

**ТИМОФЕЕВА АННА САМОВНА**

**ФАРМАКОЛОГИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА ПРОИЗВОДНЫХ ЦИКЛИЧЕСКИХ  
ГУАНИДИНОВ – ИНГИБИТОРОВ  $\text{Na}^+/\text{H}^+$  ОБМЕНА**

14.03.06 Фармакология, клиническая фармакология

**АВТОРЕФЕРАТ**  
диссертации на соискание ученой степени  
кандидата медицинских наук

Волгоград – 2015

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

**Научный руководитель:**

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

**Спасов Александр Алексеевич**

**Официальные оппоненты:**

**1. Покровский Михаил Владимирович**

Заслуженный деятель науки РФ, доктор медицинских наук, профессор,  
заведующий кафедрой фармакологии, Федеральное государственное автономное  
образовательное учреждение высшего профессионального образования  
«Белгородский государственный национальный исследовательский университет».

**2. Резников Константин Михайлович**

Заслуженный деятель науки РФ, доктор медицинских наук, профессор,  
заведующий кафедрой фармакологии, Государственное бюджетное  
образовательное учреждение высшего профессионального образования  
«Воронежская медицинская академия имени Н.Н. Бурденко» Министерства  
здравоохранения Российской Федерации.

**Ведущее учреждение:** Федеральное государственное бюджетное учреждение  
«Научно-исследовательский институт фармакологии имени В.В. Закусова»

Защита состоится «\_\_\_» \_\_\_\_\_ 2015 г. в \_\_\_\_\_ ч. на заседании  
Диссертационного Совета Д 208.008.02 при ГБОУ ВПО «Волгоградский  
государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения  
Российской Федерации по адресу: 400131, г. Волгоград, пл. Павших борцов, 1

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

Автореферат разослан «\_\_\_» \_\_\_\_\_ 2015 г.

Ученый секретарь  
Диссертационного Совета,  
доктор биологических наук

Любовь Ивановна Бугаева

## **ВВЕДЕНИЕ**

### **Актуальность**

Сердечно-сосудистые заболевания (ССЗ) являются одной из основных причин инвалидизации и смертности больных [Мирзоян, 2010; Чазов, 2011; Шальнова, 2012; Беленков, 2014; McKelvie, 2003; De Paula, 2014]. В России ССЗ составляют 57% [Палаткина, 2012]. Большая доля здесь принадлежит ишемической болезни сердца (ИБС) и артериальной гипертензии (АГ) с их осложнениями [Морозова, 2008; Гарганеева, 2013; Недогода, 2013; Чигиринская, 2013; Петров, 2014].

Фармакологическая защита миокарда является неотъемлемой частью лечения патологии сердечно-сосудистой системы (ССС) [Стаценко, 2005; Михин, 2011; Асташкин, 2014; Belardinelli, 2006]. Кардиопротекторы – средства, которые оптимизируют работу и функцию сердца при патологических состояниях, а также предупреждают действие повреждающих экзо- и эндогенных факторов [Шляхто, 2005].

Одним из направлений в кардиологии является изучение эффектов ишемического [Галагудза, 2011; Маслов, 2014] и фармакологического preconditionирования миокарда как важного фактора, повышающего толерантность к ишемии [Атрощенко, 2006; Коняхин, 2006; Цырлин, 2009; Новикова, 2014]. Одним из таких подходов является использование ингибиторов  $\text{Na}^+/\text{H}^+$  обменника первой изоформы (NHE-1) [Fliegel, 2009; Karmazyn, 2013].

Первоначально свойства ингибиторов NHE-1 обнаружены у амилорида и его производных [Benos, 1982; Kim, 2007]. Позднее были описаны бензоилгуанидиновые производные, такие как: НОЕ-642 (карпорид), энипорид (EMD-85131), сабипорид (ВПВ-722), бициклические производные гуанидина, содержащие циклогептапиридин (ТУ-12533), бензоксазион (КБ-R9032), дигидробензофуран (BMS 284640), хинолин (зонипорид (CP-597396, MS 31038)) [Lee1, 2009; Li, 2011]. Известно также, что производные бензимидазола оказывают подобное действие, ингибируя NHE-1 [Zhang3, 2007; Lee2, 2009].

**Степень разработанности.** На сегодняшний день доказано участие NHE-1 в патофизиологических процессах, происходящих при ССЗ: повреждении миокарда и мозга во время ишемии/реперфузии, возникновении нарушений ритма сердца

[Koliakos, 2008], развитии гипертрофии [Cingolani, 2011], эндотелиальной дисфункции, сердечной недостаточности (СН) [Malo, 2006], а также таких осложнений, как кардиомиопатии и ангиопатии [Дедов, 2006]. Многократно подтвержденные в эксперименте кардиопротекторные свойства ингибиторов NHE-1 позволили начать клинические исследования. Показана эффективность таких препаратов, как: зонипорид, карипорид, сабипорид, энипорид, при лечении атеросклероза, аритмий, острого инфаркта миокарда, СН [Kim, 2007]. Поскольку у данных веществ выявлены нейротоксические эффекты, представляется целесообразным продолжить поиск соединений с новыми химическими структурами.

**Целью** исследования является поиск веществ, обладающих NHE-1–ингибирующей активностью, среди новых производных циклических гуанидинов и изучение их фармакологических свойств.

Для достижения поставленной цели были сформулированы следующие **задачи**:

1. Провести поиск соединений с NHE-1–ингибирующей активностью среди новых производных имидазо[1,2-*a*]бензимидазола и 2–аминобензимидазола;
2. Изучить зависимость биологической активности соединений от их структуры и физико-химических свойств;
3. Определить острую токсичность наиболее активных соединений;
4. Исследовать противоишемические свойства наиболее активного соединения на модели 60-ти минутной ишемии с последующей 60-ти минутной реперфузией сердца у крыс в сравнении с препаратом зонипорид;
5. Оценить антиаритмические и антифибрилляторные эффекты наиболее активного вещества и зонипорида на моделях длительной и кратковременной ишемии/реперфузии миокарда;
6. Изучить кардиодинамические и морфологические эффекты активного вещества и препарата сравнения милдроната при хронической изопротереноловой интоксикации;
7. Определить общетоксикологические свойства наиболее активного соединения.

**Научная новизна.** Впервые была изучена NHE-1–ингибирующая активность новых производных, содержащих циклическую гуанидиновую группу: N<sup>1</sup> и N<sup>9</sup> имидазо[1,2-*a*]бензимидазола и 2–аминобензимидазола. Установлено, что выраженность NHE-1-ингибирующих свойств производных 2–аминобензимидазола определяется наличием аминогруппы в положении С<sub>2</sub>, диэтиламиноэтильного, пиперидиноэтильного или морфолиноэтильного заместителя в N<sup>1</sup>, фторбензоилметила в N<sup>3</sup>.

Соединение РУ-1355 по NHE-1–ингибирующему эффекту превосходило зонипорид *in vitro*. Вещество эффективно снижало размер зоны некроза, рост миокардиального маркера повреждения тропонина I в плазме крови при ишемии/реперфузии *in vivo*. Соединение РУ-1355 оказывало антиаритмические и антифибрилляторные эффекты. Впервые показана способность вещества РУ-1355 снижать повреждающее действие изопротеренола (ИЗО) на миокард (предотвращать рост соединительной ткани, тропонина I в плазме крови и уровня малонового диальдегида (МДА) в тканях миокарда), улучшать сократительную активность миокарда и функциональные резервы при хронической интоксикации ИЗО.

**Теоретическая и практическая значимость.** Выявленные в ходе проведенного исследования закономерности между NHE-1–ингибирующей активностью новых производных циклических гуанидинов используются при целенаправленном поиске и синтезе новых соединений. Было показано, что повышение NHE-1–ингибирующей активности производных 2–аминобензимидазола связано со снижением липофильности первого заместителя при одновременном увеличении общей липофильности молекулы.

Впервые были получены данные о кардиопротекторном (противоишемическом, антифибрилляторном и антиремоделирующем) действии соединения РУ-1355 на моделях длительной и кратковременной ишемии/реперфузии, экспериментальной хронической сердечной недостаточности.

**Методология и методы исследования.** Эксперименты выполняли согласно методическим рекомендациям по проведению доклинических исследований лекарственных средств [Сыренский, 2008; Чичканов, 2008; Галенко-Ярошевский, 2012], с использованием современных высокоинформативных методов, имеющих

в ГБОУ ВПО «Волгоградский государственный медицинский университет» МЗ РФ, НИИ фармакологии и ГБУ ВМНЦ. Исходя из целей и задач исследования, были использованы модели сердечно-сосудистой патологии, позволяющие изучить противоишемические, антиаритмические и антифибрилляторные свойства соединения РУ-1355, влияние его на сократительную активность и процессы ремоделирования миокарда.

Исследование осуществлялось на нелинейных половозрелых самцах мышей, крысах, а также кроликах-самцах породы «шиншилла».

**Реализация результатов исследования.** Результаты выявленных закономерностей между структурой и физико-химической характеристикой исследованных рядов производных циклических гуанидинов внедрены в работу по оптимизации синтеза соединений с NHE-1-ингибирующей активностью, которая проводится на базе НИИ фармакологии Волгоградского государственного медицинского университета и НИИ физической и органической химии Южного Федерального университета. Результаты работы внедрены в лекционные курсы на кафедрах фармакологии, фармакологии и биофармации ФУВ, фармацевтической и токсикологической химии Волгоградского государственного медицинского университета, кафедре фармакологии Саратовского государственного медицинского университета, кафедре фармакологии Пермской государственной медицинской академии.

#### **Основные положения, выносимые на защиту**

1. Среди новых производных циклических гуанидинов треть оказывало выраженное ингибирующее влияние на NHE-1 - имидазо[1,2-*a*]бензимидазолы, среди 2-аминобензимидазола более 50%.

2. Соединение РУ-1355 (2-амино-1-морфолиноэтил-3-(4-фторфенацил)бензимидазолия хлорид) по NHE-1-ингибирующей активности *in vitro* превосходило зонипорид в 50 раз.

3. Вещество РУ-1355 на моделях 60-ти минутной ишемии с последующей 60-ти минутной реперфузией у крыс сокращало размеры зоны некроза сердца, ограничивало рост тропонина I в плазме крови и проявляло антиаритмические свойства; при кратковременной ишемии/реперфузии обладало антифибрилляторной активностью; при хронической интоксикации

изопротеренолом сохраняло сократительную активность и функциональные резервы, препятствовало образованию соединительной ткани в миокарде, ограничивало рост тропонина I в плазме крови и МДА в тканях миокарда.

4. Соединение РУ-1355 после однократного внутривентриального введения в дозе 1 мг/кг не влияло на эмоциональное поведение животных, нервно-мышечную возбудимость, двигательную активность, мышечную координацию и не вызывало изменений со стороны вегетативной нервной системы. В дозе 25 мг/кг вещество РУ-1355 вызывало снижение спонтанной двигательной активности, координации, угнетение горизонтальной активности, оказывало мышечно-расслабляющий эффект.

5. Величина ЛД<sub>50</sub> при внутривентриальном введении соединения РУ-1355 составила 342,7 мг/кг.

#### **Степень достоверности и апробация результатов**

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

Основные материалы диссертации докладывались и обсуждались на IV Международной научной конференции «Science4Health», Москва, 2012 г.; XIX Российском национальном конгрессе «ЧЕЛОВЕК И ЛЕКАРСТВО», Москва, 2012 г.; V съезде фармакологов России «Инновации в современной фармакологии», Казань, 2012 г.; XVII и XVIII Региональных конференциях молодых исследователей Волгоградской области, 2012-13 гг.; 69, 70, 71 и 72 итоговых научных конференциях студентов и молодых ученых Волгоградского государственного медицинского университета, Волгоград, 2012-14 гг.; Первой Всероссийской научно-практической конференции молодых ученых «Проблемы разработки новых лекарственных средств», Москва, 2013 г.

## **Публикации**

По теме диссертации опубликовано 28 работ (в том числе 3 статьи в рецензируемых изданиях, рекомендуемых Минобрнауки РФ, 3 патента на изобретения).

**Объем и структура работы.** Диссертационные исследования изложены на 175 страницах машинописного текста, проиллюстрирована 34 рисунками, 24 таблицами. Работа состоит из введения, обзора литературы (глава I), главы материалы и методы (глава II), экспериментальной части (главы III-VII), обсуждения результатов, выводов и списка литературы, включающего 131 источник, в том числе 48 зарубежных.

## **Личный вклад автора**

Автором самостоятельно проведен поиск и анализ отечественных и зарубежных источников литературы. Вклад автора является определяющим и заключается в непосредственном участии на всех этапах решения поставленных задач: при проведении исследований *in silico*, экспериментального скрининга, изучении *in vitro* и *in vivo* фармакологической и токсикологической активности соединения-лидера, статистической обработке, обсуждении результатов, формулировке выводов и практических рекомендаций, оформлении рукописи.

## **ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ**

**В первой главе** представлен анализ отечественной и зарубежной литературы на тему: «Ингибиторы натрий–водородного обменника – фармакологическая мишень для создания кардиопротекторных средств». В первом разделе рассматривается биологическая роль NHE-1: основные изоформы, строение, регуляция, физиологическое значение, а также участие в патологии сердечно-сосудистой системы. Второй раздел литературного обзора посвящен анализу известных на сегодняшний день селективных и неселективных блокаторов NHE-1. В заключительном разделе обзора рассматриваются производные циклических гуанидинов как потенциальные высокоселективные ингибиторы NHE-1.

**Вторая глава** посвящена описанию **материалов и методов** исследований, использовавшихся при выполнении поставленных в диссертации задач. В работе было изучено 26 веществ, содержащих встроенную в цикл гуанидиновую группу:

15 производных 2-аминобензимидазола, включающих: 1-замещенные 2-амино-3-(4-фторбензоилметил)бензимидазолия (12 соединений), 1-замещенные 2-амино-3-(4бензо[d][1,3]диоксол-5-ил-карбонилметил) бензимидазолия (3 соединения) и 11 производных имидазо[1,2-*a*]бензимидазола, состоящих из: 2,3-дигидро-N<sup>9</sup>-имидазо[1,2-*a*]бензимидазола (3 соединения), N<sup>1</sup>-имидазо[1,2-*a*]бензимидазола (4 соединения), N<sup>9</sup>-имидазо[1,2-*a*]бензимидазола) (4 соединения). Все вещества синтезированы в НИИ физической и органической химии Южного федерального университета<sup>1</sup>.

Исследования проводили на 162 белых неинбредных крысах обоего пола массой 200-400 г. и 76 белых неинбредных мышах обоего пола массой 17-36 г., 25 кроликах самцах, породы шиншилла весом 2,5-3,5 кг. Все животные были доставлены из питомников: ООО «Питомник РАМТН» (г. Москва), ФГУП ПЛЖ «Рапполово» РАМН (Ленинградская обл., д. Рапполово), ФГУП "НИИ ГТП" ФМБА России (г. Волгоград). Животные содержались в виварии кафедры фармакологии Волгоградского государственного медицинского университета с естественным световым режимом при относительной влажности воздуха 40-50% и температуре 22-24°C на стандартной полнорационной диете для лабораторных животных (ГОСТ Р 50258-92). Все эксперименты были одобрены Этическим комитетом Волгоградского государственного медицинского университета протокол № 126-2011 от 02 февраля 2011 года.

Изучение **влияния соединений на NHE-1** проводили *in vitro* по методу [Roskopf, 1991; Kusumoto, 2002] на тромбоцитах кролика в диапазоне концентраций 10<sup>-11</sup>–10<sup>-6</sup> Моль/л. В качестве препарата сравнения был выбран селективный ингибитор NHE-1 зонипорид (SIGMA, США) [Ayoub, 2007]. Активацию NHE-1 проводили с помощью натрий пропионата [Гурова, 2011]. Изменения формы тромбоцитов регистрировали с помощью лазерного агрегометра «БИОЛА-220LA НПФ», Россия. Расчёт эффективной концентрации (EC<sub>50</sub>) по ингибированию NHE-1 проводили с помощью регрессионного анализа.

Для изучения *in silico* зависимости NHE-1–ингибирующей активности от

---

<sup>1</sup> Выражаем признательность ведущему научному сотруднику лаборатории синтеза биологически активных соединений, к.х.н. В.А. Анисимовой за синтез и предоставление субстанций веществ для настоящего исследования.

физико-химических параметров производных циклических гуанидинов рассчитывали их липофильность и стерические параметры, а также средние и супремальные оценки биологической активности. Для анализа многопараметровой зависимости между ингибирующей активностью и физико-химическими параметрами производных циклических гуанидинов использовали процедуру множественного пошагового регрессионного анализа<sup>2</sup>.

Изучение противоишемических свойств *in vivo* проводили **на модели 60-ти минутной ишемии с последующей 60-ти минутной реперфузией** у крыс в соответствии с рекомендациями к доклиническим испытаниям [Чичканов, 2012]. Соединение РУ-1355 и препарат сравнения зонипорид вводили внутривенно в эквимолярных дозах 1,12 и 1 мг/кг соответственно, за 10 минут до реперфузии. Визуализацию зон риска и ишемии проводили с помощью двойного окрашивания Синим Эвансом (СЭ) и 2,3,5-трифенилтетразолием хлоридом (ТТС) [Сыренский, 2008]. Приготовление срезов сердец осуществляли с помощью матрицы Alto, США. Расчет площадей проводили с помощью программы Image J. Определяли содержание тропонина I в плазме крови (пкг/мл) набором реактивов для иммуноферментного анализа Rat cardiac troponin I (сTn-I) фирмы CUSABIO BIOTECH CO., LTD. (Китай) на универсальном микропланшетном ридере ELX 800 производства фирмы Bio-Tek Instruments, Inc (США).

**Изучение антиаритмических и антифибрилляторных свойств** соединения РУ-1355 в условиях ишемии проводили в соответствии с руководством по доклиническим испытаниям [Галенко Ярошевский, 2012].

При изучении антиаритмических свойств **на модели 60-ти минутной ишемии с последующей 60-ти минутной реперфузией** у крыс, тяжесть нарушения ритма оценивали с помощью балльной системы [Цорин, 2004]. Препарат сравнения зонипорид [Frensis, 2007] и соединение РУ-1355 вводили внутривенно за пять минут до ишемии в эквимолярных дозах 1 и 1,12 мг/кг соответственно. Регистрацию ЭКГ производили на компьютерном электрокардиографе «Поли-Спектр 8/В» («Нейрософт», Россия) во II стандартном отведении.

---

<sup>2</sup>Выражаем признательность старшему научному сотруднику НИИ фармакологии д.б.н. П.М. Васильеву за помощь при изучении зависимости между структурой исследуемых соединений и их биологической активностью.

**Изучение антифибрилляторной активности** проводили при **кратковременной 7 минутной ишемии и 5 минутной реперфузии** у крыс, по принципу наличия и отсутствия фибрилляций (в баллах). Препарат сравнения - зонипорид (1 мг/кг) [Reson, 2008]. Соединение РУ-1355 изучали в дозе 1,12; 2,5 и 5,0 мг/кг и вводили за пять минут до ишемии внутривенно. Рассчитывали ЕД<sub>50</sub> с помощью программы «Graph.Pad.Prism.5.0», США.

**Изучение влияния на порог электрических фибрилляций** и время до восстановления<sup>3</sup> ритма сердца у крыс проводили согласно методу [Крыжановский, 2011]. Соединение РУ-1355 и зонипорид вводили в дозах 1,25 и 1 мг/кг соответственно, внутривенно (однократно). Навязывание ритма осуществляли с помощью электростимулятора HSE Stimulator II (Hugo Sach Electronik, Германия). Регистрацию ЭКГ проводили во II стандартном отведении электрокардиографом ЭК 4Т-02 (Россия). При помощи 4-канального осциллоскопа фирмы Elema-Siemens (Швеция) проводили визуальный контроль регистрируемых параметров в течение всего эксперимента.

Модель **хронической сердечной недостаточности** формировали у крыс согласно методам [Shibata, 2011;Ennis, 2003]. Препаратом сравнения был выбран милдронат (АО «Гриндекс», Латвия). Животные были распределены на 4 группы: «интактные» – вводили физиологический раствор в дозе 0,1 мл/100 г веса (31 день); «ИЗО» - вводили изопротеренол в дозе 2,5 мг/кг (2 раза в день) (28 дней); «ИЗО+РУ-1355» - с хроническим повреждением миокарда изопротеренолом, вводили соединение РУ-1355 в дозе 1,25 мг/кг (31 день); «ИЗО+Милдронат» - с хроническим повреждением миокарда изопротеренолом, вводили милдронат в дозе 50 мг/кг (31 день). Все соединения вводили внутрибрюшинно. Нагрузку объемом осуществляли болюсным введением изотонического раствора из расчета 3 мл/кг массы животного [Тюренков, 2012] (в течение двух секунд). Максимальную изометрическую нагрузку проводили пережатием восходящей части дуги аорты на 30 с. Регистрировали левожелудочковое давление (ЛЖД), скорости сокращения (dp/dt+) и расслабления (dp/dt-), частоту сердечных сокращений (компьютерный гемодинамический анализатор на базе программы BEAT (Россия)). После

---

<sup>3</sup>Исследования проводились совместно со старшим преподавателем кафедры фармакологии ВолгГМУ к.м.н. Н.А. Гуровой.

проведения всех нагрузок, животных подвергали эвтаназии, далее проводили забор миокарда, отдельно выделяли левый желудочек, межжелудочковую перегородку и определяли их массу. Рассчитывали индекс гипертрофии по отношению массы левого желудочка к массе животного [Ennis, 2003], определяли максимальную интенсивность функционирования структур (МИФС) расчетным способом  $((LЖД_{max} \times ЧСС) / \text{масса левого желудочка} + 1/3 \text{ межжелудочковой перегородки})$  [Тюренков, 2012]. Определяли тропонин I в плазме крови (как указано выше на стр. 9) и продукт перекисного окисления МДА в тканях миокарда, в тесте с тиобарбитуровой кислотой [Андреева, 1988]. Определяли оптическую плотность верхней фазы на спектрофотометре PD-303 UV (APEL, Япония) в кювете с длиной оптического пути 10 мм при длине волны 535 нм.

Морфологические изменения образцов сердец<sup>4</sup> определяли при окраске тканевых срезов по Массону, гематоксилином и эозином. Гистологические препараты документировали цифровой камерой Olympus (Japan, 4.0 мегапикселей) на базе микроскопа Micros (Austria) с использованием объектива x10, x40 и окуляра x10.

**Изучение острой токсичности** проводилось в соответствии с требованиями по проведению доклинических испытаний [Арзамасцев, 2012] на белых неинбредных мышах в диапазоне доз 50-800 мг/кг при однократном внутрибрюшинном введении. Для расчета величины токсикологического показателя LD<sub>50</sub> использовали метод Личфилда-Вилкоксона [Беленький, 2004].

**Изучение общетоксикологических эффектов** соединения РУ-1355 проводилось при использовании широкого набора тестов по S. Irwin [Irwin, 1964] на мышах, в дозах 1 и 25 мг/кг при однократном внутрибрюшинном введении.

Обработку экспериментальных данных проводили с помощью встроенных функций программы Excel из пакета Office XP (Microsoft, США) (среднее арифметическое значение, стандартная ошибка средней арифметической), программ «Statistica 6.0» (StatSoft, США) и «Graph.Pad.Prism.5.0» (США). Для статистической обработки использовали непараметрический метод сравнения независимых групп с помощью U-критерия Манна-Уитни («Statistica 6.0»).

---

<sup>4</sup>Выражаем глубокую признательность зав. кафедрой патологической анатомии, д.м.н. А.В.Смирнову за помощь в проведении морфологических исследований.

Гипотезу о существовании различий между выборками принимали при уровне  $p < 0,05$ .

**Третья глава. Поиск ингибиторов  $\text{Na}^+/\text{H}^+$  обменника среди соединений, содержащих гуанидиновую группировку.** В результате проведенных исследований были найдены соединения среди производных имидазо[1,2-*a*]бензимидазола и 2—аминобензимидазола разной степени выраженности по ННН-1-ингибирующему действию.

При изучении ННН-1-ингибирующей активности у производных 2—аминобензимидазола (1-замещенных 2-амино-3-(4-фторбензоилметил)бензимидазолия и 1-замещенных 2-амино-3-(4бензо[d][1,3]диоксол-5-ил-карбонилметил)бензимидазолия было показано, что структура 2-аминобензимидазола оказалась наиболее перспективна как по вкладу базовой структуры, так и по степени реакции на ее модификацию. Найдены 8 соединений, которые по величине  $\text{EC}_{50}$  превосходили зонипорид (табл.1).

Таблица 1

**Влияние производных циклических гуанидинов на активность ННН-1 (*in vitro* на тромбоцитах кролика) ( $\text{M} \pm \text{m}$ )**

№	Вещество	% ингибирования в концентрации $1 \cdot 10^{-8} \text{M}$	$\text{EC}_{50}$ , М	№	Вещество	% ингибирования в концентрации $1 \cdot 10^{-8} \text{M}$	$\text{EC}_{50}$ , М
1.	РУ-1355	70,93±7,99	$5,42 \cdot 10^{-10}$	15.	РУ-1363	29,09±6,56	$1,43 \cdot 10^{-7}$
2.	РУ-1199	73,95±12,55	$6,56 \cdot 10^{-10}$	16.	РУ-606	34,21±7,87	$2,89 \cdot 10^{-7}$
3.	РУ-1390	69,47±7,57	$6,68 \cdot 10^{-10}$	17.	РУ-64	22,45±12,88	$8,53 \cdot 10^{-7}$
4.	РУ-1200	57,29±5,64	$4,56 \cdot 10^{-9}$	18.	РУ-283	<36,13±22,53	—
5.	РУ-1369	57,40±2,07	$5,04 \cdot 10^{-9}$	19.	РУ-1205	<35,94±11,84	—
6.	РУ-1365	43,20±2,42	$1,31 \cdot 10^{-8}$	20.	РУ-354	<32,69±7,89	—
7.	РУ-1183	46,90±18,55	$1,76 \cdot 10^{-8}$	21.	РУ-1362	29,92±7,43	—
8.	РУ-1361	36,85±14,10	$2,23 \cdot 10^{-8}$	22.	РУ-254	<28,64±14,49	—
9.	Зонипорид	48,05±7,09	$2,70 \cdot 10^{-8}$	23.	РУ-1366	26,95±11,34	—
10.	РУ-1364	33,63±4,84	$3,01 \cdot 10^{-8}$	24.	РУ-1185	<26,50±2,50	—
11.	РУ-1184	46,41±7,69	$3,39 \cdot 10^{-8}$	25.	РУ-255	25,17±1,41	—
12.	РУ-1370	35,45±14,33	$3,52 \cdot 10^{-8}$	26.	РУ-355	<25,17±1,41	—
13.	РУ-602	39,26±15,11	$3,78 \cdot 10^{-8}$	27.	РУ-1204	<23,92±2,07	—
14.	РУ-17	27,80±18,50	$4,50 \cdot 10^{-8}$				

Примечание: «—» не рассчитывали, т.к. максимальная активность не превышала 50%.

При этом наибольшую активность проявили соединения производных

2-аминобензимидазола, которые в положении N<sup>1</sup> содержат такие аминоалкильные радикалы, как диэтиламиноэтильный, пиперидиноэтильный, морфолиноэтильный. Введение в структуру производных имидазо[1,2-*a*]бензимидазола «активных» для производных 2-аминобензимидазола радикалов в положения N<sup>9</sup> (соединения РУ-17, РУ-64, РУ-1204, РУ-1205, РУ-254, РУ-255, РУ-283) или N<sup>1</sup> (соединения РУ-602, РУ-606, РУ-354, РУ-355) не приводило к высокому уровню NHE-1-ингибирующей активности.

При анализе методом средних и супремальных оценок активности производных имидазо[1,2-*a*]бензимидазола и 2-аминобензимидазола было подтверждено, что базовая структура 2-аминобензимидазола (бициклический «кор») является наиболее перспективной структурой для поиска новых высоко активных ингибиторов NHE-1.

Методом корреляционного анализа изучали зависимость NHE-1-ингибирующей активности от физико-химических параметров производных циклических гуанидинов.

Установлено, что в классе производных 2-аминобензимидазола повышению активности способствует снижение липофильности заместителя R<sub>1</sub>, при одновременном увеличении общей липофильности молекулы в целом – за счет увеличения липофильности заместителя R<sub>2</sub>. В классе производных имидазо[1,2-*a*]бензимидазола, наоборот, повышение NHE-1 ингибирующей активности обеспечивается снижением общей липофильности молекулы и увеличением липофильности заместителей R<sub>1</sub> и R<sub>2</sub>.

Проведен пошаговый регрессионный анализ зависимости NHE-1-ингибирующей активности от физико-химических параметров изучаемых соединений. Анализ полученных регрессионных QSAR-уравнений позволяет предположить, что у производных 2-аминобензимидазола и имидазо[1,2-*a*]бензимидазола имеется общий механизм взаимодействия с сайтом NHE-1, детерминированный размером их базовых структур. Возможно, этот механизм осуществляется через связывание данных конденсированных систем с каким-либо «особым» карманом сайта NHE-1, например, ответственным за фиксацию так называемых «привилегированных» подструктур, к которым относятся производные 2-аминобензимидазола и имидазо[1,2-*a*]бензимидазола. Более высокая активность производных 2-аминобензимидазола, по-видимому, объясняется меньшим размером данного бицикла, что позволяет ему более свободно помещаться в

указанном кармане и связываться с ним: для незамещенного 2-аминобензимидазола  $MR_0=38,5 \text{ см}^3/\text{моль}$ , а для незамещенного имидазо[1,2-*a*]бензимидазола  $MR_0=44,4 \text{ см}^3/\text{моль}$ .

Взаимодействие производных 2-аминобензимидазола и имидазо[1,2-*a*]бензимидазола с сайтом NHE-1, вероятно, происходит в два этапа: связывание с «привилегированным» карманом сайта основной части молекулы (регулируется размерами лиганда) и связывание со «специфическим» карманом сайта (определяется липофильностью и электронными параметрами).

При оценки эффективной концентрации ( $EC_{50}$ ) и острой токсичности ( $LD_{50}$ ) у наиболее активных соединений было найдено производное 2-амино-1-морфолиноэтил-3-(4-фторфенил)бензимидазолия хлорид - соединение РУ-1355, которое в исследовании *in vitro* на тромбоцитах кролика превосходило зонипорид по величине  $EC_{50}$  в 50 раз (табл. 2).

Таблица 2

**Влияние некоторых производных 2-аминобензимидазола на активность NHE-1 в экспериментах *in vitro* на тромбоцитах кролика ( $EC_{50}$ ), острую токсичность ( $LD_{50}$  мг/кг внутрибрюшинно)**

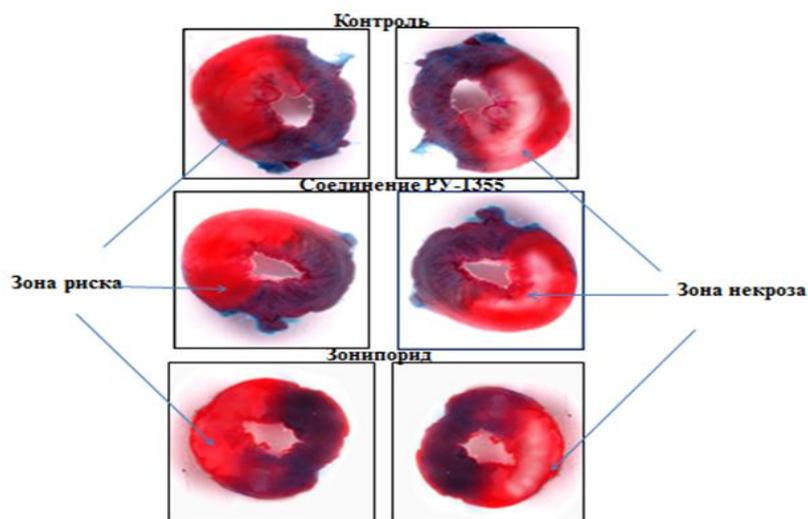
№	Вещество	$EC_{50}$		$LD_{50}$ мг/кг в/бр. мыши
		M	мг/л	
1.	РУ-1355	$5,42 \cdot 10^{-10}$	0,0002	342,7
2.	РУ-1199	$6,56 \cdot 10^{-10}$	0,0003	401,8
3.	РУ-1200	$4,56 \cdot 10^{-9}$	0,0020	643,3
4.	РУ-1183	$1,76 \cdot 10^{-8}$	0,0080	240,0
5.	Зонипорид	$2,70 \cdot 10^{-8}$	0,0100	250,0*

Примечание: \* - [Tracey, 2003].

**Четвертая глава. Кардиопротекторные свойства соединения РУ-1355 и зонипорида на модели ишемического и реперфузионного повреждения миокарда у крыс.** Во время ишемии, активность NHE-1 увеличивается и приводит к повышению внутриклеточной концентрации ионов  $Na^+$ , увеличивая вход ионов  $Ca^{2+}$  внутрь клетки, вызывая «кальциевый парадокс» [Mackenzie, 2006], что ведет к контрактурам и некрозу кардиомиоцитов [Fliegel, 2009]. Ингибиторы NHE-1 оказывают свое кардиопротекторное действие [Спасов, 2013; Andreadou, 2008; Fliegel, 2009].

При проведении исследований *in vivo* на модели 60-ти минутной ишемии с последующей 60-ти минутной реперфузией у крыс было показано, что соединение РУ-1355 при однократном внутривенном введении за 10 минут до реперфузии в дозе 1,12 мг/кг ограничивало размеры зоны некроза миокарда. Изучаемое вещество превосходило в 1,3 раза препарат сравнения зонипорид (рис.1, 2).

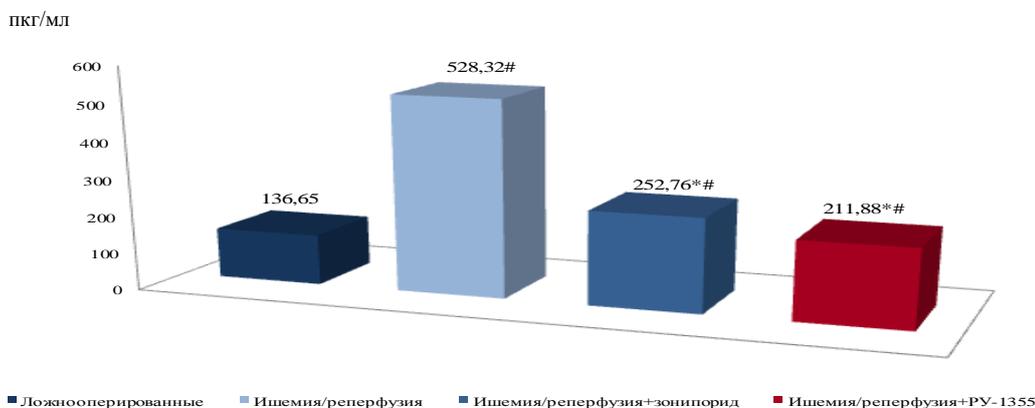
Кроме того, соединение РУ-1355 ограничивало рост в плазме крови маркера повреждения миокарда тропонина I, равный по данному виду активности препарату зонипорид (рис.3).



**Рис. 1.** Влияние соединения РУ-1355 (1,12 мг/кг) и зонипорида (1 мг/кг) в эквимоллярных дозах на зоны риска и инфаркта миокарда крыс в условиях 60-ти минутной ишемии и 60-ти минутной реперфузии.



**Рис. 2.** Влияние соединения РУ-1355 (1,12 мг/кг) и зонипорида (1 мг/кг) в эквимоллярных дозах на распределение зон повреждения миокарда крыс в условиях 60-ти минутной ишемии и 60-ти минутной реперфузии (% левого желудочка). Примечания: различия статистически достоверны ( $p < 0,05$ ) к: # - группе «ложнооперированные»; \* - группе «ишемия/реперфузия».



**Рис. 3.** Влияние соединения РУ-1355 (1,12 мг/кг) и зонипорида (1 мг/кг) в эквимоллярных дозах на уровень тропонина I (пкг/мл) в плазме крови крыс в условиях 60-ти минутной ишемии и 60-ти минутной реперфузии. Примечания: различия статистически достоверны ( $p < 0,05$ ) к: # - группе «ложнооперированные»; \* - группе «ишемия/реперфузия».

Таким образом, на основании проведенных исследований *in vivo* на модели ишемии/реперфузии показано, что соединение РУ-1355 при однократном внутривенном введении за 10 минут до реперфузии в дозе 1,12 мг/кг превосходило зонипорид по противоишемическому действию.

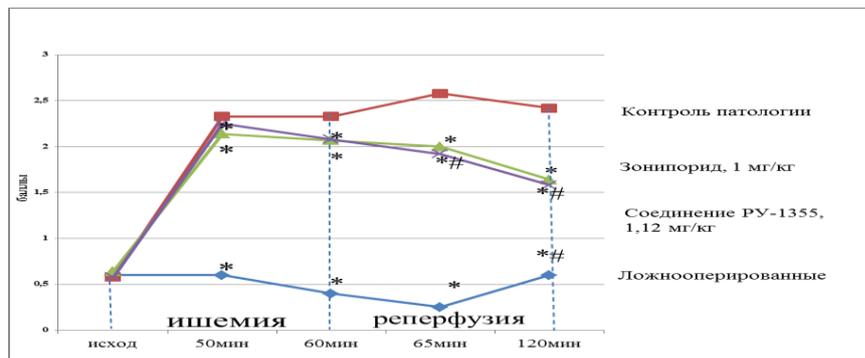
#### **Пятая глава. Антиаритмические свойства соединения РУ-1355 и зонипорида.**

Во время острой ишемии/реперфузии в кардиомиоцитах происходят процессы, которые приводят к изменению протонного градиента на мембране сарколеммы. Они способствуют активации NHE-1, который осуществляет выход ионов водорода из клетки в обмен на натрий. В результате этого повышается концентрации  $\text{Na}^+$  в миокарде и, как результат этого, «перегрузка» внутриклеточным кальцием. Избыток ионов кальция вызывает активацию механизма *re-entry*, задержанных постдеполяризаций (триггерную активность), что приводит к развитию опасных для жизни тахиаритмий [Крыжановский, 2008; Столярук, 2010; Нарыжная, 2012; Sánchez, 2011; Yui, 2011].

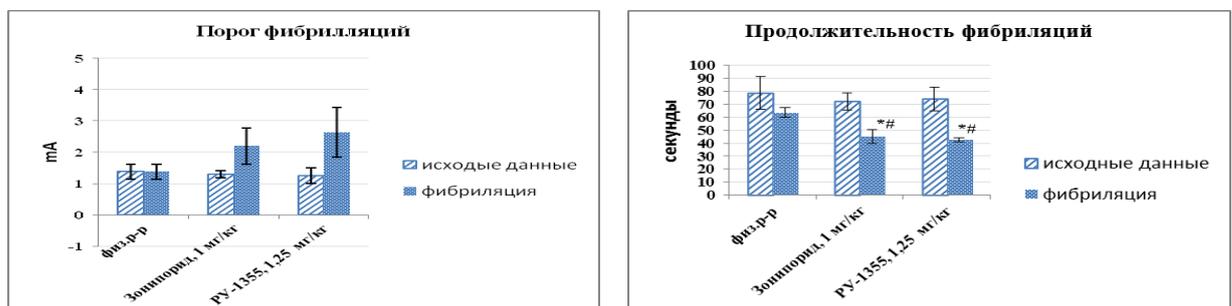
Исследуемое вещество при внутривенном введении в дозе 1,12 мг/кг оказывало защитное действие в отношении ишемических нарушениях ритма сходное по направленности эффекта с зонипоридом. На модели длительной 60-ти минутной ишемии и последующей 60-ти минутной реперфузией было показано, что к концу периода реперфузии соединение РУ-1355 подобно зонипориду статистически достоверно снижало выраженность аритмических нарушений на 34,7% по отношению к животным с ишемией (рис.4).

Соединение РУ-1355 на модели кратковременной (семи минутной) ишемии и последующей пяти минутной реперфузией оказывало антифибрилляторное действие, его ED<sub>50</sub> составила 1,25 мг/кг.

Вещество РУ-1355 в дозе 1,25 мг/кг во время проведения **серий прямоугольных электрических импульсов** продолжительностью 30 секунд, повышало порог электрических фибрилляций желудочков сердца как по отношению к группе животных с патологией, так и по отношению к зонипориду на 90,6 и 20% соответственно, однако эти различия оказались статистически не значимы. По способности уменьшать время до восстановления нормального ритма, исследуемое соединение превосходило контрольную группу с патологией на 33,3% ( $p < 0,05$ ) и препарат сравнения на 6% ( $p > 0,05$ ) (рис.5).



**Рис. 4.** Влияние соединения РУ-1355 и зонипорида (в эквимоларных дозах) при однократном внутривенном введении за 10 минут до реперфузии на тяжесть нарушений ритма на этапах 60-ти минутной ишемии с последующей 60-ти минутной реперфузией миокарда у крыс в динамике (в баллах,  $M \pm m$ ). Примечания: различия статистически достоверны ( $p < 0,05$ ) по сравнению с: \* - исходом, # - контролем патологии.

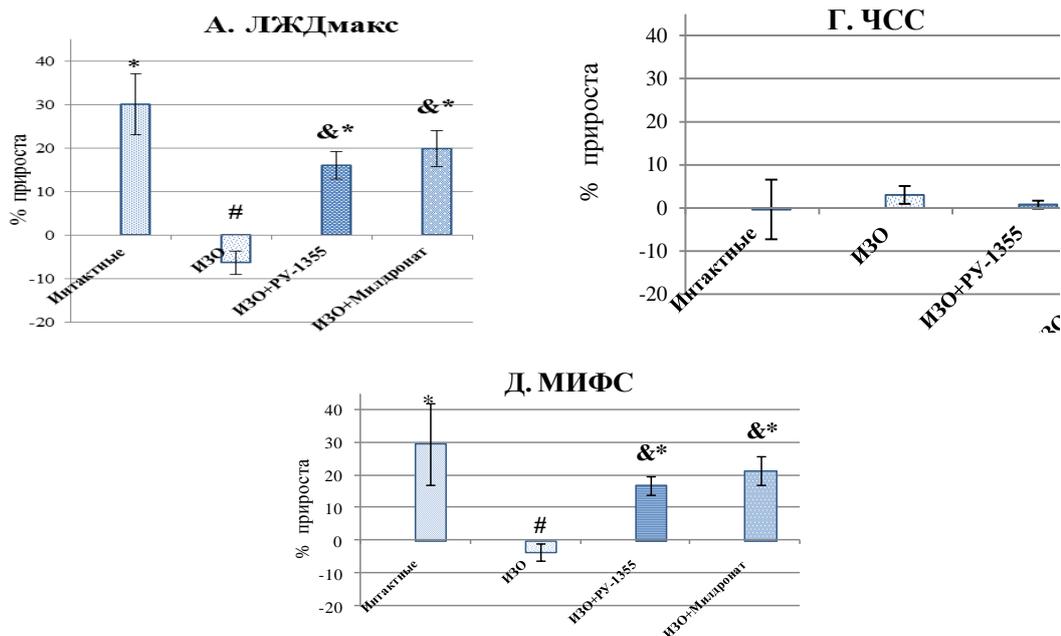


**Рис. 5.** Влияние соединения РУ-1355 (в дозе равной  $ED_{50}$  при кратковременной ишемии/реперфузии) и зонипорида на порог и продолжительность электрических фибрилляций желудочков у крыс ( $M \pm m$ ). Примечания: различия статистически достоверны ( $p < 0,05$ ) по сравнению с: \* - исходом, # - физиологическим раствором.

При изучении основных параметров ЭКГ у наркотизированных животных при однократном введении соединения РУ-1355 в дозе 1,25 мг/кг статистически значимых изменений не наблюдалось.

**Шестая глава. Кардиопротекторные свойства соединения РУ-1355 и милдроната на модели хронической сердечной недостаточности.** В данной серии исследований в качестве препарата сравнения был выбран милдронат, оказывающий антиишемическую эффективность при инфаркте миокарда [Киселев, 2010], отмечено его положительное действие в комбинированной терапии как систолической, так и диастолической ХСН [Самородская, 2013; Стаценко, 2009, 2012].

При проведении пред- и постнагрузок было показано, что соединение РУ-1355 при внутрибрюшинном введении в дозе 1,25 мг/кг (в течение 31 дня) улучшало сократительную активность миокарда при экспериментальной ХСН у крыс. Так в условиях нагрузки объемом по максимальным показателям ЛЖД,  $dp/dt+$ , МИФС статистически достоверно превосходило аналогичные параметры в группе животных с хроническим повреждением миокарда изопротеренолом в 2,5, 3,2, и 4,7 раза соответственно, оказывая эффект равный милдронату (рис.6).

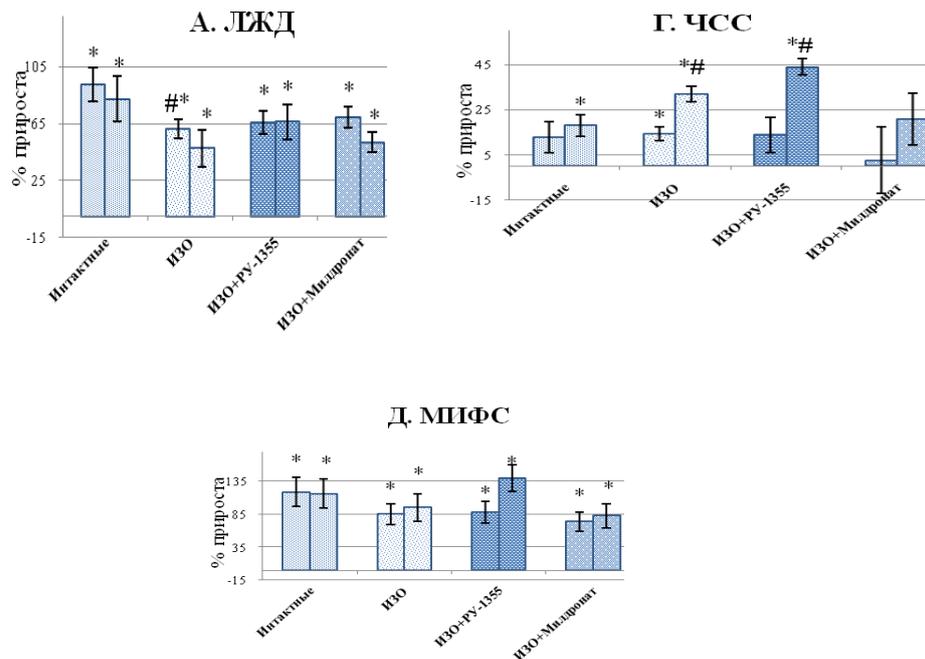


**Рис. 6.** Влияние соединения РУ-1355 (1,25 мг/кг) и милдроната (50 мг/кг) на максимальные показатели кардиодинамики в тесте нагрузки объемом у животных с хронической интоксикацией изопротеренолом (2,5 мг/кг). Примечания: различия статистически достоверны ( $p < 0,05$ ) к: \* - исход; # - группе «интактные»; & - группе «ИЗО».

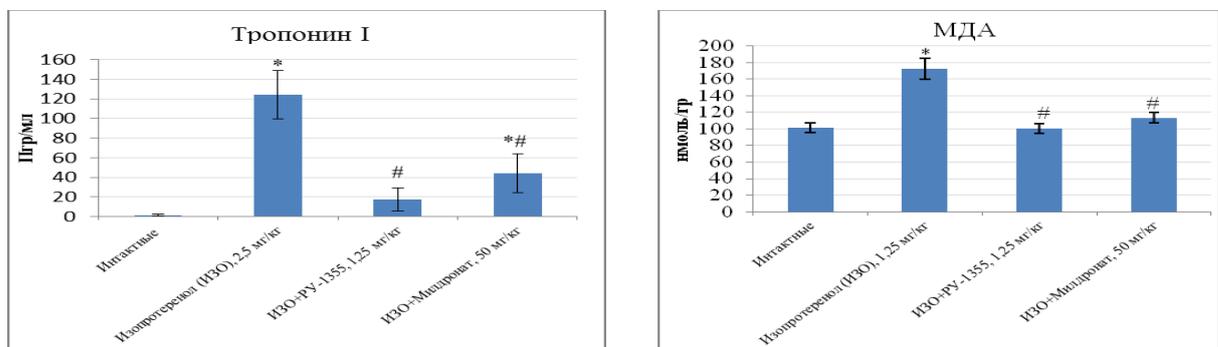
Прирост при пережатии аорты отличался от показателей контрольных животных, однако четко просматривается тенденция к их сохранности. Соединение РУ-1355 статистически незначимо превосходило милдронат по удержанию эффекта на 25 секунде: по показателям ЛЖД,  $dp/dt+$ ,  $dp/dt-$ , ЧСС, МИФС на 21,8, 65,7, 67,4, 52,7, 40,6% соответственно (рис.7).

Известно, что в условиях развития изопротереноловой гипертрофии миокарда происходит активация NHE-1 и повышение маркеров повреждения миокарда тропонина I в плазме крови и ПОЛ [Серов, 2009; Матвеев 2010; Adaramoye, 2014]. Соединение РУ-1355 статистически значимо ограничивало рост тропонина I и МДА в 6,9 и 1,7 раза соответственно, было ниже, чем у животных с экспериментальной патологией. Изучаемое вещество в 2,5 раза активнее милдроната предотвращало рост тропонина I и не уступало ему по влиянию на уровень МДА (рис.8).

При изучении морфологических изменений миокарда было установлено, что исследуемое вещество препятствовало образованию соединительной ткани. Ее количество было статистически достоверно ниже по сравнению с группой, получавшей изопротеренол, как по общей плотности, так и по уровню коллагена на 29,3 и 25% соответственно (рис.9).

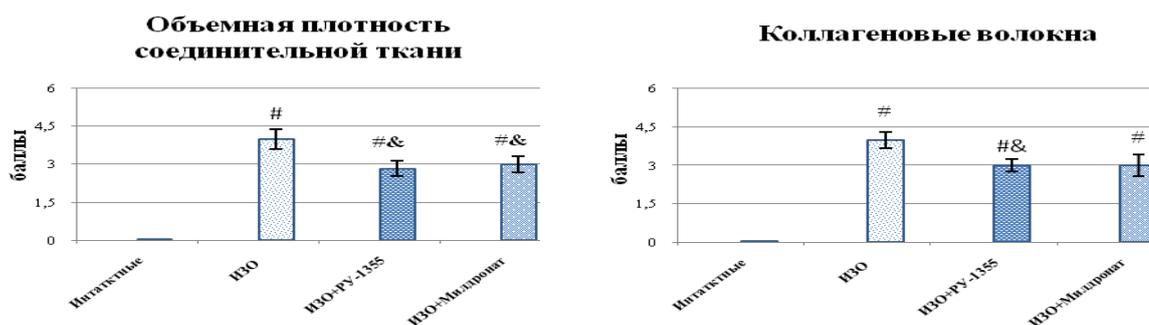


**Рис. 7.** Влияние соединения РУ-1355 (1,25 мг/кг) и милдроната (50 мг/кг) на показатели кардиодинамики в тесте с изометрической нагрузкой у животных с хронической интоксикацией изопроterenолом (2,5 мг/кг). Примечания: различия статистически достоверны ( $p < 0,05$ ) к: \* - исход; # - группе «интактные»; & - группе «ИЗО». В каждой группе первый столбик: максимальный эффект на 5 секунде; второй столбик: эффект на 25 секунде.



**Рис. 8.** Влияние соединения РУ-1355 (1,25 мг/кг) и милдроната (50 мг/кг) на уровень тропонина I в плазме крови и МДА в миокарде крыс с хронической интоксикацией изопроterenолом (2,5 мг/кг).

Известно, что при активации NHE-1 образуются прогипертрофические факторы [Kitagawa, 2007], поэтому можно предположить, что соединение РУ-1355, блокируя NHE-1, останавливает патологический каскад ремоделирования, ограничивая гипертрофию миокарда и, оказывая защитное действие от прогипертрофических факторов.



**Рис. 9.** Влияние РУ-1355 (1,25 мг/кг) и милдроната (50 мг/кг) на морфологические изменения миокарда при хроническом повреждении изопротеренолом (2,5 мг/кг). Примечания: различия статистически достоверны ( $p < 0,05$ ) к: # - группе «интактные»; & - группе «ИЗО».

Таким образом, можно утверждать, что для соединения РУ-1355 характерны кардиопротекторные свойства при курсовом введении у животных с экспериментальной ХСН, вызванной хронической изопротереноловой интоксикацией.

**Седьмая глава. Изучение общетоксикологических свойств соединения РУ-1355.** В результате проведенных исследований общетоксикологических свойств по С. Ирвину [Irwin, 1964] на мышах, было установлено, что соединения РУ-1355 в эффективной дозе в дозе 1 мг/кг не влияло на эмоциональное поведение животных, нервно-мышечную возбудимость, двигательную активность, мышечную координацию и не вызывало изменений со стороны вегетативной нервной системы. Начиная с дозы 25 мг/кг ( $1/14 LD_{50}$ ), наблюдается снижения спонтанной двигательной активности, координации, расслабляющего эффекта, угнетение горизонтальной активности и уровня эмоционального реагирования.

При изучении острой токсичности соединения РУ-1355 ( $LD_{50} = 342,7$  мг/кг), было установлено, что в соответствии с классификацией токсичности веществ [Березовская, 2003] оно относится к классу умеренно токсичных (3 класс). Наблюдались характерные признаки отравления (ограничение подвижности, частое поверхностное дыхание, снижение болевой и тактильной чувствительности). Непосредственной гибели животных предшествовали явления глубокой седации, угнетение дыхания, боковое положение с редкими клоническими судорогами.

В **восьмой главе** проводится обсуждение полученных результатов. На основании проведенных исследований было показано, что для соединений, содержащих циклическую гуанидиновую группировку, а именно производных 2-аминобензимидазола и имидазо[1,2-*a*]бензимидазола, характерно ингибирование NHE-1. Следует отметить, что среди изученных производных

2-аминобензимидазола наблюдалось более 50% ингибиторов NHE-1 в исследованиях *in vitro* на тромбоцитах кролика. Наиболее активное вещество РУ-1355 по ингибированию NHE-1, статистически значимо превосходило препарат сравнения зонипорид по величине  $EC_{50}$ .

При изучении исследуемого вещества на моделях длительной и кратковременной ишемии/реперфузии, экспериментальной хронической сердечной недостаточности были выявлены кардиопротекторные эффекты (противоишемические, антифибрилляторные и антиремоделирующие).

Соединения РУ-1355 относятся к классу умеренно токсичных (3 класс). При введении его в эффективной дозе не выявлено существенных изменений в поведении животных. В дозе, превышающей эффективную в 25 раз, наблюдалось снижение спонтанной двигательной активности, координации, расслабляющего эффекта и угнетение горизонтальной активности.

### ВЫВОДЫ

1. Новые производные 2-аминобензимидазола и имидазо[1,2-*a*]бензимидазола оказывают ингибирующее влияние на NHE-1 тромбоцитов.

2. Высокая NHE-1-ингибирующая активность наиболее характерна для производных 2-аминобензимидазола и определяется наличием аминогруппы в положении  $C_2$ , диэтиламиноэтильного, пиперидиноэтильного или морфолиноэтильного заместителя в  $N^1$ , фторбензоилметила в  $N^3$ . В классе данных производных, повышению NHE-1 ингибирующей активности способствует снижение липофильности первого заместителя  $\log P_{R1}$ , при одновременном увеличении общей липофильности молекулы  $\log P_0$ .

3. Максимальная NHE-1-ингибирующая активность показана у соединения РУ-1355 – 2-амино-1-морфолиноэтил-3-(4-фторфенацил)бензимидазолия хлорид. В исследованиях *in vitro* соединение РУ-1355 по уровню NHE-1 ингибирующей активности статистически значимо превосходило зонипорид по величине  $EC_{50}$ .

4. На модели 60-ти минутной ишемии с последующей 60-ти минутной реперфузией у крыс, исследуемое вещество сокращало размеры зоны некроза миокарда по сравнению с животными с ишемией и, получавших зонипорид в 1,8 и 1,3 раза соответственно ( $p < 0,05$ ). Соединение РУ-1355 подобно зонипориду

ограничивало рост маркера повреждения миокарда тропонина I в 2,5 раза по сравнению с животными с патологией ( $p < 0,05$ ).

5. Соединение РУ-1355 проявляло антиаритмический эффект при введении за 10 минут до реперфузии. Исследуемое вещество в 1,5 раза уменьшало тяжесть постреперфузионных нарушений ритма подобно препарату сравнения.

6. Соединение РУ-1355 при профилактическом однократном внутривенном введении проявляет дозозависимый антифибрилляторный эффект.  $ED_{50}$  составила 1,25 мг/кг.

7. Вещество РУ-1355 повышало порог электрических фибрилляций желудочков сердца на 90,6% по отношению к контрольной группе с патологией ( $p > 0,05$ ) и на 20% было активнее зонипорида ( $p > 0,05$ ). По способности уменьшать время до восстановления нормального ритма, исследуемое соединение превосходило контрольную группу с патологией на 33,3% ( $p < 0,05$ ) и препарат сравнения на 6% ( $p > 0,05$ ).

8. Соединение РУ-1355 улучшало сократительную активность миокарда при хронической интоксикации изопротеренолом. Так в условиях нагрузки объемом по максимальным показателям ЛЖД,  $dp/dt+$ , МИФС статистически достоверно превосходило аналогичные параметры в группе животных с хроническим повреждением миокарда изопротеренолом в 2,5, 3,2, и 4,7 раза соответственно, оказывая эффект подобно милдронату. В период увеличения постнагрузки у вещества РУ-1355 по сравнению с милдронатом, отмечалась тенденция к сохранению нагрузки в течение всего периода наблюдения, по следующим показателям: ЛЖД,  $dp/dt+$ ,  $dp/dt-$ , ЧСС, МИФС на 21,8, 65,7, 67,4, 52,7, 40,6% соответственно. Изучаемое соединение в 2,5 раза активнее милдроната предотвращало рост тропонина I в плазме крови и не уступало ему по влиянию на уровень МДА в миокарде крыс.

9. При изучении общетоксикологических свойств исследуемое соединение РУ-1355 в дозе 1 мг/кг не влияло на эмоциональное поведение животных, нервно-мышечную возбудимость, двигательную активность, мышечную координацию и не вызывало изменений со стороны вегетативной нервной системы. В дозе 25 мг/кг вещество РУ-1355 вызывало снижение спонтанной двигательной активности, координации, угнетение горизонтальной активности, оказывало мышечно-расслабляющий

эффект. Соединение РУ-1355 в соответствии с классификацией токсичности веществ можно отнести к классу умеренно токсичных (3 класс). Величина LD<sub>50</sub> составила 342,7 мг/кг.

## ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

Созданная база данных соединений с NHE-1 ингибирующей активностью может быть использована для прогноза данного вида активности у новых синтезированных веществ. В исследованиях *in silico* были выявлены признаки высокого уровня NHE-1 блокирующих эффектов, что может быть использовано для направленного синтеза соединений. На основании полученных результатов можно сделать вывод о целесообразности дальнейшего доклинического изучения соединения под лабораторным шифром РУ-1355.

## СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

*Статьи в рецензируемых изданиях, рекомендуемых Минобрнауки:*

1. Гурова, Н. А. Метод изучения влияния новых соединений на активность натрий/водородного обменника / Н. А. Гурова, А. А. Спасов, **А. С. Питерсен** // Вестник ВолгГМУ. – 2011. - Т. 38. - № 2. – С. 70 – 72.
2. Гурова, Н. А. Кардиопротекторные свойства зонипорида на модели ишемического и реперфузионного повреждения миокарда у крыс / Н. А. Гурова, А. А. Спасов, **А. С. Тимофеева**, А. А. Желтова, В. Ю. Федорчук // Экспериментальная и клиническая фармакология. – 2013. - Т. 76. - № 8. С. 17 - 19.
3. Спасов, А. А. Антиаритмические свойства зонипорида (экспериментальное исследование) / А. А. Спасов, Н. А. Гурова, **А. С. Тимофеева**, С. М. Сорокин // Экспериментальная и клиническая фармакология. - 2014. - Т. 77. № 6. С. 13 – 17.
4. Патент РФ RU 2526902. Средство, обладающее кардиопротекторным действием, и галогениды 1,3-дизамещенных 2-иминобензимидазолия. / А. А. Спасов, В. А. Анисимова, Н. А. Гурова, **А. С. Тимофеева**, В. Ю. Федорчук, В. И. Минкин // опубл. 27.08.2014. Бюл. Изобретений. - 2014. - № 24. - 9 с.
5. Патент РФ RU 2518741. Средство, ингибирующее Na<sup>+</sup>/H<sup>+</sup>-обмен, и галогениды 1-диалкиламиноэтил-3-[замещенный(дизамещенный) фенацил]-2-аминобензимидазолия. / В. А. Анисимова, А. А. Спасов, Н. А. Гурова, И. Е. Толпыгин, **А. С. Тимофеева**, В. Ю. Федорчук, В. И. Петров, В. И. Минкин // опубл. 10.06.2014. Бюл. Изобретений. - 2014. - № 16. - 8 с.
6. Патент РФ RU 2518740. Средство, ингибирующее Na<sup>+</sup>/H<sup>+</sup>-обмен, и дигидрохлорид 2-(3,4-метилendioксифенил)-9-морфолиноэтилимидазо [1,2-а]бензимидазола. / А. А. Спасов, В. А. Анисимова, Н. А. Гурова, **А. С. Тимофеева**, В. Ю. Федорчук, В. И. Минкин // опубл. 10.06.2014. Бюл. Изобретений. – 2014. - №16. - 8 с.

*Статьи в журналах и сборниках материалов конференций:*

1. **Питерсен, А. С.** Компьютерный анализ классов конденсированных азолов как источников веществ с высокой антиаритмической активностью / **А. С. Питерсен**, В. Ю. Федорчук // XV Региональная конференция молодых исследователей Волгоградской области. Волгоград, 2010 г. – С. 54 – 56.
2. **Питерсен, А. С.** Сравнительная оценка влияния производных циклических гуанидинов на активность Na<sup>+</sup>/H<sup>+</sup>-обменника / **А. С. Питерсен**, Н. А. Гурова, В. А. Анисимова // Материалы III Всероссийского научно-практического семинара для молодых ученых «Методологические аспекты экспериментальной и клинической фармакологии». – Волгоград, 2011 г. – С. 68 – 69.
3. **Питерсен, А. С.** Влияния некоторых циклических производных гуанидина на активность натрий/водородного обменника / **А. С. Питерсен**, Федорчук В. Ю. // Материалы 69-й открытой научно-практической конференции молодых ученых и студентов с международным участием

- «Актуальные проблемы экспериментальной и клинической медицины». – Волгоград, 2011 г. – С. 203 – 204.
4. Федорчук, В. Ю. Влияния некоторых конденсированных азотсодержащих соединений на активность  $\text{Na}^+/\text{H}^+$ -обменника / В. Ю. Федорчук, **А. С. Питерсен**, Д. В. Косолапова, В. В. Гурова // Материалы XVI Региональной конференции молодых исследователей Волгоградской области. Волгоград, 2011 г. – С. 39 – 41.
  5. Гурова, Н. А. Поиск и изучение ингибиторов  $\text{Na}^+/\text{H}^+$  обменника среди производных азолов / Н. А. Гурова, В. А. Анисимова, **А. С. Питерсен**, В. Ю. Федорчук // Материалы IV съезда фармакологов России «Инновации в современной фармакологии». – Казань, 2012 г. – С. 53.
  6. Федорчук, В. Ю. Изучение острой токсичности амилорида / В. Ю. Федорчук, **А. С. Питерсен** // Материалы юбилейной 70-й открытой научно-практической конференции молодых ученых и студентов с международным участием «Актуальные проблемы экспериментальной и клинической медицины». – Волгоград, 2012 г. – С. 337.
  7. **Питерсен, А. С.** Изучение влияния некоторых производных азолов на активность  $\text{Na}^+/\text{H}^+$ -обменника / **А. С. Питерсен**, В. Ю. Федорчук, Д. В. Косолапова, В. В. Гурова // Материалы IV Международной научной конференции «Science4Health». – Москва, 2012. – С. 63.
  8. Гурова, Н. А. Влияние амилорида на активность  $\text{Na}^+/\text{H}^+$ -обменника тромбоцитов / Н. А. Гурова, А. А. Спасов, **А. С. Питерсен**, В. Ю. Федорчук, Д. В. Косолапова // Волгоградский научно-медицинский журнал. – 2012. - № 2. – С. 19 – 21.
  9. Бригадирова, А. А. Оценка новизны химической структуры производных конденсированных азолов – ингибиторов  $\text{Na}^+/\text{H}^+$  обменника / А. А. Бригадирова, **А. С. Питерсен**, В. Ю. Федорчук, Д. В. Косолапова, В. В. Гурова // Материалы IV Всероссийского научно-практического семинара молодых ученых с международным участием «Современные проблемы медицинской химии. Направленный поиск новых лекарственных средств». - Волгоград, 2012 г. – С. 10 – 11.
  10. **Питерсен, А. С.** Изучение влияния зонипорида на размеры зоны инфаркта миокарда / **А. С. Питерсен** // XVII Региональной конференции молодых исследователей Волгоградской области. Волгоград, 2012 г. – С.61 – 62.
  11. Гурова, В. В. Динамика индекса гипертрофии при хроническом изопротереноловом повреждении миокарда / В. В. Гурова, Е. В. Резников, **А. С. Тимофеева** // Материалы V Международной научной конференции «Science4Health». – Москва, 2013 г. – С. 89 – 90.
  12. Спасов, А. А. Изучение влияния некоторых конденсированных азотсодержащих соединений на активность  $\text{Na}^+/\text{H}^+$ -обменника / А. А. Спасов, Н. А. Гурова, В. А. Анисимова, **А. С. Питерсен**, В. Ю. Федорчук // Тезисы докладов XIX Российского национального конгресса «ЧЕЛОВЕК И ЛЕКАРСТВО». – Москва, 2012. – С. 425.
  13. Гурова, Н. А. Поиск и изучение ингибиторов  $\text{Na}^+/\text{H}^+$  обменника среди производных азолов / Н. А. Гурова, В. А. Анисимова, **А. С. Питерсен**, В. Ю. Федорчук // Материалы IV съезда фармакологов России «Инновации в современной фармакологии». – Казань, 2012. – С. 53.
  14. Федорчук, В. Ю. База данных по химической структуре и фармакологической активности ингибиторов  $\text{Na}^+/\text{H}^+$  обменника / В. Ю. Федорчук, **А. С. Питерсен** // Материалы IV Всероссийского научно-практического семинара молодых ученых с международным участием «Современные проблемы медицинской химии. Направленный поиск новых лекарственных средств». – Волгоград, 2012 г. – С. 135 – 136.
  15. **Питерсен, А. С.** Изучение эффекта соединения АКС-284 на активность натрий/водородного обменника в сравнении с зонипоридом / **А. С. Питерсен**, Н. А. Гурова, В. Ю. Федорчук // Материалы IV Всероссийского научно-практического семинара молодых ученых с международным участием «Современные проблемы медицинской химии. Направленный поиск новых лекарственных средств». – Волгоград, 2012. – С. 157.
  16. **Тимофеева, А. С.** Кардиопротекторные свойства соединения РУ–1190 на модели ишемии/реперфузии миокарда у крыс / **А. С. Тимофеева**, В. А. Анисимова, А. А. Желтова, В. Ю. Федорчук, В. В. Гурова, Е. В. Резников, С. М. Сорокин // Волгоградский научно-медицинский журнал. – 2013. С. 21-23.
  17. Федорчук, В. Ю. Поиск новых ингибиторов  $\text{Na}^+/\text{H}^+$ -обмена среди бромидов 1-замещенных 2-амино-3-(4-фторбензоилметил)бензимидазолия / В. Ю. Федорчук, **А. С. Тимофеева**, В. В. Гурова, И. Е. Толпыгин // Сборник тезисов «Проблемы разработки новых лекарственных средств». - Москва, 2013 г. – С. 126.
  18. Гурова, Н. А. Поиск ингибиторов  $\text{Na}^+/\text{H}^+$ -обменника среди производных бензимидазольных систем / Н. А. Гурова, А. А. Спасов, В. А. Анисимова, **А. С. Тимофеева**, В. Ю. Федорчук, А.

- А. Желтова // Сборник тезисов с международным участием Первая Российская конференция по медицинской химии (Med Chem Russia-2013). – Москва, 2013 г. – С. 279.
19. Тимофеева, А. С. Кардиопротекторный эффект соединения ру-295/ А. С. Тимофеева, В. Ю. Федорчук, А. А. Желтова, А. А. Спасов, В. А. Анисимова // «Современные проблемы химической науки и фармации» Сборник материалов Всероссийской конференции с международным участием, посвящённой 85-летию со дня рождения В. А. Кухтина Чебоксары, 2014 г – С. 155 – 156.
  20. Тимофеева, А. С. Сравнительное изучение селективного и неселективного ингибитора NHE-1 в исследованиях *in vitro* / А. С. Тимофеева, В. Ю. Федорчук // «Современные проблемы химической науки и фармации» Сборник материалов Всероссийской конференции с международным участием, посвящённой 85-летию со дня рождения В. А. Кухтина Чебоксары, 2014 г – С. 215 – 216.
  21. Тимофеева, А. С. Анализ зависимости NHE-ингибирующей активности от химической структуры производных бензимидазолов / А. С. Тимофеева, В. Ю. Федорчук, В. А. Анисимова, И. Е. Толпыгин // Вестник ВоГМУ: приложение. Материалы V Всероссийского научно-практического семинара «Геномные и протеомные технологии при создании лекарственных средств» Волгоград, 2013 г. – С. 134 – 135.
  22. Дронь, М. Ю. Биоинформационное сравнение первичных аминокислотных последовательностей натрий-водородных последовательностей./ М. Ю. Дронь, А. Н. Енькова, В. Ю. Федорчук, А. С. Питерсен, П. М. Васильев // Вестник ВоГМУ: приложение. Материалы V Всероссийского научно-практического семинара «Геномные и протеомные технологии при создании лекарственных средств» Волгоград, 2013 г. – С. 36 – 37.
  23. Тимофеева, А. С. // Кардиотропные эффекты соединения ру-1355 в условиях хронической сердечной недостаточности «Актуальные проблемы экспериментальной и клинической медицины». – Волгоград 24-27 апреля 2013 г. – С. 255 – 256.
  24. Тимофеева, А. С. // Кардиопротекторные свойства ингибитора Na<sup>+</sup>/H<sup>+</sup> обмена соединения РУ–284 // А. С. Тимофеева / Материалы 71-й открытой научно-практической конференции молодых ученых и студентов с международным участием «Актуальные проблемы экспериментальной и клинической медицины». – Волгоград, 2014 г. – С. 245 – 246.
  25. Гурова, Н. А. Влияние амилорида на Na<sup>+</sup>/H<sup>+</sup>-обменник тромбоцитов / Н. А. Гурова, А. С. Питерсен // Пятая Всероссийская конференция «Клиническая гемостазиология в сердечно-сосудистой хирургии» (с международным участием). – Москва, 2011 г. – С. 156-157.

## СПИСОК УСЛОВНЫХ СОКРАЩЕНИЙ И ОБОЗНАЧЕНИЙ

**ИЗО** – изопротеренол

**МДА** – малоновый диальдегид

**ПОЛ** – перекисное окисление липидов

**РУ** – лабораторный шифр соединения

**NHE** – Na<sup>+</sup>/H<sup>+</sup>-обменник

**NHE-1** – Na<sup>+</sup>/H<sup>+</sup>-обменник первой изоформы

**ТИМОФЕЕВА АННА САМОВНА**

**ФАРМАКОЛОГИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА ПРОИЗВОДНЫХ ЦИКЛИЧЕСКИХ  
ГУАНИДИНОВИНГИБИТОРОВ Na<sup>+</sup>/H<sup>+</sup> ОБМЕНА**

**АВТОРЕФЕРАТ**

диссертации на соискание ученой степени  
кандидата медицинских наук