

МИРОШНИЧЕНКО КИРИЛЛ АЛЕКСАНДРОВИЧ

**ЦЕРЕБРОПРОТЕКТОРНОЕ ДЕЙСТВИЕ НОВЫХ
СУЛЬФОПРОИЗВОДНЫХ ПИРИМИДИН-4(1H)-ОНА В УСЛОВИЯХ
ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ ХРОНИЧЕСКОЙ ТРАВМАТИЧЕСКОЙ
ЭНЦЕФАЛОПАТИИ**

3.3.6. – Фармакология, клиническая фармакология

АВТОРЕФЕРАТ

диссертации на соискание ученой степени
кандидата фармацевтических наук

Работа выполнена на кафедре фармакологии с курсом клинической фармакологии
Пятигорского медико-фармацевтического института – филиала федерального
государственного бюджетного образовательного учреждения высшего
образования «Волгоградский государственный медицинский университет»
Министерства здравоохранения Российской Федерации.

Научный руководитель:

Доктор медицинских наук, доцент

Черников Максим Валентинович

Официальные оппоненты:

Заведующий кафедрой фармацевтической химии, фармакогнозии и организации
фармацевтического дела факультета фундаментальной медицины ФГБОУ ВО
«Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова», доктор
фармацевтических наук, профессор

Каленикова Елена Игоревна

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

Покровский Михаил Владимирович

Ведущее учреждение: Федеральное государственное бюджетное образовательное
учреждение высшего образования «Санкт-Петербургский государственный
химико-фармацевтический университет» Министерства здравоохранения
Российской Федерации

Защита диссертации состоится «__» _____ 2023 г. в ____ ч. на заседании
диссертационного совета 21.2.005.02 ФГБОУ ВО «Волгоградский
государственный медицинский университет» Минздрава России по адресу
400131, г. Волгоград, пл. Павших Борцов, 1.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке и на сайте (www.volgmed.ru)
ФГБОУ ВО «Волгоградский государственный медицинский университет»
Минздрава России

Автореферат разослан «__» _____ 2022 г.

Ученый секретарь диссертационного совета,
доктор биологических наук

Любовь Ивановна Бугаева

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность темы. Хроническая травматическая энцефалопатия (ХТЭ) является прогрессирующей нейродегенеративной патологией, неминуемо приводящей к повышению инвалидизации и смертности населения [Vi B., 2019]. Главным этиологическим фактором выступают повторяющиеся черепно-мозговые травмы (ЧМТ). В связи с широким исследованием ХТЭ накопились убедительные сведения о том, что данная патология является не узконаправленной, для спортсменов контактных видов спорта и военнослужащих, а представляет угрозу здоровью и жизни всего населения независимо от возраста и вида профессиональной деятельности [Fesharaki-Zadeh A., 2019]. Это связано с тем, что среди общего черепно-мозгового травматизма большая часть приходится на бытовой (около 40-78%), дорожно-транспортный (10-30%) и связанный с профессиональной деятельностью (12-15%) [Жарова Е.Н., 2019].

Клиническая картина ХТЭ проявляется комплексом когнитивных, неврологических, сенсомоторных расстройств, которые могут быть не отнесены к проявлениям данного заболевания, так как описанные симптомы характерны другим нейродегенеративным патологиям [Strang K.H., 2019]. Рассматривая главный этиологический фактор, ЧМТ, можно судить о распространенности данного заболевания. Согласно статистическим данным во всем мире ежегодно получают ЧМТ около 42 миллионов человек, из них в России около 600 тысяч [Gardner R.C., 2015]. Однако следует упомянуть тот факт, что большинство ЧМТ легкой степени тяжести не учтены, вследствие отсутствия обращений за помощью в лечебно-профилактические учреждения. Последнее приводит к тому, что население не получает должной терапии, увеличивая тем самым вероятность отсроченных осложнений, главным из которых и является развитие ХТЭ [Gao A.F., 2017]. На сегодняшний день не существуют как оптимальных лекарственных средств для терапии ХТЭ, так и стратегии лечения в целом. Но учитывая высокую социальную важность и возрастающую частоту заболевания, вследствие современного технического прогресса, поиск «терапевтических мишеней» и активных субстанций к ним представляет научный интерес с целью внедрения в практическую деятельность для сохранения качества жизни населения.

Для создания лекарственных средств сохраняет свою актуальность выбор в качестве предшественника соединений хорошо изученных структур, в частности, производных пиримидина [Борисова Н.С., 2012]. Перспективность данного направления заключается в том, что пиримидины проявляют широкий спектр фармакологических активностей, обладая при этом низкой токсичностью [Белов А.Е., 2000; Deng, Y., 2009]. Так, одним из установленных видов активности производных пиримидина является церебропротекторная, выражающаяся в эндотелиопротекторном [Воронков А.В., 2018], антигипоксическом [Петрова Е.В., 2013], антиагрегационном [Воронков А. В., 2016], антиоксидантном [Panda S. S., 2008] действиях.

Степень разработанности темы. Число научных публикаций, связанных с ХТЭ, значительно увеличилось с четырех в 1999г до 160 в 2019г, что

характеризует повышенный интерес в изучении патологии [Qi В., 2020]. Установлено развитие клинических проявлений ХТЭ у населения по прошествии нескольких лет после первой ЧМТ, что позволяет судить об отсроченном неблагоприятном эффекте ЧМТ в виде развития данного заболевания [Omalu В., 2014]. Основным диагностическим критерием является накопление фосфорилированного тау-белка (ФТ) в виде нейрофибриллярных агрегатов в лобной и височных долях коры больших полушарий, что и является отличием от других таупатий, таких как болезнь Альцгеймера, лобно-височная деменция [Moreno-Gonzalez I., 2011]. На сегодняшний день диагностировать ХТЭ возможно только посредством аутопсии и анализа головного мозга. Физиологическая роль тау-белка заключается в обеспечении стабильности формы и жесткости нейронов, способствуя поддержанию постоянства структуры и внутриклеточного транспорта везикул, тем самым влияя на функционирование клеток центральной нервной системы [Stern R.A., 2013]. В условиях ЧМТ наблюдается первичный и вторичный каскады повреждения головного мозга, возникающие вследствие воздействия травматического фактора, приводящие к нейродеградации, посредством дестабилизации тау-белка, способствующей его фосфорилированию и конформации в нейрофибриллярные агрегаты [Agoston D.V., 2016]. На сегодняшний день существуют два подхода к нивелированию последствий ЧМТ, первый, использование средств индивидуальной защиты, шлемов, но как ни парадоксально это приводит к увеличению частоты и тяжести травматических воздействий, получаемых людьми из-за повышенного чувства личной безопасности (т. е. «компенсация риска») [Gardner R.C., 2015]. И второй, посредством фармакотерапии вторичного каскада повреждения мозга (снижение уровня мозговой гемодинамики, гиперпродукция активных форм кислорода, сокращение уровня макроэргов в клетках головного мозга) с помощью средств, обладающих церебропротекторной активностью. Однако имеющиеся на сегодняшний день лекарственные средства в полной мере не позволяют нивелировать клинические проявления у больных, что и обосновывает необходимость поиска новых средств для профилактики и терапии ХТЭ.

Целью исследования явилась оценка наличия церебропротекторной активности у новых сульфопроизводных пиримидин-4-1(Н)-она в условиях экспериментальной ХТЭ.

Для достижения вышеназванной цели были установлены следующие **задачи**:

1. Выполнить фармакологический скрининг среди новых производных пиримидин-4-1(Н)-она для выбора соединения с наиболее выраженным фармакологическим эффектом, посредством оценки когнитивных, сенсомоторных функций и состояния метаболизма головного мозга у крыс.

2. Определить перспективы использования соединения-лидера, посредством оценки острой токсичности и эффективности применения в интервале доз.

3. Провести углубленное исследование соединения-лидера на предмет наличия церебропротекторной активности в условиях экспериментальной хронической травматической энцефалопатии, путем изучения отсроченного

влияния на уровень когнитивных функций, биохимических процессов в нейронах, церебральноспецифичных маркеров нейродеградации.

4. Изучить воздействие вещества-лидера на течение экспериментальной хронической травматической энцефалопатии в условиях модели «Blast wave».

5. Изучить потенциальные механизмы действия соединения-лидера.

Научная новизна исследования. В рамках данной исследовательской работы впервые было выполнено изучение церебропротекторной активности новых производных пиримидин-4-1(Н)-она в условиях экспериментальной ХТЭ.

Также впервые для соединения-лидера под лабораторным шифром Sub1 установлены такие параметры, как «острая» токсичность и эффективность в интервале доз. Впервые было изучено влияние соединения-лидера Sub1 на состояние эндотелиальной и митохондриальной дисфункций в условиях экспериментальной ХТЭ. А именно, проанализирована степень воздействия на вазодилатирующую, антиагрегантную, антикоагуляционную активности, как главных функций эндотелия сосудов головного мозга, обеспечивающих необходимый уровень церебральной гемодинамики. Также установлен характер влияния соединения-лидера Sub1 на респирометрическую, антиоксидантную и апоптоз-регулирующую функции митохондрий, посредством оценки АТФ-генерирующей активности, уровня гликолитических процессов, степени образования свободных радикалов, состояния ферментов, обеспечивающих эндогенную антиоксидантную защиту клеток головного мозга, а также концентрации апоптоз-индуцирующего фактора.

Теоретическая и практическая значимость работы. В рамках данного диссертационного исследования установлена церебропротекторная активность нового производного пиримидин-4-1(Н)-она Sub1, проявляющаяся в нивелировании эндотелиальных и митохондриальных дисфункций в условиях экспериментальной ХТЭ. Также показано выраженное церебропротекторное действие Sub1 в условиях двух экспериментальных моделей ХТЭ с разными этиологическими факторами, уровень отсроченного влияния соединения на течение ХТЭ. На основании результатов проведенной работы можно судить о целесообразности дальнейшего изучения соединения Sub1 с целью создания на его основе церебропротекторного лекарственного препарата для профилактики и лечения ХТЭ, также, создана рекомендация химикам-синтетикам в виде целенаправленного синтеза новых соединений в ряду производных пиримидина с целью поиска средств с церебропротекторной активностью.

Методология и методы исследования. В данной диссертационной работе методология была составлена согласно поставленным задачам исследования, выполненного на базе Пятигорского медико-фармацевтического института – филиала ФГБОУ ВО ВолгГМУ Минздрава России. В исследовании использовался комплексный морфо-функциональный подход к определению церебропротекторной активности изучаемых соединений, в виде оценки эндотелиальных и митохондриальных функций. Все выполняемые манипуляции строго соответствовали общепринятым этическим нормам работы с

экспериментальными животными. Также данное диссертационное исследование произведено с использованием необходимого количества биологических моделей на современном оборудовании с применением методов, адекватных поставленным задачам исследования.

Положения, выносимые на защиту:

1. В ряду изучаемых новых производных пиримидин-4-1(Н)-она наиболее выраженным церебропротекторным действием в условиях экспериментальной ХТЭ обладает соединение Sub1. Применение Sub1 позволяет нивелировать характерные проявления ХТЭ в виде когнитивного, сенсомоторного и неврологического дефицитов.

2. Механизм действия Sub1 связан с восстановлением функций митохондрий и эндотелия сосудов головного мозга, что в свою очередь приводит к меньшей нейродеструкции в условиях экспериментальной ХТЭ и выражается снижением концентрации маркеров нейродеградации.

3. Sub1 способствует восстановлению физиологически необходимого уровня мозговой гемодинамики, нормализации процессов метаболизма клеток головного мозга, снижая продукцию гомоцистеина и устраняя лактат-ацидоз. Также при применении данного вещества отмечается повышение уровня макроэргов, уменьшение образования АФК, снижение индукции сигналов, запускающих процесс апоптоза.

Внедрение результатов исследования. Результаты, полученные в ходе данной работы, применяются в учебном процессе на кафедре фармакологии с курсом клинической фармакологии ПМФИ - филиала ФГБОУ ВО ВолгГМУ МЗ РФ. Методология поиска и разработки средства церебропротекторного действия на основе нового производного пиримидина, применяемого для лечения хронической травматической энцефалопатии, за счет снижения гиперфосфорилирования тау-белка используются в исследованиях, выполняемых в рамках реализации научного проекта № 20-315-90062 от 01.09.2020 г., при предоставлении из федерального бюджета грантов, в соответствии с пунктом 4 статьи 78.1 Бюджетного кодекса Российской Федерации.

Степень достоверности и апробация результатов. В рамках данного диссертационного исследования были использованы современные методы выполнения экспериментальных работ и высокотехнологичное оборудование. Также, при проведении исследований был получен достаточный объем статистически обработанных данных, последнее и позволяет судить о высокой степени достоверности полученных результатов. Основные положения диссертационной работы докладывались на XL Международной научно-практической конференции «Современная медицина: новые подходы и актуальные исследования», Москва, 22.09.2020; IX Международной научно-практической конференции «Беликовские чтения», Пятигорск, 03-04.12.2020; XXVII Российском национальном конгрессе «Человек и лекарство», Москва, 2020.

По теме диссертации опубликовано 14 печатных работ, из них 6 в рецензируемых журналах, рекомендованных ВАК Минобрнауки РФ; 4 в базе

журналов, индексируемых в SCOPUS; 1 в базе журналов, индексируемых в Web of Science. Также получен 1 патент на изобретение и зарегистрирована 1 база данных.

Личный вклад автора. Вклад автора являлся основным и заключался в определяющем участии на всех этапах диссертационного исследования по изучению церебропротекторного действия новых сульфопроизводных пиримидин-4(1H)-она в условиях экспериментальной ХТЭ. Для выполнения диссертационной работы автором был произведен подбор и анализ литературных источников, сбор первичных данных, также выполнена статистическая обработка результатов исследований.

Структура и объем работы. Диссертация написана на 154 страницах машинописного текста. Рукопись включает в себя введение, семь глав, выводы, научно-практические рекомендации, список сокращений и список литературы. В работу включены 33 рисунка и 8 таблиц. Список литературы состоит из 233 источников, из них 44 отечественных, 189 иностранных.

ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

В **первой главе** представлен обзор литературы, в котором изложены основные эпидемиологические и социально-экономические аспекты ХТЭ. Также описаны клинические проявления, ведущие патогенетические механизмы, биомаркеры и перспективные терапевтические мишени. Приведены основные направления разработки лекарственных средств для лечения ХТЭ. Кроме того, указаны перспективы возможности применения производных пиримидина, с учетом наличия необходимого сочетания широкого спектра фармакологических активностей и низкой токсичности, что характеризует целесообразность изучения производных пиримидина в качестве средств для терапии ХТЭ.

Во **второй главе** описаны материалы и методы диссертационной работы. Исследование выполнено на 450 крысах-самцах линии *Wistar* и 21 мышью-самке линии *Balb/c*. Животные были взяты из вивария Пятигорского медико-фармацевтического института – филиала ФГБОУ ВО ВолгГМУ Минздрава России. В период проведения исследования животные размещались в стандартных условиях вивария. Манипуляции, выполняемые с животными, а также их содержание соответствовали установленным требованиям Директивы 2010/63/EU Европейского парламента и Совета по защите животных, используемых в научных целях, а также национального стандарта Российской Федерации ГОСТ 33044-2014 «Принципы надлежащей лабораторной практики».

Исследование было разделено на 5 этапов: фармакологический скрининг, изучение острой токсичности, определение эффективности в интервале доз, углубленное изучение церебропротекторной активности и оценка потенциальных механизмов действия. На каждом этапе крысы разделялись на экспериментальные группы по 10 особей в каждой. Выделяли группы положительного контроля (ПК), животные, у которых не осуществлялось моделирование патологии; негативного контроля (НК), на крысах данной группы воспроизводилась модельная патология, в качестве фармакологической поддержки вводили дистиллированную воду;

также группы животных, которым вводили в качестве фармакологической поддержки препараты сравнения и исследуемые соединения. В качестве референтных препаратов применялись холина альфосцерат (ХА) в дозе 100 мг/кг («Церепро», Верофарм, РФ); гопантенная кислота (ГК) в дозе 100 мг/кг («Пантогам», «ПИК-ФАРМА ПРО», РФ); аминоксалиновая кислота (АФМК) в дозе 25 мг/кг («Фенибут», «ОлайнФарм», Латвия); на этапе углубленного изучения также использовали цитруллина малат (ЦМ) в дозе 25 мг/кг («Стимол», Biocodex, Франция) и полидигидроксифенилентиосульфат натрия (ПДФТН) в дозе 25 мг/кг («Гипоксен» «Олифен корпорация», Россия) (ПДФТН) [Самотруева М.А., 2012; Слободенюк Т.Ф., 2017; Сысоев Ю.И., 2018]. Препараты вводили перорально спустя 30 минут после моделирования патологии.

На первом этапе исследования в ходе фармакологического скрининга на крысах-самцах линии *Wistar* были изучены в условиях экспериментальной ХТЭ 10 новых сульфопроизводных пиримидин-4(1H)-она (под лабораторными шифрами Sub1, Sub2, Sub3, Sub4, Sub5, Sub6, Sub7, Sub8, Sub9, Sub10), синтезированных на кафедре органической химии ПМФИ – филиала ФГБОУ ВО ВолгГМУ под руководством профессора, д.ф.н. Кодониди И.П. Последние вводились в дозе 100 мг/кг (на основании данных, полученных в ходе предварительных исследований) перорально спустя 30 мин после моделирования ХТЭ однократно в сутки на протяжении семи дней. Патологию воспроизводили с помощью методики механического воздействия, заключающейся в травмировании грузом (масса 150г) черепной коробки крыс в теменной области на протяжении семи дней (однократно в сутки), на 8 сутки производили определение показателей [Воронков А.В., 2016]. Степень влияния исследуемых веществ на течение ХТЭ устанавливали посредством оценки сохранения когнитивных (тесты «условный рефлекс пассивного избегания» (УРПИ) и «экстраполяционное избегание» (ТЭИ)) и сенсомоторных функций («Beam walking test») [Бондаренко Н.А., 2013; Титович И.А., 2017; Schallert T., 2002]. Также изучали состояние обменных процессов клеток головного мозга путем установления концентраций таких метаболитов, как лактат, пировиноградная кислота с помощью энзиматического колориметрического метода и гомоцистеина посредством циклической энзиматической реакции с использованием стандартных наборов реактивов. Кроме того, осуществляли мониторинг содержания таких маркеров нейродеградации, как GFAP, S100B, NSE, A β с использованием твердофазного иммуноферментного анализа.

На втором этапе оценивали острую токсичность соединения-лидера, выявленного в ходе скрининга, на мышях линии *Balb/c* с помощью метода «Up and Down» с интервалов вводимых доз от 1,75 до 5000 мг/кг [Dixon W.J., 1991].

В ходе третьего этапа устанавливали эффективность введения соединения-лидера в интервале доз, используя вышеописанную модель ХТЭ, также с определением показателей на 8 сутки. Было изучено влияние четырех дозировок (25мг/кг, 50мг/кг, 100мг/кг и 150мг/кг) на степень изменения концентрации четырех маркеров нейродеградации (GFAP, A β , S-100B, NSE) в условиях экспериментальной ХТЭ.

На четвертом этапе выполняли углубленное изучение церебропротекторной активности лидера в условиях ХТЭ. Последнее производили посредством оценки отсроченного влияния (вышеописанная модель, но определение показателей проводили по прошествии 60 дней) на когнитивные функции крыс (тест УРПИ) и степень повреждения клеток головного мозга по концентрации и локализации (кора больших полушарий и гиппокамп) двух маркеров нейродеградации (ФТ, Аβ). Также оценивали церебропротекторное действие в условиях экспериментальной ХТЭ, вызванной воздействием ударной волны (методика «Blast wave») [Goldstein L.E., 2012], путем определения неврологического дефицита (шкала mNSS) [Liu W., 2012] и уровня биомаркеров нейродеградации (ФТ, Аβ, GFAP) и фактора, индуцирующего апоптоз (AIF) спустя одни и четырнадцать суток после моделирования патологии.

На пятом этапе исследования устанавливали потенциально возможные механизмы церебропротекторного действия соединения-лидера (модель механического воздействия с оценкой показателей на 8 сутки). Так, было изучено влияние лидера на активность эндотелия сосудов головного мозга, посредством определения вазодилатирующей функции по степени изменения скорости мозгового кровотока на фоне введения модификаторов синтеза NO, а именно, ацетилхолина (АЦХ) 0,1 мг/кг (Sigma-Aldrich), L-аргинина 150 мг/кг (Panreac), нитро-L—аргинин метилового эфира (L - NAME) 15 мг/кг (Sigma-Aldrich). Эндотелий-независимую вазодилатацию исследовали по реакции сосудов при введении нитроглицерина (НТГ) (Биомед) 0,007 мг/кг [Тюренков И.Н., 2008]. Также определяли противотромботическую функцию эндотелия по уровню изменения степени и скорости агрегации тромбоцитов [Габбасов З.А., 1989]. Устанавливали состояние плазменного гемостаза, посредством оценки таких показателей как, активированное частичное тромбопластиновое время (АЧТВ), тромбиновое время (ТВ), концентрация фибриногена, активность системы протеина С. Также была изучена степень влияния на респирометрическую (АТФ-генерирующая способность, интенсивность гликолиза) [Redmann M., 2018] и апоптоз-регулирующую (концентрация AIF) функции митохондрий клеток головного мозга. Вместе с тем определяли состояние антиоксидантной системы клеток головного мозга (концентрация ТБК-активных продуктов, активность ферментов эндогенной антиоксидантной системы: супероксиддисмутазы (СОД), глутатионредуктазы (ГР) и глутатионпероксидазы (ГП)) [Стальная И.Д., 1977; Goldberg D.M., 1983; Pierce S. 1978; Woolliams J.A., 1983].

Результаты проведенных экспериментов статистически анализировали с применением комплекта программного обеспечения STATISTICA 6.0 (StatSoft, Inc.) и Microsoft Excel 2010. Полученные данные исследовали на нормальность распределения с использованием критерия Шапиро-Уилка. В случае подчинения данных закону нормального распределения для сравнения групп средних применяли параметрические методы - ANOVA с пост-обработкой Ньюмена-Кейсла, в противном случае прибегали к использованию методов непараметрической статистики (критерий Краскелла-Уоллиса) [Гланц С., 1999].

В третьей главе описан фармакологический скрининг 10 новых сульфопроизводных пиримидин-4(1H)-она. В ходе исследования установлено, что в условиях экспериментальной ХТЭ у крыс группы НК отмечается развитие когнитивного и сенсомоторного дефицитов относительно животных группы ПК (табл. 1). Применение препаратов сравнения позволило в некоторой степени сохранить когнитивные и сенсомоторные функции крыс по сравнению с крысами группы НК.

Таблица 1. Оценка когнитивных и сенсомоторных функций крыс в условиях экспериментальной ХТЭ и ее коррекции

Группа	Время подныривания в ТЭИ, сек (M±m)	Время первого захода в тесте УРПИ, сек (M±m)	Уровень сенсомоторного дефицита, % (M±m)
ПК	18±3,2	33±3,6	10±0,6
НК	37±4,3#	11±2,1#	58±1,3#
ХА	25±3,2*	30±2,6*	26±1,0*
ГК	22±2,5*	40±3,7*	50±1,3*
АФМК	27±3,5*	45±4,1*	58±1,1
Sub1	26±3,0*	35±3,4*	44±1,6*
Sub2	39±4,8	20±1,9*	35±1,5*
Sub3	17±2,8*	14±2,0	50±4,1*
Sub4	47±4,8	18±2,0*	59±2,9
Sub5	44±4,5	13±1,3	67±3,5
Sub6	46±4,3	34±2,5*	58±2,8
Sub7	47±5,1	12±1,4	64±2,8
Sub8	33±4,2	65±3,6*	54±3,0
Sub9	28±3,8*	10±1,3	49±2,7*
Sub10	61±6,4*	16±1,7*	65±2,6

Примечание: статистически значимо (критерий Ньюмена-Кейлса) относительно ПК группы животных (# - $p < 0,05$), (критерий Ньюмена-Кейлса) относительно крыс НК группы (* - $p < 0,05$). ПК - группа крыс положительного контроля; НК - животные группы негативного контроля; ХА – группа крыс, которым вводили холина альфосцерат; ГК – группа животных, получавшая гопантеновую кислоту; АФМК – крысы группы, которым вводили аминифенилмасляную кислоту; Sub1 – группа животных, которая получала соединение № 1; Sub2 – группа крыс, которым вводили соединение № 2; Sub3 – группа животных, получавшая соединение № 3; Sub4 – группа крыс, которым вводили соединение № 4; Sub5 – группа животных, получавших соединение № 5; Sub6 – группа крыс, которым вводили соединение № 6; Sub7 – группа животных, получавшая соединение № 7; Sub8 – группа крыс, которым вводили соединение № 8; Sub9 – группа животных, получавшая соединение № 9; Sub10 – группа крыс, которым вводили соединение № 10.

Введение исследуемых сульфопроизводных пиримидин-4(1H)-она оказало неоднозначное влияние на изучаемые показатели, стоит отметить, что на фоне применения соединения Sub1 отмечено наиболее выраженное сохранение когнитивных и сенсомоторных функций среди вводимых веществ. Так, в ТЭИ и УРПИ изучаемые показатели статистически значимо отличались от показателей групп НК и были сопоставимы с данными крыс групп, которым вводили референтные препараты. Уровень сенсомоторного дефицита также статистически

значимо отличался от показателя группы НК и был сопоставим с результатами крыс групп, получавших препараты сравнения.

При оценке уровня метаболических процессов в условиях ХТЭ установлено патологическое изменение последних в виде повышения концентрации лактата и гомоцистеина, снижения продукции пировиноградной кислоты у животных группы НК относительно ПК (табл. 2). Введение референтных препаратов способствовало некоторой нормализации процессов обмена по сравнению с крысами группы НК.

При введении исследуемых соединений установлено, что на фоне применения Sub1 концентрация лактата сократилась относительно данных группы НК на 110,5% ($p < 0,05$), что являлось самым выраженным эффектом среди остальных соединений, и превосходило значения групп препаратов сравнения. В тоже время, на уровень пировиноградной кислоты введение Sub1 повлияло в виде повышения содержания в 2,3 раза ($p < 0,05$), что сопоставимо с данными групп, получавших референтные препараты. Применение Sub1 для модификации продукции гомоцистеина позволило сократить его концентрацию относительно крыс НК на 31,3% ($p < 0,05$).

Таблица 2. Изменение концентрации лактата, пировиноградной кислоты, гомоцистеина у крыс в условиях экспериментальной ХТЭ и ее коррекции

Группа	Концентрация лактата, ммоль/л (M±m)	Концентрация пировиноградной кислоты, мкмоль/л (M±m)	Концентрация гомоцистеина, нг/мл (M±m)
ПК	1,11±0,03	101,10±1,04	10,33±0,44
НК	4,40±0,10#	20,74±0,55#	42,45±1,15#
ХА	2,55±0,07*	35,97±1,53*	22,73±1,80*
ГК	2,82±0,07*	48,35±2,79*	11,13±0,50*
АФМК	3,26±0,11*	23,17±1,13	26,14±0,77*
Sub1	2,12±0,02*	47,77±0,67*	32,91±1,15*
Sub2	3,02±0,05*	27,38±0,74*	14,66±0,80*
Sub3	2,73±0,06*	127,26±1,07*	9,37±0,50*
Sub4	3,05±0,07*	19,22±0,48	5,60±0,30*
Sub5	3,31±0,11*	13,14±0,47	3,66±0,21*
Sub6	2,84±0,10*	41,25±1,09*	6,30±0,36*
Sub7	3,51±0,11*	35,95±1,00*	23,32±0,74*
Sub8	3,08±0,08*	38,18±1,08*	3,22±0,16*
Sub9	3,22±0,09*	62,25±1,39*	16,20±0,62*
Sub10	2,77±0,10*	25,40±0,89*	5,82±0,42*

Примечание: статистически значимо (критерий Ньюмена-Кейлса) относительно ПК группы животных (# - $p < 0,05$), (критерий Ньюмена-Кейлса) относительно крыс НК группы (* - $p < 0,05$). Обозначение групп аналогично таблице 1.

При оценке состояния нейродегенеративных процессов в условиях экспериментальной ХТЭ установлено, что у крыс группы НК отмечалось значимое повышение содержания маркеров нейродеградации GFAP, S100B, NSE, Aβ по сравнению с животными группы ПК (табл. 3). Введение препаратов

сравнения позволило снизить концентрацию изучаемых показателей относительно группы животных НК.

Применение в качестве фармакологической поддержки исследуемых соединений позволило статистически значимо сократить концентрации изучаемых биомаркеров относительно группы животных НК. Вместе с тем, применение Sub1 оказало наиболее выраженный фармакологический эффект, среди изучаемых соединений, в виде снижения содержания GFAP, A β , S100B, NSE по сравнению с результатами крыс группы НК в 3,4 ($p < 0,001$), 3,2 ($p < 0,001$), 3,0 ($p < 0,001$) и 3,5 ($p < 0,01$) раза соответственно.

Таблица 3. Изменение содержания GFAP, A β , S100B, NSE у крыс в условиях экспериментальной ХТЭ и ее коррекции

Группа	Концентрация GFAP, пг/мл (M \pm m)	Содержание A β , пг/мл (M \pm m)	Уровень S100B, пг/мл (M \pm m)	Концентрация NSE, пг/мл (M \pm m)
ПК	312,71 \pm 7,39	12,61 \pm 0,31	12,92 \pm 0,27	342,23 \pm 6,77
НК	2487,77 \pm 46,61#	319,58 \pm 8,36#	374,73 \pm 6,46#	6512,81 \pm 146,91#
ХА	774,79 \pm 21,69*	75,51 \pm 5,20*	148,53 \pm 6,67*	2606,87 \pm 45,09*
ГК	1040,19 \pm 55,85*	68,29 \pm 5,13*	130,09 \pm 6,61*	2518,76 \pm 66,84*
АФМК	819,59 \pm 23,53*	66,19 \pm 2,12*	140,14 \pm 4,29*	3640,91 \pm 183,88*
Sub1	737,19 \pm 15,94*	99,1 \pm 1,20*	125,12 \pm 4,40*	1881,32 \pm 38,08*
Sub2	910,61 \pm 69,49*	103,65 \pm 5,83*	163,97 \pm 4,75*	3698,98 \pm 87,32*
Sub3	717,50 \pm 30,30*	128,43 \pm 6,14*	165,13 \pm 4,61*	4085,56 \pm 66,66*
Sub4	1067,82 \pm 42,66*	135,16 \pm 9,47*	124,58 \pm 3,37*	3756,54 \pm 146,80*
Sub5	747,71 \pm 39,40*	156,12 \pm 9,84*	127,16 \pm 3,88*	3537,57 \pm 64,52*
Sub6	1038,03 \pm 39,91*	186,45 \pm 8,92*	146,50 \pm 6,07*	4164,58 \pm 53,29*
Sub7	790,12 \pm 23,30*	148,39 \pm 11,98*	128,30 \pm 5,58*	3252,06 \pm 47,60*
Sub8	1008,44 \pm 27,91*	239,67 \pm 12,12*	153,54 \pm 7,63*	2148,16 \pm 126,24*
Sub9	1153,13 \pm 58,78*	130,49 \pm 6,03*	156,91 \pm 6,25*	2485,05 \pm 195,48*
Sub10	960,56 \pm 38,95*	212,65 \pm 9,11*	172,39 \pm 3,08*	3248,42 \pm 36,25*

Примечание: статистически значимо (критерий Ньюмена-Кейлса) относительно ПК группы животных (# - $p < 0,05$), (критерий Ньюмена-Кейлса) относительно крыс НК группы (* - $p < 0,05$). Обозначение групп аналогично таблице 1.

Исходя из совокупности полученных данных на этапе фармакологического скрининга среди изучаемых 10 новых сульфопроизводных пиримидин-4(1H)-она в качестве соединения-лидера было выбрано вещество под лабораторным шифром Sub1.

В четвертой главе представлено изучение острой токсичности Sub1. Так, в ходе эксперимента установлено, что по СГС-классификации химических веществ (Globally Harmonized System of Classification and Labelling of Chemicals (GHS) Part 3 Health Hazards, United Nations, 2017), исследуемое соединение относится к пятому классу токсичности.

Также в данной главе изложено определение эффективности Sub1 в интервале доз 25-150 мг/кг. При применении Sub1 в дозе 100 мг/кг содержание GFAP снизилось относительно крыс группы НК в 3,4 раза ($p < 0,05$), что выше эффекта при введении доз 25 мг/кг, 50 мг/кг, 150 мг/кг на 13,8% ($p < 0,05$), 91,7% ($p < 0,05$) и 56,9% ($p < 0,05$) соответственно (табл. 4).

Введение животным соединения-лидера Sub1 в дозе 100мг/кг позволило статистически значимо сократить содержание S-100B по сравнению с группами крыс, которым вводили вышеназванные дозировки. В тоже время, эффект применения дозы 100мг/кг при изучении изменения концентрации A β значимо не отличался от такового при использовании дозы 150мг/кг, однако был статистически значимо выше значений доз 25мг/кг, 50мг/кг. Введение животным Sub1 в дозе 100мг/кг способствовало значимому уменьшению содержания NSE, относительно групп крыс, которым вводили дозировки 50мг/кг и 150мг/кг, но при этом данный эффект был сопоставим с таковым дозы 25мг/кг.

Таблица 4. Изменение содержания GFAP, A β , S100B, NSE у крыс при оценке эффективности в интервале доз в условиях экспериментальной ХТЭ

Группа	Концентрация GFAP, пг/мл (M \pm m)	Содержание A β , пг/мл (M \pm m)	Уровень S100B, пг/мл (M \pm m)	Концентрация NSE, пг/мл (M \pm m)
ПК	312,71 \pm 7,39	12,61 \pm 0,31	12,92 \pm 0,27	342,23 \pm 6,77
НК	2487,77 \pm 46,61#	319,58 \pm 8,36#	374,73 \pm 6,46#	6512,81 \pm 146,91#
ХА	774,79 \pm 21,69*	75,51 \pm 5,20*	148,53 \pm 6,67*	2606,87 \pm 45,09*
ГК	1040,19 \pm 55,85*	68,29 \pm 5,13*	130,09 \pm 6,61*	2518,76 \pm 66,84*
АФМК	819,59 \pm 23,53*	66,19 \pm 2,12*	140,14 \pm 4,29*	3640,91 \pm 183,88*
Sub1 25 мг/кг	823,47 \pm 29,33*	345,82 \pm 15,66	140,45 \pm 7,39*	2009,93 \pm 40,41*
Sub1 50 мг/кг	1387,97 \pm 77,25*	114,69 \pm 6,27*	136,15 \pm 4,92*	2453,40 \pm 59,01*
Sub1 100 мг/кг	723,94 \pm 5,35*	95,95 \pm 2,82*	126,14 \pm 3,81*	1911,50 \pm 46,15*
Sub1 150 мг/кг	1135,92 \pm 63,06*	91,58 \pm 4,79*	135,48 \pm 7,30*	2469,26 \pm 68,19*

Примечание: статистически значимо (критерий Ньюмена-Кейлса) относительно ПК группы животных (# - $p < 0,05$), (критерий Ньюмена-Кейлса) относительно крыс НК группы (* - $p < 0,05$). ПК - группа крыс положительного контроля; НК - животные группы негативного контроля; ХА – группа крыс, которым вводили холина альфосцерат; ГК – группа животных, получавшая гопантеновую кислоту; АФМК – крысы группы, которым вводили аминоксалиновую кислоту; Sub1 25мг/кг – группа животных, которая получала Sub1 в дозе 25мг/кг; Sub1 50мг/кг – группа животных, получавшая Sub1 в дозе 50мг/кг; Sub1 100мг/кг – группа животных, которая получала Sub1 в дозе 100мг/кг; Sub1 150мг/кг – группа животных, получавшая Sub1 в дозе 150мг/кг.

После анализа полученных результатов для проведения дальнейших исследований была выбрана доза Sub1 100 мг/кг, так как на фоне ее введения крысам отмечался наиболее выраженный церебропротекторный эффект в условиях экспериментальной ХТЭ.

В пятой главе описано углубленное изучение церебропротекторной активности Sub1 в условиях экспериментальной ХТЭ. Так, в ходе оценки когнитивных функций спустя 60 дней после моделирования патологии и последнего введения фармакологической поддержки у животных, получавших Sub1, отмечалось увеличение периода времени до захода в темный отсек по сравнению с аналогичным значением группы крыс НК в 2,9 ($p < 0,05$) раза, что статистически значимо не отличалось от показателя животных группы ПК и было

выше эффекта ХА и ГК на 93,7% ($p < 0,05$) и 79,8% ($p < 0,05$), но не отличалось от ЦМ и ПДФТН (табл. 5).

Таблица 5. Результаты оценки когнитивных функций животных в тесте УРПИ при изучении отсроченного эффекта Sub1 и препаратов сравнения в условиях экспериментальной ХТЭ

Группа	ПК	НК	ХА	ГК	ЦМ	ПДФТН	Sub1
Время первого захода, сек (M±m)	55,2± 3,23	19,3± 1,33#	28,5± 3,50*	30,7± 8,44	57,3± 11,96*	53,5± 14,50	55,2± 8,37*

Примечание: статистически значимо (критерий Ньюмена-Кейлса) относительно ПК группы животных (# - $p < 0,05$), (критерий Ньюмена-Кейлса) относительно крыс НК группы (* - $p < 0,05$). ПК - группа крыс положительного контроля; НК - животные группы негативного контроля; ХА – группа крыс, которым вводили холина альфосцерат; ГК – группа животных, получавшая гопантеновую кислоту; ЦМ – крысы группы, которым вводили цитруллина малат; ПДФТН – группа крыс, получавших полидигидроксифенилентиосульфонат натрия; Sub1 – группа животных, которая получала Sub1.

Также, учитывая важную диагностическую роль локализации маркеров нейродеградации для дифференцирования таупатий, установлено, что у крыс, получавших Sub1, концентрация ФТ в гиппокампе и коре больших полушарий сократилась в 3,3 ($p < 0,05$) и 2,2 ($p < 0,05$) раза относительно крыс группы НК. При этом снижение содержания в гиппокампе было статистически значимо выше эффекта препаратов сравнения, в тоже время изменение в коре концентрации таубелка было сопоставимо с эффектом ХА и ГК, но было значимо ниже ЦМ и выше ПДФТН (рис. 1).

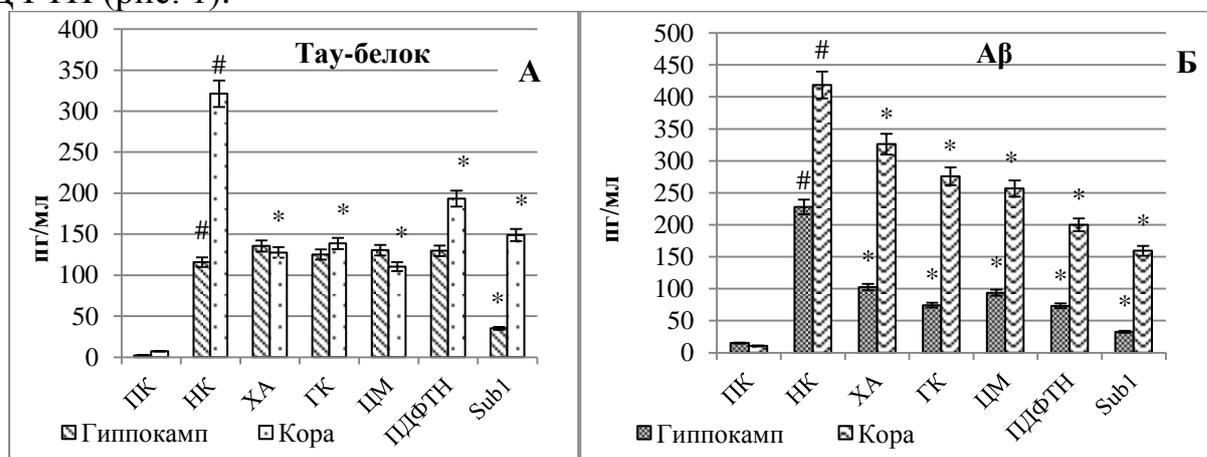


Рисунок 1. Изменение концентрации ФТ (А) и Аβ (Б) в гиппокампе и коре больших полушарий при применении Sub1 и референтных препаратов в условиях экспериментальной ХТЭ (M±m)

Примечание: статистически значимо (критерий Ньюмена-Кейлса) относительно ПК группы животных (# - $p < 0,05$), (критерий Ньюмена-Кейлса) относительно крыс НК группы (* - $p < 0,05$). Обозначение групп аналогично таблице 5.

Кора – определение выполнено в коре больших полушарий, гиппокамп – исследование произведено в гиппокампе.

При оценке динамики содержания Аβ на фоне применения Sub1 установлено, что его значение уменьшилось по сравнению с крысами группы НК

в гиппокампе и коре больших полушарий в 7 ($p<0,05$) и 2,7 ($p<0,05$) раза соответственно (рис. 1). При этом снижение концентрации в гиппокампе при введении Sub1 относительно препаратов сравнения было выше, в то время как содержания А β в коре на фоне применения Sub1 было ниже, чем у групп ХА, ГК, ЦМ и ПДФТН на 104,8% ($p<0,05$), 73,1% ($p<0,05$), 61,2% и 25,5% соответственно.

Также в данной главе описано изучение церебропротекторной активности Sub1 в условиях экспериментальной ХТЭ, смоделированной посредством методики «Blast wave». При оценке состояния неврологических функций на фоне введения Sub1 установлено снижение уровня неврологического дефицита относительно крыс группы НК в 2,4 ($p<0,05$) раза, данный эффект был сопоставим с таковым ХА, ГК, но выше АФМК (рис. 2).



Рисунок 2. Оценка уровня неврологического дефицита при применении Sub1 и препаратов сравнения в условиях экспериментальной ХТЭ «Blast wave» ($M\pm m$)

Примечание: статистически значимо (критерий Ньюмена-Кейлса) относительно ПК группы животных (# - $p<0,05$), (критерий Ньюмена-Кейлса) относительно крыс НК группы (* - $p<0,05$). Обозначение групп аналогично таблице 1.

Кроме того, устанавливали динамику концентрации биомаркеров нейродеградации спустя 14 суток после моделирования патологии на фоне применения Sub1. Последнее позволило сократить концентрацию ФТ на 89,9% ($p<0,05$) относительно крыс группы НК, при этом данный эффект значимо превосходил действие ХА, АФМК и был сопоставим с ГК (табл. 6). Также при введении Sub1 отмечалось снижение содержания А β и GFAP в 2,1 ($p<0,05$) и 3 раза ($p<0,05$) по сравнению с животными группы НК, данные уменьшения концентрации А β и GFAP статистически значимо превосходили таковые референтных препаратов.

В ходе определения концентрации основного фактора апоптоза, AIF, на фоне применения Sub1 установлено, что ее значение сократилось относительно крыс группы НК в 1,7 раза ($p<0,05$), при этом данный показатель статистически значимо не отличался от такового у группы животных ПК, но был выше значений ХА, ГК, АФМК (табл. 6).

Таблица 6. Результаты оценки содержания ФТ, Аβ, GFAP, AIF у животных при применении Sub1 и препаратов сравнения в условиях экспериментальной ХТЭ, смоделированной посредством методики «Blast wave»

Группа	Концентрация ФТ, пг/мл (M±m)	Содержание Аβ, пг/мл (M±m)	Уровень GFAP, пг/мл (M±m)	Содержание AIF, пг/мл (M±m)
ПК	7,9±0,185	20,6±1,21	301,1±6,36	9,5±0,25
НК	284,71±2,34#	432,34±18,01#	4285,20±20,29#	17,98±1,41#
ХА	251,28±12,82*	382,24±47,65	1777,00±74,23*	3,31±0,03*
ГК	172,48±10,44*	330,34±19,23*	1876,33±100,44*	2,84±0,27*
АФМК	250,67±37,03	421,40±8,85	2121,50±134,17*	2,15±0,23*
Sub1	149,98±11,97*	204,91±0,35*	1415,57±97,04*	10,92±1,23*

Примечание: статистически значимо (критерий Ньюмена-Кейлса) относительно ПК группы животных (# - $p < 0,05$), (критерий Ньюмена-Кейлса) относительно крыс НК группы (* - $p < 0,05$). Обозначение групп аналогично таблице 1.

В шестой главе отражено изучение потенциально возможных механизмов церебропротекторного действия Sub1. При оценке вазодилатирующей функции эндотелия сосудов головного мозга установлено, что на фоне введения Sub1 отмечалось восстановление вазореактивности к АЦХ и L-NAME, при этом наблюдалось снижение проявления феномена «L-аргининового парадокса» (рис. 3). Степень реакции при применении Sub1 при инстиляции АЦХ была на уровне ХА и ГК, но отличалась от АФМК на 99 % ($p < 0,05$). Сосудистый ответ на фоне введения Sub1 при инъекции L-аргинина был сопоставим с эффектом ГК и АФМК, но ниже ХА в 3,6 раза ($p < 0,05$). Уровень реакции на введение L-NAME при применении Sub1 статистически значимо не отличался от такового ГК, но был выше АФМК на 83,3% ($p < 0,05$) и ниже ХА на 135,3% ($p < 0,05$). Изменение скорости кровотока на фоне инстиляции НТГ при применении Sub1 статистически значимо не отличалось от такового у группы крыс ПК и животных, которым вводили препараты сравнения.

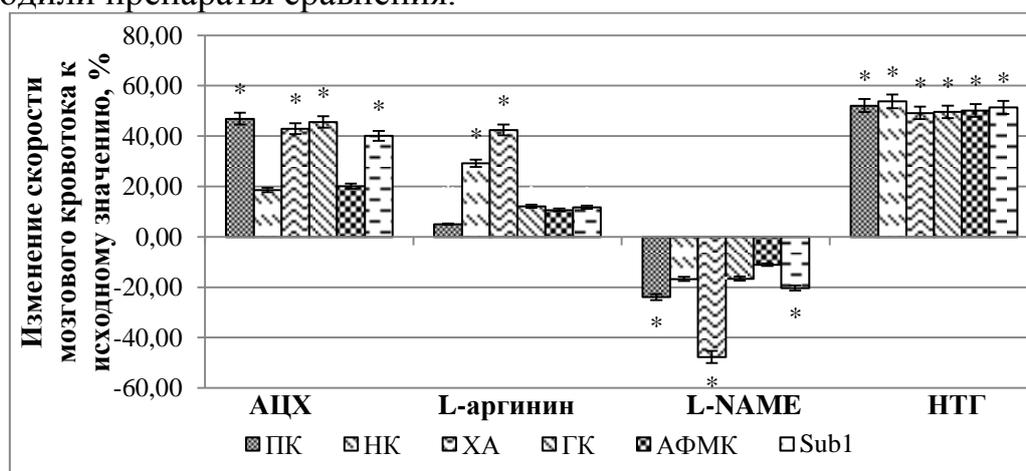


Рисунок 3. Оценка вазодилатирующей функции при применении Sub1 и референтных препаратов в условиях экспериментальной ХТЭ, смоделированной посредством методики «Blast wave» (M±m)

Примечание: статистически значимо (критерий Ньюмена-Кейлса) относительно исходного уровня мозгового кровотока (* - $p < 0,05$). Обозначение групп аналогично таблице 1.

Применение Sub1 позволило статистически значимо сократить степень и скорость агрегации тромбоцитов относительно крыс группы НК. В тоже время данные эффекты были выражены сильнее таковых при применении ХА, значимо не отличались от ЦМ, но не превышали ГК, ЦМ, ПДФТН (рис. 4).



Рисунок 4. Оценка изменения антитромботической функции эндотелия церебральных сосудов в условиях экспериментальной ХТЭ и ее коррекции ($M \pm m$)
Примечание: статистически значимо (критерий Ньюмена-Кейлса) относительно ПК группы животных (# - $p < 0,05$), (критерий Ньюмена-Кейлса) относительно крыс НК группы (* - $p < 0,05$), (критерий Ньюмена-Кейлса). Обозначение групп аналогично таблице 5.

Введение Sub1 крысам позволило повысить АЧТВ и ТВ относительно крыс группы НК на 36,8% ($p < 0,05$) и 62,9% ($p < 0,05$) соответственно, что было сопоставимо с эффектами на фоне применения препаратов сравнения (табл. 8).

Таблица 8. Оценка состояния плазменного гемостаза и активности противосвертывающей системы протеина С в условиях экспериментальной ХТЭ при применении Sub1 и препаратов сравнения

Группа	АЧТВ, сек ($M \pm m$)	ТВ, сек ($M \pm m$)	Фибриноген, г/л ($M \pm m$)	НО, усл. ед. ($M \pm m$)
ПК	33,2±1,22	19,3±1,02	1,49±0,14	1,02±0,01
НК	13,3±0,96#	8,2±0,94#	5,90±0,35#	0,73±0,02#
ХА	20,5±2,12*	12,9±1,01*	3,70±0,25*	0,92±0,05*
ГК	15,2±2,09	17,8±1,74*	5,53±0,51	0,89±0,03*
АФМК	17,3±1,37*	16,7±1,82*	3,37±0,33*	0,83±0,07
Sub1	18,2±1,19*	13,2±1,41*	2,60±0,88*	0,86±0,02*

Примечание: статистически значимо (критерий Ньюмена-Кейлса) относительно ПК группы животных (# - $p < 0,05$), (критерий Ньюмена-Кейлса) относительно крыс НК группы (* - $p < 0,05$). Обозначение групп аналогично таблице 1.

НО - нормализованное отношение, характеризующее активности системы протеина С.

В тоже время применение Sub1 способствовало сокращению концентрации фибриногена по сравнению с крысами группы НК, также данное снижение было выражено сильнее эффекта от введения ХА и ГК на 42,3 % ($p < 0,05$) и 112,7% ($p < 0,05$) соответственно, но было сопоставимо с АФМК (табл. 8).

В ходе определения активности системы протеина С на фоне применения Sub1 установлено ее повышение на 17,8% ($p < 0,05$) относительно крыс группы НК, что статистически значимо не отличалось от показателей групп, которым вводили препараты сравнения (табл. 8).

В тоже время было рассмотрено влияние Sub1 на функции митохондрий клеток головного мозга. Так, введение крысам Sub1 позволило повысить АТФ-генерирующую активность относительно крыс группы НК в 6,5 раз ($p < 0,05$), что было выше эффектов от применения референтных препаратов (рис. 5).



Рисунок 5. Оценка респирометрической функции митохондрий в условиях экспериментальной ХТЭ и ее фармакокоррекции ($M \pm m$)

Примечание: статистически значимо (критерий Ньюмена-Кейлса) относительно ПК группы животных (# - $p < 0,05$), (критерий Ньюмена-Кейлса) относительно крыс НК группы (* - $p < 0,05$). Обозначение групп аналогично таблице 5.

Также введение Sub1 способствовало сокращению интенсивности гликолитических процессов в 3,1 раза ($p < 0,05$) по сравнению с крысами группы НК, что статистически значимо не отличалось от значения группы ПК (рис. 5). При этом эффект Sub1 был выше, чем от применения ПДФТН, ЦМ и АФМК на 145,2% ($p < 0,05$), 39,5% ($p < 0,05$) и 97,1% ($p < 0,05$), но не превышал показатели групп ХА и ГК.

При оценке концентрации апоптоз-индуцирующего фактора установлено, что введение Sub1 позволило сократить концентрацию АИФ по сравнению с группой крыс НК на 85,4% ($p < 0,05$) (рис. 7), что статистически значимо не отличалось от показателя АФМК, и было ниже эффекта ХА и ГК.



Рисунок 7. Изменение концентрации АИФ в условиях экспериментальной ХТЭ и ее фармакокоррекции ($M \pm m$)

Примечание: статистически значимо (критерий Ньюмена-Кейлса) относительно ПК группы животных (# - $p < 0,05$), (критерий Ньюмена-Кейлса) относительно крыс НК группы (* - $p < 0,05$). Обозначение групп аналогично таблице 1.

При оценке антиоксидантной функции клеток головного мозга установлено, что введение Sub1 позволило сократить концентрацию ТБК-активных продуктов на 120% ($p < 0,05$) относительно крыс группы НК (табл. 9). Данное изменение было выраженнее, чем при применении ХА, ГК, АФМК, ЦМ, ПДФТН на 35,9% ($p < 0,05$), 6,1% ($p < 0,05$), 69,3% ($p < 0,05$), 49,4% ($p < 0,05$) и 95,5% ($p < 0,05$) соответственно.

Таблица 9. Изменение концентрации ТБК-активных продуктов в условиях экспериментальной ХТЭ при применении Sub1 и препаратов сравнения

Показатель	ПК	НК	ХА	ГК	АФМК	ЦМ	ПДФТН	Sub1
Концентрация, нмоль/мг (M±m)	4,93 ±0,477	19,39 ±0,679#	11,97 ±1,064*	9,35 ±0,279*	14,92 ±1,861*	13,16 ±1,552*	17,2 ±1,164*	8,81 ±0,193*

Примечание: статистически значимо (критерий Ньюмена-Кейлса) относительно ПК группы животных (# - $p < 0,05$), (критерий Ньюмена-Кейлса) относительно крыс НК группы (* - $p < 0,05$). Обозначение групп аналогично таблице 5.

При введении Sub1 установлено повышение активности СОД относительно крыс группы НК, в тоже время данный эффект оказался выше, чем у крыс групп ХА, ГК, АФМК, ЦМ, ПДФТН на 16,1% ($p < 0,05$), 23% ($p < 0,05$), 43,9% ($p < 0,05$), 24,8% ($p < 0,05$) и 33% ($p < 0,05$), соответственно (рис. 6).

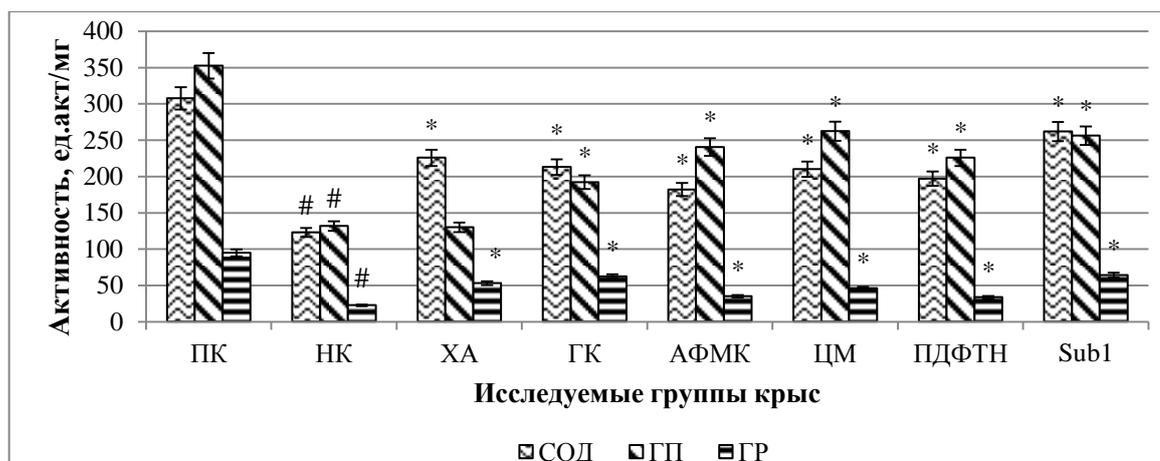


Рисунок 6. Активность ферментов антиоксидантной защиты в условиях экспериментальной ХТЭ и ее фармакокоррекции (M±m)

Примечание: статистически значимо (критерий Ньюмена-Кейлса) относительно ПК группы животных (# - $p < 0,05$), (критерий Ньюмена-Кейлса) относительно крыс НК группы (* - $p < 0,05$). Обозначение групп аналогично таблице 5.

Применения Sub1 позволило увеличить активность ГП по сравнению с крысами группы НК на 94,4% ($p < 0,05$), превосходя по величине эффект ХА, ГК, ПДФТН, но сопоставимо с группой крыс АФМК и ЦМ (рис. 6).

На фоне введения Sub1 установлено повышение активности ГР на 184% ($p < 0,05$) относительно крыс группы НК, при этом данное увеличение статистически значимо не отличалось от показателя ГК, но было выше ХА, АФМК, ЦМ, ПДФТН на 20,6% ($p < 0,05$), 83% ($p < 0,05$), 39,9% ($p < 0,05$) и 90,3% ($p < 0,05$) соответственно (рис. 6).

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

При выполнении данной работы установлено следующее, среди 10 новых сульфопроизводных пиримидин-4(1H)-она наиболее выраженной церебропротекторной активностью обладало соединение под лабораторным шифром Sub1 при введении крысам в дозе 100мг/кг, что проявлялось в виде нормализации процессов метаболизма клеток головного мозга, снижения уровня когнитивных, сенсомоторных и неврологических дисфункций в условиях экспериментальной ХТЭ.

В процессе изучения потенциальных механизмов действия Sub1 отмечено, что данное соединение способствовало сохранению функций эндотелия сосудов головного мозга, что проявлялось в виде нормализации процессов вазомоторики и поддержания физиологически необходимого уровня агрегационной активности. Также отмечено сохранение митохондриальных функций клеток головного мозга, выразившееся в повышении продукции макроэргов посредством аэробного окисления субстратов, активации эндогенной антиоксидантной системы и снижении продукции апоптоз-индуцирующего фактора. Установленное церебропротекторное действие соединения Sub1 по изучаемым параметрам превосходило или было сопоставимо с таковым у препаратов сравнения.

Выявленное комплексное воздействие на вторичные каскады повреждения головного мозга, наблюдаемого при ХТЭ, позволяет судить о перспективности дальнейшего изучения Sub1 с целью создания на его основе лекарственного препарата для эффективной фармакотерапии в условиях ХТЭ.

ВЫВОДЫ

1. В ряду новых сульфопроизводных пиримидин-4(1H)-она (10 соединений) наиболее выраженную церебропротекторную активность в условиях экспериментальной ХТЭ оказывает 4-(2-метил-6-этил-4-оксо-5-фенил-4H-пиримидин-1-ил)-бензсульфамид. Фармакологический эффект данного соединения, в виде снижения концентрации маркеров нейродеградации GFAB, S100B, NSE, A β , достоверно превосходил ($p < 0,05$) или был сопоставим с эффектами остальных изучаемых соединений.

2. Соединения 4-(2-метил-6-этил-4-оксо-5-фенил-4H-пиримидин-1-ил)-бензсульфамид относится к 5-му классу токсичности по СГС-классификации химических веществ.

3. Эффективность соединения 4-(2-метил-6-этил-4-оксо-5-фенил-4H-пиримидин-1-ил)-бензсульфамид, в виде снижения концентрации маркеров нейродеградации GFAB, S100B, A β , в достоверно большей степени проявлялась в дозе 100 мг/кг, чем в дозах 25, 50, 150 мг/кг.

4. В условиях ХТЭ на фоне введения крысам соединения 4-(2-метил-6-этил-4-оксо-5-фенил-4H-пиримидин-1-ил)-бензсульфамид наблюдалось сохранение респирометрической функции митохондрий (АТФ-генерирующая способность увеличилась в 6,2 раза ($p < 0,05$)), антиоксидантной активности клеток головного

мозга (концентрация ТБК-активных продуктов снизилась в 2,2 раза ($p < 0,05$)), при этом данные эффекты были выражены сильнее действия препаратов сравнения ($p < 0,05$), что, в свою очередь, способствовало снижению деградации клеток головного мозга.

5. Соединение 4-(2-метил-6-этил-4-оксо-5-фенил-4Н-пиримидин-1-ил)-бензсульфамид способствовало нормализации церебральной гемодинамики (скорость кровотока увеличилась в 3 раза ($p < 0,05$), значительно превосходя эффекты препаратов сравнения ($p < 0,05$)), благодаря сохранению структурно-функциональной целостности эндотелия сосудов головного мозга, что выражалось в виде поддержания вазодилатирующей и антитромботической активностей. Установлено восстановление баланса параметров плазменного гемостаза, так концентрация фибриногена уменьшилась в 2,3 раза ($p < 0,05$), что достоверно выражено сильнее эффектов препаратов сравнения ($p < 0,05$).

6. Совокупное действие 4-(2-метил-6-этил-4-оксо-5-фенил-4Н-пиримидин-1-ил)-бензсульфамида приводит к сохранению структурно-функциональной целостности клеток коры головного мозга, о чем свидетельствует снижение концентрации высокоспецифичных биомаркеров повреждения: ФТ и Аβ в 2,2 ($p < 0,05$) и 3,2 раза ($p < 0,05$) соответственно. Уменьшение деградации нейронов и глиии, в свою очередь, характеризует нормализацию когнитивных, сенсомоторных, неврологических функций крыс в условиях экспериментальной ХТЭ.

НАУЧНО-ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. Необходимо продолжить исследование соединения Sub1 с целью создания на его основе церебропротекторного лекарственного препарата для лечения хронической травматической энцефалопатии.

2. Полученные результаты диссертационной работы позволяют рекомендовать химикам-синтетикам целенаправленный поиск и синтез новых биологически активных соединений из ряда пиримидинов для создания средств с церебропротекторным действием.

СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

Работы, опубликованные в изданиях, рекомендуемых ВАК Минобрнауки РФ

1. Влияния новых производных пиримидина на когнитивные функции и метаболическую активность клеток головного мозга крыс в условиях хронической травматической энцефалопатии / К.А. Мирошниченко [и др.] // Дневник казанской медицинской школы. – 2019. – Т. 20. – №3. – С.4-7.

2. Воронков, А.В. Оценка дозозависимого действия нового производного пиримидина в условия хронической травматической энцефалопатии / А.В. Воронков, Д.И. Поздняков, К.А. Мирошниченко // Астраханский медицинский журнал. – 2019. – Т. 14. – №3. – С. 66-71.

3. Изучение церебропротекторного действия препаратов различных фармакологических групп в условиях экспериментальной хронической травматической энцефалопатии / А.В. Воронков, К.А. Мирошниченко, Д.И. Поздняков, А.А. Потапова // Вестник ВолгГМУ. – 2020. – Т. 74. – №2. – С. 48-52.

4. Мирошниченко, К.А. Влияние лекарственных средств различных фармакологических групп на респирометрическую функцию митохондрий в условиях хронической травматической энцефалопатии / К.А. Мирошниченко, М.В. Черников // Вестник ВолгГМУ. – 2020. – Т. 79. – №3. – С. 112-115.

5. Новое производное пиримидина, как средство патогенетической коррекции хронической травматической энцефалопатии / К.А. Мирошниченко [и др.] // Вестник новых медицинских технологий. – 2021. – Т. 28. – №4. – С.55-58.

6. Производные пиримидина – перспективные корректоры метаболических и функциональных нарушений головного мозга в условиях хронической травматической энцефалопатии / А.В. Воронков [и др.] // Вестник Смоленской государственной медицинской академии. – 2019. – Т. 18. – №3. – С.18-24.

Работы, опубликованные в других изданиях

7. The Administration of the New Pyrimidine Derivative-4-{2-[2-(3,4-Dimethoxyphenyl)-Vinyl]-6-Ethyl-4-Oxo-5-Phenyl-4H-Pyrimidine-1-II} Benzulfamide Restores the Activity of Brain Cells in Experimental Chronic Traumatic Encephalopathy by Maintaining Mitochondrial Function / D.I. Pozdnyakov, K.A. Miroshnichenko, A.V. Voronkov, T.G. Kovaleva // Medicina. – 2019. – Vol. 55. – №. 7. – P. 386.

8. Miroshnichenko, K.A. Pharmacological screening of a potentially effective compound for the treatment of chronic traumatic encephalopathy among new pyrimidine derivatives / K.A. Miroshnichenko, M.V. Chernikov, D.I. Pozdnyakov // PharmacologyOnline. – 2021. – Vol. 1. – P. 411-425.

9. Pyrimidine-4h-1oh derivatives restore mitochondrial function in experimental chronic traumatic encephalopathy / D.I. Pozdnyakov [et all.] // PharmacologyOnline. – 2019. – Vol. 3. – P. 36-45.

10. Влияние нового производного пиримидина на уровень сенсомоторных функций и метаболических процессов головного мозга / К.А. Мирошниченко [и др.] // Беликовские чтения: материалы IX Международной научно-практической конференции. – Пятигорск, 2021. – С.247-255.

11. Влияние новых производных пиримидина на вазодилатирующую функцию эндотелия сосудов головного мозга в условиях хронической травматической энцефалопатии / А.В. Воронков, Д.И. Поздняков, К.А. Мирошниченко, А.А. Потапова // Экспериментальная и клиническая фармакология. – 2019. – Т.82. – №11. – С.11-14.

12. Мирошниченко, К.А. Оценка церебротропной активности производных пиримидина в условиях хронической травматической энцефалопатии / К.А. Мирошниченко, С.А. Нигарян, Д.И. Поздняков // Беликовские чтения: материалы

VIII Всероссийской научно-практической конференции. – Пятигорск, 2020. – С.522-528.

13. Ноотропная активность сульфопроизводных пиримидина в условиях экспериментальной хронической травматической энцефалопатии / А.В. Воронков, Д.И. Поздняков, К.А. Мирошниченко, А.А. Потапова // Сборник материалов XXVIII Российского национального конгресса «Человек и лекарство». Тезисы Докладов. – С.66.

14. Оценка респирометрической функции митохондрий в условиях патологий различного генеза / А.В. Воронков [и др.] // Фармация и фармакология. – 2019. – Т. 7. – №1. – С.20-31.

ПЕРЕЧЕНЬ СОКРАЩЕНИЙ И УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ

ХТЭ – хроническая травматическая энцефалопатия	GFAP – глиально-фибрилярный кислый белок
ЧМТ – черепно-мозговая травма	S100B – белок группы S100B
ФТ – фосфорилированный тау-белок	NSE – нейронспецифическая енолаза
АТФ – аденозинтрифосфат	A β – бета-амилоид
ПК – положительный контроль	AIF – апоптоз-индуцирующий фактор
НК – негативный контроль	АЦХ – ацетилхолин
ХА – холина альфосцерат	L – NAME – нитро-L-аргинин метиловый эфир
ГК – гопантеновая кислота	НТГ – нитроглицерин
АФМК – аминофенилмасляная кислота	АЧТВ – активированное частичное тромбопластиновое время
ЦМ – цитруллина малат	ТВ – тромбиновое время
ПДФТН – полидигидроксифенилентиосульфат натрия	ТБК – 2-тиобарбитуровая кислота
УРПИ – тест «условный рефлекс пассивного избегания»	СОД – супероксиддисмутаза
ТЭИ – тест «экстраполяционного избавления»	ГР – глутатионредуктаза
НО - нормализованное отношение	ГП – глутатионпероксидаза

МИРОШНИЧЕНКО КИРИЛЛ АЛЕКСАНДРОВИЧ

**ЦЕРЕБРОПРОТЕКТОРНОЕ ДЕЙСТВИЕ НОВЫХ
СУЛЬФОПРОИЗВОДНЫХ ПИРИМИДИН-4(1H)-ОНА В УСЛОВИЯХ
ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ ХРОНИЧЕСКОЙ ТРАВМАТИЧЕСКОЙ
ЭНЦЕФАЛОПАТИИ**

3.3.6. – Фармакология, клиническая фармакология

АВТОРЕФЕРАТ

диссертации на соискание ученой степени
кандидата фармацевтических наук