

**АКТИВНОСТЬ НОВЫХ СОЕДИНЕНИЙ НА ОСНОВЕ АЗОЛОАЗИНА  
НА МОДЕЛЯХ ОЦЕНКИ АНТИГЛИКИРУЮЩЕГО ДЕЙСТВИЯ  
И ИНГИБИРОВАНИЯ ДПП-4 \***

**Е.В. Соколова<sup>1</sup>, Е.А. Хохлачева<sup>1</sup>, Д.Д. Шамшина<sup>1</sup>, А.Е. Батычѳк<sup>1</sup>, П.А. Радаев<sup>1</sup>,  
Н.А. Прокофьева<sup>1</sup>, Р.А. Литвинов<sup>1</sup>, Д.А. Бабков<sup>1</sup>, К.В. Саватеев<sup>2</sup>, В.В. Федотов<sup>2</sup>**

<sup>1</sup>ФГБОУ ВО «Волгоградский государственный медицинский университет»

Министерства здравоохранения Российской Федерации;

<sup>2</sup>ФГАОУ ВО «УрФУ имени первого Президента России Б.Н. Ельцина»

В результате скрининговых исследований *in vitro* по поиску возможной антидиабетической активности ряда веществ, производных азолоазина, установлено, что соединения способны к умеренному ингибированию дипептидилпептидазы-4 (ДПП-4), подавляя активность фермента в среднем на 60 % в концентрации 100 мкМ, что уступает по силе действия эталонному препарату вилдаглиптину (более 99 % подавления активности ДПП-4 в той же концентрации). Также соединения способны значительно замедлять гликирование бычьего сывороточного альбумина (БСА) (лидер ряда – соединение 1в подавляет реакцию гликирования БСА на 74 % в концентрации 1 мМ, в сравнении с 58 % ингибирования для референтного соединения аминоганидина). Способности соединений связывать (хелатировать)  $\text{Cu}^{2+}$  в тесте аутоокисления аскорбиновой кислоты установить не удалось, за исключением соединения 1к (замедлял реакцию на 49 % в концентрации 40 мкМ, что сопоставимо по активности с референтным препаратом пиоглитазоном, и несколько активнее, чем липоевая кислота). Ограничение для установления медь-связывающей активности прочих представителей ряда обусловлено высоким светопоглощением на рабочей длине волны 265 нм и не является критерием исключения хелатирующих свойств. Результаты позволяют заключить, что класс соединений является перспективной основой для дальнейшей разработки средств с антигликирующей активностью на основе структур представителей ряда.

*Ключевые слова:* азолоазин, гликирование, ДПП-4, хелатирование, медь.

DOI 10.19163/1994-9480-2019-1(69)-79-82

**ANTIGLYCATION AND DPP-4 INHIBITION ACTIVITY  
OF NOVEL AZOLEAZINE-DERIVED COMPOUNDS**

**E.V. Sokolova<sup>1</sup>, E.A. Hohlacheva<sup>1</sup>, D.D. SHamshina<sup>1</sup>, A.E. Batychyok<sup>1</sup>, P.A. Radaev<sup>1</sup>,  
N.A. Prokofeva<sup>1</sup>, R.A. Litvinov<sup>1</sup>, D.A. Babkov<sup>1</sup>, K.V. Savateev<sup>2</sup>, V.V. Fedotov<sup>2</sup>**

<sup>1</sup>FSBEI HE «Volgograd State Medical University» of Public Health Ministry of the Russian Federation;

<sup>2</sup>FSAEI HE «Ural Federal University named after the First President of Russia B.N. Eltsin»

As a result of *in vitro* screening studies to search for the possible antidiabetic activity of a number of azoloazine derivatives, it was found that the compounds are capable of moderate inhibition of dipeptidylpeptidase-4 (DPP-4), inhibiting the enzyme activity by an average of 60 % at a concentration of 100 μM, which is inferior actions of the reference drug vildagliptin (more than 99 % of the suppression of the activity of DPP-4 at the same concentration). The compounds are also able to significantly slow down glycation of bovine serum albumin (BSA) (the series leader – compound 1c suppresses the glycation reaction of BSA by 74 % at a concentration of 1 mM, compared to 58 % inhibition for the reference compound aminoguanidine). It was not possible to establish the ability of compounds to bind (chelate)  $\text{Cu}^{2+}$  in the ascorbic acid autooxidation test, except for compound 1k (it slowed down the reaction by 49 % at a concentration of 40 μM, which is comparable in activity to the reference drug pioglitazone and is slightly more active than lipoic acid). The restriction for establishing the copper-binding activity of other members of the series is due to the high light absorption at the working wavelength of 265 nm and is not a criterion for excluding chelating properties. The results allow us to conclude that the class of compounds is a promising basis for the further development of tools with anti-glycating activity based on the structures of the representatives of the series.

*Key words:* azoloazine, glycation, DPP-4, chelation, copper.

Повсеместное распространение сахарного диабета (СД), различные формы которого имеют хроническую гликемию в качестве ведущего симптома, является актуальной проблемой здравоохранения в мире. Основные факты, представленные ВОЗ [2] в открытый доступ, характеризуют эпидемиологию СД как стремительно и неуклонно растущую; глобально распространенную; быстро прогрессирующую и социально-зависимую. При этом СД характеризуется инвалидизацией; преждевременной смертностью; курабельностью (без

возможности полного излечения), с потребностью в регулярном контроле гликемии и контроля развития и течения осложнений основного заболевания [2, 4, 21, 28].

Инвалидизация и смертность при СД напрямую связаны с сопутствующими диабету осложнениями, в частности, сердечно-сосудистыми заболеваниями, офтальмопатией, почечной недостаточностью, поражением нервной системы, нарушением микроциркуляции крови и т. д. [5, 8, 11, 20].

\* Работа по изучению фармакологической активности соединений 1б-1о, рассматриваемых в статье, проведена в рамках финансирования по гранту Российского научного фонда (грант РНФ № 14-25-00139). Работа по синтезу соединений 1б-1о была выполнена при финансовой поддержке Министерства образования и науки Российской Федерации (грант № 4.6351.2017/8.9).

Фактором развития данных осложнений является накопление в тканях конечных продуктов гликирования (КПГ) белков, липидов и нуклеиновых кислот. Формирование КПГ обусловлено реакцией неферментативного гликирования (реакцией Майяра), а также окислительными процессами [8]. Реакция интенсивно протекает при сопутствующей СД хронической гипергликемии, часто сопровождаясь повышением содержания катионов металлов переходной валентности в средах организма.

Лекарственных средств, имеющих в качестве основного механизм ингибирования гликирования и/или инактивацию КПГ, в клинической практике нет, а экспериментальные средства с данной активностью не завершили клинических испытаний (аминогуанидин, алагебриум и др.) [6, 27]. Способность подавлять гликирование пост-фактум обнаруживается у некоторых препаратов, рекомендованных для профилактики/лечения осложнений СД, однако имеющих иные первоначальные показания, не связанные напрямую с гликированием (липовая кислота при полинейропатии, сартановые блокаторы рецепторов к ангиотензину II при нефропатии и т. д.) [16]. Часть этих препаратов, вероятно, реализует свое действие посредством подавления каталитической функции катионов переходных металлов, которые усиливают процесс образования КПГ на многих этапах (образование оснований Шиффа, окислительная дегградация продуктов Амадори и т. д.) [13, 16], часть способна инактивировать образующиеся при гликировании реактивные карбонилы (липовая кислота и др.). Класс средств, направленных на подавление реакции Майяра, имеет значение при лечении СД всех типов, поскольку гликирование определено не типом диабета, а гликемическим профилем.

Кроме ингибиторов реакции гликирования, высоким антидиабетическим потенциалом обладают синтетические сахароснижающие средства. Среди них выделяются получившие распространение в последние два десятилетия препараты с инкретиномиметическим действием, к которым относятся ингибиторы ДПП-4. Считается, что инкретиномиметики перспективны при СД типа 2. Существуют экспериментальные данные возможной полезности и в условиях инсулинозависимой патологии [12, 15]. Так, лираглутид понижает потребность в инсулине и снижает уровень гликированного гемоглобина при СД типа 1. Возможно, положительное действие от их использования реализуется по причине сохранности очень незначительного пула бета-клеток.

Таким образом, создание новых лекарственных средств, имеющих один или оба описанных выше механизма действия, является актуальным.

В классе веществ, производных нитроазолозинов, имеются соединения с разнообразной биологической активностью [19], в числе которой противовирусное [3, 10] и аденозинергическое действия [22], предотвращение септического шока [23]. Ранее, некоторые производные нитразолопиримидина, аналоги нитратриадиазолов, проявили

антигликирующую активность, а некоторые вещества имели потенциал в качестве хелаторов меди (II) [17, 18, 25, 26].

## ЦЕЛЬ РАБОТЫ

Изучение представителей новых различно-замещенных азолазинов из класса 5-алкиламино-6-нитро-1,3,4-тиадиазола[3,2-а]пиримидин-7-онов в качестве перспективных средств, способных замедлять формирование поздних осложнений СД и ингибировать ДПП-4. Вещества синтезированы в ФГАОУ ВО «УрФУ имени первого Президента России Б.Н. Ельцина» под руководством Владимира Леонидовича Русина.

## МЕТОДИКА ИССЛЕДОВАНИЯ

**Определение антигликирующей активности *in vitro*.** Реакцию гликирования белков моделировали в реакционной смеси, содержащей глюкозу (500 ммоль/л) и БСА (1 мг/мл) в фосфатном буферном растворе (PBS, pH 7.4). Исследуемые вещества в реакционную среду вносили растворенными в ДМСО (конечная концентрация ДМСО не более 3,2 %). Образцы инкубировали 24 ч при 60 °С. Белок осаждали добавлением ТХУ 100 %, пробы центрифугировали при 15000 g 5 мин. После удаления центрифугата осадок гликированного БСА растворяли в PBS (pH 7.4). Специфическую флуоресценцию конечных продуктов гликирования определяли в 96-луночных черных планшетах (Greiner Fluorotrac 655077) на микропланшетном ридере Infinite M200 PRO (Tecan, Австрия) при  $\lambda_{ex}$  370 нм и  $\lambda_{em}$  440 нм [25]. Активность рассчитывали по отношению к интенсивности флуоресценции контрольных образцов. В качестве положительного контроля использовали экспериментальный ингибитор неферментативного гликозилирования – аминогуанидин.

**Определение медь (II)-хелатирующей активности *in vitro*.** Хелатирующую активность соединений исследовали в концентрации соединений 40 мкМ по методике подавления медь-зависимого аутоокисления аскорбиновой кислоты, оценивая величину  $IC_{50}$ . Отобранные концентрации ранее определены в ходе предварительной валидации и настройки экспериментальной модели [9, 24]. В качестве контроля использовали липовую кислоту и пиоглитазон. Растворение соединений осуществляли в DMSO 99 %. Индикатор активности катионов меди (II) – 100 мкМ раствор аскорбиновой кислоты, источник  $Cu^{2+}$  –  $CuSO_4 \cdot 5H_2O$  в конечной концентрации 150 мкМ (95 мкМ в пересчете той же массы на безводную соль). Комплексообразование проводили предварительным смешением и инкубацией в течение 5 мин при 37 °С раствора сульфата меди и исследуемого вещества или DMSO. Смесь вносили в раствор аскорбиновой кислоты. Аутоокисление регистрировали спектрофотометрически (спектрофотометр APEL PD-303 UV) в кювете из кварца низкотемпературной обработки ( $\lambda = 265$  нм).

**Ингибирование ДПП-4.** Плазму здоровых добровольцев (40 мкл) инкубировали с 10 мкл раствора исследуемых соединений, с 2,5 % DMSO в 100 мМ Tris-HCl буферного раствора (рН 8,0, 50 мкл) при температуре 37 °С в течение 5 минут.

Затем 100 мкл 1 мМ Gly-Pro-p-нитроанилида в виде раствора (Sigma, США) добавляли в реакционную среду и инкубировали при 37 °С в течение 15 минут. Образование p-нитроанилина регистрировали спектрофотометрически при длине волны λ 405 нм [14] (прибор Infinite M200 PRO, Tecan, Австрия). В качестве позитивного контроля использовали вилдаглиптин (Sigma, США) [7].

Ингибиторную активность определяли по формуле:

$$\text{Ингибирование, \%} = (1 - \Delta A_{\text{проба}} / \Delta A_{\text{контроль}}) \times 100,$$

где ΔAпроба и ΔAконтроль соответствуют приросту оптической плотности в тестовом и контрольном образцах соответственно.

**Статистическая обработка.** Все эксперименты выполнены в трех повторениях. Обработка первичных данных проведена в программе GraphPadPrism 7.0 с использованием критерия ANOVA (пост-тест Туке), линейной регрессии, а также нелинейной регрессии. Величина  $p < 0,05$  считалась критерием статистической значимости.

## РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Совокупные данные исследований приведены в таблице.

### Потенциал противодиабетической активности соединений 1б-о при расчете ингибирующей активности *in silico* относительно фермента ДПП-4 и антигликирующей активности *in vitro*

Шифр	Подавление флуоресценции гликированного БСА <i>in vitro</i> , % ( $m \pm SEM$ ) при концентрации 1000 мкМ	IC <sub>50</sub> , мкМ антигликирования	Хелатирование катиона меди (II), % ( $m \pm SEM$ ), 40 мкМ	Ингибирование активности ДПП-4, % ( $m \pm SEM$ ), 100 мкМ
1б	73,9 ± 3,7*	289,8	4,5 ± 5,4	66,0 ± 3,7*
1в	73,9 ± 1,3*	181,2	13,2 ± 3,9	31,1 ± 3,7*
1г	39,4 ± 6,5	–	–15,6 ± 6,1	38,8 ± 0,1*
1д	69,6 ± 0,2*	325,1	3,2 ± 1,6	64,0 ± 4,5*
1е	42,4 ± 2,9*	–	–4,8 ± 7,1	45,8 ± 2,1*
1ж	37,5 ± 4,9*	–	–19,9 ± 10,2	43,2 ± 2,7*
1з	30,5 ± 6,3*	–	12,9 ± 0,9	55,0 ± 9,8*
1и	40,6 ± 4,5*	–	9,7 ± 6,1	35,7 ± 0,2*
1к	29,6 ± 3,6*	–	49,4 ± 0,9*	27,9 ± 1,0*
1м	76,6 ± 2,7*	166,8	10,6 ± 0,6	42,2 ± 2,3*
1н	12,3 ± 3,5	–	12,8 ± 8,7	44,4 ± 0,5*
1о	71,4 ± 0,5*	208,7	–	38,7 ± 0,4*
Аминогуанидин	57,8 ± 0,6*	765,0	–	–
Липоевая кислота	–	–	28,1 ± 4,2*	–
Пиоглитазон	–	–	58,4 ± 3,1*	–
Вилдаглиптин	–	–	–	94,7 ± 1,0*

\* Данные статистически значимы по отношению к отрицательному контролю (ANOVA, пост-тест Туке,  $p < 0,05$ ).

В результате исследований биологической активности соединений установлено, что класс веществ высокоперспективен в качестве основы для создания средства с антигликирующей активностью. Все соединения класса значительно подавляли флуоресценцию проб, что, в соответствии с гипотезой, связано со сниженной продукцией флуоресцирующих КПГ. При этом уровень активности был выше, чем у общепризнанного референта аминоксидина. Более высокая антигликирующая активность отмечена для соединения с *tert*-бутилом в качестве заместителя (1в).

Предположительно, класс веществ перспективен в отношении хелатирования меди (II), что, однако, основывается на проявленной активности всего одного вещества в ряду, поскольку прочие соединения имели более высокую оптическую плотность при длине волны, используемой для исследования (265 нм). Активность установлена для соединения 1к, значение IC<sub>50</sub> соответствует 29,4 мкМ. Данное соединение по показателю IC<sub>50</sub> превзошло референтные препараты пиоглитазон (IC<sub>50</sub> 44,1) и липоевую кислоту (IC<sub>50</sub> 68,9) (данные

не приведены в таблице). Таким образом, установленная активность одного соединения не может быть однозначным признаком перспективности целого класса, однако отсутствие активности прочих представителей нельзя считать признаком исключения данного действия. Вывод о перспективности класса в отношении связывания меди (II) основан на структурной близости соединений.

Также установили, что соединения ряда способны оказывать ингибирующий эффект на активность ДПП-4, однако уровень ингибирования уступает референтному соединению вилдаглиптину. Так, тестируемые соединения подавляют активность фермента в среднем на 60 % в концентрации 100 мкМ (табл.), что, однако, уступает по силе действия эталонному препарату вилдаглиптину (более 99 % подавления активности ДПП-4 в той же концентрации, IC<sub>50</sub> вещества 0,015 мкМ). Для ранее исследованных структурных аналогов рассматриваемого класса соединений была установлена ДПП-4 ингибирующая активность, что является дополнительным свидетельством перспективности класса молекул по описываемому виду активности [1].

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Соединения, различнозамещенные азолозины из класса 5-алкиламино-6-нитро-1,3,4-тиадиазоло[3,2-а]пиримидин-7-онов, являются перспективной основой для создания препаратов с антигликирующим действием, соответствующим или превосходящим по уровню активности экспериментальное антигликирующее соединение аминогуанидин (более 70 % активности для соединений-лидеров и 59 % для аминогуанидина, при концентрации 1000 мкМ). Наибольшая активность отмечена у *терт*-бутил, гидроксифенил и хлорфенил замещенных представителей. Для одного соединения, имеющего гидроксibuтильный заместитель, установлено наличие хелатирующей активности в отношении катионов меди (II) (49 % активности при концентрации 40 мкМ), по уровню сопоставимой с пиоглиптоном (58 % активности при той же концентрации). Соединения обладают умеренной способностью к ингибированию дипептидилпептидазы-4 (в среднем на 60 % при концентрации 100 мкМ), что, однако слабее по уровню активности, чем референт вилдаглиптин (более 99 % активности).

## ЛИТЕРАТУРА/REFERENCES

1. Васильев П.М., Спасов А.А., Чепляева Н.И., Литвинов Р.А. Ингибиторы дипептидилпептидазы-4 [Vasil'ev P.M., Spasov A.A., Sheplyaeva N.I., Litvinov R.A. Inhibitory dipeptidylpeptidase-4. Dipeptidyl peptidase-4 inhibitors]. Свидетельство о регистрации базы данных RUS 2015620158, от 12.12.2014.
2. Сайт Всемирной организации здравоохранения (ВОЗ) [Электронный ресурс] [Sajt Vsemirnoj organizacii zdravoohraneniya (VOZ). World Health Organization (WHO) website]. URL: <http://www.who.int/ru/news-room/fact-sheets/detail/diabetes>.
3. Чулахин О.Н., Чарушин В.Н., Русинов В.Л. Научные основы создания противовирусных и антибактериальных препаратов [Chupakhin O.N., Charushin V.N., Rusinov V.L. Nauchnye osnovy sozdaniya protivovirusnyh i antibakterial'nyh preparatov. Scientific basis for the creation of antiviral and antibacterial drugs] // Вестник Российской академии наук [Vestnik Rossijskoj akademii nauk. Bulletin of the Russian Academy of Sciences]. – 2016. – Т. 86, № 6. – С. 546–552.
4. Bourne R.R., Stevens G.A., White R.A., Smith J.L., Flaxman S.R., Price H. et al. Causes of vision loss worldwide, 1990–2010: a systematic analysis // *Lancet Global Health*. – 2013. – Vol. 1. – Article № e339–e349.
5. Goh S.Y., Cooper M.E. The Role of Advanced Glycation End Products in Progression and Complications of Diabetes // *J. Clin. Endocrinol. Metab.* – 2008. – Vol. 93. – № 4. – P. 1143–1152.
6. Hartog J.W., Willemsen S., van Veldhuisen D.J., Posma J.L., van Wijk L.M., Hummel Y.M., Hillege H.L., Voors A.A. Effects of alagebrium, an advanced glycation endproduct breaker, on exercise tolerance and cardiac function in patients with chronic heart failure // *Eur. J. Heart. Fail.* – 2011. – Vol. 13 (8). – P. 899–908.
7. He Y.-L., Flannery B., Campestrini J., Leon S., Zinny M., Ligueros-Saylan M., Jarugula V. Effect of food on the pharmacokinetics of a vildagliptin/metformin (50/1000 mg) fixed-dose combination tablet in healthy volunteers // *Curr. Med. Res. Opin.* – 2008. – Vol. 24. – P. 1703–1709.
8. Hellwig M., Henle T. Baking, Ageing, Diabetes: A Short History of the Maillard Reaction // *Angew. Chemie Int. Ed.* – 2014. – Vol. 53, № 39. – P. 10316–10329.
9. Ivanov A.A., Shamshina D.D., Litvinov R.A., Batrakov V.V. Optimisation of copper-induced ascorbate autoxidation method using real-time detection. Integrative decision example // *Journal of VolSMU*. – 2018. – № 2 (66). – P. 47–49.
10. Karpenko I., Deev S., Kiselev O., Charushin V., Rusinov V., Ulomsky E., Deeva E., Yanvarev D., Ivanov A., Smirnova O., Kochetkov S., Chupakhin O., Kukhanova M. //

*Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. – 2010. – Vol. 54. – Issue 5. – P. 2017–2022.

11. Kay A.M., Simpson C.L., Stewart J.A. The Role of AGE/RAGE Signaling in Diabetes-Mediated Vascular Calcification // *J. Diabetes Res.* Hindawi Publishing Corporation. – 2016. – Vol. 2016. – Article ID 6809703.
12. Kuhadiya N.D., Dhindsa S., Ghanim H., Mehta A., Makdissi A., Batra M., Sandhu S., Hejna J., Green K., Bellini N., Yang M., Chaudhuri A., Dandona P. Addition of Liraglutide to Insulin in Patients With Type 1 Diabetes: A Randomized Placebo-Controlled Clinical Trial of 12 Weeks // *Diabetes Care*. – 2016. – Vol. 39 (6). – P. 1027–1035.
13. Lowe J., Taveira da Silva R., Hilário Souza E. Dissecting copper homeostasis in diabetes mellitus // *J. IUBMB*. – 2017. – Vol. 69. – P. 255–262.
14. Matheeußen V., Lambeir A.-M., Jungraithmayr W., Gomez N., McEntee K., Van der Veken P., S.Schärpé, De Meester I. Method comparison of dipeptidyl peptidase IV activity assays and their application in biological samples containing reversible inhibitors // *Clin. Chim. Acta*. – 2012. – Vol. 413. – P. 456–462.
15. Mathieu C., Zinman B., Uddén J. Efficacy and Safety of Liraglutide Added to Insulin Treatment in Type 1 Diabetes: The ADJUNCT ONE Treat-To-Target Randomized Trial. Hemmingsson, Vincent Woo, Peter Colman, Erik Christiansen, Martin Linder, Bruce Bode and for the ADJUNCT ONE Investigators // *Diabetes Care*. – 2016. – Vol. 2016. – dc160691.
16. Nagai R., Murray D.B., Metz T.O., Baynes J.W. Chelation: A Fundamental Mechanism of Action of AGE Inhibitors, AGE Breakers, and Other Inhibitors of Diabetes Complications // *Diabetes*. – 2012. – Vol. 61 (3). – P. 549–559.
17. Patent RF 2612300, 2017, bull. 7.
18. Patent RF 2641107, 2018, bull. 2.
19. Rusinov V.L., Charushin V.N., Chupakhin O.N. Biologically active azolo-1,2,4-triazines and azolopyrimidines // *Russian Chemical Bulletin*. – 2018. – Vol. 67. – № 4. – P. 573–599.
20. Salahuddin P., Rabbani G., Khan R. The role of advanced glycation end products in various types of neurodegenerative disease: a therapeutic approach // *Cell. Mol. Biol. Lett.* – 2014. – Vol. 19. – № 3.
21. Sarwar N., Gao P., Seshasai S.R., Gobin R., Kaptoge S., Di Angelantonio et al. Diabetes mellitus, fasting blood glucose concentration, and risk of vascular disease: a collaborative meta-analysis of 102 prospective studies. Emerging Risk Factors Collaboration // *Lancet*. – 2010. – Vol. 375. – P. 2215–2222.
22. Savateev K.V., Ulomskiy E.N., IButorin I., Charushin V.N., Rusinov V.L., Chupakhin O.N. Azoloazines as A2a receptor antagonists. Structure and properties // *Russ. Chem. Rev.* – 2018. – Vol. 87 (7). – P. 636–669.
23. Savateev K.V., Ulomskiy E.N., Fedotov V.V., Rusinov V.L., Sivak K.V., Lyubishin M.M., Kuzmich N.N., Aleksandrov A.G. // *Russian Journal of Bioorganic Chemistry*. – 2017. – Vol. 43. – Issue 4. – P. 421–428.
24. Shamshina D.D., Litvinov R.A. Validation of the ascorbic acid autoxydation method (copper-induced) as a method for estimation of evaluation of activity of compounds connecting d-elements // *Journal of VolSMU*. – 2018. – №1 (65). – P. 115–117.
25. Spasov A.A., Babkov D.A., Sysoeva V.A., Litvinov R.A., Shamshina D.D., Ulomskiy E.N., Savateev K.V., Fedotov V.V., Slepukhin P.A., Chupakhin O.N., Charushin V.N., Rusinov V.L. // *Archiv der Pharmazie*. – 2017. – Vol. 350. – Article № 1700226.
26. Spasov A.A., Zhukovskaya O.N., Brigadirova A.A., Abbas H.S.A., Anisimova V.A., Sysoeva V.A., Rashchenko A.I., Litvinov R.A., Mayka O.Yu., Babkov D.A., Morkovnik A.S. Synthesis and pharmacological activity of 2(biphenyl-4-yl)imidazo[1,2-a]benzimidazoles // *Russian Chemical Bulletin*. – 2017. – Vol. 66. – № 10. – P. 1905–1912.
27. Thornalley P.J. Use of aminoguanidine (Pimagedine) to prevent the formation of advanced glycation endproducts // *Arch. Biochem. Biophys.* – 2003. – Vol. 419 (1). – P. 31–40.
28. 2014 USRDS annual data report: Epidemiology of kidney disease in the United States. United States Renal Data System. National Institutes of Health, National Institute of Diabetes and Digestive and Kidney Diseases, Bethesda, MD. – 2014. – P. 188–210.

## Контактная информация

**Литвинов Роман Александрович** – к. м. н., ассистент кафедры фармакологии и биоинформатики,  
e-mail: [litvinov.volggmu@mail.ru](mailto:litvinov.volggmu@mail.ru)