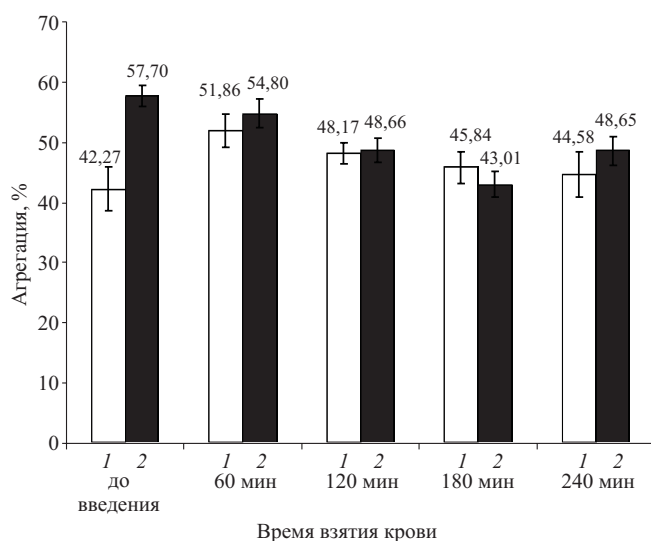


Рис. 1. Влияние L-19 в дозах 10 и 20 мг/кг на агрегацию тромбоцитов, индуцированную АДФ ($1 \cdot 10^{-5}$ М) в опытах *in vivo*.

1 — L-19 10 мг/кг, 2 — L-19 20 мг/кг.

б) 2-морфолино-5-(4'-хлорфенил)-6Н-1,3,4-тиадиазин, мезилат (Н-30);

с) 2-пирролидин-1-ил-5-(4'-хлорфенил)-6Н-1,3,4-тиадиазин, гидробромид (L-37);

д) 2-N-метил-N-(1-фенил-2,3-диметилпиразол-5-он-4-ил)амино-5-(4-хлорфенил)-6Н-1,3,4-тиадиазин (L-66);

2) 4'-бромфенил-1,3,4-тиадиазины:

а) 2-морфолино-5-(4'-бромфенил)-6Н-1,3,4-тиадиазин, гидробромид (Н-18);

3) 4'-фторфенил-1,3,4-тиадиазины:

а) 2-морфолино-5-(4'-фторфенил)-6Н-1,3,4-тиадиазин, гидробромид (L-31).

Соединения были синтезированы сотрудниками кафедры органической химии Уральского государственного технического университета (Екатеринбург). Рабочие растворы исследуемых соединений готовили путем их разведения в дистиллированной воде до достижения необходимой концентрации.

Эксперименты по изучению влияния 1,3,4-тиадиазинов на функциональную активность тромбоцитов *in*

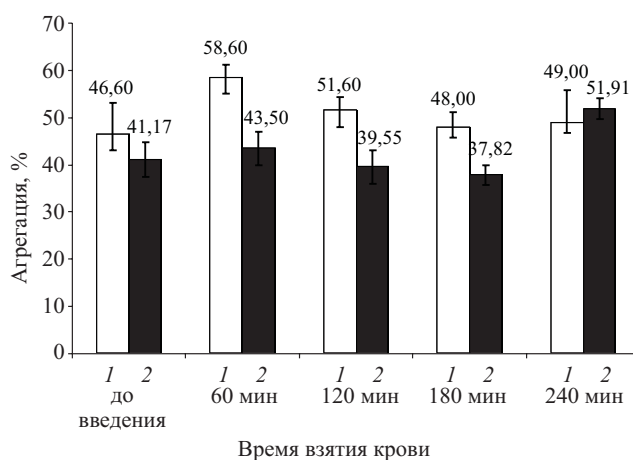


Рис. 2. Влияние L-19 в дозах 10 и 20 мг/кг на агрегацию тромбоцитов, индуцированную арахидоновой кислотой (АК $1 \cdot 10^{-3}$ М) в опытах *in vivo*.

1 — L-19 10 мг/кг, 2 — L-19 20 мг/кг.

vitro проводили на венозной крови здоровых доноров ($n = 36$), которую получали путем пункции локтевой вены и стабилизировали 3,8 % раствором цитрата натрия в соотношении 9:1.

Объектом исследования в экспериментах являлась богатая тромбоцитами плазма.

Для приготовления богатой тромбоцитами плазмы кровь донора, содержащую 3,8 % раствор цитрата натрия, центрифугировали в пластиковой пробирке в течение 10 мин при 1000 об/мин. Полученный верхний слой плазмы отбирали. Остаток повторно центрифугировали 20 мин при 3000 об/мин для получения бедной тромбоцитами плазмы, которую использовали в качестве оптического контроля.

В экспериментах по изучению влияния 1,3,4-тиадиазинов на агрегацию тромбоцитов *ex vivo* и параметры плазменного гемостаза использовали кроликов ($n = 12$) массой 3 – 4 кг. Кровь для исследования собирали методом свободного падения капель. Для этого делали разрез краевой вены уха и собирали кровь в пластиковую пробирку, содержащую 3,8 % раствор цитрата натрия.

Таблица 1. Влияние 4'-хлорфенил-, 4'-бромфенил-, 4'-фторфенил-1,3,4-тиадиазинов на агрегацию тромбоцитов человека, индуцированную АДФ ($1 \cdot 10^{-5}$ М) *in vitro* (A_{max} , %)

Исследуемое вещество	АДФ, $1 \cdot 10^{-5}$ М	Конечная концентрация, мМ				
		1	0,5	0,1	0,01	0,001
L-19	62,5 ± 3,3	41,8 ± 2,8*	–	37,4 ± 3,9*	47,1 ± 1,2*	–
Н-30	47,4 ± 2,9	28,1 ± 4,4*	28,9 ± 2,4*	33,7 ± 3,0*	39,5 ± 2,9*	–
L-37	54,1 ± 2,5	35,3 ± 2,5*	40,0 ± 1,9*	42,2 ± 1,3*	41,9 ± 1,9*	38,5 ± 1,3*
Н-18	64,8 ± 3,1	57,8 ± 3,7	–	55,4 ± 3,3	55,8 ± 5,6	–
L-31	57,7 ± 2,3	26,1 ± 1,7*	32,9 ± 1,8*	39,1 ± 2,0*	41,6 ± 2,3*	–
L-66			Не растворяется			

* — значимо по отношению к контролю ($p < 0,05$).

Таблица 2. Влияние 4'-хлорфенил-, 4'-бромфенил-, 4'-фторфенил-1,3,4-тиадиазинов на агрегацию тромбоцитов человека, индуцированную арахидоновой кислотой (АК, $1 \cdot 10^{-3}$ М) *in vitro* (A_{max} , %)

Исследуемое вещество	АК, $1 \cdot 10^{-3}$ М	Конечная концентрация, мМ								
		1	0,5	0,25	0,1	0,05	0,025	$1 \cdot 10^{-2}$	$1 \cdot 10^{-3}$	$1 \cdot 10^{-4}$
L-19	$52,7 \pm 2,1$	0*	$0,8 \pm 0,3^*$	$2,8 \pm 1,2^*$	$23,1 \pm 3,4^*$	—	—	$39,2 \pm 3,1^*$	$42,6 \pm 4,6$	—
H-30	$65,3 \pm 2,8$	—	$28,2 \pm 5,8^*$	$39,2 \pm 4,5^*$	$50,2 \pm 3,3^*$	$51,5 \pm 2,6^*$	—	$56,1 \pm 2,5$	—	—
L-37	$62,1 \pm 4,7$	0*	0*	0*	$2,4 \pm 0,8^*$	$15,4 \pm 2,2^*$	$29,3 \pm 4,8^*$	$46,3 \pm 2,9^*$	$58,3 \pm 2,9$	—
L-31	$73,6 \pm 2,8$	0*	$13,8 \pm 3,2^*$	$31,7 \pm 4,9^*$	$49,8 \pm 4,2^*$	$57,9 \pm 2,3^*$	—	$61,8 \pm 3,4^*$	—	—
H-18	$66,7 \pm 3,8$	$60,0 \pm 4,8$	—	—	$56,0 \pm 4,5$	—	—	$64,3 \pm 6,9^*$	—	—
L-66					Не растворяется					

* — значимо по отношению к контролю ($p < 0,05$).

Исследуемые вещества вводили в краевую вену уха в дозах 10 и 20 мг/кг. В качестве растворителя использовали стерильный физиологический раствор. Пробы крови забирали до введения вещества (использовали как контроль), через 1, 2, 3 и 4 ч после введения.

В работе были использованы методы оценки функциональной активности тромбоцитов (оценка степени агрегации) и состояния плазменного гемостаза (определение активированного частичного тромбопластинового времени, протромбинового времени, тромбинового времени, концентрации фибриногена и числа тромбоцитов).

Агрегацию тромбоцитов изучали методом светорассеяния, предложенным G. Vorn, на агрегометрах фирмы "CHRONO-LOG CORPORATION" (США) и "BIO-LA" (Россия) [5]. Для этого в кювету вносили 250 мкл ("CHRONO-LOG CORPORATION") или 300 мкл ("BIO-LA") богатой тромбоцитами плазмы. В качестве оптического контроля использовали такое же количество бедной тромбоцитами плазмы.

Для изучения влияния 1,3,4-тиадиазинов на агрегацию тромбоцитов к богатой тромбоцитами плазме добавляли исследуемое вещество в объеме 28 ("CHRONO-LOG CORPORATION") или 30 мкл ("BIO-LA"). После чего инкубировали 5 мин при температуре 37 °С.

Агрегацию вызывали путем добавления проагрегантов в кювету с богатой тромбоцитами плазмой. В качестве проагрегантов использовали АДФ ("Boehringer Mannheim", Австрия) в конечной концентрации $1 \cdot 10^{-5}$ М и арахидоновую кислоту в конечной концентрации $1 \cdot 10^{-3}$ М. Арахидоновая кислота (АК),

свободная от продуктов окисления, была предоставлена сотрудниками лаборатории оксипиринов (зав. — В. В. Безуглов) Института биоорганической химии РАН.

В контрольных опытах к богатой тромбоцитами плазме добавляли только проагрегант (АК или АДФ).

О степени агрегации судили по максимальной величине падения оптической плотности после окончания реакции (A_{max}) по сравнению с исходной величиной.

Оценку параметров плазменного гемостаза проводили на коагулометре Минилаб-701М ("Юнимед", Россия).

Активированное частичное тромбопластиновое время (АЧТВ) определяли с использованием набора "АЧТВ-тест" (НПО "Ренам", Россия), протромбинового времени по методу А. Quick с использованием набора "Техпластин-тест", тромбинового времени — с использованием набора "Тромбо-тест", оценку концентрации фибриногена проводили по методу А. Clauss с использованием набора Тех-фибриноген-тест ("Технология Стандарт", Россия).

Число тромбоцитов определяли оптическим методом, предложенным В. Walkowiak и соавторами, на спектрофотометре фирмы "Аквилон" (Россия).

Статистический анализ полученных данных проводили в соответствии с общепринятыми методами вариационной статистики с использованием t-критерия Стьюдента.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Исследованные соединения не обладали способностью индуцировать агрегацию тромбоцитов *in vitro*.

Таблица 3. Влияние L-19 в дозе 10 мг/кг на некоторые параметры плазменного гемостаза

Параметр	Время взятия крови, мин				
	контроль	60	120	180	240
Число тромбоцитов, %	100,0	$131,8 \pm 6,1^*$	$128,5 \pm 10,0^*$	$118,3 \pm 4,1^*$	$134,7 \pm 14,2^*$
АЧТВ, с	$15,0 \pm 0,7$	$13,2 \pm 0,5^*$	$14,0 \pm 0,7$	$12,8 \pm 0,7^*$	$14,2 \pm 1,3$
Протромбиновое время, с	$13,6 \pm 0,4$	$12,3 \pm 1,2$	$11,3 \pm 0,7^*$	$12,0 \pm 1,1$	$11,2 \pm 0,9^*$
Тромбиновое время, с	$13,6 \pm 0,2$	$12,3 \pm 0,2^*$	$12,9 \pm 0,2^*$	$13,1 \pm 0,2^*$	$13,5 \pm 0,4$
Фибриноген, г/л	$3,4 \pm 0,2$	$3,3 \pm 0,1$	$3,5 \pm 0,1$	$3,4 \pm 0,2$	$3,4 \pm 0,1$

Все изученные в работе 1,3,4-тиадиазины ингибировали АДФ-индуцированную агрегацию тромбоцитов человека в различных концентрациях. Результаты представлены в табл. 1.

Данные соединения растворяли в дистиллированной воде при температуре 50 – 60 °С. Соединение L-66 в воде не растворялось, поэтому исследование его агрегационных свойств было невозможным.

Среди производных 4'-хлорфенил-1,3,4-тиадиазинов наиболее активными оказались соединения L-19, L-37 и H-30. Данные соединения снижали агрегацию тромбоцитов в концентрации 1 мМ в 1,7 – 1,6 раза по сравнению с контролем (добавление в богатую тромбоцитами плазму только АДФ). Антиагрегационный эффект сохранялся и при уменьшении их концентрации до 0,01 мМ (отмечено ингибирование агрегации в среднем в 1,3 раза по сравнению с исходным уровнем).

4'-бромфенил-1,3,4-тиадазин H-18 снижал агрегационную способность тромбоцитов в 1,2 раза в конечных концентрациях 0,1 – 0,01 мМ.

Соединение L-31, принадлежащее к группе 4'-фторфенил-1,3,4-тиадиазинов, достоверно ингибировало тромбоцитарную агрегацию во всем диапазоне исследованных концентраций (0,01 – 1 мМ). В максимальной исследованной концентрации это вещество снижало тромбоцитарную агрегацию в среднем в 2,2 раза по сравнению с контрольным опытом.

Таким образом, наиболее выраженным антиагрегационным эффектом при использовании в качестве проагреганта АДФ обладали соединения из группы 4'-хлорфенил-1,3,4-тиадиазинов (L-19, H-30) и 4'-фторфенил-1,3,4-тиадиазинов (L-31).

Все исследованные вещества достоверно ингибировали АК-индуцированную агрегацию. Полученные данные представлены в табл. 2. Наиболее активным оказалось соединение группы 4'-хлорфенил-1,3,4-тиадиазинов L-37, которое ингибировало агрегационное взаимодействие в конечной концентрации 0,01 мМ (при этом тромбоцитарная активность снижалась на 50 % по сравнению с контролем). Соединение L-19 обладало сходной с L-37 антиагрегационной способностью. В диапазоне концентраций 0,5 – 1 мМ L-19 практически полностью подавлял тромбоцитарное взаимодействие. В более низких концентрациях L-19

уменьшало агрегацию в 1,2 – 2,3 раза. По сравнению с L-19 и L-37 тиадазин H-30 обладал более выраженным антиагрегационным эффектом и снижал агрегацию в 2,3 раза в концентрации 0,5 мМ.

Антиагрегационный эффект 4'-фторфенил-1,3,4-тиадазин L-31 схож с эффектом L-19. Агрегация полностью подавлялась при воздействии соединения в концентрации 0,5 – 1 мМ. В более низких концентрациях агрегация снижалась в среднем в 1,9 раза.

Соединение H-18 из группы 4'-бромфенил-1,3,4-тиадазина не показало антиагрегационной активности во всех исследуемых концентрациях.

Таким образом, в случае АК-индуцированной агрегации наиболее высокую ингибирующую способность проявили 1,3,4-тиадиазины групп 4'-хлорфенил- и 4'-фторфенил-производных L-19, L-37 и L-31.

Внедрение в структуру соединений морфолинового цикла незначительно увеличивает антиагрегационный эффект при использовании в качестве проагреганта АДФ, в то время как при наличии пирролидиновых радикала в соединениях взаимодействие тромбоцитов усиливается при действии арахидоновой кислоты.

На следующем этапе работы тиадазин L-19 исследовали в экспериментах *ex vivo* на кроликах в различных дозах.

Результаты исследования соединения L-19 на кроликах в дозе 10 и 20 мг/кг показаны на рис. 1 и 2. Данные по влиянию этого соединения на параметры плазменного гемостаза приведены в табл. 3 и 4 соответственно.

Внутривенное введение кроликам 6-R-1,3,4-тиадазин-2-амин L-19 в дозе 10 мг/кг не приводило к снижению агрегации тромбоцитов, индуцированной АДФ. Введение соединения в дозе 20 мг/кг ингибировало АДФ-индуцированную агрегацию тромбоцитов через 180 мин в 1,4 раза (рис. 1).

При активации тромбоцитов АК их агрегация снижалась через 180 мин после введения L-19 в дозе 20 мг/кг. При меньшей дозе антиагрегационной активности данного вещества в опытах *ex vivo* не наблюдалось. Через сутки способность тромбоцитов к агрегации полностью восстанавливалась (рис. 2).

При введении исследуемого тиадазина в дозе 10 мг/кг наблюдалось увеличение количества тромбоцитов в среднем на 30 %, а также удлинение протром-

Таблица 4. Влияние L-19 в дозе 20 мг/кг на некоторые параметры плазменного гемостаза

Параметр	Время взятия крови, мин					
	контроль	60	120	180	240	сутки
Число тромбоцитов, %	100,0	106,2 ± 28,0	106,4 ± 43,2	105,2 ± 33,4	101,6 ± 35,1	95,2 ± 20,5
АЧТВ, с	17,7 ± 2,0	18,3 ± 2,7	17,2 ± 3,1	19,8 ± 4,7	17,6 ± 3,6	17,2 ± 2,1
Протромбиновое время, с	10,2 ± 1,2	10,3 ± 2,1	11,0 ± 0,9	11,7 ± 2,8	10,9 ± 1,2	10,6 ± 1,2
Тромбиновое время, с	18,6 ± 4,6	19,4 ± 3,4	22,7 ± 2,9*	18,6 ± 4,1	18,7 ± 4,6	19,0 ± 3,8
Фибриноген, г/л	3,5 ± 0,4	2,9 ± 0,3*	3,3 ± 0,7	3,1 ± 0,6	3,0 ± 0,5	4,1 ± 0,9

бинового времени в 1,2 раза на 120-й минуте. Внутривенное введение L-19 в дозе 20 мг/кг увеличивало тромбоновое время в 1,2 раза через 120 мин. Таким образом, внутривенное введение L-19 в дозе 20 мг/кг оказывает антиагрегационный и антикоагулянтный эффекты.

Полученные результаты позволяют заключить, что 1,3,4-тиадиазины могут служить основой для дальнейшей разработки новых ингибиторов агрегации тромбоцитов. Представляется перспективной целенаправленная оптимизация химической структуры наиболее активных веществ (L-19 и L-37) с целью создания на их основе эффективных ингибиторов тромбоцитарной агрегации.

ВЫВОДЫ

1. Наиболее активными соединениями среди изученных 1,3,4-тиадиазинов являются: L-19, L-31, L-37 и H-30, снижающие агрегацию тромбоцитов, индуцированную арахидоновой кислотой и АДФ.

2. При внутривенном введении кроликам 4'-хлорфенил-1,3,4-тиадиазина L-19 (20 мг/кг) наблюдаются как антиагрегационный, так и антикоагулянтный эффекты, что выражается в изменении параметров тромбоцитарного и плазменного гемостаза.

Работа выполнена при финансовой поддержке Российского фонда фундаментальных исследований (гранты 07-03-96096_p_урал_a и 08-03-12068-офи).

ЛИТЕРАТУРА

1. М. Д. Машковский, "Лекарственные средства", Медицина, Москва (1993).
2. О. Н. Чупахин, Л. П. Сидорова, Н. М. Перова и др., Патент РФ № 2259371. *Изобретения, Полезные модели*, **24**, 469 (2005).
3. О. Н. Чупахин, Л. П. Сидорова, Э. А. Тарахтий и др., Патент РФ № 2157210. *Изобретения. Полезные модели*, **28**, 188 (2000).
4. T. Aboul-Fadl, M. A. Hussein, A. N. El-Shorbagi, et al., *Arch Pharm (Weinheim)*, **335**(9), 438 – 442 (2002).
5. G. Born, *Nature (London)*, **194**, 927 – 929 (1962).
6. N. Campillo, C. Garcia, P. Goya, et al., *J. Med. Chem.*, **42**(10), 1698 – 1704 (1999).
7. M. M. Hoffman and D. M. Monroe, *Curr. Hematol. Rep.*, **4**(5), 391 – 396 (2005).
8. X. Ji, Z. Zhong, X. Chen, et al., *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **17**(15), 4275 – 4279 (2007).
9. P. Karegoudar, D. J. Prasad, M. Ashok, et al., *Eur. J. Med. Chem.*, **43**(4), 808 – 815 (2008).
10. A. B. Ozcelik, S. Ersan, A. U. Ural, et al., *Arzneimittelforschung*, **57**(8), 554 – 559 (2007).
11. K. Rehse, U. Brümmer, and E. Unsöld, *Pharmazie*, **53**(12), 820 – 824 (1998).
12. J. M. Stassen, J. Arnout, H. Deckmyn, et al., *Current Med. Chem.*, **11**, 2245 – 2260 (2004).
13. R. Tedesco, A. N. Shaw, R. Bambal., et al., *J. Med. Chem.*, **49**(3), 971 – 983 (2006).

Поступила 02.02.10

INFLUENCE OF NEW 1,3,4-THIADIAZINES ON PLATELET AGGREGATION *IN VITRO* AND *EX VIVO*

Y. S. Logvinova¹, T. M. Vasil'eva¹, V. A. Makarov¹, O. N. Chupakhin², L. P. Sidorova², N. M. Perova², and V. L. Rusinov²

¹ Scientific Hematological Center., Russian Academy of Medical Sciences, Novo-Zykovskii proezd 4a, Moscow, 125167, Russia; e-mail: yuliya8405@mail.ru;

² Ural State Technical University, ul. Mira 19, Yekaterinburg, 620002, Russia; e-mail: chupakhin@ios.uran.ru

The influence of new original 1,3,4-thiadiazines on the human platelet aggregation *in vitro* was studied. All substances inhibited the platelet aggregation induced by both ADP and arachidonic acid. 1,3,4-Thiadiazines L-19, H-30 and L-37 were the most effective inhibitors. Effect of the intravenous injection of L-19 in various doses on platelet aggregation and some parameters of plasmatic hemostasis were studied *ex vivo*.

Key words: Platelet aggregation, 1,3,4-thiadiazines