

УДК 615.225.2:615.015.35



Исследование острой токсичности, эндотелио- и кардиопротективных свойств фенольных и тиофенольных производных 2H-имидазолов

О.А. Пученкова¹, О.В. Щеблыкина¹, Д.А. Костина¹, А.А. Болгов¹, П.Р. Лебедев¹,
В.В. Молчанов¹, Т.Г. Покровская¹, М.В. Корокин¹, Е.А. Никифоров², Н.Ф. Васькина²,
Т.А. Идрисов², Т.Д. Мосеев², В.В. Мелехин^{2,4}, М.В. Вараксин^{2,3}, В.Н. Чарушин^{2,3}, О.Н. Чупахин^{2,3}

¹ Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования
«Белгородский государственный национальный исследовательский университет»
Россия, 308015, г. Белгород, ул. Победы, д. 85

² Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования
«Уральский федеральный университет имени первого Президента России Б.Н. Ельцина»,
Россия, 620062, г. Екатеринбург, ул. Мира, д. 19

³ Федеральное государственное бюджетное учреждение науки
«Институт органического синтеза им. И.Я. Постовского» Уральского отделения Российской академии наук,
Россия, 620137, г. Екатеринбург, ул. Софьи Ковалевской / Академическая, д. 22/20

⁴ Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования
«Уральский государственный медицинский университет»
Министерства здравоохранения Российской Федерации,
Россия, 620028, г. Екатеринбург, ул. Репина, д. 3

E-mail: lesya759@yandex.ru

Получена 12.06.2024

После рецензирования 15.11.2024

Принята к печати 30.12.2024

Цель. Изучить острую токсичность, эндотелио- и кардиопротективные свойства фенольных и тиофенольных производных 2H-имидазолов.

Материалы и методы. Исследование выполнено на белых лабораторных мышах-самках линии BALB/c ($n=57$) и на мышах-самках линии C57Bl/6 ($n=66$). Исследование острой токсичности проводилось по межгосударственному стандарту ГОСТ 32644-2014 с гистологической оценкой внутренних органов. Эндотелиальную дисфункцию моделировали при помощи 7-дневного внутрибрюшинного введения N-нитро-L-аргинин-метилового эфира (L-NAME). Исследуемые малые молекулы вводились внутрижелудочно с помощью зонда. Для оценки эндотелиопротективного действия оценивали уровни систолического и диастолического артериального давления, а также коэффициент эндотелиальной дисфункции, для кардиопротективного эффекта — результаты нагрузочных проб на миокард.

Результаты. Изучение острой токсичности исследуемых малых молекул позволило отнести их к 4 и 5 классу. Введение мышам соединений **1(a-d)** и **2(a-c)** в дозе, равной $1/10$ от LD_{50} , привело к изменению уровня артериального давления и восстановлению динамики фармакологических проб в ответ на введение ацетилхолина и нитропруссид натрия. Статистически значимую эндотелиопротективную активность в 3 дозах ($1/10$, $1/50$ и $1/100$ от LD_{50}) показали молекулы **1b** и **2c**. Также данные соединения-хиты продемонстрировали кардиопротективные эффекты, регистрируемые восстановлением функциональных возможностей миокарда в ответ на нагрузку в объеме и в пробе на адренореактивность, и в меньшей степени — при проведении нагрузки сопротивлением.

Заключение. Исследуемые соединения имеют низкую токсичность и обладают эндотелио- и кардиопротективным действием. Данное исследование может способствовать формированию представления о дальнейших направлениях в изучении фармакологической активности данных молекул из группы фенольных и тиофенольных производных 2H-имидазолов.

Ключевые слова: азазетероциклические соединения; малые молекулы; эндотелиальная дисфункция; имидазолы; фенолы; тиофенолы

Список сокращений: ЭД — эндотелиальная дисфункция; ССЗ — сердечно-сосудистые заболевания; L-NAME — N-нитро-L-аргинин-метиловый эфир; LD_{50} — полулетальная доза; NO — оксид азота; САД — систолическое артериальное давление; ДАД — диастолическое артериальное давление; КЭД — коэффициент эндотелиальной дисфункции; АХ — ацетилхолин; НП — нитропруссид натрия.

Для цитирования: О.А. Пученкова, О.В. Щеблыкина, Д.А. Костина, А.А. Болгов, П.Р. Лебедев, В.В. Молчанов, Т.Г. Покровская, М.В. Корокин, Е.А. Никифоров, Н.Ф. Васькина, Т.А. Идрисов, Т.Д. Мосеев, В.В. Мелехин, М.В. Вараксин, В.Н. Чарушин, О.Н. Чупахин. Исследование острой токсичности, эндотелио- и кардиопротективных свойств фенольных и тиофенольных производных 2H-имидазолов. *Фармация и фармакология*. 2024;12(6):394-409. DOI: 10.19163/2307-9266-2024-12-6-394-409

© О.А. Пученкова, О.В. Щеблыкина, Д.А. Костина, А.А. Болгов, П.Р. Лебедев, В.В. Молчанов, Т.Г. Покровская, М.В. Корокин, Е.А. Никифоров, Н.Ф. Васькина, Т.А. Идрисов, Т.Д. Мосеев, В.В. Мелехин, М.В. Вараксин, В.Н. Чарушин, О.Н. Чупахин, 2024

For citation: O.A. Puchenkova, O.V. Shheblykina, D.A. Kostina, A.A. Bolgov, P.R. Lebedev, V.V. Molchanov, T.G. Pokrovskaya, M.V. Korokin, E.A. Nikiforov, N.F. Vaskina, T.A. Idrisov, T.D. Moseev, V.V. Melekhin, M.V. Varaksin, V.N. Charushin, O.N. Chupakhin. Study of acute toxicity, endothelial- and cardioprotective properties of phenolic and thiophenolic derivatives of 2H-imidazoles. *Pharmacy & Pharmacology*. 2024;12(6):394-409. DOI: 10.19163/2307-9266-2024-12-6-394-409

Study of acute toxicity, endothelial- and cardioprotective properties of phenolic and thiophenolic derivatives of 2H-imidazoles

O.A. Puchenkova¹, O.V. Shheblykina¹, D.A. Kostina¹, A.A. Bolgov¹, P.R. Lebedev¹,
V.V. Molchanov¹, T.G. Pokrovskaya¹, M.V. Korokin¹, E.A. Nikiforov², N.F. Vaskina²,
T.A. Idrisov², T.D. Moseev², V.V. Melekhin^{2,4}, M.V. Varaksin^{2,3}, V.N. Charushin^{2,3}, O.N. Chupakhin^{2,3}

¹ Belgorod State National Research University,
85 Pobedy Str., Belgorod, Russia, 308015

² Federal University named after the First President of Russia B.N. Yeltsin,
19 Mira Str., Yekaterinburg, Russia, 620062

³ Postovsky Institute of Organic Synthesis of the Ural Branch of the Russian Academy of Sciences,
22/20 Sofya Kovalevskaya / Akademicheskaya Str., Yekaterinburg, Russia, 620137

⁴ Ural State Medical University,
3 Repin Str., Yekaterinburg, Russia, 620028

E-mail: lesya759@yandex.ru

Received 12 June 2024

After peer review 15 Nov 2024

Accepted 30 Dec 2024

The aim. To study the acute toxicity, endothelial- and cardioprotective properties of phenolic and thiophenolic derivatives of 2H-imidazoles.

Materials and methods. The study was performed on white laboratory female BALB/c mice ($n=57$) and male C57Bl/6 mice ($n=66$). Acute toxicity was assessed according to the interstate standard GOST 32644-2014 with histological evaluation of internal organs. Endothelial dysfunction was modeled by 7-day intraperitoneal administration of *N*-nitro-*L*-arginine methyl ester (L-NAME). The studied small molecules were administered intragastrically using a probe. To assess the endothelial protective effect, the levels of systolic and diastolic blood pressure were evaluated, as well as the coefficient of endothelial dysfunction; for the cardioprotective effect, the results of stress tests on the myocardium were evaluated.

Results. The study of acute toxicity of the studied small molecules allowed us to classify them as class 4 and 5. The administration of compounds **1(a-d)** and **2(a-c)** to mice at a dose equal to 1/10 of LD₅₀ led to changes in blood pressure and restoration of the dynamics of pharmacological tests in response to the administration of acetylcholine and sodium nitroprusside. Molecules **1b** and **2c** showed statistically significant endothelial protective activity in 3 doses (1/10, 1/50 and 1/100 of LD₅₀). Also, these hit compounds demonstrated cardioprotective effects, recorded by the restoration of the functional capabilities of the myocardium in response to load and in the adrenoreactivity test, and to a lesser extent, during resistance exercise.

Conclusion. The studied compounds have low toxicity and have endothelial- and cardioprotective effects. This study may contribute to the formation of an idea about further directions in the study of the pharmacological activity of these molecules from the group of phenolic and thiophenolic derivatives of 2H-imidazoles.

Keywords: azaheterocyclic compounds; small molecules; endothelial dysfunction; imidazoles; phenols; thiophenols

Abbreviations: ED — endothelial dysfunction; CVD — cardiovascular diseases; L-NAME — *N*-nitro-*L*-arginine-methyl ester; LD₅₀ — median lethal dose; NO — nitric oxide; SBP — systolic blood pressure; DBP — diastolic blood pressure; CED — coefficient of endothelial dysfunction; ACh — acetylcholine; SNP — sodium nitroprusside.

ВВЕДЕНИЕ

Эндотелиальная дисфункция (ЭД) вносит значительный вклад в развитие социально-значимых сердечно-сосудистых заболеваний (ССЗ). Поиск эффективных методов фармакологической терапии и профилактики данной патологии чрезвычайно актуально в настоящее время. Различные факторы риска, такие как гиперхолестеринемия, гомоцистеинемия, гипергликемия, гипертония, курение, воспаление и старение, способствуют развитию ЭД. В патогенезе таких заболеваний, как артериальная гипертензия, атеросклероз, сахарный диабет и многие др., главную роль играет нарушение структуры и функции эндотелия. Любое нарушение, влияющее на равновесие эндотелия как физического барьера, а также на метаболизм, синтез и выделение биологически активных веществ,

может способствовать развитию ЭД, что приводит к прогрессированию ССЗ [1, 2]. Очевидно, что в ЭД вовлечены множественные механизмы, а именно воспаление, увеличение активных форм кислорода, клеточный апоптоз, увеличение выработки вазоконстрикторов, снижение выработки вазодилататоров и ремоделирование сосудов. Однако снижение биодоступности оксида азота (NO), по-видимому, играет центральную роль в развитии данной патологии [3, 4].

Во всем мире исследователи находятся в постоянном поиске новых биологически активных молекул для разработки на их основе препаратов для лечения широкого спектра социально-значимых заболеваний, включая сердечно-сосудистые патологии. Особое значение при этом имеют химико-фармацевтические препараты на основе малых органических молекул.

Малые молекулы — это низкомолекулярные химические соединения, обладающие способностью регулировать или воздействовать на те или иные биологические процессы. Среди множества известных веществ особое место по праву занимают азагетероциклические шести- и пятичленные системы, на основе которых создано большое количество известных и эффективных химико-фармацевтических препаратов [5]. Среди пятичленных молекул в последнее время особого внимания заслуживают бифункциональные производные на основе имидазолов, модифицированные различными биогенными фрагментами (аминами, карбоксильными группами, фенолами, индолами и их другими аналогами), которые используются в терапии воспалительных, вирусных, бактериальных, нейродегенеративных и других патологических процессов [6, 7]. При этом особое внимание исследователи обращают на то, чтобы методы получения данных молекул были эффективными, экономичными, экологичными, а также соответствовали принципам «зеленой химии» [8, 9].

Стоит отметить, что на данный момент не существует таргетных препаратов, направленных на коррекцию ЭД. Используются плейотропные эффекты известных лекарств, которые параллельно с основной функцией благоприятно влияют на эндотелий. Малые молекулы, влияющие одновременно на несколько мишеней, участвующих в патогенезе ЭД (мультитаргетные соединения), являются наиболее многообещающими. Учитывая главенствующую роль снижения биодоступности NO в развитии ЭД, малые молекулы для лечения данной патологии должны быть способны восстанавливать уровень NO в эндотелии [10]. Таким образом, синтезирование малых молекул, влияющих на различные пути в патогенезе развития ЭД, является многообещающим в современной терапии ССЗ.

ЦЕЛЬ. Исследование острой токсичности, эндотелио- и кардиопротективной активности *in vivo* синтезированных малых молекул из группы фенольных и тиофенольных производных 2*H*-имидазолов.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Фенольные и тиофенольные производные 2*H*-имидазолов **1(a–d)** и **2(a–c)** были синтезированы в соответствии с опубликованными ранее работами [11, 12]. Ранее неописанная гидрохлоридная соль **1b** была выделена и охарактеризована методами ЯМР и ИК-спектроскопии, масс-спектрометрии и данными элементного анализа.

Животные

Исследование проводили с ноября 2023 по апрель 2024 года. Изучение острой токсичности

выполняли на белых лабораторных мышах линии BALB/c (виргинных самках) ($n=57$, по 3 мыши в клетке). Фармакологическую активность изучали на лабораторных мышах-самцах линии C57Bl/6 ($n=66$, по 6 мышей в клетке). Животных в эксперимент брали в возрасте 8–10 нед., массой 18–22 г, без внешних признаков заболевания. Все лабораторные животные были получены из питомника НИУ «БелГУ». После прохождения 14-дневного карантинного режима мыши были стратифицированы по массе и рассажены в отдельные клетки. Животные содержались в условиях стандартной биологически чистой экспериментальной комнаты. Кормление проводили в соответствии с ГОСТ 33216-2014 «Руководство по содержанию и уходу за лабораторными животными». Суточный рацион на всем протяжении исследования включал гранулированный корм (ГОСТ 50258-92) и фильтрованную обеззараженную УФ-облучением воду. За 4 ч до введения исследуемых субстанций все подопытные животные подвергались полной пищевой депривации со свободным доступом к воде, подачу корма возобновляли через 2 ч после того, как исследуемое вещество было введено. Накануне дня некропии в 16:00 животных лишали корма со свободным доступом к воде. Эксперименты проведены с соблюдением требований Федерального закона от 27.12.2018 № 498-ФЗ «Об ответственном обращении с животными и о внесении изменений в отдельные законодательные акты Российской Федерации», правил лабораторной практики при проведении доклинических исследований в РФ (ГОСТ 3 51000.3-96 и ГОСТ Р 53434-2009), Директивы Европейского сообщества (86/609 EC), Правил международных рекомендаций Европейской конвенции по защите позвоночных животных, используемых при экспериментальных исследованиях (1997) и Правил надлежащей лабораторной практики (утв. приказ МЗ РФ № 199н от 01.04.2016 г.). Все эксперименты *in vivo* были проведены на базе НИУ «БелГУ». Проведение исследования одобрено комиссией по контролю за содержанием и использованием лабораторных животных НИУ «БелГУ», экспертное заключение № 01-07и/23 от 10.07.2023 г.

Исследование острой токсичности синтезированных малых молекул

При исследовании острой токсичности 7 соединений **1(a–d)** и **2(a–c)** соблюдался межгосударственный стандарт ГОСТ 32644-2014 «Методы испытания по воздействию химической продукции на организм человека. Острая пероральная токсичность — метод определения класса острой токсичности» (OECD, Test No. 423). По результатам указанных работ определялся класс токсичности в соответствии с согласованной на глобальном уровне системой классификации

опасности и маркировки химической продукции, вызывающей острую токсичность и диапазон доз для последующего определения LD₅₀. Структурные формулы исследуемых образцов представлены на рисунке 1.

На базе ФГАОУ ВО «УрФУ имени первого Президента России Б.Н. Ельцина» был проведён предварительный этап изучения синтезированных фенольных и тиофенольных производных 2*H*-имидазолов **1(a–d)** и **2(a–c)**. Были получены результаты исследований острого токсического действия *in vitro* фармацевтических субстанций. Исходя из полученных данных, было выдвинуто предположение о низкой опасности острой токсичности субстанций, что и легло в основу выбора начальной дозы — 2000 мг/кг для настоящего исследования. Согласно представленным данным о растворимости исследуемых соединений, полученных в ходе предварительных исследований, для внутрижелудочного введения препаратов в качестве растворителя использовали водный раствор диметилсульфоксида (в соотношении 1:1). Изучаемые вещества вводились в объеме 0,05 мл/10 г массы одной дозой с помощью атравматичного желудочного зонда. Измерение массы тела животных и приготовление дозы осуществляли непосредственно перед введением препарата.

Изучение острой токсичности проводилось на мышах линии BALB/c, которых группировали по 3 особи в клетке на каждый этап эксперимента (*n*=57). Наблюдение за животными осуществлялось на протяжении 14 дней. В течение 2 ч после введения дозы препарата каждая особь находилась под индивидуальным непрерывным наблюдением. Затем до 12 ч от момента введения исследуемой дозы периодичность индивидуального обследования составляла каждые 60 мин, в дальнейшем ежедневно утром и вечером все 14 дней. Наблюдение включало оценку общего состояния с фиксацией клиники отравления (изменения кожи и шерсти, глаз и слизистых оболочек, оценка дыхательной, кровеносной, вегетативной и центральной нервной систем, а также соматомоторную активность и характер поведения) и подсчёт числа животных, погибших в ходе эксперимента.

Умерших в ходе эксперимента животных подвергали вскрытию, выживших животных в конце эксперимента гуманным способом умерщвляли (передозировка этиловым эфиром) и подвергали аутопсии. Полученные органы и ткани фиксировали в 10% забуференном формалине. После макроскопической оценки проводилась гистологическая вырезка материала с последующей проводкой по стандартной схеме с помощью аппарата «АГТ-11 ФМП» (Россия).

После проводки выполнялась заливка парафином с формированием блоков при помощи заливочной станции «MPS/P2 SLEE medical GmbH» (Германия). Готовые парафиновые блоки подвергались микротомированию с использованием роторного микротом «RMD-3000» (Россия). Микротомные срезы помещали на предметные стекла с адгезивным покрытием, после чего в автоматизированном мультитейнере «Гистопроцессор TLP-144» (Россия) выполнялась стандартная гистологическая окраска — гематоксилин+эозин. Окрашенные срезы оценивали с помощью микроскопа «Nikon Eclipse E200» (Япония).

Исследование эндотелиопротективной активности полученных малых синтезированных молекул на модели L-NAME

Группы животных включали в себя интактную группу (*n*=6, без введения препаратов и моделирования патологии), контрольную группу (*n*=6, с моделированием L-NAME-индуцированной ЭД без фармакологической коррекции) и группы с L-NAME-индуцированной ЭД с фармакологической коррекцией исследуемыми веществами (*n*=66, по 6 особей в группе, на первом этапе 7 групп, на втором этапе 4 дополнительные группы).

Для моделирования ЭД применяли индуктор ЭД — неселективный блокатор NO-синтазы N-нитро-L-аргинин-метиловый эфир (L-NAME, Sigma Aldrich, США), который вводился ежедневно 1 р/сут внутрибрюшинно в дозе 60 мг/кг в течение недели.

С целью коррекции ЭД синтезированные малые молекулы **1(a–d)** и **2(a–c)** вводили 1 р/сут внутрижелудочно с использованием зонда для мелких лабораторных животных в течение 7 сут. Контрольной группе вводили внутрижелудочно воду для инъекций в объеме 0,05 мл/10 г массы. Развитие ЭД у экспериментальных животных, а также степень ее коррекции исследуемыми препаратами оценивали путём динамического неинвазивного измерения кровяного давления на хвосте грызунов, а также используя расчётный коэффициент эндотелиальной дисфункции (КЭД).

Измерение давления производили трёхкратно, в день выведения животных из эксперимента на аппарате «Систола» фирмы Нейроботикс (Москва, Зеленоград). Аппаратно-программный комплекс имеет встроенную помпу, которая автоматически нагнетает давление в хвостовой манжете до прекращения пульсаций кровотока, а затем, медленно снижая давление, измеряет систолическое и диастолическое значение на основе показаний инфракрасного датчика пульса, надеваемого на хвост животного после манжеты. Предварительно животное фиксировалось с использованием рестрейнера «Теремок» фирмы Нейроботикс (Москва, Россия), а затем подогревалось до

температуры 32–37°C в течение 10–15 мин, находясь на нагревательной платформе «Флогистон» фирмы Нейроботикс (Москва, Россия). Это позволило обеспечить циркуляцию крови в хвостовых сосудах в нужном объеме и стабилизировать кровоток. Полученные гемодинамические показатели с помощью программного обеспечения «Систола» (Версия 1.3.1) отражались в виде графиков записи кривой артериального давления и пульса и использовались в дальнейшем для оценки результатов эксперимента.

Мышам на 8 сут эксперимента после предварительной наркотизации золазепамом (Virbac, Россия) 2,5 мг/100 г + ксилазин (Биогель (Беларусь) 2 мг/100 г внутривенно измеряли скорость кровотока в сонной артерии с последующим проведением внутривенных функциональных проб с ацетилхолином (АХ) и нитропруссидом натрия (НП), которые используют для оценки эндотелий-зависимой и эндотелий-независимой вазодилатации соответственно. Показатели гемодинамики измеряли непрерывно посредством периваскулярного датчика флоуметра «Transonic Systems» фирмы BIOPAC Systems (США). Полученные данные оценивали в программе «AcqKnowledge». КЭД является отношением площади треугольника над кривой восстановления скорости кровотока в ответ на введение НП ($S(НП)$) к площади треугольника над кривой восстановления скорости кровотока в ответ на введение АХ, т.е. $KЭД = (S(НП)) / (S(АХ))$ (Рис. 2).

Исследование кардиопротективной активности полученных малых синтезированных молекул

Изучение сократимости миокарда после моделирования патологии проводили у наркотизированных мышей, находящихся на управляемом дыхании. Полость левого желудочка зондировали иглой через верхушку сердца и посредством датчика RX104A «Biopac Systems, Inc.» (США) и с помощью компьютерной программы «Biopac Systems, Inc.» (США) регистрировали показатели кардиогемодинамики (давление в левом желудочке, частоту сердечных сокращений — ЧСС). Для оценки функциональных возможностей миокарда у животных проводили нагрузочные пробы: с нагрузкой объемом, пробу на адренореактивность (внутривенное одномоментное введение раствора адреналина гидрохлорида 1,0–5 моль/л), с нагрузкой сопротивлением (пережатие восходящей аорты на 30 сек).

Статистическая обработка результатов

Все полученные данные были подвергнуты статистической обработке с использованием пакета программ Microsoft Excel 2010. Используя методы описательной статистики данные были проверены на соответствие закону нормального распределения

с применением критерия Шапиро–Уилка. Также рассчитывали относительные и средние величины (среднее арифметическое [M], медиана [Me], стандартное отклонение [SD], межквартильный интервал). При нормальном распределении данные были представлены в виде $M \pm SD$. Учитывая нормальный тип распределения данных для сравнения двух выборок использовался критерий Стьюдента. Различия считались значимыми при $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Острая токсичность

В группе, получавшей 2000 мг/кг **1a** через 30 мин. после затравки препаратом, наблюдались нелетальные признаки токсичности с угнетением общей активности животных, двусторонний птоз. Патологическая симптоматика полностью регрессировала к концу 2 ч после острой затравки. В течение последующих 6 сут периода наблюдения животные оставались подвижными, адекватно реагировали на внешние раздражители и манипуляции с ними. Однако на 7 сут после затравки активность животных снижалась, животные отказывались от еды, отмечалось прогрессивное снижение реакции на внешние раздражители, сгорбленная поза, взъерошенность шерстяного покрова, очаги алопеции. На 2 этапе был зафиксирован 1 летальный исход (на 12 сут) после затравки препаратом. Выжившие животные оставались вялыми и малоподвижными на протяжении всего оставшегося периода наблюдения. При патологоанатомическом исследовании обращало на себя внимание изменения паренхимы почек в виде тяжелой зернистой и гиалиново-капельной дистрофии эпителия извитых канальцев (Рис. 3), также в печени отмечалась умеренная зернистость гепатоцитов со смазанными печеночными балками и полнокровными синусоидами. Гистологическая картина позволяет заключить, что препарат **1a** в высоких дозах обладает умеренной пневмо- и гепатотоксичностью, и позволяет отнести его к 5 классу — $LD_{50} \approx 2500$ мг/кг.

Соединение **1b** в дозе 2000 мг/кг непосредственно после введения вызывало повышение общей активности животных, тахипноэ, явления одышки. Через 30 мин двигательное беспокойство сменялось заторможенностью, видимые слизистые и кожа приобретали цианотичный оттенок, шерстяной покров терял блеск, становился взъерошенным. В течение следующих 2 сут наблюдалось развитие тонико-клонических судорожных припадков, которые вызывали гибель животных. Выжившие животные были заторможены, отмечалась слабая реакция на световые, тактильные и звуковые раздражители, отмечалось увеличенное

потребление воды и сниженное потребление корма. Клиника острого отравления наблюдалась до 48 часов. После этого животное возвращалось к активной жизнедеятельности или погибало. В промежутке 10–16 ч после введения препаратов был зарегистрирован пик смертности подопытных животных. При дальнейшем наблюдении в течение 14 дней летальных исходов не зафиксировано.

При патоморфологическом исследовании наблюдались множественные кровоизлияния на слизистых и серозных оболочках внутренних органов, увеличение печени и изменение ее консистенции, на разрезе с сероватым оттенком, снижение воздушности легких. Микроскопически в печени обращало на себя внимание субтотальное нарушение гистоархитектоники, печёночные балки определялись с трудом, гепатоциты имели признаки тотальной тяжёлой баллонной дистрофии (Рис. 4). При этом в легких отмечался очаговый интерстициальный фиброз с полнокровием и мононуклеарной инфильтрацией. Введение 300 мг/кг соединения **1b** не вызывало патологической симптоматики в течение всего срока наблюдения. По результатам вскрытия каких-либо патологических изменений внутренних органов животных данной группы не было обнаружено, общая гистологическая картина соответствовала результатам контрольной группы. Таким образом соединение **1b** можно отнести к 4 классу токсичности — $LD_{50} \approx 2000$ мг/кг. В дозах, превышающих LD_{50} **1b**, обладает выраженным гепатотоксическим и умеренным пневмотоксическим действием.

При введении максимальной дозы вещества **1c** начальные признаки отравления появлялись через 30 мин. Признаки отравления включали в себя 2–3 минутный период выраженного беспокойства, тахипноэ, нарушение координации движений, сменяемые состоянием общей заторможенности, снижением двигательной активности, угнетением поведенческих и исследовательских реакций. Однако в течение последующих 2 сут активность восстанавливалась. При динамическом наблюдении в течение последующих 14 сут на (7 и 8 сут) были зафиксированы летальные исходы у части животных. Однократное введение 300 мг/кг соединения **1c** не вызывало патологической симптоматики в течение всего срока наблюдения. По результатам вскрытия каких-либо патологических изменений внутренних органов животных данной группы не было обнаружено, общая гистологическая картина соответствовала результатам контрольной группы. Таким образом соединение **1c** можно отнести к 4 классу токсичности — $LD_{50} \approx 1000$ мг/кг.

При исследовании соединения **1d** в дозе 2000 мг/кг сразу непосредственно после введения наблюдалось выраженное беспокойство подопытных животных, в течение следующих 15–20 мин нарастала частота дыхательных

движений, мышцы стояли на задних лапах иногда с опорой на стенки клетки, наблюдалось втяжение межреберных промежутков при дыхании. Через 40 мин возбуждение сменялось состоянием общей заторможенности, снижением двигательной активности, угнетением поведенческих и исследовательских реакций, наблюдался акроцианоз. Летальные исходы фиксировались в промежутке 3–4 ч после затравки препаратом. При аутопсии наблюдались признаки общего острого венозного полнокровия, характеризующегося плазморрагиями и отёком, множественными диапедезными кровоизлияниями и некротическими изменениями в паренхиматозных органах (Рис. 5). Введение 300 мг/кг соединения **1d** не вызывало патологической симптоматики в течение всего срока наблюдения. По результатам вскрытия каких-либо патологических изменений внутренних органов животных данной группы не было обнаружено, общая гистологическая картина соответствовала результатам контрольной группы. Таким образом соединение **1d** можно отнести к 4 классу токсичности — $LD_{50} \approx 500$ мг/кг. В дозах, превышающих LD_{50} **1d** оказывает токсическое поражение сердечной мышцы, приводящее к острой сердечно-сосудистой недостаточности.

Непосредственно после введения соединения **2a** в дозе 2000 мг/кг у животных наблюдалось увеличение количества актов груминга. Спустя 10–15 мин наблюдались симптомы конъюнктивита (отёк и гиперемия век). Через 40 мин после затравки препаратом активность животных снижалась, уменьшались показатели ориентировочно-исследовательской активности (уменьшение количества стоек), наблюдались признаки центрального угнетающего действия (уменьшение количества актов дефекации). Клиника острого отравления наблюдалась до 24 часов. Один летальный исход был зафиксирован через 10 ч после введения препарата. В дальнейшем животное возвращалось к активной жизнедеятельности. При аутопсии патологических изменений внутренних органов животных данной группы не было обнаружено, общая гистологическая картина соответствовала результатам контрольной группы. Таким образом, соединение **2a** относится к 5 классу токсичности — $LD_{50} \approx 2500$ мг/кг. Введение высоких доз **2a** близких к LD_{50} оказывает токсическое действие на ЦНС с угнетением локомоторной и ориентировочно-исследовательской активности.

В группе, получавшей 2000 мг/кг **2b** через 30 мин после затравки препаратом, наблюдались нелетальные признаки токсичности с угнетением локомоторной и ориентировочно-исследовательской активности, а также развитие постурально-кинетического тремора. Патологическая симптоматика полностью регрессировала к концу первых суток. В течение всего последующего

периода наблюдения животные оставались подвижными, адекватно реагировали на внешние раздражители и манипуляции с ними, летальных исходов зафиксировано не было. При патологоанатомическом исследовании препаратов желудка определялось хроническое активное воспаление в основании собственной пластинки и в подслизистом слое (Рис. 7), в остальном результаты аутопсии не имели отличий от контрольной группы, что свидетельствует о местнораздражающем действии соединения **2b** и низкой общей токсичности и позволяет отнести его к 5 классу — $LD_{50} \approx 5000$ мг/кг.

Однократное внутривенное введение 2000 мг/кг **2c** спустя 40–45 мин приводило к снижению локомоторной активности животных, заторможенности, шерстяной покров становился взъерошенным, отмечалось увеличение частоты актов дыхания. К концу первых суток видимая кожа и слизистые приобретали желтушный оттенок. В промежутке 20–24 ч после введения препарата был зарегистрирован пик смертности подопытных животных. Выжившие животные оставались вялыми и малоподвижными в течение 2–3 сут после острой затравки, отдельные животные оставались вялыми на протяжении всего периода наблюдения. При аутопсии обращали на себя внимание иктеричность серозных и слизистых оболочек внутренних органов, увеличение размеров и плотности печени, на разрезе печень имела сероватый цвет. При гистологическом исследовании обращали на себя внимание субтотальное нарушение гистоархитектоники печени, печёночные балки были резко сглажены, границы между гепатоцитами практически не определялись. Гепатоциты отличались крайним полиморфизмом с выраженной балонной дистрофией; ядра с плотным хроматином, встречались также ядра пикнотического вида. В дополнении отмечалась неоднородная интерстициальная мононуклеарная инфильтрация, а также умеренное полнокровие. После затравки 300 мг/кг **2c** через 40 мин наблюдались признаки токсичности с угнетением общей активности. Зафиксирован 1 летальный исход на первом этапе исследования после 36 ч затравки.

Активность выживших животных полностью восстанавливалась на 5–6 сут. При патоморфологическом исследовании у умершей мыши отмечались признаки токсического поражения печени, у выживших животных наблюдалось выраженное нарушение гистоархитектоники печёночной ткани с центростремительным полнокровием, без признаков некроза (Рис. 7). На основании результатов проведённого исследования можно заключить, что препарат обладает выраженной гепатотоксичностью и его можно отнести к 4 классу — $LD_{50} \approx 1000$ мг/кг.

Результаты оценки класса токсичности исследуемых соединений представлены в таблице 1.

Оценка эндотелиопротективной активности малых синтезированных молекул на модели L-NAME

Моделирование ЭД, индуцированной введением L-NAME, способствовало формированию артериальной гипертензии и росту систолического артериального давления (САД) более чем в 1,35 раза (табл. 2), что приводило к изменению фармакологических проб в ответ на введение АХ и НП. О развитии указанных изменений свидетельствовал статистически достоверный ($p < 0,05$) рост КЭД более чем в 4 раза по сравнению с интактными животными.

Введение половозрелым мышам-самцам соединений **1(a–d)** и **2(a–c)** в дозах, равных 1/10 от LD_{50} , приводило к изменению уровня АД и восстановлению динамики фармакологических проб в ответ на введение АХ и НП. Данная доза была выбрана, так как она соответствует общепринятой в практике при проведении скрининговых исследований фармакологической активности новых соединений¹. Статистически достоверная разница по снижению уровней АД наблюдалась для соединений с лабораторными шифрами **1b** и **2c** ($p < 0,05$). Сопоставимая динамика отмечалась и по показателю КЭД.

На следующем этапе производилась предварительная оценка эффективности 2 соединений-хитов (наиболее активных соединений) в 3 дозах: первая доза соответствовала 1/10 от LD_{50} , вторая доза — 1/50 от LD_{50} и третья — 1/100 от LD_{50} . Выбор указанных диапазонов обусловлен химической структурой вещества, особенностью исследования фармакологической активности соединений, а также необходимостью, при внедрении их в клиническую практику, длительного приёма препаратов на основе исследуемых соединений². Исследуемые дозы для каждого соединения указаны в таблице 3.

Результаты данной серии экспериментов продемонстрировали высокую эндотелиопротективную активность соединений **1b** и **2c** в дозе 1/10 и 1/50 от LD_{50} по динамике уровней САД и ДАД ($p < 0,05$), а также по показателю КЭД в дозе 1/10 и 1/100 от LD_{50} для соединения **1b** и в дозе 1/10 от LD_{50} для соединения **2c** ($p < 0,05$; табл. 4).

По результатам указанных данных по показателю КЭД, для каждого из соединений-хитов была рассчитана LD_{50} при экспериментальном моделировании L-NAME индуцированного дефицита NO (по методу Б.М. Штабского): для **1b** — 86,67 мг/кг, для **2c** — 28,33 мг/кг [13].

¹ Каркищенко Н.Н., Каркищенко В.Н., Шустов Е.Б., Капанадзе Г.Д., Ревякин А.О., Семенов Х.Х., Болотова В.И., Дуля М.С. Методические рекомендации Биомедицинское (доклиническое) изучение антигипоксической активности лекарственных средств. Москва: Научный центр биомедицинских технологий Федерального медико-биологического агентства (Светлые горы), 2017. 97 с. EDN: ZQZMGP

² Там же.

Исследуемые азаетероциклические соединения ряда 2H-имидазола

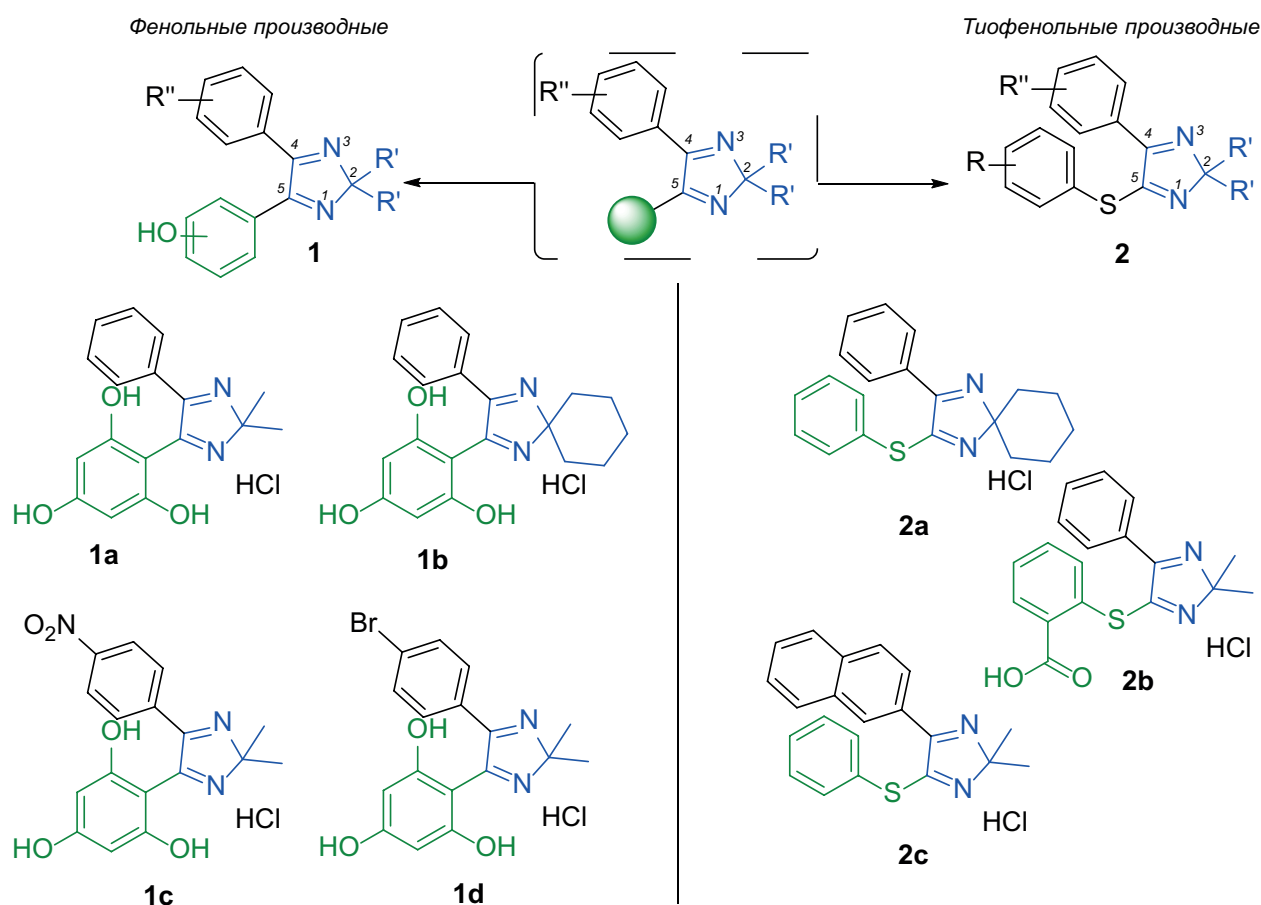


Рисунок 1 – Структуры исследуемых фенольных и тиофенольных производных 2H-имидазола.



Рисунок 2 – Динамика скорости кровотока при определении коэффициента эндотелиальной дисфункции у intactных животных.

Примечание: 1 — при введении ацетилхолина; 2 — при введении нитропруссид натрия.

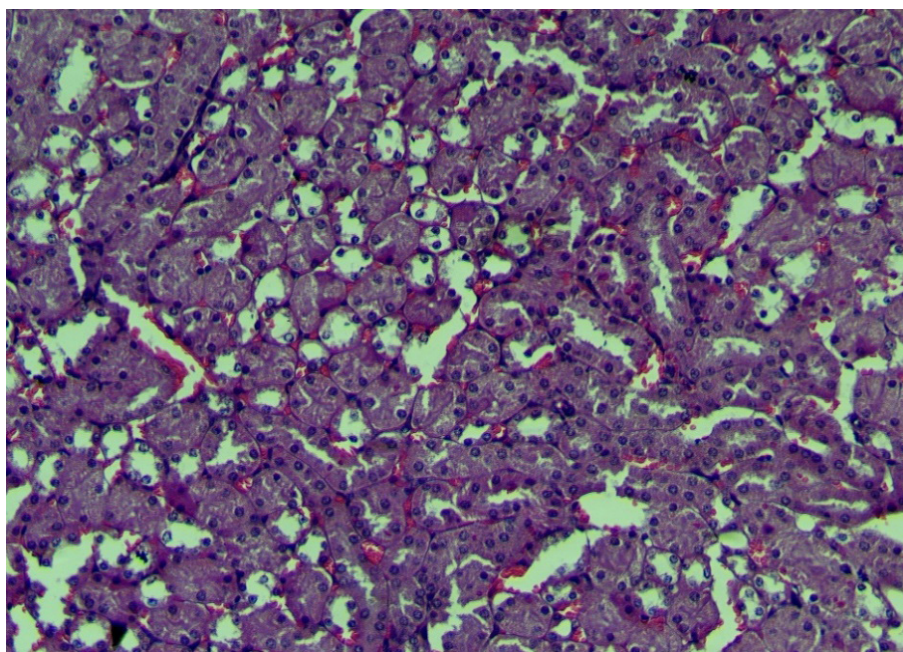


Рисунок 3 – Гистологическое строение паренхимы почек мыши после перорального введения 1a в дозировке 2000 мкг/кг. Окраска гематоксилин+эозин, ×200.

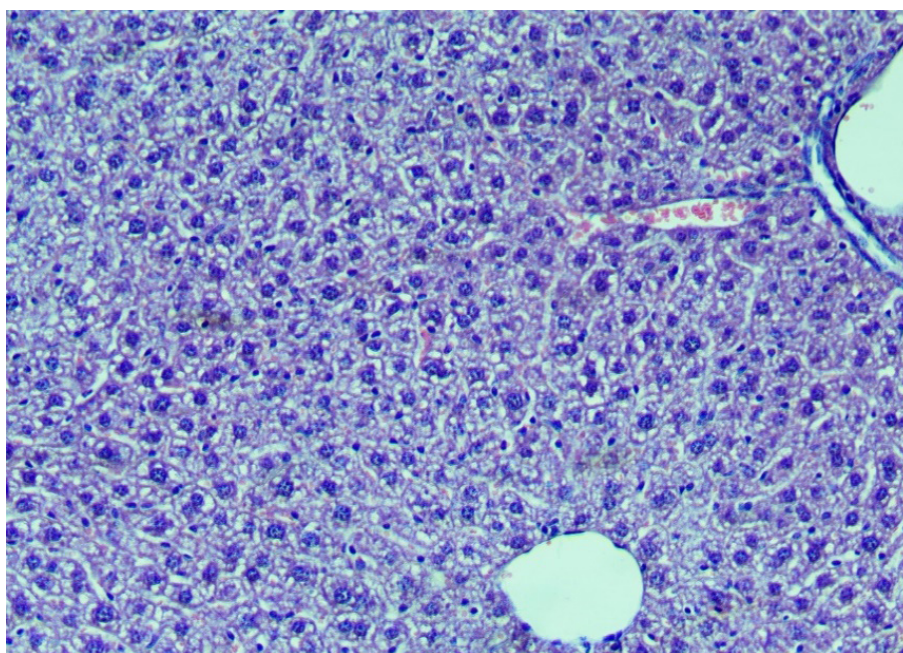


Рисунок 4 – Гистологическое строение печени мыши после перорального введения 1b в дозировке 2000 мкг/кг. Окраска гематоксилин+эозин, ×200.

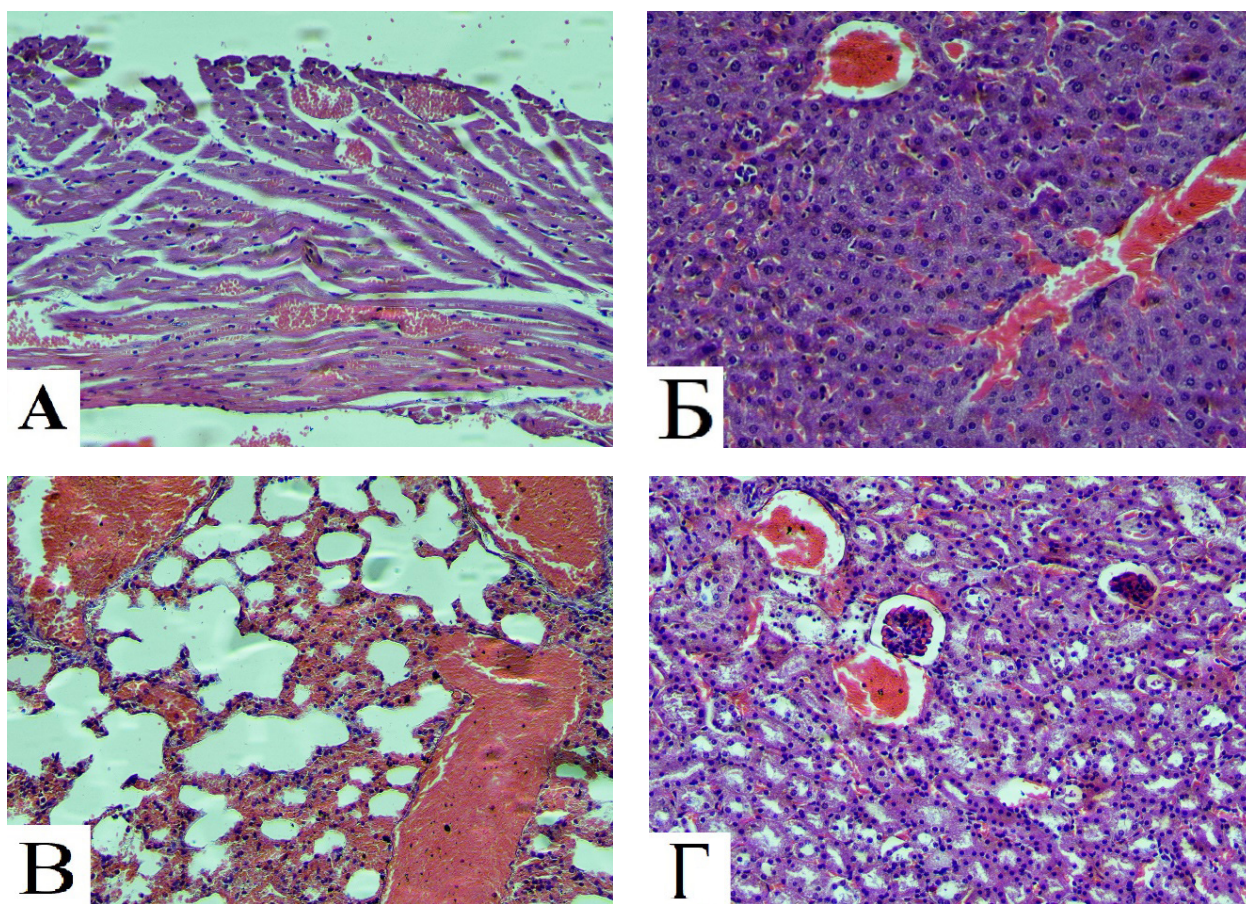


Рисунок 5 – Венозное полнокровие в паренхиматозных органах мыши после перорального введения 1d в дозировке 2000 мкг/кг. Окраска гематоксилин+эозин, ×200.
Примечание: А — миокард; Б —печень; В — легкое; Г — почка.

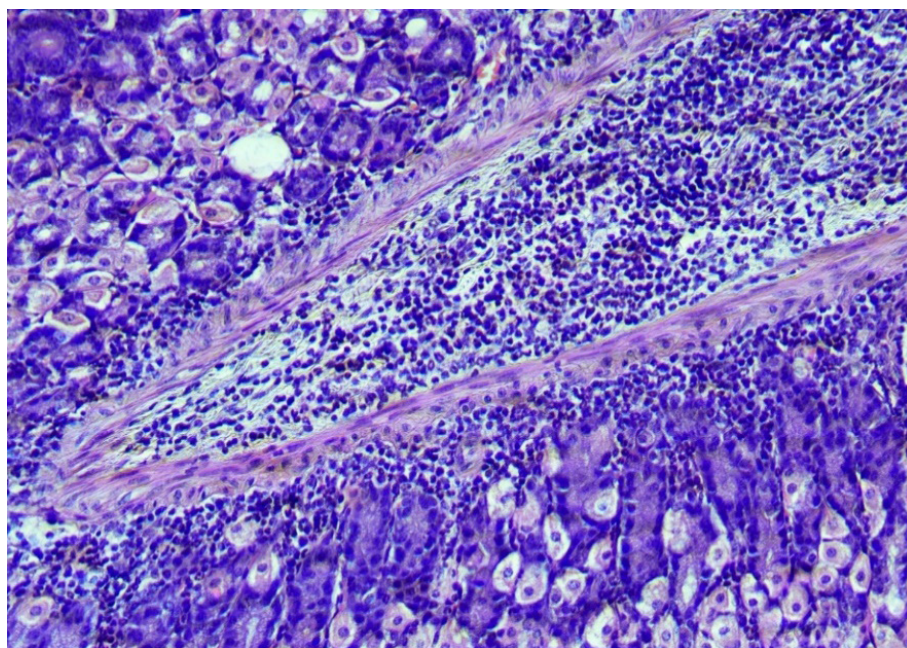


Рисунок 6 – Гистологическое стенки желудка мыши после перорального введения 2b в дозировке 2000 мкг/кг. Окраска гематоксилин+эозин, ×200.

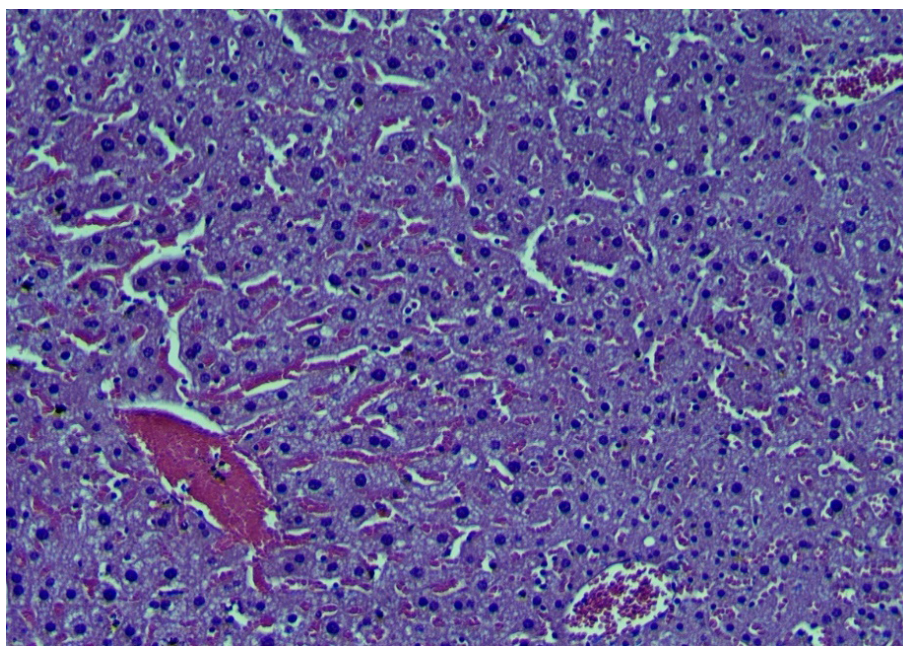


Рисунок 7 – Гистологическое строение печени мыши после перорального введения 2с в дозировке 2000 мкг/кг. Окраска гематоксилин+эозин, $\times 200$.

Таблица 1 – Результаты оценки класса токсичности исследуемых соединений

Шифр соединения	Число умерших животных			Класс токсичности	Значение LD ₅₀
	2000 мг/кг	300 мг/кг	50 мг/кг		
1a	0/1	–	–	класс 5: 2000–5000 мг/кг	2500 мг/кг
1b	1/2	0/0	–	класс 4: 300–2000 мг/кг	2000 мг/кг
1c	2	0/0	–	класс 4: 300–2000 мг/кг	1000 мг/кг
1d	3	0/0	–	класс 4: 300–2000 мг/кг	500 мг/кг
2a	1/0	–	–	класс 5: 2000–5000 мг/кг	2500 мг/кг
2b	0/0	–	–	класс 5 или не классифицируется >2000 мг/кг	5000 мг/кг
2c	2	1/0	–	класс 4: 300–2000 мг/кг	1000 мг/кг

Таблица 2 – Систолическое и диастолическое артериальное давление и коэффициент эндотелиальной дисфункции в экспериментальных группах ($M \pm SD$)

Группа (n=6)	САД, мм рт. ст.	ДАД, мм рт. ст.	КЭД
Интактные	106,5 $\pm$ 3,5	64,3 $\pm$ 3,3	1,01 $\pm$ 0,1
L-NAME	147,5 $\pm$ 4,2	89,5 $\pm$ 3,8*	4,15 $\pm$ 0,5*
L-NAME+1a	137,3 $\pm$ 9,7*	84,5 $\pm$ 6,0*	3,38 $\pm$ 1,1*
L-NAME+1b	118,7 $\pm$ 7,7**	72,8 $\pm$ 5,1**	1,47 $\pm$ 0,4**
L-NAME+1c	132,8 $\pm$ 9,39*	83,8 $\pm$ 6,3*	2,90 $\pm$ 0,8*
L-NAME+1d	136,3 $\pm$ 8,4*	83,2 $\pm$ 11,5*	3,57 $\pm$ 0,7*
L-NAME+2a	129,2 $\pm$ 8,6*	83,2 $\pm$ 7,9*	2,87 $\pm$ 0,9*
L-NAME+2b	130,5 $\pm$ 8,4*	85,5 $\pm$ 6,3*	3,31 $\pm$ 0,9*
L-NAME+2c	119,8 $\pm$ 8,2**	72,2 $\pm$ 6,1**	1,85 $\pm$ 0,6**

Примечания: САД — систолическое артериальное давление; ДАД — диастолическое артериальное давление.

* $p < 0,05$ при сравнении с группой интактных животных; ** $p < 0,05$ при сравнении с группой L-NAME.

Таблица 3 – Диапазон доз исследуемых соединений для проведения исследований фармакологической активности на животных моделях эндотелий-ассоциированной патологии

Шифр соединения	Предварительное значение LD ₅₀	1/10 от LD ₅₀	1/50 от LD ₅₀	1/100 от LD ₅₀
1a	2500 мг/кг	250 мг/кг	-	-
1b	2000 мг/кг	200 мг/кг	40 мг/кг	20 мг/кг
1c	1000 мг/кг	100 мг/кг	-	-
1d	500 мг/кг	50 мг/кг	-	-
2a	2500 мг/кг	250 мг/кг	-	-
2b	5000 мг/кг	500 мг/кг	-	-
2c	1000 мг/кг	100 мг/кг	20 мг/кг	10 мг/кг

Примечания: * $p < 0,05$ при сравнении с группой интактных животных; ** $p < 0,05$ при сравнении с группой L-NAME.

Таблица 4 – Систolicеское и диastolicеское артериальное давление и коэффициент эндотелиальной дисфункции в экспериментальных группах соединений-хитов (M±m)

Группа (n=6)	САД, мм рт. ст.	ДАД, мм рт. ст.	КЭД
Интakтные	106,5±3,5	64,3±3,3	1,01±0,1
L-NAME	147,5±4,2*	89,5±3,8*	4,15±0,5*
L-NAME+ 1b , 200 мг/кг	118,7±7,7**	72,8±5,1**	1,47±0,4**
L-NAME+ 1b , 40 мг/кг	119,2±6,4**	72,8±4,7**	1,6±0,4*
L-NAME+ 1b , 20 мг/кг	124,2±6,1*	79,6±8,3*	2,3±0,6*, **
L-NAME+ 2c , 100 мг/кг	119,8±8,2**	72,2±6,1**	1,85±0,6**
L-NAME+ 2c , 20 мг/кг	121,2±7**	77±7,9**	1,6±0,5*
L-NAME+ 2c , 10 мг/кг	130,2±8,3*	79,2±3,7*	2,8±0,7*

Примечания: САД — систolicеское артериальное давление; ДАД — диastolicеское артериальное давление.

* $p < 0,05$ при сравнении с группой интактных животных; ** $p < 0,05$ при сравнении с группой L-NAME.

Таблица 5 – Кардиopротективные эффекты изучаемых малых молекул при проведении нагрузочных проб в экспериментальных группах

Группа (n=6)	Нагрузка объёмом, мм рт. ст.	Адренореактивность, мм рт. ст.	Нагрузка сопротивлением, %
Интakтные	140,3±6,3	199,70±4,7	87,3±4,5
L-NAME	203,9±7,2*	254,65±8,5*	65,0±5,5*
L-NAME+ 1b , 200 мг/кг	165,9±8,6**	216,63±10,7**	83,1±6,7
L-NAME+ 1b , 40 мг/кг	170,3±7,2**	214,82±10,5**	79,1±6,3
L-NAME+ 1b , 20 мг/кг	192,5±11,5*	225,38±8,9**	73,1±8
L-NAME+ 2c , 100 мг/кг	160,6±6,4**	207,65±9,2**	81,4±6,1
L-NAME+ 2c , 20 мг/кг	157,9±5,7**	210,58±10,7**	84,3±4,4**
L-NAME+ 2c , 10 мг/кг	186,2±2,6**	231,27±10,7*	76,8±4,8

Примечания: * $p < 0,05$ при сравнении с группой интактных животных; ** $p < 0,05$ при сравнении с группой L-NAME.

Оценка кардиopротективной активности малых синтезированных молекул

Кардиopротективные эффекты оценивались для соединений-хитов **1b** и **2c** на мышах с L-NAME индуцированной ЭД. Проводились нагрузочные пробы и оценивались САД в левом желудочке и ЧСС. При L-NAME-индуцированной ЭД у животных снижались функциональные возможности миокарда, о чем говорит более выраженный рост САД в левом желудочке при перегрузке объёмом — 203,9±7,2 мм рт.ст. у контрольной группы с введением L-NAME; 140,3±6,3 мм рт.ст. у интактной группы ($p < 0,05$). При проведении пробы

на адренореактивность также регистрировалось статистически значимое повышение левожелудочкового давления при моделировании ЭД — 254,65±8,5 мм рт.ст. у контрольной группы с введением L-NAME; 199,70±4,7 мм рт.ст. у интактной группы ($p < 0,05$). Проба с нагрузкой сопротивлением демонстрировала статистически достоверное падение частоты сократимости миокарда с 5 по 25 сек пережатия аорты в группе с моделированием L-NAME-индуцированной ЭД — 65,0±5,5%, в сравнении с интактной группой — 87,3±4,5% ($p < 0,05$).

Соединения **1b** и **2c** продемонстрировали кардиopротективные эффекты, регистрируемые в

первую очередь повышением миокардиального резерва, восстановлением функциональных возможностей миокарда в ответ на нагрузку объемом и в пробе на адренореактивность, и в меньшей степени — при проведении нагрузки сопротивлением. Статистически значимые результаты соединения **1b** показало в 2 дозах — 1/10 от и 1/50 от LD₅₀ в пробе с нагрузкой объемом, и во всех 3 исследуемых дозах в пробе на адренореактивность по сравнению с группой L-NAME, достоверно снижая давление в левом желудочке ($p < 0,05$). Вещество **2c** продемонстрировало статистически значимый кардиопротекторный эффект в пробе с нагрузкой объемом во всех 3 исследуемых дозах и в 2 дозах — 1/10 и 1/50 от LD₅₀ в пробе на адренореактивность, снижая левожелудочковое давление ($p < 0,05$). В пробе с нагрузкой сопротивлением только соединение **2c** в дозе 1/50 от LD₅₀ достоверно увеличивало частоту сократимости миокарда с 5 по 25 сек пережатия аорты (табл. 5).

За последние десятилетия фармакологические вмешательства при данных патологиях значительно продвинулись вперед. Однако клиническое лечение ССЗ все еще довольно сложно, поскольку не существует признанного метода улучшения состояния всего сосудистого русла. Разработка лекарственных препаратов неотъемлемым образом связана с постоянным поиском, усовершенствованием существующих, а также развитием новых методов и подходов направленного конструирования молекул [14, 15].

В данном исследовании мы продемонстрировали эндотелио- и кардиопротективную активность новых синтезированных малых молекул из группы азагетероциклических соединений, предположительным механизмом которых является влияние на синтез или биодоступность NO в сосудистом русле. Примерами мишеней, которые участвуют в метаболизме NO, служат NOS (NO-синтаза) [16–18], аргиназа [19–21], DDAN (диметиларгининдиметиламиногидролаза) [22, 23], VEGFR2 (фактор роста эндотелия сосудов 2

типа), PDE5 (фосфодиэстераза 5 типа) [24, 25], B2AR (бета2-адренергический рецептор), ECE1 (эндотелин-превращающий фермент) [26], AT1 и AT2 (рецепторы ангиотензина 1 и 2) [27, 28], V4 [29]. Таким образом, возрастает интерес к поиску новых и изучению уже известных биомишеней и терапевтических стратегий для предотвращения и коррекции ЭД. Синтезирование малых молекул, влияющих на различные пути в патогенезе развития ЭД, является многообещающим в современной фармакологии ССЗ.

Ограничения исследования

Данное исследование выполнено на одной модели L-NAME-индуцированной ЭД. Для определения точного механизма действия исследуемых веществ требуется дальнейшее изучение их фармакологической активности на других моделях ЭД.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Синтезированные малые молекулы из группы фенольных и тиофенольных производных 2H-имидазолов под шифрами **1(b–d)** и **2c** относятся к 4 классу токсичности, а **1a** и **2(a, b)** — к 5 классу. Результаты данной серии экспериментов продемонстрировали, что представленные молекулы обладают эндотелиопротективными свойствами в дозе 1/10 от LD₅₀. Наиболее активными на модели L-NAME-индуцированной ЭД оказались вещества **1b** и **2c**, которые в 3 дозах (1/10, 1/50 и 1/100 от LD₅₀) показали не только статистически достоверную эндотелио-, но и кардиопротекторную активность. Проведенное исследование позволит сформировать представления о дальнейших направлениях химического синтеза и последующего применения малых молекул из группы азагетероциклических соединений. Возможности и перспективы применения синтезированных малых молекул из группы азагетероциклов при сердечно-сосудистых патологиях, обусловленных ЭД, являются перспективной областью фармации и медицины.

ФИНАНСОВАЯ ПОДДЕРЖКА

Исследование выполнено при финансовой поддержке Российского научного фонда в рамках научного проекта 23-63-10011 (Доступно по ссылке: <https://www.rscf.ru/project/23-63-10011/>).

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

ВКЛАД АВТОРОВ

О.А. Пученкова — участие в исследовании острой токсичности, забор органов для микро- и макроскопического изучения, моделирование эндотелиальной дисфункции и проведение нагрузочных миокардиальных проб, написание текста статьи; О.В. Щерблыкина — участие в исследовании острой токсичности, забор органов для микро- и макроскопического изучения, моделирование эндотелиальной дисфункции и проведение нагрузочных миокардиальных проб, статистическая обработка результатов эксперимента; Д.А. Костина — моделирование эндотелиальной дисфункции и проведение нагрузочных

миокардиальных проб; А.А. Болгов — участие в исследовании острой токсичности, гистологическое исследование; П.Р. Лебедев — моделирование эндотелиальной дисфункции и проведение нагрузочных миокардиальных проб, формализация списка литературы; В.В. Молчанов — уход за животными, подготовка экспериментальных групп животных, введение препаратов; Т.Г. Покровская — консультация по вопросам проведения отдельных этапов экспериментальных работ, обеспечение качества исследования; М.В. Корокин — создание идеи, планирование исследования, консультация по вопросам проведения отдельных этапов экспериментальных работ, обеспечение качества исследования; Е.А. Никифоров, Н.Ф. Васькина, Т.А. Идрисов — синтез экспериментальных веществ; Т.Д. Мосеев, В.В. Мелехин — синтез экспериментальных веществ, написание статьи; М.В. Вараксин, В.Н. Чарушин, О.Н. Чупахин — синтез экспериментальных веществ, консультация по вопросам проведения отдельных этапов экспериментальных работ. Все авторы сделали эквивалентный и равнозначный вклад в подготовку публикации.

Все авторы подтверждают соответствие своего авторства международным критериям ICMJE (все авторы внесли существенный вклад в разработку концепции и подготовку статьи, прочли и одобрили финальную версию перед публикацией).

БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

1. Su J.B. Vascular endothelial dysfunction and pharmacological treatment // *World J Cardiol.* – 2015. – Vol. 7, No. 11. – P. 719–41. DOI: 10.4330/wjc.v7.i11.719
2. Kolesnichenko P.D., Shcheblykin D.V., Demidenko A.N., Reznikov K.M., Azeez A.M.A., Zhuchenko M.A., Demchenko S.A., Shcheblykina O.V. Modeling L-name induced nitric oxide deficiency considering the the cardio-and endothelial protective effects // *Research Results in Pharmacology.* – 2019. – Vol. 11, No 4. – P. 1618–24. DOI: 10.31838/ijpr/2019.11.04.0320
3. Strassheim D., Verin A., Batori R., Nijmeh H., Burns N., Kovacs-Kasa A., Umapathy N.S., Kotamarthi J., Gokhale Y.S., Karoor V., Stenmark K.R., Gerasimovskaya E. P2Y Purinergic Receptors, Endothelial Dysfunction, and Cardiovascular Diseases // *Int J Mol Sci.* – 2020. – Vol. 21, No. 18. – P. 6855. DOI: 10.3390/ijms21186855
4. Shcheblykin D.V., Bolgov A.A., Pokrovskii M.V., Stepenko J.V., Tsvetkova J.M., Shcheblykina O.V., Golubinskaya P.A., Korokina L.V. Endothelial dysfunction: developmental mechanisms and therapeutic strategies // *Research Results in Pharmacology.* – 2022. – Vol. 8, No. 4. – P. 115–39. DOI: 10.3897/rrpharmacology.8.80376
5. Maujean T., Girard N., Ganesan A., Gulea M., Bonnet D. Three cheers for nitrogen: aza-DKPs, the aza analogues of 2,5-diketopiperazines // *RSC Adv.* – 2020. – Vol. 10, No. 71. – P. 43358–70. DOI: 10.1039/d0ra09457a
6. Rani N., Singh R., Kumar P. Imidazole and Derivatives Drugs Synthesis: A Review // *Curr Org Synth.* – 2023. – Vol. 20, No. 6. – P. 630–62. DOI: 10.2174/1570179420666221118100525
7. Cornec A.S., Monti L., Kovalevich J., Makani V., James M.J., Vijayendran K.G., Oukoloff K., Yao Y., Lee V.M., Trojanowski J.Q., Smith A.B 3rd, Brunden K.R., Ballatore C. Multitargeted Imidazoles: Potential Therapeutic Leads for Alzheimer's and Other Neurodegenerative Diseases // *J Med Chem.* – 2017. – Vol. 60, No. 12. – P. 5120–45. DOI: 10.1021/acs.jmedchem.7b00475
8. Ganesh K.N., Zhang D., Miller S.J., Rossen K., Chirik P.J., Kozlowski M.C., Zimmerman J.B., Brooks B.W., Savage P.E., Allen D.T., Voutchkova-Kostal A.M. Green Chemistry: A Framework for a Sustainable Future // *Environ Sci Technol.* – 2021. – Vol. 55, No. 13. – P. 8459–63. DOI: 10.1021/acs.est.1c03762
9. Zlotin S.G., Egorova K.S., Ananikov V.P., et al. The green chemistry paradigm in modern organic synthesis. *Russ Chem Rev.* – 2023. – Vol. 92, No. 12. – P. RCR5104.
10. Scioli M.G., Storti G., D'Amico F., Rodríguez Guzmán R., Centofanti F., Doldo E., Céspedes Miranda E.M., Orlandi A. Oxidative Stress and New Pathogenetic Mechanisms in Endothelial Dysfunction: Potential Diagnostic Biomarkers and Therapeutic Targets // *J Clin Med.* – 2020. – Vol. 9, No. 6. – P. 1995. DOI: 10.3390/jcm9061995
11. Moseev T.D., Nikiforov E.A., Varaksin M.V., Charushin V.N., Chupakhin O.N. Metal-Free C-H/C-H Coupling of 2H-Imidazole 1-Oxides with Polyphenols toward Imidazole-Linked Polyphenolic Compounds // *J Org Chem.* – 2021. – Vol. 86, No. 19. – P. 13702–10. DOI: 10.1021/acs.joc.1c01796
12. Nikiforov E.A., Vaskina N.F., Moseev T.D., Varaksin M.V., Charushin V.N., Chupakhin O.N. Metal-Free Eliminative C-H Arylthiolation of 2H-Imidazole N-Oxides with Thiophenols // *Chemistry.* – 2023. – Vol. 5, No. 3. – P. 1477–87. DOI: 10.3390/chemistry5030100
13. Штабский Б.М., Гжегоцкий М.И., Гжегоцкий М.Д., Кудрина В.Н., Маненко А.К., Федоренко В.И. К методике определения среднесмертельных доз и концентраций химических веществ // *Санитария и гигиена.* – 1980. – № 10. – С. 49–51.
14. Medina-Leyte D.J., Zepeda-García O., Domínguez-Pérez M., González-Garrido A., Villarreal-Molina T., Jacobo-Albavera L. Endothelial Dysfunction, Inflammation and Coronary Artery Disease: Potential Biomarkers and Promising Therapeutic Approaches // *Int J Mol Sci.* – 2021. – Vol. 22, No. 8. – P. 3850. DOI: 10.3390/ijms22083850
15. Korokina L.V., Golubev I.V., Pokopejko O.N., Zagrebelnaya A.V., Demchenko S.A. Search for new pharmacological targets for increasing the efficiency of correction of cardiovascular diseases // *Research Results in Pharmacology.* – 2019. – Vol. 5, No. 3. – P. 67–77. DOI: 10.3897/rrpharmacology.5.39521
16. Cyr A.R., Huckaby L.V., Shiva S.S., Zuckerbraun B.S. Nitric Oxide and Endothelial Dysfunction // *Crit Care Clin.* – 2020. – Vol. 36, No. 2. – P. 307–21. DOI: 10.1016/j.ccc.2019.12.009
17. Förstermann U., Sessa W.C. Nitric oxide synthases: regulation and function // *Eur Heart J.* – 2012. – Vol. 33, No. 7. – P. 829–37, 837a–837d. DOI: 10.1093/eurheartj/ehs304
18. Lind M., Hayes A., Caprnda M., Petrovic D., Rodrigo L., Kruzliak P., Zulli A. Inducible nitric oxide synthase: Good or bad? // *Biomed Pharmacother.* – 2017. – Vol. 93. – P. 370–5. DOI: 10.1016/j.biopha.2017.06.036
19. Minozzo B.R., Fernandes D., Beltrame F.L. Phenolic Compounds as Arginase Inhibitors: New Insights Regarding Endothelial Dysfunction Treatment // *Planta Med.* – 2018. – Vol. 84, No. 5. – P. 277–95. DOI: 10.1055/s-0044-100398

20. Wang L., Bhatta A., Toque H.A., Rojas M., Yao L., Xu Z., Patel C., Caldwell R.B., Caldwell R.W. Arginase inhibition enhances angiogenesis in endothelial cells exposed to hypoxia // *Microvasc Res.* – 2015. – Vol. 98. – P. 1–8. DOI: 10.1016/j.mvr.2014.11.002
21. Kavalukas S.L., Uzgaré A.R., Bivalacqua T.J., Barbul A. Arginase inhibition promotes wound healing in mice // *Surgery.* – 2012. – Vol. 151, No. 2. – P. 287–95. DOI: 10.1016/j.surg.2011.07.012
22. Dimitroulas T., Sandoo A., Kitas G.D. Asymmetric dimethylarginine as a surrogate marker of endothelial dysfunction and cardiovascular risk in patients with systemic rheumatic diseases // *Int J Mol Sci.* – 2012. – Vol. 13, No. 10. – P. 12315–35. DOI: 10.3390/ijms131012315
23. Lee T.S., Lu T.M., Chen C.H., Guo B.C., Hsu C.P. Hyperuricemia induces endothelial dysfunction and accelerates atherosclerosis by disturbing the asymmetric dimethylarginine/dimethylarginine dimethylaminotransferase 2 pathway // *Redox Biol.* – 2021. – Vol. 46. – P. 102108. DOI: 10.1016/j.redox.2021.102108
24. Kass D.A., Champion H.C., Beavo J.A. Phosphodiesterase type 5: expanding roles in cardiovascular regulation // *Circ Res.* – 2007. – Vol. 101, No. 11. – P. 1084–95. DOI: 10.1161/CIRCRESAHA.107.162511
25. Aversa A., Letizia C., Francomano D., Bruzziches R., Natali M., Lenzi A. A spontaneous, double-blind, double-dummy cross-over study on the effects of daily vardenafil on arterial stiffness in patients with vasculogenic erectile dysfunction // *Int J Cardiol.* – 2012. – Vol. 160, No. 3. – P. 187–91. DOI: 10.1016/j.ijcard.2011.04.003
26. Kuruppu S., Smith A.I. Endothelin Converting Enzyme-1 phosphorylation and trafficking // *FEBS Lett.* – 2012. – Vol. 586, No. 16. – P. 2212–7. DOI: 10.1016/j.febslet.2012.06.020
27. Kossmann S., Hu H., Steven S., Schönfelder T., Fraccarollo D., Mikhed Y., Brähler M., Knorr M., Brandt M., Karbach S.H., Becker C., Oelze M., Bauersachs J., Widder J., Münzel T., Daiber A., Wenzel P. Inflammatory monocytes determine endothelial nitric-oxide synthase uncoupling and nitro-oxidative stress induced by angiotensin II // *J Biol Chem.* – 2014. – Vol. 289, No. 40. – P. 27540–50. DOI: 10.1074/jbc.M114.604231
28. Watanabe T., Barker T.A., Berk B.C. Angiotensin II and the endothelium: diverse signals and effects // *Hypertension.* – 2005. – Vol. 45, No. 2. – P. 163–9. DOI: 10.1161/01.HYP.0000153321.13792.b9
29. Landmesser U., Dikalov S., Price S.R., McCann L., Fukai T., Holland S.M., Mitch W.E., Harrison D.G. Oxidation of tetrahydrobiopterin leads to uncoupling of endothelial cell nitric oxide synthase in hypertension // *J Clin Invest.* – 2003. – Vol. 111, No. 8. – P. 1201–1209. DOI: 10.1172/JCI14172

АВТОРЫ

Пученкова Олеся Андреевна – аспирант кафедры фармакологии и клинической фармакологии ФГАОУ ВО «Белгородский государственный национальный исследовательский университет» (НИУ «БелГУ»). ORCID ID: 0000-0002-7657-0937. E-mail: lesya759@yandex.ru

Щеблыкина Олеся Викторовна – кандидат медицинских наук, доцент кафедры фармакологии и клинической фармакологии ФГАОУ ВО «Белгородский государственный национальный исследовательский университет» (НИУ «БелГУ»). ORCID ID: 0000-0003-0346-9835. E-mail: shcheblykina@bsu.edu.ru

Костина Дарья Андреевна – кандидат медицинских наук, доцент кафедры фармакологии и клинической фармакологии ФГАОУ ВО «Белгородский государственный национальный исследовательский университет» (НИУ «БелГУ»). ORCID ID: 0000-0002-4505-3988. E-mail: kostina_da@bsu.edu.ru

Болгов Антон Алексеевич – аспирант кафедры патологии ФГАОУ ВО «Белгородский государственный национальный исследовательский университет» (НИУ «БелГУ»). ORCID ID: 0000-0001-9708-8181. E-mail: toxabolgovv@mail.ru

Лебедев Петр Романович – младший научный сотрудник лаборатории генетических технологий и геномного редактирования для биомедицины и ветеринарии ФГАОУ ВО «Белгородский государственный национальный исследовательский университет» (НИУ «БелГУ»). ORCID ID: 0000-0001-9102-3360. E-mail: Artkelt98@yandex.ru

Молчанов Владимир Васильевич – аспирант кафедры фармакологии и клинической фармакологии, ФГАОУ ВО «Белгородский государственный национальный исследовательский университет» (НИУ «БелГУ»). E-mail: 1685114@bsu.edu.ru

Покровская Татьяна Григорьевна – доктор медицинских наук, доцент, профессор кафедры фармакологии и клинической фармакологии, ФГАОУ ВО «Белгородский государственный национальный исследовательский университет» (НИУ «БелГУ»). ORCID ID: 0000-0001-6802-5368. E-mail: pokrovskaya@bsu.edu.ru

Корокин Михаил Викторович – доктор медицинских наук, доцент, профессор кафедры фармакологии и клинической фармакологии, ФГАОУ ВО «Белгородский государственный национальный исследовательский университет» (НИУ «БелГУ»). ORCID ID: 0000-0001-5402-0697. E-mail: mkorokin@mail.ru

Никифоров Егор Александрович – инженер-исследователь лаборатории перспективных материалов, зеленых методов и биотехнологий Научно-образовательного и инновационного центра химико-фармацевтических технологий ХТИ ФГАОУ ВО «УрФУ им. первого Президента России Б.Н. Ельцина». ORCID ID: 0000-0003-1021-1664. E-mail: e.a.nikiforov@urfu.ru

Васькина Наилия Фирдавиевна – лаборант-исследователь кафедры органической и биомолекулярной химии ХТИ ФГАОУ ВО «УрФУ им. первого Президента России Б.Н. Ельцина». E-mail: nailia.vaskina@urfu.ru

Идрисов Таир Амурович – инженер-исследователь лаборатории перспективных материалов, зеленых методов и биотехнологий Научно-образовательного и инновационного центра химико-фармацевтических технологий ХТИ ФГАОУ ВО «УрФУ им. первого Президента России Б.Н. Ельцина». ORCID ID: 0009-0001-0394-5398. E-mail: tair.idrisov@urfu.ru

Мосеев Тимофей Дмитриевич – кандидат химических наук, доцент Научно-образовательного и инновационного центра химико-фармацевтических технологий ХТИ ФГАОУ ВО «УрФУ им. первого Президента России Б.Н. Ельцина». ORCID ID: 0000-0003-3341-5838. E-mail: timofey.moseev@urfu.ru

Мелехин Всеволод Викторович – кандидат медицинских наук, заведующий лабораторией первичного биоскрининга, клеточных и генных технологий Научно-образовательного и инновационного центра химико-фармацевтических технологий ХТИ ФГАОУ ВО «УрФУ им. первого Президента России Б.Н. Ельцина». ORCID ID: 0000-0003-3107-8532. E-mail: v.v.melekhin@urfu.ru

Вараксин Михаил Викторович – доктор химических наук, профессор кафедры органической и биомолекулярной химии, ведущий научный

сотрудник Лаборатории перспективных материалов, зеленых методов и биотехнологий Научно-образовательного и инновационного центра химико-фармацевтических технологий ХТИ ФГАОУ ВО «УрФУ им. первого Президента России Б.Н. Ельцина»; научный сотрудник лаборатории координационных соединений ФГБУН «Институт органического синтеза им. И.Я. Постовского» УрО РАН. ORCID ID: 0000-0002-7997-3686. E-mail: m.v.varaksin@urfu.ru

Чарушин Валерий Николаевич – доктор химических наук, профессор кафедры органической и биомолекулярной химии ХТИ ФГАОУ ВО «УрФУ им. первого Президента России Б.Н. Ельцина»; главный научный сотрудник, заведующий лабораторией гетероциклических соединений ФГБУН «Институт органического синтеза им. И.Я. Постовского» УрО РАН, академик РАН. ORCID ID: 0000-0002-9140-358X. E-mail: charushin@ios.uran.ru

Чупахин Олег Николаевич – доктор химических наук, профессор кафедры органической и биомолекулярной химии ХТИ ФГАОУ ВО «УрФУ им. первого Президента России Б.Н. Ельцина»; заведующий лабораторией координационных соединений ФГБУН «Институт органического синтеза им. И.Я. Постовского» УрО РАН, академик РАН. ORCID ID: 0000-0002-1672-2476. E-mail: chupakhin@ios.uran.ru