

*На правах рукописи*

Мамлеев Андрей Викторович

Эндотелиопротекторные свойства 2-стирилзамещенных производных 4-оксопиримидина при экспериментально вызванной недостаточности половых гормонов

**14.03.06 Фармакология, клиническая фармакология**

АВТОРЕФЕРАТ

Диссертации на соискание учёной степени  
кандидата фармацевтических наук

Волгоград – 2017

Работа выполнена в Пятигорском медико-фармацевтическом институте – филиале федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Волгоградский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации»

**Научный руководитель:**

доктор медицинских наук, доцент

**Воронков Андрей Владиславович**

**Официальные оппоненты:**

**Мирзоян Рубен Симонович**, доктор медицинских наук, профессор, заслуженный деятель науки РФ, иностранный член НАН РА, зав. лабораторией фармакологии цереброваскулярных расстройств «Федеральное государственное бюджетное научное учреждение "Научно-исследовательский институт фармакологии имени В.В. Закусова"»

**Покровский Михаил Владимирович**, доктор медицинских наук, профессор, руководитель центра доклинических и клинических исследований в структуре НИУ «БелГУ», Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования «Белгородский государственный национальный исследовательский университет»

**Ведущая организация:** Федеральное государственное бюджетное научное учреждение "Институт экспериментальной медицины"

Защита состоится «\_\_\_» \_\_\_\_\_ 2017 г. в \_\_\_\_\_ часов на заседании Диссертационного Совета Д 208.008.02 при ФГБОУ ВО «Волгоградский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации по адресу: 400131, г. Волгоград, пл. Павших борцов, 1

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

Автореферат разослан «\_\_\_» \_\_\_\_\_ 2017г.

**Ученый секретарь**

**Диссертационного совета**

Доктор биологических наук

Любовь Ивановна Бугаева

### **Актуальность.**

По данным всемирной организации здравоохранения сердечно-сосудистые заболевания (World Health Organization, 2016) являются доминирующей патологией в большинстве стран мира и основной причиной преждевременной смертности, инвалидизации и снижения качества жизни населения. На сегодняшний день установлено, что практически все сердечно-сосудистые, эндокринные, аутоиммунные и др. заболевания сопряжены с эндотелиальной дисфункцией (ЭД) [Su J.B., 2015], которая является неблагоприятным ранним патофизиологическим признаком и независимым предиктором в развитии сердечно-сосудистых осложнений [Mihalj M., 2016.]. Таким образом, эндотелий можно рассматривать как индивидуальную мишень для фармакологического воздействия.

В регуляции функций характерных для эндотелиальных клеток участвует, в основном, эндогенный оксид азота (NO), вырабатываемый эндотелиальной системой синтеза оксида азота — NO-синтазой (eNOS), активность которой зависит от уровня эстрогеновых половых гормонов [Lamas A.Z. et al, 2015].

Важно отметить, что угасание или прекращение деятельности половых желез у женщин и снижение гормонов приводит не только к уменьшению синтеза оксида азота, но и к росту уровня липопротеидов низкой плотности, свободно-перекисному окислению, инсулинорезистентности, увеличению свертываемости крови и все это может являться самостоятельными пусковыми механизмами развития ЭД и сердечно-сосудистых заболеваний (ССЗ).

Изучая вопрос поиска веществ для нормализации нарушенных функций эндотелия, интересно отметить большую роль протеинкиназы С (ПКС) в регуляции активности eNOS [Глушко, А.А и др., 2014; Kolluru G. K., 2010]. Осуществляя перенос фосфатной группы от нуклеозид-трифосфата на остатки таких аминокислот, как серин, треонин и тирозин протеинкиназы являются частью путей передачи внутриклеточной информации, а изменение активности протеинкиназ нарушает эти процессы, которые ассоциированы с развитием большого числа болезней, включающих и ССЗ [Zhang Y. et al., 2015; Yin J. et al., 2014; Heijman J. et al., 2013; Mochly-Rosen D., 2012]. Таким образом, воздействие на этот тип ферментов может представлять большой научно-практический интерес.

Исследуемые вещества, представляющие собой 2-стирилзамещенные производные 4-оксопиримидина, синтезированные на кафедре органической химии ПМФИ филиала ВолгГМУ, по результатам прогноза с помощью программ молекулярного докинга, показали различную тропность к активным центрам ПКС [Воронков А.В. и др., 2015]. Таким образом, изучение эндотелиопротекторных свойств исследуемых производных

пиримидина на фоне экспериментально вызванной недостаточностью половых гормонов представляет собой актуальную проблему как общебиологического и фармакологического характера с одной стороны, так и компьютерного программирования с другой.

### **Степень разработанности проблемы**

Коррекция ЭД, которая является важным патофизиологическим звеном и неблагоприятным фактором множества эндокринных, аутоиммунных и сердечно-сосудистых заболеваний, является важным, перспективным и новым фармакологическим направлением [Su J.B., 2015; Комарова, Е.Б., 2015; Мельникова Ю.С., 2015; Shalimova, A.S., 2014]. Особенно актуально это для постовариэктомических и климактерических состояний, которые характеризуются недостаточностью половых гормонов, приводящей к значительному системному ухудшению работы эндотелия, являющегося по современным представлениям не просто барьерным слоем клеток, а самой крупной паракринной железой в организме [Lamas A.Z. et al, 2015]. Также рост ЛПНП, усиление СПОЛ, инсулинорезистентности и тромбообразования в условиях недостаточности половых гормонов (НПГ) могут дополнительно ухудшать функции эндотелия и прогноз сопутствующих ССЗ.

Но, несмотря на актуальную вышеуказанную роль эндотелия, класса препаратов с основным, доказанным эндотелиопротекторным действием нет. Вместе с тем длительный прием эстрогенов в качестве заместительной терапии может приводить к провоспалительным, протромбогенным, гипертензивным эффектам и доброкачественным изменениям в гормонозависимых органах, что нивелирует их эндотелиопротекторный эффект и значительно ограничивает применение.

Таким образом, поиск новых соединений, обладающих специфическим эндотелиопротекторным действием, позволяющим скорректировать нарушенные функции эндотелия при НПГ и сопутствующих ССЗ, представляет собой актуальное фармакологическое направление в современной медицинской науке.

Одной из потенциальных терапевтических мишеней при ЭД, вызванной НПГ, может быть протеинкиназа С, значительное повышение которой наблюдается при развитии большего количества ССЗ, в том числе, ассоциированных с НПГ, а препаратов, с доказанным влиянием на активность ПКС в настоящее время нет [Воронков А.В., 2016; Глушко, А.А и др., 2014; Mochly-Rosen D., 2012; Kolluru G. K., 2010].

### **Цель:**

Изучение эндотелиопротекторных свойств среди соединений 2-стирилзамещенных производных 4-оксопиримидина, и выявление возможных механизмов их реализации, связанных, в том числе, с влиянием на активность ПКС в условиях ЭД, вызванной НПГ.

**Задачи:**

- 1) Провести оценку вазодилатирующей функции эндотелия и изменений АД в норме и патологии при введении эндотелиоспецифичных анализаторов, на фоне экспериментальной НПП;
- 2) Провести скрининг с помощью программ молекулярного конструирования и фармакологический скрининг среди исследуемых соединений для выявления соединения-лидера, обладающего наиболее выраженными эндотелиотропными свойствами и ингибирующим влиянием на активность ПКС;
- 3) Изучить влияние соединения-лидера на вазодилатирующую и антитромботическую функции сосудистого эндотелия в разные периоды развития ЭД, на фоне экспериментальной НПП;
- 4) Изучить влияние соединения-лидера на противовоспалительную, антипролиферативную функции эндотелия и на морфологическое состояние клеток эндотелия и головного мозга крысы при экспериментально вызванной НПП;
- 5) Провести изучение потенциального механизма эндотелиопротекторного действия соединения-лидера, в том числе связанного с изменением активности ПКС при экспериментально вызванной НПП

**Новизна исследования:**

Впервые показаны различные варианты изменения вазодилатирующей функции эндотелия при введении эндотелиоспецифичных анализаторов в связи с разной направленностью сосудистого ответа на введённые анализаторы: ацетилхолина, L-NAME и АХ на фоне действия L-NAME.

Впервые выявлены эндотелиотропные свойства среди 2-стирилзамещенных производных 4-оксопиримидина с использованием комплексных скрининговых методик, включающих методы молекулярной динамики и фармакологические подходы по влиянию на вазодилатирующую и антиагрегационную функции эндотелия, по результатам которых было выбрано соединение-лидер PMS4OH.

Впервые изучено позитивное влияние 2-стирилзамещенного производного 4-оксопиримидина PMS4OH на вазодилатирующую (выраженную в улучшении реакции на ацетилхолин, L-аргинин, нитро-L-аргинин метиловый эфир, антитромботическую (выраженную в увеличении времени тромбообразования, снижении агрегационных и коагуляционных показателей), противовоспалительную и антипролиферативную функции эндотелия, на структурное состояние ЭК и клеток головного мозга крысы (выраженные в снижении уровня С-реактивного белка, матриксной металлопротеиназы-1 (ММТ-1) и морфологически выявленных нарушений) при экспериментальной НПП;

Впервые изучены потенциальные механизмы реализации эндотелиопротекторного действия 2-стирилзамещенного производного 4-оксопиримидина PMS4OH (который приводил к увеличению уровня eNOS и уменьшению количества асимметрического диметиларгинина (ADMA)), в том числе включающих изучение активности ПКС (приводящего к снижению уровня ПКС, подтверждённого ИГХ и ИФА методами), на фоне экспериментальной НПП.

#### **Научно-практическая ценность работы:**

Полученные данные об эндотелиопротекторных свойствах 2-стирилзамещенного производного 4-оксопиримидина соединения-лидера PMS4OH, выраженных в улучшении реакции сосудов на введение специфических анализаторов, уменьшении тромбогенного потенциала и нормализации воспалительно-пролиферативных и морфологических изменений эндотелиоцитов и тканей мозга, что позволяет рекомендовать для углубленного изучения с целью получения на их основе средств с целью коррекции нарушенных функций эндотелия, улучшения мозгового кровообращения, улучшения тромбогенного потенциала больным, с развитой НПП (постоваризктомические и климактерические состояния) и сопутствующими ССЗ.

Полученные данные о возможных механизмах действия исследуемых веществ, включающих изменения активности ПКС, eNOS и уровня ADMA позволяют расширить представления о патофизиологии развития ЭД и выявить инновационные стратегические подходы для лечения ССЗ, в том числе ассоциированных с НПП.

Методики для проведения молекулярного прогноза, подтвержденные фармакологически можно использовать для дальнейшего поиска веществ, обладающих более выраженными эндотелиопротекторными свойствами и расширить возможности целенаправленного синтеза более фармакологически активных соединений.

#### **Положения, выносимые на защиту:**

- 1) НПП может приводить к различным вариантам изменения вазодилатирующей функции при введении эндотелиоспецифических анализаторов;
- 2) Среди 2-стирилзамещенных производных 4-оксопиримидина веществом с наиболее выраженным эндотелиотропным действием и ингибирующим влиянием на активность ПКС обладает соединение PMS4OH;
- 3) Соединение PMS4OH обладает выраженными эндотелиопротекторными свойствами, которые проявляются в улучшении вазодилатирующей и антитромботической функции эндотелия в разные периоды развития ЭД, вызванные НПП;
- 4) Соединение PMS4OH обладает выраженными эндотелиопротекторными свойствами, которые проявляются в улучшении противовоспалительной,

антипролиферативной функции эндотелия и нормализации морфологического состояния клеток эндотелия и головного мозга крыс;

5) Одним из возможных звеньев механизма реализации эндотелиопротекторного эффекта PMS4OH при экспериментальной НППГ может быть снижение активности ПКС.

### **Апробация работы**

Материалы диссертации докладывались и обсуждались на 72 научно-практической конференции «Актуальные проблемы экспериментальной и клинической медицины» (Пятигорск, 2014), на 73 научно-практической конференции «Актуальные проблемы экспериментальной и клинической медицины» (Волгоград, 2015), на конференции «Человек и лекарство» (Москва, 2016), на научно-практической конференции «Актуальные аспекты экспериментальной и клинической фармакологии: от молекулы к лекарству» (Пятигорск, 2017).

По материалам диссертации опубликовано 9 печатных работ, в том числе 5 из них в рецензируемых журналах, рекомендованных ВАК Минобрнауки РФ.

### **Объём и структура**

Диссертация состоит из введения, обзора литературы, материалов и методов, 6 глав собственных исследований, обсуждения полученных результатов, выводов и списка используемой литературы, включающего 182 источников, из них 39 отечественных и 143 зарубежных авторов. Диссертация изложена на 139 страницах машинописного текста, содержит таблиц –19, рисунков –19.

**В главе 1**, в обзоре литературы, изложена и показана значительная роль эндотелия, особенность его работы и возможных нарушений в условиях НППГ. Показана взаимосвязь ЭД, НППГ и активности ПКС и различных ее изоферментов в нарушенных функциях эндотелия и тканей головного мозга. А также продемонстрированы имеющие клинические данные о препаратах обладающих возможным влиянием на ПКС.

**В главе 2 «Материалы и методы»** изложены ход эксперимента, дизайн исследования, методики, подходы, оборудование, материалы и методы, использованные для получения результатов работы.

**Материалы и методы.** Экспериментальное исследование проводилось на 529 крысах-самках линии Wistar, массой 230-300 г., которые были разведены и выращены в виварии Пятигорского медико-фармацевтического института – филиала ФГБОУ ВО Волгоградский государственный медицинский университет.

Все экспериментальное исследование условно разделялось на 4 исследовательских блока (этапа) (таблица 1 – дизайн исследования):

1-й блок исследований включал воспроизведение НПГ, как модели ЭД, путем удаления матки с придатками и изучение вазодилатирующей функции эндотелия путем измерения СК и АД при введении эндотелиоспецифичных анализаторов.

2-й блок исследований включал скрининг исследуемых производных с фармакологических методов и выявлением с помощью них соединения-лидера по влиянию вазодилатирующую и антиагрегационную функции.

Таблица 1

Дизайн эксперимента

Группа	1 день эксперимента Проведение оперативного вмешательства	7 день эксперимента Экспериментальная терапия	28 день эксперимента Комплексная морфофункциональная оценка терапии
ЛО-группа	Наркоз (хлоралгидрат, 350 мг/кг), операция, извлечение матки с придатками, но без их удаления, наложение швов	Введение раствора воды очищенной с твином с 7 по 28 день эксперимента внутрибрюшинно	<i>ОЦЕНКА:</i> <i>Вазодилатирующей</i> <i>Антитромботической</i> <i>Противо</i> <i>воспалительной</i> <i>Анти</i> <i>пролиферативной</i> <i>функций эндотелия</i>
Группа негативного контроля (НПГ)	Наркоз (хлоралгидрат, 350 мг/кг), операция, экстирпация матки с придатками, наложение швов	Введение раствора воды очищенной с твином с 7 по 28 день эксперимента внутрибрюшинно	<i>Морфометрия</i> <i>головного мозга</i>  <i>ИГХ и ИФА анализ</i>
Группа, которой вводили исследуемые производные пириимидина		Введение производных в виде суспензии в дозе 50 мг/кг с 7 по 28 день внутрибрюшинно	
Группа животных, которым вводили препарат сравнения - сулодексид		Введение препарата Вессел Дуэ Ф (сулодексид) в дозе 30 ЕВЛ/кг с 7 по 28 день внутрибрюшинно	

3-й блок проведенных опытов направлен на изучение эндотелиопротекторных свойств соединения лидера, включающий оценку влияния на вазодилатирующую, антитромботическую, противовоспалительную функции и структурно-морфологическое состояние эндотелия.

4-й блок – направлен на выяснение потенциальных механизмов эндотелиопротекторного действия соединения-лидера с помощью ИГХ- и ИФА - методов анализа.

На всех этапах экспериментов эндотелиопротекторное действие изучаемых соединений и препаратов сравнения проводили на модели ЭД, вызванной НПП. Также полученные результаты сравнивали со значениями группы негативного контроля (группа НПП без фармакотерапии) и группы позитивного контроля (ложнооперированная (ЛО) группа).

Модель ЭД, вызванную НПП, воспроизводили путем удаления матки и яичников у крыс-самок под хлоралгидратным наркозом (350 мг/кг). Все исследуемые соединения, являющимися 2-стирилзамещенными производными 4-оксопиримидина, вводили животным с НПП на 7 день после экстирпации матки внутрибрюшинно в виде эмульсии (дистиллированная вода и твин) в дозе 50 мг/кг. Вещества вводили в утреннее время на протяжении 21 дня. Исследуемые вещества синтезированы на кафедре органической химии ПМФИ филиала ВолгГМУ под руководством заведующего кафедрой Оганесяна Э.Т. и профессора И.П. Кодониди, за что им и всей кафедре выражаем искреннюю признательность.

Помимо исследуемых веществ, группе сравнения (сулодексид-группа) вводили препарат с выраженными эндотелиопротекторными свойствами - сулодексид – комбинация гепариноида с дерматан сульфатом (Вессел Дуэ Ф, Alfa Wasserman, Италия), в дозе 30 ЕВЛ (единицы высвобождения липопротеинлипазы). Также вводили на 7 день после удаления матки с яичниками в течение 3х недель внутрибрюшинно.

В каждой группе животных проводили оценку *вазодилатационной* функции эндотелия сосудов путем измерения скорости церебрального кровотока (СК) в теменной области головного мозга крыс доплерографическим методом при введении эндотелиоспецифичных анализаторов (модификаторов) - ацетилхолина (АХ (Sigma-aldrich, США)), в дозе 0,1 мг/кг. Также дополнительно использовали блокатор eNOS – нитро-L-аргинин метиловый эфир (L-NAME («Sigma-Aldrich», США)) в дозе 10 мг/кг, L-аргинина (L-arginine, Panreac, США, 300 мг/кг). Артериальное давление измеряли в бедренной артерии прямым методом.

Изучение влияния на *антиромботическую функцию* эндотелия проводилось по нескольким направлениям: анализ скорости образования тромба, анализ агрегационных показателей, уровня фактора фон Виллебранда (FW), показателей коагуляционного гемостаза, антитромбина III.

Скорость образования тромба изучали на модели артериального тромбоза у крыс, вызванного поверхностной аппликацией 50% раствора хлорида железа (III).

Анализ агрегационной активности тромбоцитов производили во всех группах животных на 28 день эксперимента с помощью двухканального лазерного анализатора агрегации тромбоцитов АЛАТ – 2 «БИОЛА» (НПФ «БИОЛА», Россия). В качестве индукторов агрегации использовали: (АДФ, НПО «Ренам») в конечной концентрации 5 мкМ, коллаген (НПО «Ренам») в конечной концентрации 1 мг/мл и ристомидин (НПО «Ренам») в конечной концентрации 15 мг/мл. Процесс агрегации регистрировали в течении пяти минут и определяли степень и скорость агрегации тромбоцитов. Количество тромбоцитов в крови определяли с использованием системы ветеринарного автоматического гематологического анализа BC 2800vet (Mindray).

Активность FW определяли в плазме крови также в последний день эксперимента агглютинационным методом.

Определение коагуляционных показателей проводили в плазме путем определения времени образования кровяного сгустка на анализаторе показателей гемостаза АПГ2-01 «МИНИЛАБ 701». С помощью наборов для определения протромбинового времени, тромбин-тест, фибриноген – тест, активированного частичного тромбопластинового времени (производство НПО РЕНАМ, Россия) определяли АЧТВ, ТВ, ПВ, уровень фибриногена (методом Клаусса с использованием калибровочного графика).

Активность антитромбина III определяли в плазме крови спектрофотометрическим методом.

*Противовоспалительную функцию* оценивали путем определения С-реактивного белка (СРБ) в сыворотке крови проводили методом латекс – агглютинации с использованием стандартного набора реактивов.

Методом твердофазного *иммуноферментного анализа* на 28 день эксперимента в плазме крови и гомогенате головного мозга животных определяли концентрацию изоферментов синтазы оксида азота, ассиметричного диметиларгинина (ADMA), тромбоксана A2 (ТХА2), матриксной металлопротеиназы -1 (ММР-1), протеинкиназы С альфа (ПКС), гормонов эстрадиола и ФСГ. В работе использовали видоспецифичные наборы реактивов производства компании *Cloud Clone Corp.* (США). Ход анализа строго

соответствовал прилагаемой производителем инструкции к набору реактивов. Считывание результатов производили на микропланшетном ридере Tecan Infinite F50 (Австрия).

Для гистологического исследования под эфирным наркозом производили забор головного мозга крыс. Материал фиксировали в течение 48 часов в 10% растворе нейтрального забуференного формалина (рН 7,4). После фиксации материал проводили по общепринятой гистологической методике.

Для выявления степени функционирования эндотелия мозга в условиях НПГ оценивали оптическую плотность и использовали моноклональные антитела к eNOS, а для оценки влияния исследуемого соединения на ПКС – антитела к этому виду ферментов (фирмы «Abscam», специфичных к нескольким изоферментам альфа, бета 2, дзета и йота). Иммуногистохимическое исследование проводилось кафедрой морфологии ПМФИ – филиала ВолгГМУ совместно с кафедрой морфологии ПМФИ во главе с С.А. Калашниковой совместно с кафедрой биологии ВолгГМУ во главе со Снигур Г.Л., за что выражаем им искреннюю признательность.

Результаты экспериментов обрабатывали методом вариационной статистики с использованием пакета прикладных программ STATISTICA 6.0 (StatSoft, Inc., США для операционной системы Windows) и Microsoft Excel 2010. Полученные результаты проверяли на нормальность распределения с использованием критерия Шапиро - Уилка. В случае подчинения данных законам нормального распределения для сравнения средних использовали t-критерий Стьюдента с поправкой Бонферрони. В противном случае дальнейшую статистическую обработку результатов эксперимента проводили с использованием непараметрического U- критерия Манна-Уитни.

**В главе 3 «Оценка изменений вазодилатирующей функции эндотелия и артериального давления на фоне недостаточности половых гормонов при введении эндотелиоспецифичных анализаторов»** показаны разные варианты сосудистого ответа у крыс по направленности изменений скорости кровотока и АД при введении анализаторов.

Функциональную активность эндотелия на фоне НПГ при введении веществ, первично действующих на эндотелий сосудов – АХ и L-NAME, можно оценить путем измерения скорости мозгового кровотока в комплексе с измерением АД, так как эти показатели находятся в непосредственной зависимости от тонуса сосудов (рис 1 а,б).

Изучение вазодилатирующей функции эндотелия на ЛЮ-животных с помощью эндотелиотропных анализаторов показало то, что при повышении АД СК снижалась, а при понижении – СК повышалась. ЭД, вызванная НПГ, может приводить к нарушению вазодилатирующей функции эндотелия, выраженной в различных вариантах сосудистого ответа на введение анализаторов, относительно исходных показателей:

А) Группа НПП №1 – направленность изменений СК и АД при введении анализаторов аналогична ЛО-группе, но выражена достоверно меньше, что говорит о нарушении работы эндотелия, вероятно, за счет снижения активности eNOS;

Б) В группе НПП №2 введение АХ после L-NAME приводило к показателям СК ниже исходных значений при показателях АД, аналогичных группе №1, что может говорить о нарушении регуляции церебрального кровотока;

В) Группу НПП №3 отличает то, что при введении L-NAME СК повышается а АД снижается, причем введенный АХ после L-NAME показал значения, превышающие показатели группы НПП №1. Такая нехарактерная реакция на L-NAME, возможно, связана с тем, что в условиях НПП eNOS может стать источником свободных радикалов, а не оксида азота, а введенный L-NAME может уменьшить такие нарушения [S.Varadharaj et al, 2015].

По результатам исследований, отраженных в **главе 4 «Фармакологический скрининг новых соединений 2-стирилпроизводных пиримидин-4(1H)-она»**, было выбрано соединение - лидер.

Сначала был осуществлен фармакологический скрининг по СК, стимулированной АХ (таблица 2), и по способности снижать показатели агрегации (Рис. 2) при введении исследуемых соединений животным с НПП.

Таким образом, лидером по влиянию на вазодилатирующую и антиагрегационную функции эндотелия является вещество PMS4OH, которое увеличивало АХ-стимулированную СК в 1,56 раз, а степень и скорость агрегации снижал в 2,16 и в 5,13 раз соответственно, по сравнению с НПП-группой.

**Глава 5 «Изучение влияния нового 2-стирилпроизводного пиримидин-4(1H)-она PMS4OH на вазодилатирующую функцию эндотелия в разные периоды развития экспериментально вызванной недостаточности половых гормонов»** демонстрирует динамическое изменение СК при курсовом применении PMS4OH у животных с ЭД, вызванной НПП.

Эксперименты, проведенные по изучению вазодилатирующей функции эндотелия при НПП проведенные ранее, позволили нам предполагать разные варианты сосудистого ответа на введение эндотелиоспецифичных анализаторов: АХ, L-NAME. Поэтому были проведены исследования по влиянию соединения-лидера PMS4OH на вазодилатирующую функцию эндотелия модифицированную введением эндотелиоспецифичных анализаторов в разные периоды развития экспериментально вызванной недостаточности половых гормонов у крыс-самок: 1 период измерения – до овариоэктомии, 2 период – 14 день

развития НПГ, 3 период – на 28 день. Во всех группах и этапах проводили оценку изменения кровотока относительно исходных значений (Рис. 3, Рис. 4).

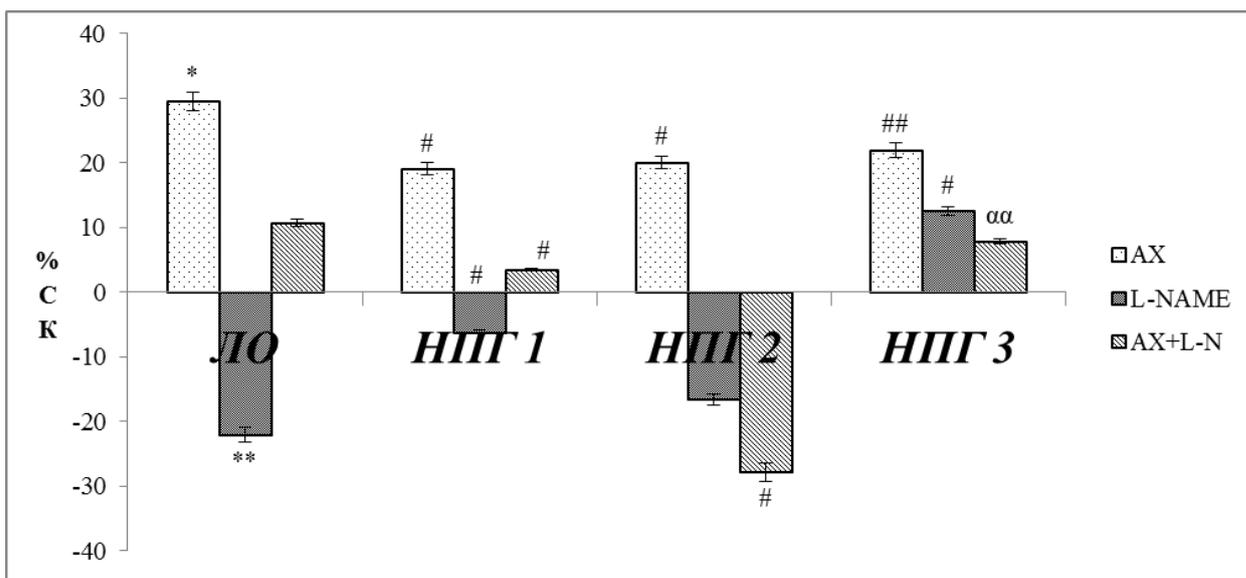


Рис. 1а. Значения прироста скорости кровотока относительно исх. значений при введении анализаторов AX, L-NAME, AX введенный после L-NAME ЛО и животным с НПГ

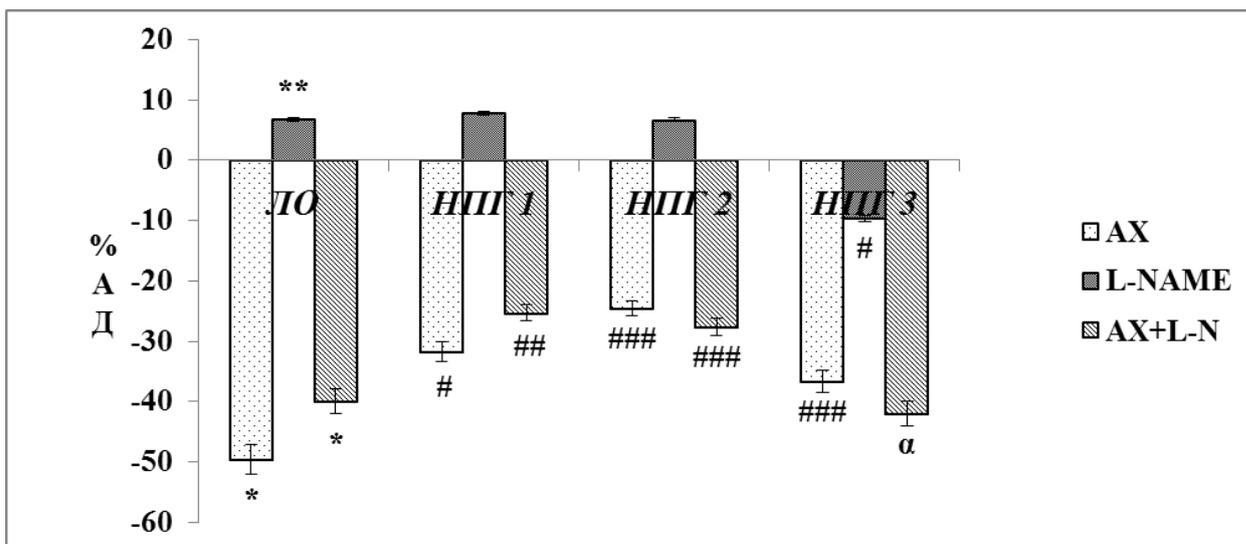


Рис. 1б. Значения прироста АД относительно исх. значений при введении анализаторов AX, L-NAME, AX введенный после L-NAME ЛО и животным с НПГ

Примечание: \* -  $P \leq 0,001$ ; \*\* -  $P \leq 0,05$  - достоверно по отношению к исходным показателям ЛО-группы; # -  $P \leq 0,001$ ; ## -  $P \leq 0,01$ ; ### -  $P \leq 0,05$  - достоверно по отношению к аналогичным показателям ЛО-группы крыс; α -  $P \leq 0,001$ ; αα -  $P \leq 0,02$  - достоверно по отношению к аналогичным показателям группы крыс НПГ №1.

Таблица 2

Изменение скорости кровотока при введении АХ различным группам животных

Группа	Исх. Кровоток, см/с	АХ, см/с	% изменения
ЛО-группа	4,18±0,17	6,1±0,23	46,77±4,74
НПГ-группа	2,61±0,08	3,29±0,11	26,11±0,77*
Сулодексид-группа	4,14±0,24	5,70±0,34	37,6±2,5###
PMS4OH-группа	4,19±0,19	5,88±0,24	40,83±2,9##
PMSB-группа	4,22±0,2	5,60±0,25	33,05±2,91#
QTF-группа	4,50±0,27	6,01±0,38	33,72±3,06#
AzoTF-группа	4,13±0,22	7,40±0,31	30,0±2,6
PMS5MESI-группа	3,14±0,28	3,95±0,34	25,66±1,25
PMS34DiMeO-группа	2,95±0,29	3,69±0,35	25,58±1,25

Примечание: \* -  $P \leq 0,01$  - достоверно по отношению к аналогичному показателю ЛО-группы животных; # -  $P \leq 0,05$ , ## -  $P \leq 0,001$ , ### -  $P \leq 0,01$  достоверно по отношению к аналогичному показателю НПГ-группы крыс;

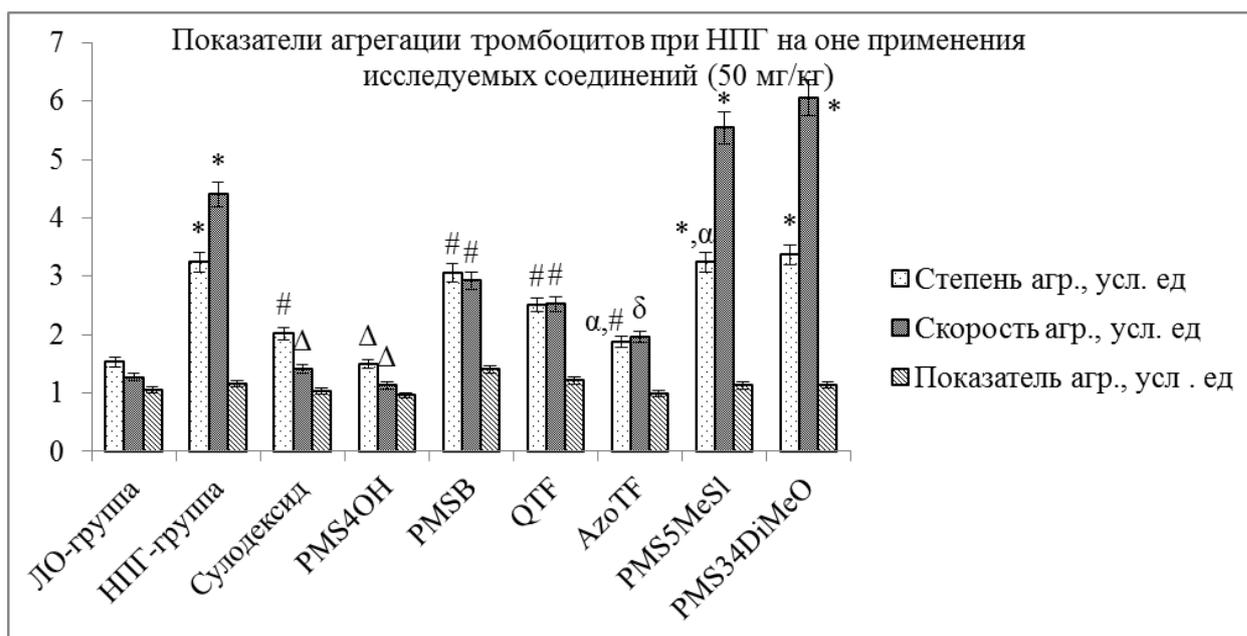


Рис. 2. Изменение показателей процесса агрегации тромбоцитов при НПГ на фоне введения сулодексида, и исследуемых соединений.

Примечание к рисунку №2: \* - достоверно, относительно ЛО группы ( $P < 0,01$ ); α - достоверно, относительно Л/О группы ( $P < 0,05$ ); # - достоверно, относительно НПГ группы ( $P < 0,05$ ); Δ - достоверно, относительно НПГ группы ( $P < 0,01$ ); δ - достоверно, относительно НПГ группы ( $P < 0,02$ ).

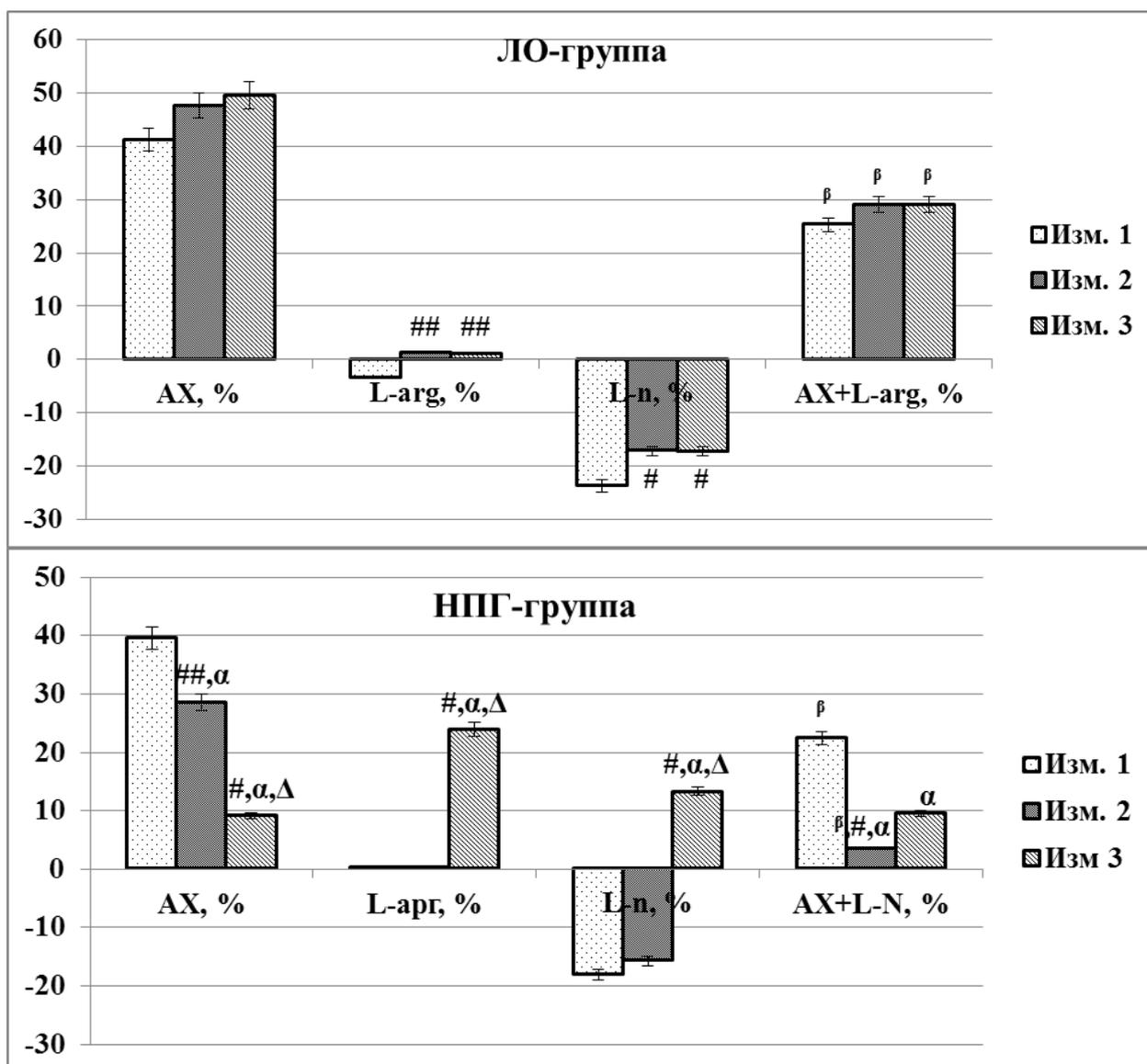


Рис. 3. Показатели прироста СК (%) относительно исходной скорости кровотока ЛО-группы и группы животных с НПГ в разные периоды эксперимента (изм. 1,2,3) при введении ацетилхолина (АХ), L-аргинина (L-арг), L-NAME (L-n), АХ, на фоне действия L-n (АХ+L-N).

Примечание: # -  $P \leq 0,01$ ; ## -  $P \leq 0,05$  - достоверно по отношению к аналогичным показателям НПГ-группы крыс, полученным при 1-ом измерении;  $\Delta$  -  $P \leq 0,02$  - достоверно по отношению к аналогичным показателям НПГ-группы крыс, полученным при 2-ом измерении;  $\alpha$  -  $P \leq 0,02$  - достоверно по отношению к аналогичным показателям ЛО-группы крыс, полученным в тот же период измерений;  $\beta$  -  $P \leq 0,05$  - достоверно по относительным показателям СК, полученным при первом введении АХ;

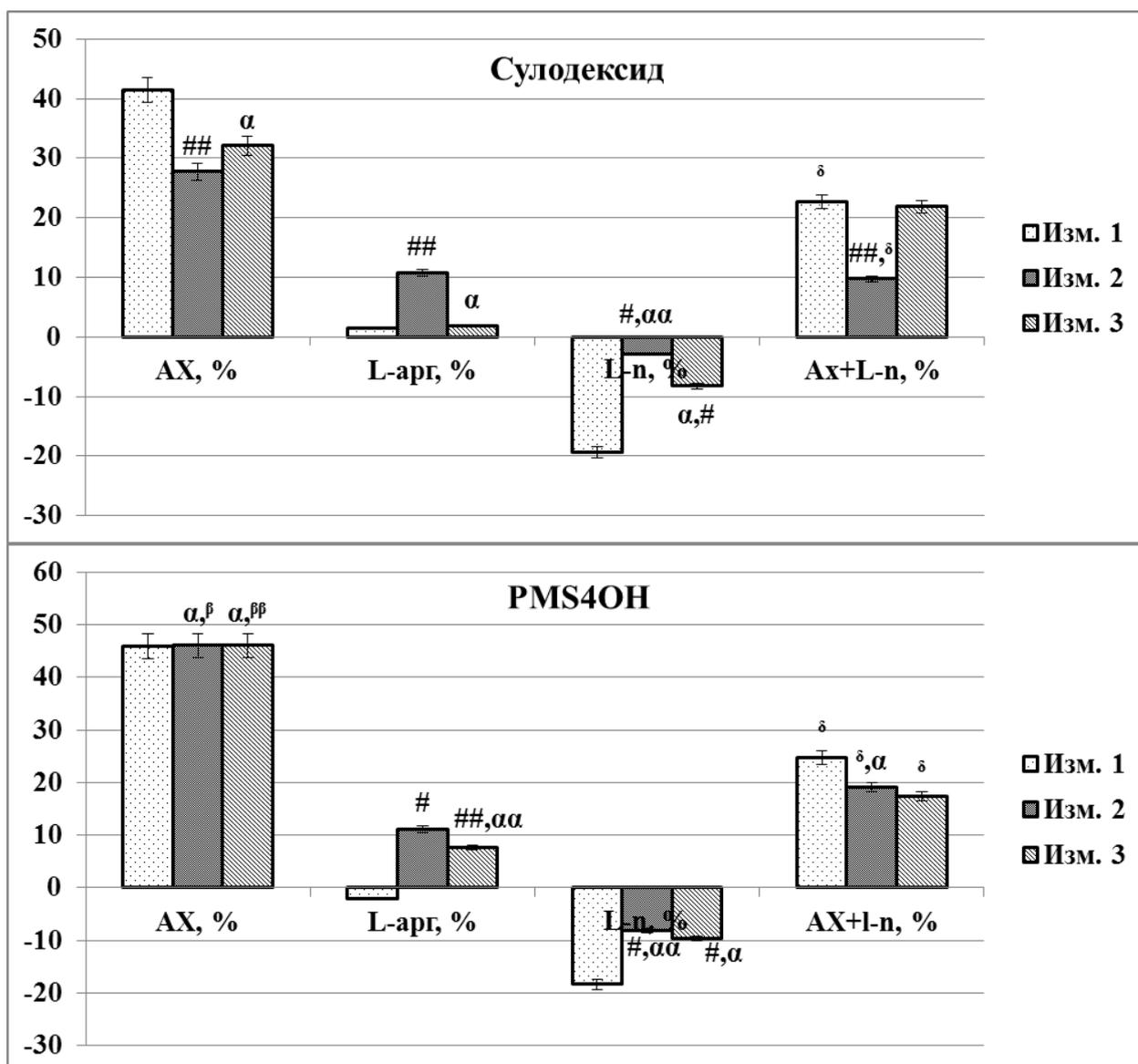


Рис. 4. Показатели прироста СК (%) относительно исходной скорости кровотока в группах животных с НПГ, которым вводили Сулодексид и PMS4OH в разные периоды эксперимента (изм. 1,2,3).

Примечание: # -  $P \leq 0,01$ ; ## -  $P \leq 0,05$  - достоверно по отношению к аналогичным показателям PMS-группы крыс, полученным при 1-ом измерении;  $\alpha$  -  $P \leq 0,01$ ;  $\alpha\alpha$  -  $P \leq 0,05$  - достоверно по отношению к аналогичным показателям НПГ-группы крыс, полученным в тот же период измерений;  $\beta$  -  $P \leq 0,01$ ;  $\beta\beta$  -  $P \leq 0,05$  - достоверно по отношению к аналогичным показателям сулодексид-группы крыс, полученным в тот же период измерений;  $\delta$  -  $P \leq 0,05$  – достоверно по относительным показателям СК, полученным при первом введении AX;

Согласно данным по динамике СК, НППГ приводит к поэтапному ухудшению вазодилатирующей функции эндотелия, выраженной в снижении исходной СК, АХ-индуцированной скорости кровотока, увеличении реакции на L-аргинин, повышении кровотока на L-NAME, снижении СК при введении АХ, после L-NAME. Необходимо отметить, что введенные анализаторы, в совокупности, отражают функциональное состояние eNO-синтазы, при чем АХ – больше отражает рецепторный механизм регуляции, а L-аргинин и L-NAME – субстратный. Вместе с тем, повышение ответа на введенный L-аргинин в условиях НППГ при отсутствии реакции кровотока в ЛО-группе, говорит о ЭД и о т.н. «L-аргининовом парадоксе»

Экспериментальное применение PMS4OH приводило к показателям СК, стимулированного АХ и АХ на фоне действия L-NAME, на 14й и 28й дни измерений, достоверно не отличавшимся от показаний 1го измерения. Также PMS4OH улучшал вазодилатирующую функцию эндотелия у животных с НППГ, выраженную в: увеличении ответа на введение АХ на 36,9%, снижению кровотока при введении L-аргинина на 16,3%, увеличению реакции при введении L-NAME на 23%. Эффект улучшения функции эндотелия PMS4OH наблюдался на средних и конечных этапах измерений, тогда как эффект препарата сравнения отмечен только в третьем периоде измерений. Исследуемое вещество превосходит препарат сравнения по способности повышать кровотоки при введении АХ, но уступает по изменению СК при введении L-аргинина у овариоэктомизированных крыс. Такая разная реакция у PMS4OH и сулодексида на введенные анализаторы, возможно, связана с различной фармакодинамикой эндотелиотропного действия веществ.

**В главе 6 «Изучение влияния соединения-лидера, являющегося 2-стирилпроизводным пиримидин-4(1H)-она, на антитромботическую функцию эндотелия при экспериментально вызванной недостаточности половых гормонов»** оценивали влияние соединения-лидера на показатели сосудисто-тромбоцитарного и коагуляционного гемостаза у животных с ЭД, вызванной НППГ.

Оценку влияния PMS4OH на антитромботическую функцию проводили по разным направлениям. Сначала оценивали влияние на процесс тромбообразования, в целом, на модели FeCl<sub>3</sub>-индуцированного тромбоза, где PMS4OH показал достоверное увеличение времени до полной остановки кровотока (таблица 3).

Перед тем как анализировать антиагрегационную активность исследуемого соединения был проведен подсчет тромбоцитов, и отсутствие отличий в их количестве исключает влияние этого фактора на процессы агрегации. На моделях АДФ-, коллаген- и ристомицин- индуцированной агрегации тромбоцитов показано однонаправленное

снижение степени и скорости агрегации у животных, подвергавшихся экспериментальной терапией PMS4OH, что превышало сулодексид по степени агрегации при индукции АДФ (показатели не отличались от ЛО-группы) (таблица 4). Кроме того, наряду со снижением скорости и степени агрегации на моделях ристомин- и коллаген-вызванной агрегации, наблюдалось снижение активности FW (превышающего сулодексид по этому показателю), что подчеркивает роль эндотелия в процессах сосудисто-тромбоцитарного гемостаза (таблица 5) и характеризует начальные этапы агрегации тромбоцитов в эксперименте.

Также на фоне применения PMS4OH крысам с НПГ наблюдалось увеличение АЧТВ, ТВ, ПВ и уменьшение уровня фибриногена вместе с увеличением активности АТШ, что может указывать на механизм изменения коагуляционных показателей (таблица 5). Важно отметить, что количество фибриногена и активность антитромбина Ш зависит от целостности и функциональности эндотелия и изменение этих показателей на фоне терапии PMS4OH может быть следствием его эндотелиопротекторного действия в условиях многофакторного усиления процессов коагуляции при НПГ.

Таким образом, комплексная оценка влияния PMS4OH на показатели гемостаза показала улучшение антитромботической функции эндотелия у крыс с ЭД, вызванной НПГ, причем, эффективность исследуемого вещества превышает таковую у препарата сравнения сулодексида по влиянию на сосудисто-тромбоцитарный гемостаз, но ниже его по воздействию на коагуляционный гемостаз и на показатели противосвертывающей системы (активность АТШ), что, может быть, обусловлено различными механизмами действия веществ.

Таблица 3

Значения СК и времени до полной остановки кровотока в правой сонной артерии при нанесении железа хлорида при НПГ

Показатель/ группа	ЛО-группа	НПГ-группа	Сулодексид	PMS-4OH
Исх. СК, см/с	4,62±0,27	2,99±0,12*	3,71±0,16 <sup>#</sup>	4,19±0,25 <sup>#</sup>
Время, до полной окклюзии, мин	23,1±0,53	13,7±0,68*	18,3±0,63 <sup>##,*</sup>	18±0,53 <sup>##,*</sup>

Примечание: \* -  $P \leq 0,01$  - достоверно по отношению к аналогичным показателям с ЛО-группы; # -  $P \leq 0,05$  - достоверно по отношению к скорости кровотока НПГ-группы; ## -  $P \leq 0,01$  - достоверно по отношению ко времени до полной окклюзии артерии НПГ-группы;

Таблица 4

Показатели агрегации тромбоцитов на модели АДФ-индуцированной агрегации тромбоцитов при введении сулодексида и исследуемого соединения на фоне НПГ

Группа	Степень агрегации, усл. ед.	Скорость агрегации, усл.ед.
ЛО-группа	1,53±0,05	1,27±0,27
НПГ-группа	3,24±0,39 <sup>*</sup>	5,8±1,09 <sup>*</sup>
Сулодексид	2,02±0,18 <sup>#, **</sup>	1,41±0,18 <sup>Δ</sup>
PMS4OH	1,5±0,15 <sup>Δ</sup>	1,13±0,21 <sup>Δ</sup>

Примечание: \* - достоверно, относительно ЛО группы(P<0,01); \*\* - достоверно, относительно ЛО группы(P<0,05); # - достоверно, относительно НПГ группы(P<0,05); Δ - достоверно, относительно НПГ группы(P<0,01)

Таблица 5

Показатели коагуляционного гемостаза: АЧТВ, ПВ, ТВ, количество фибриногена, активности АТШ, активности фактора фон Виллебранда (FW) при введении препарата сравнения сулодексида и PMS4OH животным с экспериментальной НПГ

Группы / Показатели	ЛО-группа	НПГ-группа	Сулодексид	PMS4OH
FW, %	98,39±4,8	142,23±7,34 <sup>*</sup>	121,29±4,35 <sup>α, **</sup>	110,68±5,8 <sup>##</sup>
АЧТВ, сек	18,67±0,9	10±0,9 <sup>*</sup>	20,3±1,2 <sup>#</sup>	13,8±0,6 <sup>###, β, **</sup>
ПВ, сек	22,7±1,23	12,7±0,61 <sup>*</sup>	25,7±1,43 <sup>#</sup>	17,3±1,1 <sup>α, β, **</sup>
ТВ, сек	24,5±1,6	15,3±0,8 <sup>**</sup>	21,2±1,5 <sup>###</sup>	18,5±1,0 <sup>α, ***</sup>
Фибриноген, г/л	2,33±0,23	3,89±0,33 <sup>*</sup>	2,8±0,31 <sup>##</sup>	2,57±0,14 <sup>###</sup>
АТШ, %	103,3±4,03	62,65±5,36 <sup>*</sup>	90,58±4,9 <sup>#</sup>	81,17±4,17 <sup>α, ***</sup>

Примечание: \* - P≤0,001, \*\* - P≤0,02, \*\*\* - P≤0,05 - достоверно по отношению к аналогичным показателям с ЛО-группы; # - P≤0,001, ## - P≤0,01, ### - P≤0,02, α - P≤0,05 - достоверно по отношению к аналогичным показателям НПГ-группы; β - P≤0,01 - достоверно по отношению к аналогичным показателям группы, которым вводили сулодексид.

**Глава 7 «Изучение влияния PMS4OH на противовоспалительную и антипролиферативную функции эндотелия и морфологическое изучение ткани мозга крыс при экспериментально вызванной недостаточности половых гормонов»** демонстрирует изменение воспалительных и пролиферативных процессов на фоне экспериментальной терапии с помощью соединения-лидера по уровню СРБ и данным морфометрии.

Проведенный анализ уровня СРБ показал наличие у исследуемого соединения противовоспалительных свойств, которые затем подтверждались морфологическим исследованием. Данные морфометрии свидетельствует о нормализации морфологических показателей эндотелиальных клеток, об уменьшении воспалительных и пролиферативных

процессов у овариоэктомизированных крыс на фоне экспериментального лечения PMS4OH в условиях НПГ (таблица 6) и также подтверждают данные, полученные при оценке влияния PMS4OH на вазодилатирующую и антитромботическую функции эндотелия.

Таблица 6

Морфологические признаки состояния эндотелия сосудов головного мозга и концентрация СРБ в сыворотке крови у крыс исследуемых групп

Признаки	Группы животных			
	ЛО	НПГ	Сулодексид	PMS4OH
1. Толщина интимы сосуда, мкм	1,57±0,03	1,21±0,12 <sup>*</sup>	1,48±0,08 <sup>##</sup>	1,53±0,09 <sup>##</sup>
2. Соотношение комплекса интима/медиа	0,41±0,09	0,63±0,08 <sup>*</sup>	0,49±0,05 <sup>##</sup>	0,48±0,07 <sup>##</sup>
3. Отек, плазморрагия стенки сосуда	отсутствует	++	+	отсутствует
4. Признаки воспаления	отсутствует	+++	+	отсутствует
5. Стаз, тромбоз	отсутствует	+++	+	+
6. Десквамация, некроз эндотелиоцитов	отсутствует	+++	+	+
7. Увеличение проницаемости эндотелия	отсутствует	+++	отсутствует	отсутствует
8. Пролиферация эндотелия	отсутствует	+++	+	+
9. Ядерно-цитоплазматическое отношения эндотелиоцитов	0,55±0,03	0,23±0,07 <sup>**</sup>	0,43±0,05 <sup>##</sup>	0,45±0,04 <sup>##</sup>
10. Размер ядер, мкм	3,19±0,09	1,69±0,17 <sup>*</sup>	2,41±0,11 <sup>##</sup>	2,42±0,13 <sup>##</sup>
11. СРБ, мкг/л	5,54±0,81	20,5±1,1 <sup>*</sup>	13,27±0,74 <sup>#,*</sup>	15,14±1,13 <sup>##,*</sup>

Примечание: \* - P≤0,01, \*\* - P≤0,05 - достоверно по отношению к аналогичным показателям с ЛО-группы; # - P≤0,01 - достоверно по отношению к НПГ-группе; ## - P≤0,05 - достоверно по отношению к НПГ-группе

**В главе 8 «Определение механизма эндотелиопротекторного действия соединения PMS4OH при экспериментальной НПГ»** с помощью современных методов анализа предполагается возможная фармакодинамика эндотелиопротекторного действия соединения-лидера у животных с НПГ.

С целью определения потенциальных путей реализации эндотелиотропного действия исследуемого соединения сначала осуществляли прогноз с помощью программ молекулярной динамики, который затем подтверждали с помощью ИГХ и ИФА – анализов.

По результатам молекулярного прогноза, среди исследуемых соединений, наиболее длительно с активным центром ПКС может связываться PMS4OH.

Проведенный полуколичественный ИГХ-анализ показал увеличение экспрессии eNOS и снижение ПКС в головном мозге крыс на фоне терапии PMS4OH, который впоследствии был подтвержден ИФА.

Данные ИФА показали достоверное изменение маркеров ЭД при применении PMS4OH при уровне гормонов эстрадиола и ФСГ в плазме крови животных (рис 5а), не отличавшемся от группы негативного контроля, что исключает этот механизм изменения эндотелиальных функций.

Также, курсовое применение экспериментального соединения приводило к увеличению уровня eNOS (рис. 5б), не влияя на изменение уровней iNOS и nNOS, и, вместе со снижением уровня ADMA, может говорить о наличии специфических эндотелиопротекторных свойств у PMS4OH. Эти данные могут объяснить улучшение вазодилатирующей функции при введении АХ, L-аргинина и L-NAME, а снижение ADMA, маркера ЭД, может быть механизмом уменьшения т.н. L-аргининового парадокса у крыс в условиях НПП.

Использование исследуемого соединения позволило уменьшить количество ТхА2 в плазме крови животных с ЭД, что указывает на возможный механизм антиагрегационной активности и подтверждает проведенные функциональные тесты при введении различных индукторов агрегации и определения активности FW.

Снижение количества ММТ-1 (рис. 5в) при экспериментальном использовании PMS4OH (превышающего по этому показателю сулодексид) говорит о снижении воспалительных и пролиферативных изменений, в том числе посредством улучшения функционирования эндотелия, и подтверждает данные, полученные с помощью функциональных тестов и морфологического исследования головного мозга крыс.

Кроме того, на фоне экспериментальной терапии наблюдалось снижение уровня ПКС, чего не наблюдалось при применении препарата сравнения сулодексида животным с НПП и согласовывалось с результатами ИГХ-анализа и молекулярного прогноза. Необходимо отметить, что данные ИГХ и ИФА анализов, наряду с прогнозом молекулярной динамики, которые также указывают и подтверждают влияние производного пиримидина на активность ПКС, могут объяснить механизмы, посредством которых реализуется комплексное эндотелиопротекторное действие PMS4OH, отличное от сулодексида у животных с ЭД, вызванной НПП.

В главе 9 «Обсуждение результатов» отражены объяснения и возможные механизмы проявления тех или иных феноменов с помощью современных данных других авторов по изучаемой проблеме.

Различие в эндотелиопротекторной активности PMS4OH, по сравнению с сулодексидом, можно объяснить тем, что на фоне снижения активности ПКС может улучшаться работа как eNOS-системы, так и снижаться нарушения, вызванные eNOS-независимыми ПКС-опосредованными механизмами в эндотелии и др. тканях.

### Заключение

По результатам проведенного комплексного морфофункционального исследования влияния PMS4OH на вазодилатирующую, антитромботическую, противовоспалительную и антипролиферативную функции эндотелия у животных в условиях ЭД, вызванной НПГ, с последующей морфологической оценкой состояния эндотелия головного мозга и определением потенциального механизма действия ИГХ- и ИФА- анализами, можно утверждать, что PMS4OH обладает эндолипротекторным действием, возможным звеном механизма реализации которого является снижение активности протеинкиназы С.

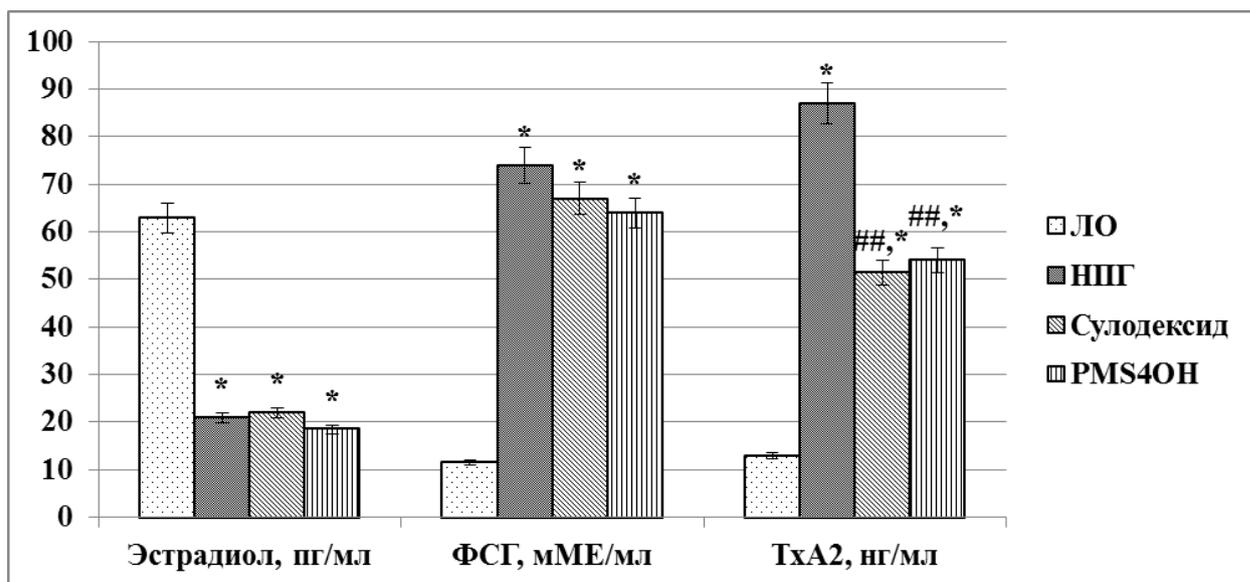


Рис. 5а. Определение методом ИФА эстрадиола, ФСГ и ТхА2 (плазма крови), у крыс с НПГ, при экспериментальной фармакотерапии PMS4OH

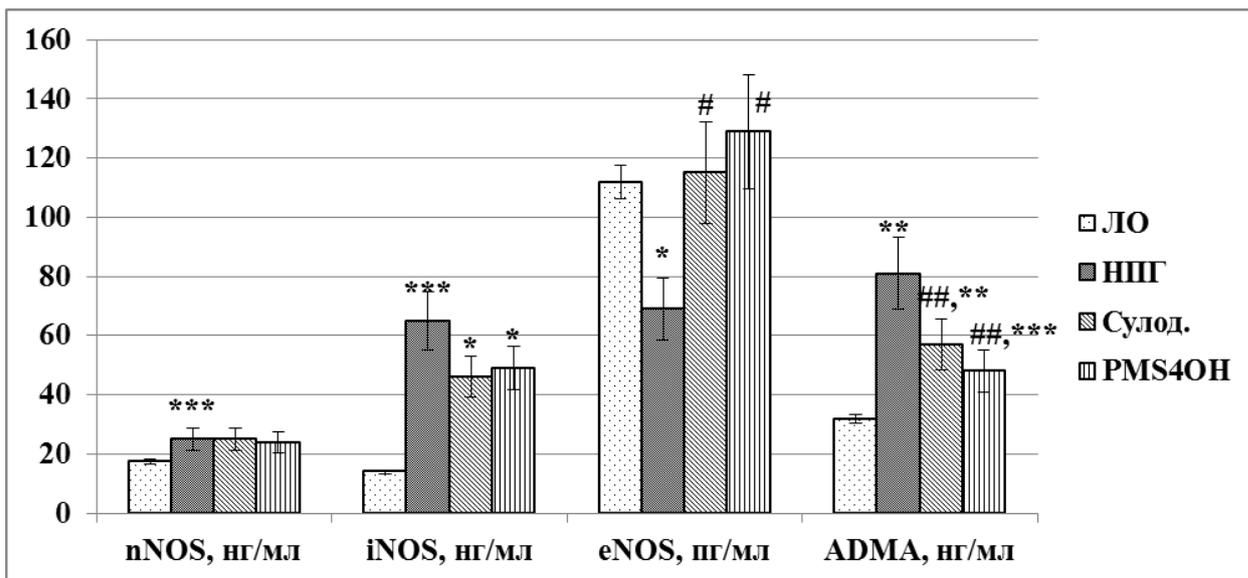


Рис. 5б. Определение методом ADMA (плазма крови), nNOS, iNOS, eNOS (гомогенат) у крыс с НПГ, при экспериментальной фармакотерапии PMS4OH

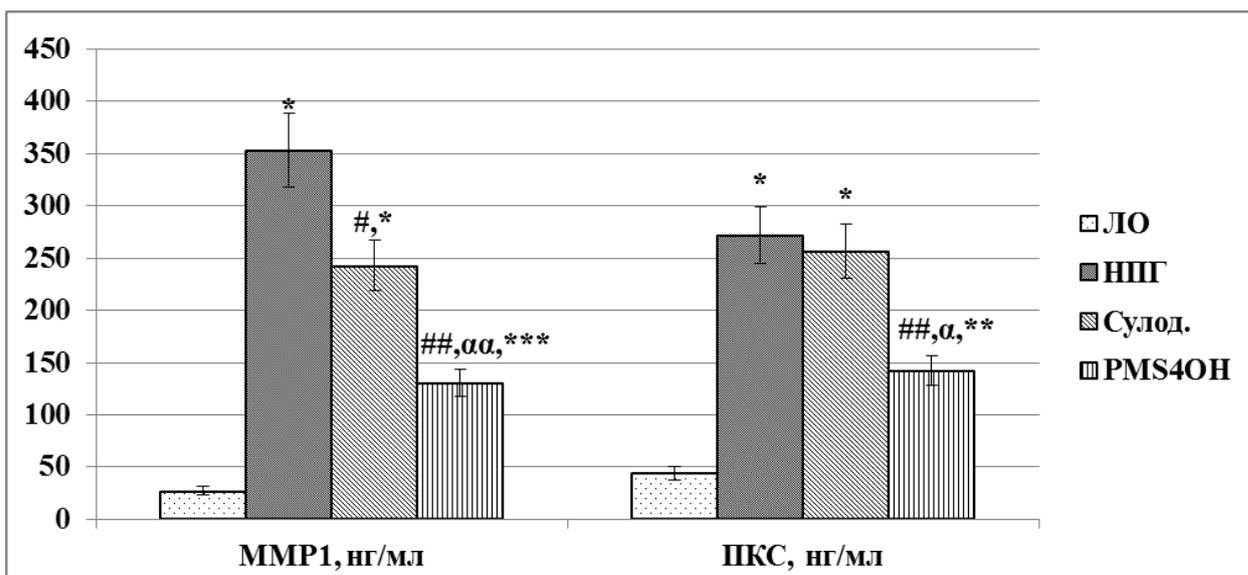


Рис. 5в. Определение методом MMP1 (плазма крови) и PKC (гомогенат) у крыс с НПГ, при экспериментальной фармакотерапии PMS4OH

Примечание к рис. 5 (а,б,в):\* -  $P \leq 0,01$ , \*\* -  $P \leq 0,02$ , \*\*\*-  $P \leq 0,05$ - достоверно по отношению к аналогичным показателям ЛО-группы; # -  $P \leq 0,02$ , ## -  $P \leq 0,05$ - достоверно по отношению к аналогичным показателям НПГ-группы; α -  $P \leq 0,02$ , αα -  $P \leq 0,05$  - достоверно по отношению к аналогичным показателям группы, которым вводили сулодексид

### ОБЩИЕ ВЫВОДЫ.

1) ЭД, вызванная НПГ, может приводить к нарушению вазодилатирующей функции эндотелия, выраженной в различных вариантах сосудистого ответа на введение анализаторов: АХ, L-NAME и АХ после L-NAME, относительно исходных показателей,

по сравнению с ЛО-группой: реакция по направленности схожа с ЛО-группой, но достоверно менее выражена по показателям АД и СК ( $P \leq 0,01$ ); реакция на введенный АХ после L-NAME выраженная в снижении СК ниже исходных показателей ( $P \leq 0,01$ ); реакция на введенный L-NAME, выраженная в повышении СК и снижении АД ( $P \leq 0,05$ ) с последующим усилением ответа на введенный АХ;

2) Предварительный скрининг производных пиримидина показал, что наиболее высокой эндотелиопротекторной активностью обладает соединение PMS4OH, которую выявили по способности увеличивать АХ-индуцированную СК (в 1,6 раз ( $P \leq 0,01$ )) и снижать АДФ-индуцированную степень и скорость агрегации тромбоцитов (в 2,2 ( $P < 0,01$ ) и 5,1 ( $P < 0,01$ ) раза соответственно), относительно негативного контроля;

3) Использование PMS4OH в условиях НПГ приводило к улучшению вазодилатирующей функции эндотелия при введении эндотелиоспецифических анализаторов: на 14 день развития НПГ, что проявлялось увеличением СК при введении АХ на 17,4% ( $P \leq 0,01$ ), и увеличением СК при введении АХ после L-NAME на 15,6% ( $P \leq 0,01$ ); на 28 день развития НПГ введение АХ увеличивало СК на 36,9% ( $P \leq 0,01$ ), L-аргинина – снижало СК на 16,3% ( $P \leq 0,05$ ), увеличивало отрицательную реакцию на введение L-NAME на 23% ( $P \leq 0,01$ ).

4) Экспериментальная терапия препаратом PMS4OH нормализовала нарушенный тромбогенный потенциал в условиях НПГ, что выражалось: увеличением времени до полной остановки кровотока в 1,3 ( $P \leq 0,01$ ) раза при аппликации железа хлорида на поверхность сонной артерии; практически одинаковым снижением степени и скорости агрегации при индуцировании АДФ, коллагеном и ристомицином, в среднем, в 1,5 раза ( $P \leq 0,05$ ); уменьшением FW в 1,3 раза ( $P \leq 0,01$ ); увеличением АЧТВ в 1,4 раз ( $P \leq 0,02$ ), ПВ – в 1,4 раза ( $P \leq 0,05$ ), ТВ – в 1,2 ( $P \leq 0,05$ ) и снижением количества фибриногена в 1,5 раз ( $P \leq 0,02$ ); повышением антитромбина III в 1,3 раз ( $P \leq 0,05$ ).

5) Применение PMS4OH позволило уменьшить выраженность воспалительных и пролиферативных процессов, относительно НПГ-группы, о чем свидетельствует снижение СРБ в 1,4 раза ( $P \leq 0,02$ ), уменьшение уровня MMP-1 в 2,7 раза, морфологически выявленных признаков уменьшения процессов воспаления, повышения проницаемости эндотелия, некроза и десквамации эндотелиоцитов, увеличение толщины интимы в 1,3 раза, снижение соотношения интимы/медии в 1,3 раза в сосудах мозга животных.

6) Снижение активности ПКС, наряду с увеличением уровня eNOS ( $P \leq 0,02$ , по сравнению с НПГ-группой) и уменьшением ADMA ( $P \leq 0,05$ , по сравнению с НПГ-группой) может являться одним из ключевых звеньев путей реализации специфической эндотелиопротекторной активности соединения PMS4OH, вводимого животным с ЭД,

вызванной НПГ, что подтверждалось снижением уровня ПКС как ИГХ-методом, так и измеряемого путем ИФА в 1,92 раза ( $P \leq 0,05$ ), по сравнению с НПГ-группой, и достоверно превышающей в 1,81 раза ( $P \leq 0,05$ ) по сравнению с группой, которым вводили сулодексид.

#### **Научно-практические рекомендации**

1. Полученные данные позволяют дать рекомендации для целенаправленного синтеза и дальнейшего поиска среди 2-стирилзамещенных производных 4-оксопиримидина высокоактивных и малотоксичных веществ с эндотелиокротекторным действием

2. Следует продолжить дальнейшее исследование соединения PMS4OH с целью создания на его основе эндотелиопротекторного лекарственного средства для терапии патологических состояний и осложнений, вызванных недостаточностью половых гормонов.

## **Список опубликованных работ по теме диссертации**

### **Работы, опубликованные в изданиях, рекомендуемых ВАК Минобрнауки РФ**

1. Воронков, А.В. Изучение вазодилатирующей и антитромботической функций эндотелия сосудов головного мозга крыс на различных моделях его ишемического повреждения / А.В. Воронков, Д.И. Поздняков, А.В. Мамлеев // Современные проблемы науки и образования. – 2015. – № 5.; URL: <http://www.science-education.ru/ru/article/view?id=22406> (дата обращения: 14.06.2016).
2. Воронков, А.В. Сравнительная оценка влияния АТАСЛ, мексидола и тиоктовой кислоты на антитромботическую функцию эндотелия и некоторые показатели состава периферической крови экспериментальных животных на фоне фокальной ишемии головного мозга / А.В. Воронков, Д.И. Поздняков, А.В. Мамлеев // Современные проблемы науки и образования. – 2016. – № 2.; URL: <http://www.science-education.ru/ru/article/view?id=24398> (дата обращения: 14.06.2016).
3. Воронков, А.В. Изучение влияния 2-стирилпроизводных пиримидин-4(1н)-она на состояние антитромботического потенциала, на фоне экспериментально вызванной недостаточности половых гормонов / А.В. Воронков, Д.И. Поздняков, А.В. Мамлеев // Журнал научных статей Здоровье и образование в XXI веке. - 2016. - Т. 18. - № 2. - С. 603-608.
4. Поиск и изучение эндотелиопротекторной активности новых 2-стирилпроизводных пиримидин-4(1н)-она на фоне моделирования недостаточности половых гормонов / А.В. Воронков, И.П. Кодониди, А.В. Мамлеев, В.С. Сочнев, А.А. Глушко // Современные проблемы науки и образования. - 2015. - № 5. - С. 285.
5. Воронков, А.В. Взаимосвязь развития эндотелиальной дисфункции и активности протеинкиназы С при ишемическом повреждении головного мозга / А.В. Воронков, А.В. Мамлеев // Патологическая физиология и экспериментальная терапия. - 2016. - Т. 60. - № 4. - С. 134-142.

### **Работы, опубликованные в других изданиях**

1. Мамлеев, А.В. Варианты изменений вазодилатирующей функции эндотелия при введении l-name на фоне недостаточности половых гормонов в эксперименте / А.В. Мамлеев. – Актуальные проблемы экспериментальной и клинической медицины: материалы 73-й открытой научн.-практ. конф. молодых ученых и студентов ВолгГМУ с международным участием, посвященной 80-летию ВолгГМУ. – Волгоград, 2015. – С. 27-28.

2. Воронков, А.В. Динамическое изучение влияния нового 2-стирилпроизводного пиримидин-4(1н) -она на вазодилатирующую функцию эндотелия в разные периоды развития экспериментально вызванной недостаточности половых гормонов / А.В. Воронков, Д.И. Поздняков, А.В. Мамлеев. – Экспериментальные и клинические аспекты микроциркуляции и функции эндотелия: материалы II научн.-практ. конф. – Смоленск: Изд-во СГМУ, 2016. – С. 87-90.

3. Воронков, А.В. Влияние 2-стирилпроизводных пиримидин-4(1н)-она на состояние антиромботического потенциала, на фоне экспериментально вызванной недостаточности половых гормонов / А.В. Воронков, А.В. Мамлеев. – Человек и лекарство: тез. докл. XXIII Российского национального конгресса. – М., 2016. – С.221-222.

4. Мамлеев, А.В. Оценка влияния стиролпроизводного оксопиримидина PMS4OH на эндотелиальную функцию в условиях экспериментально вызванной недостаточности половых гормонов / А.В. Мамлеев, Л.В. Полякова. – Актуальные проблемы экспериментальной и клинической медицины от молекулы к лекарству: материалы научн.-практ. конф. – Пятигорск, 2017. – С.46-49.

### **Список сокращений**

ADMA – асимметрический диметиларгинин  
eNOS – эндотелиальная синтаза оксида азота  
FW – фактор фон Виллебранда  
iNOS – индуцибельная синтаза оксида азота  
L-NAME – Нитро-L-аргинин метиловый эфир  
MMP-1 – матриксной металлопротеиназы -1  
nNOS – нейрональная синтаза оксида азота  
ТХА2 – тромбоксана А2,  
АДФ – натриевая соль аденозин-5-дифосфорной кислоты  
АХ – ацетилхолин  
АЧТВ – активированное частичное тромбопластиновое время  
ЕВЛ – единицы высвобождения липопротеидлипазы  
ИГХ – иммуногистохимическое исследование  
ИФА – иммуноферментный анализ  
ЛО – ложноперирированные  
НПГ – недостаточность половых гормонов  
ПВ – протромбиновое время  
ПКС – протеинкиназа С  
СК – скорости церебрального кровотока  
СМА – среднемозговая артерия  
СРБ – С-реактивного белка  
ССЗ – сердечно-сосудистых заболеваний  
ТВ – тромбиновое время  
ФСГ – фолликулостимулирующий гормон  
ЭД – эндотелиальной дисфункции  
ЭК – эндотелиальные клетки

Эндотелиопротекторные свойства 2-стирилзамещенных производных 4-  
оксопиримидина при экспериментально вызванной недостаточности половых гормонов

Мамлеев Андрей Викторович

АВТОРЕФЕРАТ

Диссертации на соискание учёной степени  
кандидата фармацевтических наук