

ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ АВТОНОМНОЕ ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ
УЧРЕЖДЕНИЕ ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ ПЕРВЫЙ МОСКОВСКИЙ
ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ ИМЕНИ
И.М. СЕЧЕНОВА МИНИСТЕРСТВА ЗДРАВООХРАНЕНИЯ
РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ (СЕЧЕНОВСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ)

На правах рукописи



Крылова Ирина Дмитриевна

**Кардиопротективные свойства новых производных
7-тиетанилксантинов**

3.3.6. Фармакология, клиническая фармакология

Диссертация
на соискание ученой степени
кандидата медицинских наук

Научный руководитель:
доктор медицинских наук, доцент
Самородов Александр Владимирович

Москва – 2026

ОГЛАВЛЕНИЕ

ВВЕДЕНИЕ.....	4
ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ.....	12
1.1. Механизмы кардиопротекции.....	12
1.1.1. Фундаментальные механизмы эндогенной кардиопротекции: феномены ишемического пре- и посткондиционирования.....	12
1.1.2. Сигнальные пути кардиопротекции.....	17
1.1.3. Роль убиквитин-специфической протеазы 28.....	21
1.2. Фармакологическая кардиопротекция: обзор современных препаратов....	28
1.3. Биологические свойства ксантинов: обзор молекулярных механизмов и фармакологического потенциала.....	34
ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ.....	39
2.1. Скрининг антиагрегационной активности производных ксантина <i>in vitro</i>	45
2.2. Скрининг кардиопротективной активности производных ксантина <i>ex vivo</i> на модели изолированного сердца по методу Лангендорфа.....	46
2.3. Молекулярный докинг.....	51
2.4. Исследование эффективности Соединения 1 на модели инфаркта миокарда <i>in vivo</i>	57
2.5. Статистическая обработка данных.....	61
ГЛАВА 3. РЕЗУЛЬТАТЫ СОБСТВЕННЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ.....	62
3.1. Результаты скрининга антиагрегационной активности производных 7-тиетанилксантина <i>in vitro</i>	62
3.2. Результаты скрининга кардиопротективной активности производных 7-тиетанилксантина <i>ex vivo</i> на модели изолированного сердца по методу Лангендорфа.....	63
3.3. Оценка кардиопротективного эффекта и токсичности Соединения 1 <i>in vivo</i> на лабораторных животных.....	67

3.4. Результаты молекулярного докинга Соединения 1	68
3.5. Иммуногистохимический анализ влияния Соединения 1 на деубиквитинирование в условиях ишемии миокарда изолированных сердец.....	74
3.6. Исследование эффективности Соединения 1 на модели инфаркта миокарда <i>in vivo</i>	79
ЗАКЛЮЧЕНИЕ.....	89
ВЫВОДЫ.....	90
ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ.....	92
СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ.....	93
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ.....	95
ПРИЛОЖЕНИЕ А. Результаты оценки кардиофизиологических показателей и кардиоспецифических ферментов при ишемии и реперфузии в контрольных точках.....	128
ПРИЛОЖЕНИЕ Б. Результаты интеллектуальной деятельности.....	130

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность темы исследования

Инфаркт миокарда (ИМ) – наиболее тяжелая клиническая форма ишемической болезни сердца (ИБС), которой страдают более 7 миллионов человек во всем мире, и одна из главных причин смертности среди трудоспособного населения [55, 120]. Согласно данным Федеральной службы государственной статистики, в последние годы отмечается рост заболеваемости ИМ. Так, в 2020 году данный показатель составил 154 тысячи человек, тогда как в 2024 году – 170,1 тысячи человек. При этом, согласно данным Автоматизированной системы мониторинга медицинской статистики, летальность в региональных сосудистых центрах составила 7,9 % за 6 месяцев в 2025 году, что демонстрирует увеличение смертности на 0,1 % по сравнению с 2024 годом.

Несмотря на совершенствование методов реперфузионной терапии и фармакологической протекции миокарда, пациенты, перенесшие ИМ, страдают от прогрессирующей гибели кардиомиоцитов и формирования ремоделирования сердца, что приводит к развитию сердечной недостаточности [3, 247]. В связи с этим можно утверждать, что наиболее обширное изучение патогенетических механизмов ИМ, а также поиск новых терапевтических мишеней позволит разработать эффективные стратегии лечения и профилактики ишемического повреждения миокарда. В поиске мишеней для защиты миокарда особое внимание сегодня уделяется убиквитинированию.

Процесс убиквитинирования – обратимое, строго контролируемое связывание убиквитина с образованием убиквитиновых цепей, регулирующие процессы деградации белка, клеточного цикла, восстановления дезоксирибонуклеиновых кислот (ДНК) и иммунного ответа. Деубиквитинирование как основной механизм отрицательной регуляции вышеописанного явления ингибирует процессы деградации белка посредством детекции и лизиса цепей убиквитина при помощи деубиквитираз [153, 239].

Значение регуляции убиквитин-протеасомной системы (УПС) описано в исследованиях, посвященных таким патологиям, как онкологические и нейродегенеративные заболевания. Кроме того, работы последних лет подтверждают влияние УПС на развитие сердечно-сосудистых заболеваний [41, 239, 247, 249].

Апоптоз является ключевым процессом в патогенезе ИМ и сердечной дисфункции. Как одна из важнейших посттрансляционных модификаций, убиквитинирование играет важную роль не только в регуляции деградации белков, но и в регуляции клеточного цикла, презентации антигена, передаче иммунного сигнала, регуляции транскрипции и апоптозе. Процесс деубиквитинизации позволяет распознавать и расщеплять цепи убиквитина с помощью серии деубиквитиназ. В последнее время все больше исследований подтверждают, что деубиквитиназы, распознавая различные субстратные белки и регулируя сигнальные механизмы, являются ключевым регулятором в развитии сердечных заболеваний. Разработка препаратов, терапевтической мишенью которых выступает УПС, является одним из современных направлений фармакологии в области кардиологии.

Степень разработанности темы исследования

ИМ ассоциирован с высоким риском смертности и инвалидизации среди трудоспособного населения. Патолофизиологические аспекты, включающие два важных звена: острую коронарную окклюзию вследствие тромбообразования и ишемически-реперфузионное повреждение после рентгенэндоваскулярного вмешательства, диктуют необходимость внедрения новых терапевтических стратегий, направленных на поиск и применение фармакологических агентов, сочетающих действие на систему гемостаза и обладающих выраженным кардиопротективным действием.

Производные ксантина относятся к числу наиболее изученных природных соединений, однако в отечественной и мировой литературе недостаточно данных

об их влиянии на систему гемостаза. Результаты предыдущих собственных исследований по разработке антиагрегантов среди гетероциклических соединений, близких по химической природе (производные ксантина и изатина (препарат «Ангипур»)), обосновывают целесообразность поиска среди новых производных 7-тиетанилксантина соединения-лидера, обладающего мультимодальным действием, сочетающим антиагрегационный и кардиопротективный эффекты за счет воздействия на новую мишень регуляции кардиопротективных сигнальных путей – убиквитин-специфическую протеазу 28 (USP28).

Цель и задачи исследования

Цель диссертационного исследования – поиск и оценка кардиопротективной активности ряда производных 7-тиетанилксантина.

Для достижения цели были поставлены следующие задачи:

1. Проанализировать антиагрегационную активность 13 новых производных 7-тиетанилксантина на систему гемостаза *in vitro*.
2. Изучить кардиопротективные свойства 13 новых производных 7-тиетанилксантина *ex vivo* на модели изолированного сердца по методу Лангендорфа с идентификацией наиболее перспективного соединения-лидера.
3. Исследовать механизм кардиопротективного действия соединения-лидера.
4. Оценить кардиопротективную эффективность соединения-лидера на модели инфаркта миокарда *in vivo*.

Научная новизна

Впервые были проведены исследования антиагрегационной активности 13 новых производных 7-тиетанилксантина *in vitro* и их кардиопротективной активности *ex vivo* на модели изолированного сердца по методу Лангендорфа. Установлено, что кардиопротективные эффекты наиболее активного соединения (1,3-диметил-8-(4-метилпиперазин-1-ил)-7-(тиетан-3-ил)-1Н-пурин-2,6(3Н,7Н)-

дион гидрохлорида) под шифром 5-а-с в исследуемом ряду связаны с активацией деубиквитирующего фермента USP28 – новой потенциальной мишени кардиопротективной терапии.

Теоретическая и практическая значимость работы

Установлен кардиопротекторный механизм действия 1,3-диметил-8-(4-метилпиперазин-1-ил)-7-(тиетан-3-ил)-1Н-пурин-2,6(3Н,7Н)-дион гидрохлорида, заключающийся в активации деубиквитирующего фермента USP28 – ранее неизученной мишени защиты миокарда, а также определена целесообразность дальнейших доклинических и клинических испытаний. В рамках скрининга кардиопротективной активности создана программа ЭВМ для автоматизированного подсчета зон ишемического повреждения. Данные, полученные в рамках исследования, позволили провести дальнейший поиск в ряду производных 7-тиетанилксантина соединений, обладающих кардиопротективным действием.

Методология и методы исследования

Исследования проводились согласно требованиям «Руководства по проведению доклинических исследований лекарственных средств» (Москва, 2012), Приказа Министерства здравоохранения Российской Федерации от 18.05.2021 № 464н «Об утверждении Правил проведения лабораторных исследований», а также «Правилам надлежащей лабораторной практики Евразийского экономического союза в сфере обращения лекарственных средств» (2016).

Исследования проведены на базе кафедры фармакологии Института фармации имени А.П. Нелюбина ФГАОУ ВО Первый МГМУ имени И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет) и одобрены на заседании Локального этического Комитета ФГАОУ ВО Первый МГМУ имени И.М.

Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет) (протокол № 25-25 от 15.12.2025).

Для достижения поставленной цели и решения задач диссертации применялись следующие фармакологические методики: исследование антиагрегантной активности с применением индукторов агрегации тромбоцитов, изучение кардиопротективных свойств на модели изолированного сердца *ex vivo*, регистрация кардиофизиологических параметров, биохимическое исследование кардиоспецифических ферментов, моделирование инфаркта *in vivo*, изучение уровня экспрессии убиквитина при помощи иммуноферментного анализа, макроскопическая оценка срезов миокарда при помощи окраски 2,3,5-трифенилтетразолия хлорида (ТТС), индоцианина зеленого (ICG), морфологическое исследование, а также иммуногистохимическое исследование срезов миокарда.

Личный вклад автора

Соискатель принимал участие в планировании и организации научной работы, а также в выборе экспериментальных методик. Автором выполнены обработка, количественный и качественный анализ данных, а также оценка результатов экспериментального исследования. Результаты работы докладывались на научных конференциях и нашли отражение в публикациях, подготовленных диссертантом. Автором работы сформулированы выводы, а также положения, выносимые на защиту. Диссертация написана лично автором.

Положения, выносимые на защиту

1. Производные 7-тиетанилксантина представляют собой перспективный ряд соединений для поиска и изучения эффективных средств с мультимодальным действием.

2. Соединение 1,3-диметил-8-(4-метилпиперазин-1-ил)-7-(тиетан-3-ил)-1Н-пурин-2,6(3Н,7Н)-дион гидрохлорид обладает мультимодальным эффектом (по уровню антиагрегационной активности превосходит Ацетилсалициловую кислоту, по степени кардиопротекции – Метопролол).

3. Соединение 1,3-диметил-8-(4-метилпиперазин-1-ил)-7-(тиетан-3-ил)-1Н-пурин-2,6(3Н,7Н)-дион гидрохлорид является эффективным кардиопротектором в эксперименте *in vivo*, механизм действия которого опосредован активацией деубиквитинирующего фермента USP28.

Соответствие диссертации паспорту научной специальности

Диссертационное исследование соответствует 1, 3, 5 и 6 пунктам Паспорта научной специальности 3.3.6. Фармакология, клиническая фармакология.

Степень достоверности и апробация результатов

Достоверность полученных результатов и обоснованность выводов обеспечены применением валидированных экспериментальных методик и адекватных методов исследования. Молекулярный докинг проведен на общедоступных платформах с применением стандартных протоколов. Анализ и систематизация полученных данных выполнены при помощи статистической обработки данных.

Основные результаты и материалы диссертации доложены и обсуждены на VI съезде фармакологов России «Смена поколений и сохранение традиций. Новые идеи – новые лекарства» (Москва, Россия, 2023 г.), I Междисциплинарной Всероссийской молодежной научной школе-конференции с международным участием «Молекулярный дизайн биологически активных веществ: биохимические и медицинские аспекты» (Казань, Россия, 2023 г.), II Междисциплинарной Всероссийской молодежной научной школе-конференции с международным участием «Молекулярный дизайн биологически активных веществ: биохимические

и медицинские аспекты» (Казань, Россия, 2024 г.), Всероссийской конференции с международным участием, посвященной 100-летию со дня рождения академика АМН СССР Артура Викторовича Вальдмана «Трансляционный мост: Экспериментальная фармакология – клинической медицине» (Санкт-Петербург, Россия, 2024 г.), XVII Всероссийской научно-практической конференции с международным участием «Здоровье человека в XXI веке. Качество жизни» (Казань, Россия, 2025 г.), Третьей Всероссийской школе-конференции по медицинской химии для молодых ученых с международным участием (Уфа, Россия, 2025 г.), 33-м конгрессе Международного общества по тромбозу и гемостазу (Вашингтон, США, 2025 г.), форуме анестезиологов и реаниматологов России (ФАРР-2025, Санкт-Петербург, Россия, 2025 г.).

Внедрение результатов исследования

Научные положения работы, выводы, методические рекомендации внедрены в научно-исследовательскую и образовательную деятельность кафедры фармакологии Института фармации имени А.П. Нелюбина ФГАОУ ВО Первый МГМУ имени И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет), Научно-исследовательского института общей реаниматологии имени В.А. Неговского ФГБНУ «Федеральный научно-клинический центр реаниматологии и реабилитологии» по направлению темы государственного задания «Гипоксия критических состояний – ведущие механизмы развития, персонализированная диагностика и лечение» в рамках деятельности лаборатории экспериментальных исследований кафедры фармакологии ФГБОУ ВО «Пермская государственная фармацевтическая академия» Министерства здравоохранения Российской Федерации по направлению «Фармакологический скрининг продуктов органического синтеза и природных соединений. Доклинические исследования лекарственных средств», «Целенаправленный синтез биологически активных соединений и выявление связей и закономерностей между строением и свойствами веществ».

Публикации по теме диссертации

Всего по теме диссертации опубликованы 22 научные работы, из них – 3 статьи, изданных в журналах, индексируемых в международных базах данных Scopus и Web of Science, 2 статьи – в журналах, рекомендованных Высшей аттестационной комиссией при Министерстве науки и высшего образования Российской Федерации для публикации результатов диссертационных исследований по специальности 3.3.6. Фармакология, клиническая фармакология, 2 – иные, 3 патента на изобретение, 3 свидетельства о регистрации базы данных, 1 свидетельство о регистрации программы для ЭВМ. Основные результаты и материалы диссертации доложены и обсуждены на 8 конференциях.

Структура и объем диссертации

Диссертация изложена на 136 страницах машинописного текста, иллюстрирована 34 рисунками, 10 таблицами. Состоит из введения, обзора литературы, материалов и методов, главы собственных исследований, выводов, практических рекомендаций, 1 приложения и списка литературы, включающего 55 отечественных и 212 зарубежных источников.

ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

1.1. Механизмы кардиопротекции

1.1.1. Фундаментальные механизмы эндогенной кардиопротекции: феномены ишемического пре- и посткондиционирования

Одним из фундаментальных прорывов в области кардиопротекции стало открытие феномена ишемического прекондиционирования С.Е. Murry и соавторами [165] в 1986 году. Ишемическое прекондиционирование (ИПК) – это способность органа или ткани, связанная с адаптацией к транзиторному ишемическому стрессу посредством индукции серии нелетальных кратковременных циклов ишемии / реперфузии [18, 210]. Установлено, что стимул ИПК вызывает два различных окна кардиозащиты. Первое окно возникает сразу после стимула ИПК и длится 2-3 часа («классическое ИПК», «острое ИПК», «ранняя фаза»), после чего эффект ослабевает и исчезает. Второе окно возникает через 12-24 часа и длится 48-72 часа («отсроченное ИПК», «второе окно защиты», «поздняя фаза») [118]. Известно, что ИПК реализует кардиопротективные эффекты посредством активации выработки различных биологически активных веществ кардиомиоцитами, в основном медиаторами ранней фазы: аденозином [65], брадикинином [203], эндогенными опиоидами, а также с помощью механизмов поздней фазы, опосредованных геномным ответом, повышающим экспрессию защитных белков (антиоксидантных ферментов, антиапоптотических и стрессовых белков), которые, связываясь с цитоплазматической мембраной, активируют сигнальные пути [5, 7, 143].

ИПК можно разделить на два основных вида: локальное ишемическое прекондиционирование (ЛИПК) и дистантное ишемическое прекондиционирование (ДИПК), которые, несмотря на активацию схожих кардиопротективных сигнальных путей (активация протеинкиназы C, активация киназы, спасающей от реперфузионного повреждения (RISK), открытие

митохондриального АТФ-чувствительного калиевого канала (mitoK-АТР)), отличаются между собой механизмами их инициации.

Начало экспериментального изучения ИПК и его применения в клинической практике было связано с использованием ЛИПК, которое реализуется посредством пережатия коронарных артерий или аорты. Так, первое ЛИПК было описано в 1993 году у пациентов, перенесших операцию аортокоронарного шунтирования (АКШ) [17, 262]. Еще одним примером применения ЛИПК в клинической практике стало исследование 2006 года, когда в ходе кардиохирургического вмешательства после начала искусственного кровообращения (ИК) было выполнено два цикла ишемии путем пережатия аорты [52, 53, 95, 175]. Основным фактором, существенно ограничивающим использование ЛИПК в клинической практике, выступает риск развития осложнений, обусловленных необходимостью повторного пережатия аорты, и связанный с этим повышенный риск эмболии фрагментами атеросклеротических бляшек [29, 51, 59].

Альтернативой ЛИПК, пригодной для применения в кардиохирургической практике, является ДИПК [91]. Данный подход впервые описан в 1993 году в ходе эксперимента по обеспечению кардиопротекции за счет кратковременной ишемии в удаленных от сердца сосудистых бассейнах [197, 261]. Возможность клинического применения и эффективность ДИПК во время оперативных вмешательств впервые продемонстрировано М. Cheung и соавторами в 2006 году [199]. Этот метод привлек значительное внимание научного сообщества благодаря неинвазивности применения и возможности протекции жизненно важных органов (включая сердце, головной мозг, почки) от ишемически-реперфузионного повреждения [61, 83, 108, 157, 168, 234].

Однако, несмотря на многообещающие экспериментальные данные, полученные на различных видах животных, внедрение ДИПК в рутинную клиническую практику остается затруднительным [139, 194, 204]. Два крупных рандомизированных клинических исследования: ERICCA [205] и RIPHeart [164] – не выявили улучшения клинических исходов у пациентов, перенесших ДИПК и кардиохирургическое вмешательство.

Аналогичные результаты были получены и в отношении некардиальных оперативных вмешательств. В крупнейшем на сегодняшний день рандомизированном контролируемом исследовании PRINCE (Remote Ischemic Preconditioning in Noncardiac Surgery), включавшем 1213 пациентов, оценивалось влияние ДИПК на частоту послеоперационного повреждения миокарда. Частота этого осложнения составила 38,0 % в группе ДИПК (215 из 566 пациентов) против 37,4% в группе плацебо (223 из 596 пациентов, [95 % ДИ, 0,88-1,18]). Кроме того, между группами не обнаружено значительных различий по частоте инфаркта миокарда, инсульта, острого почечного повреждения, длительности пребывания в отделении интенсивной терапии и стационаре, а также по 30-дневной летальности от всех причин [80, 108].

Кроме того, ИПК как кардиопротективная стратегия имеет существенный недостаток: необходимость вмешательства до острого ишемического события, что не представляется возможным в случае инфаркта миокарда [141]. Zhao Z. Q. и соавторы [140] в 2003 году впервые описали возможность кардиопротекции при ИМ посредством индуцирования кратковременных эпизодов ишемии в реперфузионном периоде. Данное явление получило название «ишемическое посткондиционирование» (ИПостК) [24]. В ходе эксперимента, проведенного на сердцах собак [140], обнаружено, что циклы, состоящие из окклюзии левой передней нисходящей артерии (ЛПНА) в течение 30 секунд и реперфузии в течение 60 секунд, после реперфузии миокарда уменьшают зону инфаркта на 44%. Кардиопротекция, индуцированная ИПК и ИПостК, опосредуется схожими внутриклеточными каскадами. К числу таких каскадов относятся вышеописанные NO/протеинкиназа G (PKG-путь), киназа, предотвращающая реперфузионное повреждение (RISK-путь), фактор, усиливающий выживаемость клеток (SAFE-путь). Ключевыми молекулярными звеньями здесь выступают PI3K/Akt, ERK1/2, сигнальный трансдуктор и активатор транскрипции 3 (STAT3), протеинкиназа-C и гликогенсинтазакиназа-3 бета (GSK-3 бета) [40, 51, 177].

Необходимо отметить, что идея модифицированной реперфузии как способа уменьшения зоны инфаркта появилась в 1980-е годы в виде так называемой

«мягкой» или «ступенчатой / постепенной» реперфузии [114, 126, 172]. Термин «посткондиционирование» был введен Н. На и коллегами в исследовании 1996 года для обозначения феномена, при котором прерывистое возобновление кровотока предотвращало реперфузионную фибрилляцию желудочков в сердцах кошек [129, 256]. Именно концепция ИПостК положила начало поиску терапевтических стратегий, ограничивающих реперфузионное повреждение миокарда. В дальнейшем экспериментально было подтверждено инфаркт-лимитирующее действие ИПостК у разных животных [24, 76, 133, 196, 221].

Результаты, наблюдаемые в экспериментах на животных, демонстрируют стабильный инфаркт-лимитирующий эффект, однако исследования, проводимые на людях, свидетельствуют о гетерогенности полученных результатов.

Так, в эксперименте P. Staat и соавторов применение четырёх повторяющихся циклов (1 мин. баллонной окклюзии / 1 мин. реперфузии), инициированных в течение первой минуты после восстановления кровотока, ассоциировалось с уменьшением интегральной площади под кривой высвобождения креатинкиназы за 72 ч. на 36% относительно контрольной группы [189]. Данный благоприятный эффект в отношении маркеров объема повреждения миокарда был впоследствии подтвержден в ряде более масштабных проспективных исследований [56, 190, 195].

Вместе с тем другие работы не выявили заметного влияния ИПостК на снижение зоны повреждения ишемизированного миокарда. В частности, Sörensson A. V. и группой ученых не обнаружено достоверных различий в индексе спасенного миокарда (MSI) между группами посткондиционирования и контроля при МРТ-обследовании, выполненном на 6-9-е сутки после инфаркта миокарда [101, 108, 155, 157, 188, 207].

Анализ клинических конечных точек исследований также демонстрирует противоречия. В исследовании POST (700 пациентов) не было зафиксировано снижения комбинированной конечной точки (смерть, инфаркт миокарда, тяжелая сердечная недостаточность, тромбоз стента) через 12 месяцев наблюдения [156]. В испытании DANAMI-3-iPOST (n=1234) также отсутствовало статистически значимое влияние ИПостК на общую смертность и частоту госпитализаций по

причине сердечной недостаточности при медиане наблюдения 38 месяцев [103]. Однако в ходе продления периода наблюдения до 4,8 лет в рамках того же исследования было выявлено заметное снижение комбинированной конечной точки (сердечно-сосудистая смертность + госпитализация вследствие сердечной недостаточности) в подгруппе пациентов, для которых было проведено лишь чрескожное коронарное вмешательство (без тромбэктомии): 15% против 22 %, $p = 0,023$ [93].

В исследовании LIPSIA CONDITIONING, где оценивались как изолированное ИПостК, так и его комбинация с ДИПК, не удалось достичь снижения комбинированной конечной точки (сердечная смерть, повторный инфаркт, новая застойная сердечная недостаточность) через 6 месяцев [91]. При долгосрочном наблюдении (медиана 3,6 года) зафиксировано достоверное уменьшение частоты серьезных неблагоприятных сердечно-сосудистых событий в группе комбинированного вмешательства (ДИПК+ИПостК) – преимущественно за счёт снижения заболеваемости застойной сердечной недостаточностью. В то же время изолированное ИПостК не продемонстрировало значительного преимущества над контрольной группой. При этом следует учитывать ограничения данного исследования: ретроспективный характер и размер выборки, рассчитанный по первичной конечной точке (MSI), а не исходя из клинических исходов [81, 91].

Таким образом, на сегодняшний день ни одно рандомизированное исследование, обладающее достаточной статистической мощностью для оценки клинических результатов, не продемонстрировало существенной пользы от применения ИПК или ИПостК в отношении клинических исходов у пациентов с инфарктом миокарда, но, несмотря на ограничение применения фундаментальных феноменов в клинической практике, они послужили отправной точкой для изучения сигнальных путей кардиопротекции.

1.1.2. Сигнальные пути кардиопротекции

После открытия феноменов ИПК и ИПостК началась эпоха интенсивного изучения механизмов гибели кардиомиоцитов при ишемически-реперфузионном повреждении миокарда, в первую очередь апоптоза и его молекулярных регуляторов. Апоптоз – АТФ-зависимый процесс запрограммированной клеточной гибели, включающий высвобождение из поврежденного митохондриального аппарата проапоптотических белков, активацию Fas-лиганда, за которой следует распространение сигнала через каспазы и другие сигнальные белки, что, в свою очередь, индуцирует открытие митохондриальной поры проницаемости, лизис цепей ДНК. Все это в дальнейшем приводит к ядерной деградации [6, 152].

Yellon D.M. и соавторы в исследовании 2000 года декларировали ограничение зоны инфаркта при ишемически-реперфузионном повреждении посредством ингибирования каспаз, а также потенциал применения ключевых факторов регуляции роста, дифференцировки и апоптоза клеток во время реперфузии у животных [85, 163, 263]. В 2001 году та же группа ученых изучала действие инсулина на модуляцию антиапоптотических сигнальных путей в качестве терапевтической стратегии защиты миокарда от ишемически-реперфузионной травмы. Введение инсулина во время периода реперфузии сопровождалось снижением зоны некроза как в эксперименте *in vivo*, так и на модели изолированного сердца по методу Лангендорфа. Было показано, что свое антиапоптотическое действие инсулин реализует посредством активации различных сигнальных путей: фосфоинозитид-3-киназы (PI3K) и митоген-активированных протеинкиназ (MAPK) ERK1/ERK2 [166]. Изучение D.M. Yellon и коллегами [216] механизмов кардиопротекции, лежащих в основе применения урокортина, активирующего сигнальный путь MAPK ERK1/ERK, позволило предположить наличие специфических путей, защищающих миокард от ишемии-реперфузии. Так, в 2002 году данной группой ученых был предложен термин «киназы, спасающие от реперфузионного повреждения» (путь RISK), который отражает совокупность разных путей / агентов, способных уменьшать повреждения

миокарда от реперфузии [216]. Благодаря множеству молекулярно-генетических исследований в настоящее время идентифицированы каскады, которые включает в себя путь RISK: фосфоинозитид-3-киназа/протеинкиназу В (PI3K/AKT), внеклеточную сигнал-регулируемую киназу (ERK1/2) и гликогенсинтазную киназу 3β (GSK3 β). Однако данные о роли GSK3 β в реализации каскада пути RISK остаются противоречивыми. Одни исследования указывают на наличие кардиопротективного эффекта при ингибировании пути RISK, а другие – на реализацию протекции миокарда независимо от его регуляции [20, 144, 221, 264]. Эти данные подчеркивают пермиссивность пути GSK3 β , более того, его регуляция мультифакториальна (зависит от исходного соматического статуса, сопутствующих заболеваний и т.д.) [75, 144, 235]. На протяжении последующих лет было проведено множество исследований, а также предпринимались попытки создания таргетных соединений, воздействующих на отдельные звенья RISK-каскада [116, 241, 264]. Активация пути RISK была изучена на разных биологических видах, а полученные результаты показали разную степень активации в зависимости от вида животного. Так, у мелких млекопитающих и грызунов данный сигнальный путь играл ключевую роль в реализации протекции миокарда при ишемии-реперфузии, тогда как у свиней реализация кардиопротективных свойств посредством его активации не подтвердилась [142, 167, 191]. Предпринимались попытки создания таргетных молекул, воздействующих на отдельные звенья RISK пути. Gong G.Q. и коллеги в 2023 году провели масштабный скрининг 450000 молекул в рамках исследования, посвященного разработке высокоспецифичных активаторов одного из центральных компонентов RISK – PI3K α . В результате скрининга наибольшей кардиопротективной активностью на модели изолированного сердца крысы как *ex vivo*, так и *in vivo* воспроизведение ишемически-реперфузионного повреждения обладало соединение UCL-TRO-1938, действие которого было опосредовано индукцией PI3K α [62]. Данные о последующем его внедрении в клиническую практику отсутствуют.

Наряду с RISK, еще одним фундаментальным, активно изучаемым путём кардиопротекции является путь SAFE (фактор, усиливающий выживаемость клеток). Сегодня известно, что данный путь включает в себя следующие регуляторы: фактор некроза опухоли α , сигнальный трансдуктор и активатор транскрипции 3/5 (STAT 3/5) [149, 201], путь, включающий протеинкиназу A (PKA), оксид азота (NO), протеинкиназу G (PKG) и протеинкиназу C (PKC) [75, 90, 244]. Одним из ключевых регуляторов пути SAFE является STAT3 [125, 201, 206, 131, 205], экспрессия которого в физиологических условиях строго контролируется в кардиомиоцитах, эндотелиальных клетках, клетках гладких мышц и фибробластах. Основной функцией данного механизма является регуляция генов, участвующих в ангиогенезе, апоптозе, воспалении и оксидативном стрессе [66, 117, 171, 201, 219, 237], однако STAT3 медленно реализует свои классические эффекты в парадигме острой протекции [146, 237], тогда как стимуляция активации в позднем периоде (при ИПК и ИПостК), активируя STAT3, STAT5, повышает экспрессию антиапоптотических и цитопротекторных белков [59, 211, 225].

При этом, в отличие от острой и подострой активации STAT3/5, выполняющих цитопротекторную функцию, хроническая активация данного механизма способствует инициации воспалительных процессов, а также ремоделирования сердца после инфаркта миокарда [57, 66, 223, 237]. Необходимо учитывать, что исследования последних лет демонстрируют негативное влияние хронической системной активации STAT3 в виде развития злокачественной трансформации [123, 127].

Во многих исследованиях связь активации STAT3 и острой кардиопротекции наблюдается у многих видов животных [124, 125, 148, 237], в том числе у свиней, которые по строению и физиологическим аспектам сердечно-сосудистой системы схожи с людьми [128, 136]. В экспериментах на мышах с нокаутом гена STAT5 было показано, что данная генетическая модификация блокирует уменьшение зоны инфаркта, индуцируемое ИПК [222]. У животных с нокаутом STAT3 и у старых особей (характеризующихся сниженной регуляцией STAT3) была

продемонстрирована утрата способности к протекции, однако использование более интенсивного стимула ЛИПК позволило это компенсировать [83].

Также известны данные, полученные на миокарде человека и указывающие на вовлеченность белков семейства STAT в механизмы кардиопротекции. В ходе исследования пациентам после АКШ на ранних этапах реперфузии, наступающей вслед за кардиopleгией, была выполнена биопсия левого желудочка [224]. Методом вестерн-блоттинга оценивалась активация и уровни экспрессии 22 сигнальных молекул, в том числе ключевых компонентов путей NO/PKG, RISK и SAFE. Среди всех проанализированных белков лишь активация STAT5 коррелировала со снижением периперационного повреждения миокарда [224].

С этими данными согласуются и результаты других исследований. Так, при биопсии выводного тракта правого желудочка у детей, оперированных по причине тетрады Фалло, активация STAT3 и STAT5 также оказалась связанной с периперационной защитой сердечной мышцы [81].

Несмотря на разные механизмы инициации, а также совокупности формирующих механизмов путей RISK и SAFE, их общность заключается в реализации своих действий через митохондриальный аппарат [74]. Кроме того, в настоящее время известны альтернативные протеинкиназы, не связанные с классическими кардиопротективными путями, такими как протеинтирозинкиназы семейства Src (SFK), гексокиназа, протеинкиназа, активируемая аденозинмонофосфатом (AMPK), C-Jun N-концевая киназа (JNK), митоген-активируемая протеинкиназа p38 (p38 MAPK) и PTEN-индуцированная предполагаемая киназа 1 (PINK1) [26, 75].

Таким образом, несмотря на всестороннее изучение кардиопротективных путей, а также попытки разработки таргетных молекул, воздействующих непосредственно на эти каскады, исследователи, как было описано выше, столкнулись с трудностью реализации этой кардиопротективной стратегии. В связи с этим возникла необходимость поиска иных мишеней, способных модулировать снижение гибели кардиомиоцитов при ишемически-реперфузионном

повреждении. Отправной точкой такого подхода стала убиквитин-протеасомная система (УПС).

1.1.3. Роль убиквитин-специфической протеазы 28

УПС является фундаментальным механизмом посттрансляционной регуляции белкового гомеостаза у эукариотов, обеспечивая динамический контроль над стабильностью, локализацией и функцией тысяч клеточных белков [61, 230; 239]. Центральным элементом этой системы является убиквитин – высококонсервативный 76-аминокислотный белок, который ковалентно присоединяется к ϵ -аминогруппе лизинового остатка субстратного белка через последовательный каскад из трёх ферментов: E1 (убиквитин-активирующая), E2 (убиквитин-конъюгирующая) и E3 (убиквитин-лигаза) [97, 99]. Ключевая особенность убиквитиновой системы заключается в её многофункциональности, обусловленной разнообразием типов полиубиквитиновых цепей. Полиубиквитиновые цепи формируются за счёт изопептидной связи между С-концевым глицином одного убиквитина и одним из семи лизиновых остатков (K6, K11, K27, K29, K33, K48, K63) или N-концевым метионином (M1) другого [98].

Наиболее изучены две функциональные формы убиквитина:

1) K48-связанные цепи преимущественно служат сигналом для распознавания и деградации субстратов в 26S-протеасоме, что критически важно для регуляции клеточного цикла, апоптоза и онкогенеза [60, 98].

2) K63-связанные цепи, напротив, не направляют белки на деградацию, а участвуют в регуляции сигнальных каскадов, включая NF- κ B, воспаление и, что особенно важно, репарацию повреждений ДНК [98, 253].

Линейные M1-связанные цепи играют центральную роль во врождённом иммунитете и воспалительных реакциях [180].

Критически важной характеристикой убиквитиновой модификации является её обратимость, которая обеспечивается семейством ферментов, известных как деубиквитирующие ферменты (deubiquitinating enzymes, DUBs) [61, 230]. В

геноме человека кодируется около 100 DUB, которые подразделяются на семь семейств: USP (убиквитин-специфичные протеазы), UCH (карбокси-терминальные гидролазы убиквитина), OTU (овариальный опухолевый протеазный домен), MJD (атаксин-3-подобные), JAMM/MPN+ (металлопротеазы), MCRIP и ZUP1 [230, 255]. Среди них семейство USP является наиболее многочисленным, насчитывая более 60 членов, и характеризуется наличием консервативного каталитического домена с цистеин-зависимым механизмом гидролиза [180, 230]. Каталитический домен USP складывается в сложную трёхмерную архитектуру, напоминающую «ладонь с пальцами», которая обеспечивает распознавание убиквитиновой цепи и каталитический гидролиз изопептидной связи [180, 250].

Среди множества USP-ферментов особый интерес представляет убиквитин-специфичная протеаза 28 (USP28), которая функционально и структурно тесно связана со своим паралогом USP25 (~57-70% идентичности в каталитическом домене), но обладает уникальным спектром субстратов и контекст-зависимыми биологическими эффектами [134, 253]. USP28 формирует гомодимер за счёт уникальной вставки UCID (USP28 C-terminal insertion domain), которая пространственно разделяет два каталитически независимых домена и предотвращает автоингибирование, характерное для тетрамерного USP25 [134, 151].

Наиболее изученной функцией USP28 является стабилизация ключевых онкогенных транскрипционных факторов, в первую очередь c-MYC и его паралога N-MYC. USP28 антагонизирует E3-лигазу SCF(Fbw7), деубиквитируя K48-связанные цепи на c-MYC и тем самым предотвращая его протеасомную деградацию [245]. Эта функция лежит в основе прогрессирования множества злокачественных новообразований. Экспрессия USP28 повышена во многих эпителиальных опухолях, включая колоректальный рак, плоскоклеточный рак головы и шеи, нейробластому и карциному молочной железы, где он коррелирует с повышенной экспрессией c-MYC, устойчивостью к химио- и лучевой терапии и неблагоприятным клиническим прогнозом [25, 72, 202, 229].

Одновременно USP28 выполняет незаменимую роль в ответе на повреждение ДНК (DNA damage response, DDR). При возникновении двухнитевых разрывов ДНК, USP28 рекрутируется в очаг повреждения через прямое взаимодействие с 53BP1 – ключевым медиатором репарации по пути негомологичного соединения концов (NHEJ) [60, 251]. В этом комплексе USP28 деубиквитинирует 53BP1, предотвращая его преждевременную диссоциацию с хроматина и обеспечивая эффективную репарацию. К тому же USP28 стабилизирует адаптерный белок Claspin, что необходимо для полной активации киназы CHK1 [236].

L. Suanes-Cobos в 2026 году и Z. Wang в 2025 году и была описана сложная взаимная регуляторная петля между USP28 и киназой DYRK2 [60, 255]. В ответ на повреждение ДНК DYRK2 фосфорилирует USP28, что способствует его убиквитин-опосредованной деградации. В свою очередь, USP28 деубиквитинирует и стабилизирует DYRK2, усиливая его киназную активность и последующее фосфорилирование p53 по Ser46, что смещает баланс в сторону апоптоза [60]. Этот контур представляет собой изящный механизм обратной связи, интегрирующий онкогенные сигналы и стресс-ответ.

Наиболее изученной и биологически значимой функцией USP28 является его роль в качестве ключевого стабилизатора транскрипционного онкогена c-MYC. В нормальных клетках уровень c-MYC строго контролируется через убиквитин-протеасомную систему: фосфорилированный дегрон c-MYC (Thr58/Ser62) распознаётся E3-лигазой SCF(Fbw7), что приводит к прикреплению K48-связанных полиубиквитиновых цепей и последующей деградации c-MYC в 26S-протеасоме. USP28 антагонизирует эту регуляцию, формируя тройной комплекс USP28-FBW7-c-MYC, в котором USP28 деубиквитинирует c-MYC, снимая K48-цепи и тем самым предотвращая его протеолитическую деградацию [99, 230]. Этот механизм особенно активен в условиях, когда экспрессия или активность FBW7 снижена – ситуация, часто наблюдаемая в колоректальном и других эпителиальных раках [234].

Описанная выше функция не ограничивается c-MYC. USP28 также демонстрирует широкий спектр онкогенных субстратов:

1. N-MYC – в нейробластоме, детской опухоли нервной ткани, часто ассоциированной с амплификацией MYCN, USP28 стабилизирует N-MYC аналогичным образом, защищая его от FBW7-опосредованной деградации. Генетический нокаут USP28 в нейробластомных клетках приводит к резкому снижению уровня N-MYC, остановке клеточного цикла и индукции апоптоза [245].

2. $\Delta Np63$ – в плоскоклеточных карциномах (головы и шеи, лёгкого) USP28 стабилизирует доминант-негативный изоформ p53 – $\Delta Np63$, который подавляет апоптоз и способствует выживанию стволовых раковых клеток. Стабилизация $\Delta Np63$ поддерживает экспрессию генов, участвующих в эпителиально-мезенхимальном переходе (EMT), инвазии и метастазировании [193, 245].

3. HIF-1 α – в условиях гипоксии, характерной для ядра быстро растущих опухолей, USP28 рекрутируется к HIF-1 α и удаляет K48-связанные убиквитиновые цепи, прикрепляемые лигазой pVHL. Это приводит к накоплению HIF-1 α и активации транскрипции генов, участвующих в ангиогенезе (VEGF), гликолизе (GLUT1, LDHA) и выживании клеток [218, 245, 252]. Ингибирование USP28 в гипоксических условиях подавляет рост опухолевых сфероидов *in vitro*.

Таким образом, USP28 выступает в роли универсального стабилизатора онкогенного транскрипта, обеспечивая выживание и прогрессию опухолей, зависимых от MYC-семейства, гипоксии или стволовости.

Помимо прямой поддержки онкогенеза, USP28 играет критически важную роль в формировании устойчивости к стандартной химиотерапии. В недавней работе J.K. Kararizkar и соавторов [253] установлено, что USP28 способствует резистентности к цисплатину – препарату первой линии при лечении многих солидных опухолей. В цисплатин-резистентных клетках лёгкого и яичников USP28 стабилизирует киназу MAST1 (Microtubule-Associated Serine / Threonine Kinase 1) посредством дегубикитинирования, что активирует альтернативные сигнальные пути выживания, включая путь MAPK/ERK. Генетическая или фармакологическая инактивация USP28 в этих клетках приводит к дестабилизации MAST1, восстановлению чувствительности к цисплатину и значительному увеличению

апоптоза [253]. В плоскоклеточном раке ингибирование USP28 дестабилизирует $\Delta Np63$ и подавляет путь Fanconi anemia, что сенситизирует клетки к ДНК-повреждающим агентам [193]. В колоректальном раке USP28 восстанавливает чувствительность к 5-фторурацилу за счёт снижения уровня c-MYC и подавления метаболических адаптаций [234]. Эти данные подчёркивают, что USP28 является не только драйвером онкогенеза, но и ключевым медиатором терапевтической резистентности.

Как описано выше, USP28 традиционно рассматривался как ключевой онкогенный деубиквитирующий фермент. Однако новые исследования демонстрируют значительно более обширную его роль в патогенезе заболеваний, в первую очередь патологий сердечно-сосудистой системы. В 2024 году Yang X.S. и группа ученых опубликовали данные, подтверждающие не только экспрессию USP28 в кардиомиоцитах, но и его значение в развитии диабетической кардиомиопатии. У мышей db/db, а также у пациентов с сахарным диабетом 2-го типа экспрессия USP28 в сердце значительно снижена. Восстановление уровня USP28 с помощью аденоассоциированного вируса (AAV9) улучшало систолическую и диастолическую функцию, уменьшало выраженность гипертрофии, фиброза миокарда. Более того, кардиоспецифический нокаут USP28 на фоне диабета усугублял дисфункцию митохондрий, подавлял митофузин-2 (Mfn2) и снижал активность рецепторов, активируемых пролиферацией пероксисом α (PPAR α) [254].

Mfn2 в более ранних исследованиях, в свою очередь, фигурирует как белок регуляции митохондриальной дисфункции, способствующий снижению патологического ремоделирования сердца [231]. Было показано, что дефицит Mfn2 оказывает негативное влияние на сократительную способность кардиомиоцитов, а также приводит к сердечной дисфункции [87, 95]. В свою очередь, существенное влияние на развитие диабетической кардиомиопатии оказывает сверхэкспрессия кардиальных PPAR α , выявленная в эксперименте у мышей в возрасте 6-15 недель с диабетом 1 и 2 типов. В то же время у пациентов с сахарным диабетом и

сопутствующей диастолической дисфункцией экспрессия PPAR α существенно не меняется [58, 135, 150, 109].

Возвращаясь к исследованию Yang X.S. 2024 года, мы можем отметить механизм кардиопротективного эффекта USP28 при диабетической кардиомиопатии: USP28 напрямую взаимодействует с PPAR α , деубиквитинирует его по остатку Lys152 и стабилизирует и нормализует энергетический метаболизм, приводя к активации транскрипции Mfn2 [30, 31, 32, 35, 254].

В ходе исследования экспрессии USP28 при гипертрофической кардиомиопатии, проведенного Han J. и соавторами в 2024 году, было установлено, что индуцированная ангиотензином II или моделированием поперечной констрикции аорты гипертрофия миокарда увеличивала уровень экспрессии USP28 в миокарде. В эксперименте на мышах с кардиотропным нокаутом USP28 была продемонстрирована обратная корреляция между отсутствием фермента и развитием гипертрофии: деконцентрация USP28 предотвращает развитие гипертрофической кардиомиопатии, фиброза, а также дисфункции левого желудочка. Согласно полученным данным, авторами декларируется иной механизм кардиопротективного эффекта USP28. Так, механизм про-гипертрофического действия опосредован деубиквитинированием и стабилизацией E3-убиквитинлигазы TRIM21, отрицательная регуляция которой подавляет Nrf2-зависимый антиоксидантный ответ [248]. Все описанные механизмы приводят к накоплению активных форм кислорода, оксидативному стрессу и процессу ремоделирования миокарда. Отилония бромид, как селективный ингибитор USP28, снижает симптомы сердечной недостаточности у мышей, что служит потенциальной перспективой применения ингибирования USP28 в качестве новой терапевтической стратегии защиты миокарда при гипертрофической кардиомиопатии [82]. Таким образом, USP28 проявляет этиологический и назоспецифический характер модуляции, что свидетельствует о необходимости применения дифференциального подхода к формированию таргетной терапевтической стратегии.

Учитывая ключевую роль USP28 в регуляции митохондриального гомеостаза (посредством оси USP28-PPAR α -Mfn2), а также оксидантного стресса (через ось USP28-TRIM21-Nrf2), мы можем утверждать о существенной роли данного фермента в патогенезе ишемически-реперфузионного повреждения (ИРПМ), поскольку основными причинами такого повреждения являются оксидативный стресс, перегрузка кальцием, открытие митохондриальной поры проницаемости (mPTP) и воспаление [130].

В период ранней реперфузии, когда доминируют процессы оксидантного стресса, сверхэкспрессия USP28 может усугублять повреждение, подавляя Nrf2-зависимую антиоксидантную защиту. В данном контексте ингибирование USP28 может стать новой стратегией снижения зоны инфаркта и предотвращения реперфузионного повреждения. Данная гипотеза подтверждается вышеописанным исследованием гипертрофической кардиомиопатии, также указывающим на высокий уровень оксидативного стресса. Тем не менее, и при ИРПМ развивается метаболический дисбаланс, сходный с таковым при диабете, и в этом случае активация USP28 может стать наиболее предпочтительной терапевтической стратегией. Однако в контексте острой ишемии и реперфузии преобладает митохондриальный метаболический дисбаланс (снижение β -окисления, потеря Mfn2 в качестве митохондриальной оси, накопление липидов). В связи с этим фармакологическая активация USP28 в момент реперфузии представляется наиболее обоснованным подходом для дальнейших доклинических исследований, так как активация USP-28 в реперфузионный период может ограничить открытие митохондриальной поры переходной проницаемости, размер ишемии и предотвратить ремоделирование.

Таким образом, USP28 является многофункциональным деубиквитинирующим ферментом, имеющим этиологический и назоспецифический характер модуляции в контексте сердечно-сосудистых заболеваний. Если онкоспецифические ингибиторы USP28 уже рассматриваются как средства цитостатической терапии, то данные о кардиотропной терапии ограничены ввиду того, что изучение связи этого представителя УПС с

кардиопротективными эффектами представляет собой лишь формирующееся научное направление. Однако уже имеющиеся сведения позволяют выдвинуть гипотезу о возможности их репозиционирования в контексте защиты миокарда при ишемически-реперфузионном повреждении.

1.2. Фармакологическая кардиопротекция: обзор современных препаратов

На сегодняшний день в клинической практике кардиологического профиля доступен широкий арсенал лекарственных средств, производящих кардиопротективный эффект [4, 8, 22, 28]. К таким препаратам относятся ингибиторы ангиотензинпревращающего фермента (иАПФ), бета-блокаторы, статины, антагонисты альдостерона, ингибиторы SGLT2, препараты для метаболической кардиопротекции (триметазидин, ранолазин) [33, 34].

Одной из наиболее широко используемых групп подобных препаратов являются ингибиторы ангиотензинпревращающего фермента, кардиопротективное действие которых обнаружено достаточно давно [100]. Так, еще в 1980-е годы отмечалось их влияние на исходы при хронической сердечной недостаточности, снижение вероятности электрической нестабильности, а также влияние на процесс патологического ремоделирования. Dzau V.J. в 1989 году одним из первых определил иАПФ как потенциальные кардиопротекторы [100]. В дальнейшем кардиопротективный эффект иАПФ и их влияние на ишемически-реперфузионное повреждение получило экспериментальное подтверждение на модели изолированного сердца [108].

Последующие исследования были направлены на более подробное изучение молекулярных механизмов кардиопротективных эффектов иАПФ. В ходе экспериментов было установлено, что повышение сократительной способности миокарда в постреперфузионный период и снижение объема оглушенного миокарда, связанное с введением Каптоприла, обусловлено снижением деградации брадикинина [122], который является донатором оксида азота [112].

Кроме того, отмечается влияние, оказываемое за счет подавления активности тканевого ангиотензина II, что замедляет патологическое изменение как стенок кровеносных сосудов, так и миокарда [112].

Результаты данных исследований подтверждаются клиническими данными. Одни из первых доказательств высокой эффективности иАПФ были представлены в исследовании GISSI-3: в рамках многоцентрового рандомизированного исследования было выявлено, что Лизиноприл позволяет добиться снижения смертности в течение 6 недель при остром инфаркте миокарда на 11 % [115]. Серия исследований SMILE (Survival of myocardial infarction long-term evaluation) расширила понимание преимуществ назначения данной группы препаратов. SMILE-1 – многоцентровое рандомизированное плацебо-контролируемое исследование с участием 1556 пациентов с ОКС – показало, что раннее назначение Зофеноприла достоверно ($p = 0,018$) снижает уровень смертности на 22 % и сокращает частоту серьезной сердечной недостаточности на 10,6 % по сравнению с контрольной группой [64]. Кроме того, отмечалось снижение риска повторных случаев ишемии миокарда. Эффективность иАПФ подтвердилась и в дальнейших исследованиях серии SMILE [92].

Исследования последних лет на примере каптоприла показывают, что кардиопротективный эффект иАПФ реализуется при помощи многих механизмов, в частности регулирования пролиферативного потенциала ангиотензина II посредством блокирования экспрессии трансформирующего фактора роста β [67, 86, 145]. Помимо этого, ингибиторы ангиотензинпревращающего фермента обладают противовоспалительным и иммуномодулирующим потенциалом [94, 215], а также демонстрируют антиоксидантный потенциал [73, 240, 266].

Сегодня особый интерес представляет потенциал использования иАПФ с целью защиты миокарда при некардиальной патологии. Значительная доля исследований сконцентрирована на предотвращении кардиотоксических эффектов противоопухолевых химиотерапевтических препаратов [79, 119].

Мета-анализ 2025 года, включающий в общей сложности 1545 пациентов с раком молочной железы, показал, что иАПФ обладают значительным потенциалом

в профилактике и лечении антрациклин-индуцированного повреждения миокарда [183].

Данные результаты нашли подтверждение в исследованиях, связанных с детской популяцией: мета-анализ 2026 года, охватывающий 16 исследований показал, что профилактическое назначение ингибиторов АПФ детям, получающим производные Антрациклина, смягчает снижение фракции выброса (ФВ) левого желудочка в результате кардиотоксичности противоопухолевых препаратов, предотвращает появление циркулирующих маркеров повреждения миокарда [213], однако не оказывает влияния на работоспособность и функциональное состояние пациента, что не позволяет сделать однозначные выводы об эффективности иАПФ.

Ингибиторы 3-гидрокси-3-метилглутарил-коэнзим А редуктазы (ГМГ-КоА-редуктаза), также известные как статины, – группа гиполипидемических препаратов, применяемых в практике врача кардиологической клиники с целью снижения риска неблагоприятного исхода практически в любой когорте пациентов, особенно в группе высокого риска [14, 184, 232].

Эксперимент, проведенный Tiefenbacher С.Р. и соавторами, продемонстрировал значительное сокращение зоны некроза при моделировании острого инфаркта миокарда у крыс при однократном введении Флувастатина непосредственно перед окклюзией КА [200]. В ходе данного исследования у статинов выявлены действия, не основанные на гиполипидемическом эффекте. Снижение площади инфаркта при неизменном ишемическом стимуле позволяет предположить, что действие ингибиторов ГМГ-КоА-редуктазы проявляется в регуляции процессов реперфузионного повреждения [220].

Эффективность применения статинов при остром событии подтверждается и данными клинических исследований: метаанализ, проведенный Y. Pan и группой ученых, показывает, что введение Розувастатина перед реперфузией пациентам с острым коронарным синдромом повышает выживаемость и снижает риски осложнений по сравнению с контрольной группой [54, 178].

Механизмы острой кардиопротекции, опосредованной действием статинов, по всей видимости, связаны с нормализацией уровня оксида азота, активацией NO-

синтазы, что обуславливает снижение выраженности эндотелиальной дисфункции [71].

Большой интерес представляют механизмы, связанные с регуляцией RISK-пути [178, 212, 226]. По данным G. Vilahur и соавторов [138], активация сигнальных путей PKC, Erk2, АКТ/ПКВ приводит к снижению активности процесса апоптоза в зоне ишемии-реперфузии, снижая зону инфаркта [138].

Кроме того, лечение статинами активирует экспрессию STAT3, что проявляется повышением фосфорилированной фракции STAT3, и повышает экспрессию Bcl-2, участвующего в регуляции апоптоза [185].

Бета-блокаторы (ББ) – одна из основных групп препаратов [49, 50], обладающих антиангинальным эффектом и показанных к рутинному применению пациентами с ишемическим повреждением миокарда. Традиционно кардиопротективный эффект таких препаратов связывали с уменьшением механической работы сердца за счет снижения частоты сердечных сокращений, восстановлением баланса между доставкой и потреблением кислорода тканью, а также блокированием высвобождения ренина, приводящим к снижению периферического сосудистого сопротивления [84].

Одни из первых публикаций, посвященных проблеме защиты миокарда при помощи применения ББ, относятся к началу 1980-х годов. Клиническое исследование Vincent Н.Н. и соавторов с участием 30 пациентов продемонстрировало, что прием ББ связан со снижением уровня циркулирующих катехоламинов в условиях дистресса, а также уменьшением выраженности гипокалиемии, вызванной адренергической стимуляцией [256].

Исследование Manuel Lobo-Gonzalez и коллег показало уменьшение площади некроза при экспериментальной окклюзии КА, а также снижение риска электрической нестабильности и повышение общей выживаемости на фоне введения Метопролола в дозе 0,75 мг/кг. Помимо этого, отмечалось улучшение сократительной функции левого желудочка (ЛЖ) в перспективе 45 дней после реперфузии [162]. Полученные результаты согласуются с доступными клиническими данными. Так, исследование METOCARD-CNIC свидетельствует о

значительном сокращении смертности и повышении фракции выброса ЛЖ в группе пациентов, получающих Метопролол до реперфузии [102].

При этом механизмы действия ББ всё ещё точно не определены [147]. Традиционный подход, отраженный в современных публикациях, значительно расширяется. К механизмам действия ББ на сегодняшний день относят снижение степени ремоделирования сосудистой стенки, вызванного адренергической стимуляцией: применение и ББ, и статинов замедляет прогрессирование атеросклеротической бляшки, однако эффект блокады бета-адренорецепторов в большей степени проявляется в области бифуркации сонной артерии, а при приеме статинов отмечается стабилизация бляшки в общей сонной артерии [84]. Все это свидетельствует о разных механизмах антиатеросклеротического действия. К тому же действие ББ опосредуется и другими механизмами: регуляцией РААС, уменьшением деградации брадикинина, регуляцией коронарного кровотока, антиапоптотическим эффектом и т.д. [111].

Таким образом, можно сделать вывод, что действие ББ нельзя в полной мере считать опосредованным благодаря блокаде адренорецепторов. Данное положение нашло отражение в работе Оуата У., в которой рассматривалась зависимость кардиопротективного действия Эсмолола от его дозы и комбинации с Эпинефрином. В исследовании на мышах введение Эсмолола в дозе 0,4 мг/кг/час продемонстрировало уменьшение площади ишемизированного миокарда по сравнению с группой физиологического раствора. При одновременном введении Эсмолола и Эпинефрином в дозе 0,05 мг/кг/час кардиопротективный эффект Эсмолола не проявлялся, однако введение удвоенной (0,8 мг/кг/час) дозы Эсмолола на фоне инфузии Эпинефрина имело такой же эффект, как и применение Эсмолола в первом случае при более стабильном гемодинамическом профиле [176]. Результаты данного исследования позволяют сделать предположение, что кардиопротективное действие ББ обусловлено не только гемодинамическими эффектами и симпатической блокадой, вызванными взаимодействием с адренорецепторами, но и иными механизмами.

Повышение уровня циркулирующих катехоламинов связано с увеличением интенсивности апоптоза [70, 110], что обусловлено повышенной экспрессией $\beta 1$ -адренорецепторов (АР) кардиомиоцитов, которая, в свою очередь, увеличивает интенсивность запрограммированной клеточной гибели путем активации сигнального пути цАМФ-протеинкиназа А.

Помимо этого, длительная активация $\beta 1$ АР связана с активацией Ca^{2+} /кальмодулинзависимой протеинкиназы II [154]. Во многих исследованиях отмечаются и другие пути повреждения миокарда, опосредованного $\beta 1$ рецепторами (активация пути Ras1/c-Jun, GSK-3 β и др.) [113, 227]. $\beta 2$ рецепторы миокарда, активацию которых связывают с реализацией кардиопротективных эффектов, локализованы преимущественно на кардиальных фибробластах. Антиапоптотическое действие, возникающее при их активации, обусловлено активацией ингибирующего G-белка, вызывающего каскад реакций, связанных с фосфоинозитид-3-киназой (PI3K) и Akt [158, 174, 233]. На сегодняшний день существует ограниченное количество доказательств связи выраженности активности адренорецепторов и УПС. В публикации El Ayadi и соавторов приводятся экспериментальные доказательства связи фармакологической блокады $\beta 1$ и $\beta 2$ АР с интенсивностью их убиквитинирования и последующей деградации [267].

Науке известны данные, свидетельствующие о связи применения ББ со снижением уровня деградации белка в ткани, что, по мнению исследователей, обусловлено ингибирующим действием на убиквитин-протеасомную систему [88, 89]. Также ряд авторов отмечают высокую интенсивность убиквитинирования β -рецепторов в условиях повышенного уровня циркулирующих катехоламинов, что связано со снижением сократительной функции сердца и прогрессированием СН [260]. Ученые, однако, отмечают, что семейство деубиквитинизирующих белков (убиквитин-специфических протеаз) способно провоцировать обратное развитие ХСН за счет повышения экспрессии адренорецепторов на мембране.

Таким образом, несмотря на широкий арсенал средств фармакологического коррекции миокардиальной дисфункции, средства, модулирующие активность

убиквитин-протеасомной системы, представляют особый интерес ввиду того, что они дают возможность восстанавливать функциональную активность в миокарде, подвергнутому ИРП. На сегодняшний день такие свойства отмечаются у препаратов группы ББ.

1.3. Биологические свойства ксантинов: обзор молекулярных механизмов и фармакологического потенциала

Лекарственные средства, созданные на основе гетероциклических соединений, составляют значительную долю современного фармакологического арсенала. Среди них особое место занимают соединения, имеющих в своей структуре пиримидиновое кольцо, что обуславливает широкий спектр фармакологической активности таких препаратов и благоприятный профиль их безопасности. К числу таких соединений принадлежат и ксантины – представители пуринов, в структуре которых имеются пиримидиновые и имидазольные кольца.

Ксантины (1H-пурин-2,6(3H,7H)-дионы) впервые были обнаружены в 1817 году немецким химиком Эмилем Фишером, а позже, в 1899 году, был предложен термин «ксантин» [258]. На Рисунке 1.1 представлена химическая структура ксантина.

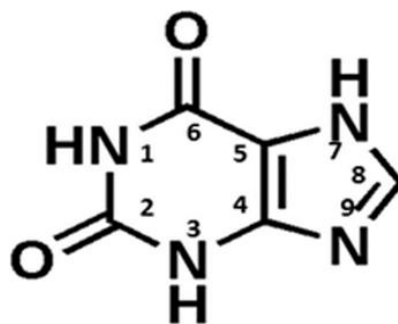


Рисунок 1.1 – Структура ксантина

Данные химические соединения благодаря жесткому структурному каркасу и наличию позиций N1, N3, N7, C8 для замещения открывают возможности для

синтеза эффективных производных, опосредуя свое действие различными молекулярными мишенями [182, 259].

Сегодня известны как природные, так и синтетические производные ксантинов. Анализ научной литературы показал, что производные ксантина демонстрируют широкий спектр фармакологической активности [16].

Так, производные ксантина: кофеин, параксантин, теofilлин, теобромин (Рисунок 1.2) – демонстрируют выраженный нейропротекторный эффект, который описан во многих исследованиях [159, 170, 246].

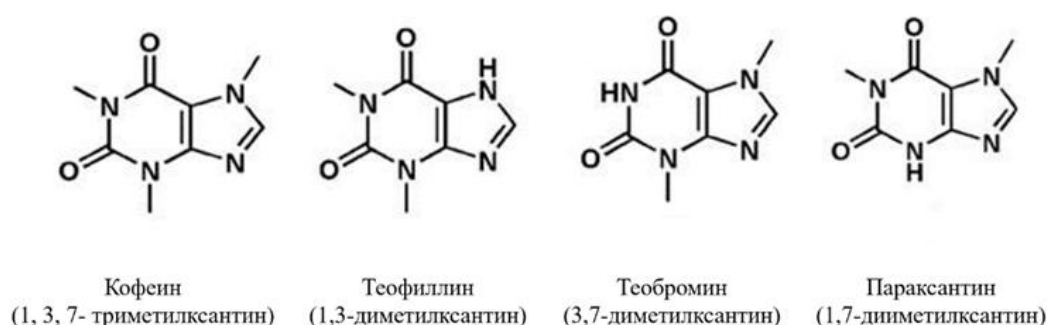


Рисунок 1.2 – Химическая структура природных производных ксантина

Кофеин (1,3,7-триметилксантин), как наиболее изученный алкалоид, ранее использовался в нескольких исследованиях в качестве основы для разработки двойных ингибиторов MAO/антагонистов AA2AR. J. Pretorius и др. синтезировали ряд C-8 замещенных аналогов кофеинила и обнаружили, что соединение, содержащее 4-фенилбутadiеновый фрагмент, является наиболее эффективным кандидатом на получение MAO-B и AA2AR [137, 192]. Кофеин нормализует когнитивные функции при терапии нейродегенеративных заболеваний, таких как болезнь Альцгеймера, болезнь Паркинсона [77, 78, 169]. Нейропротекторные эффекты Кофеина реализуются посредством ингибирования фосфодиэстеразы, мобилизации внутриклеточного кальция, антагонизма аденозиновых рецепторов и модуляции функции рецепторов ГАМК [169]. Широкое изучение действия ксантинов в терапии нейродегенеративных заболеваний сегодня демонстрирует новые аспекты их нейропротективной активности. Так, известно, что Кофеин

является неконкурентным ингибитором ацетилхолинэстеразы АХЭ [161, 186] и связывается вне каталитического участка холинэстеразы [187].

Ксантины имеют выраженную противовоспалительную активность. Например, Кофеин, избирательно связываясь с ARs в клетках иммунной системы, подавляет провоспалительные цитокины, вызывая усиление противовоспалительного ответа [132]. Теофиллин также обладает противовоспалительным действием благодаря активации секреции интерлейкина-10, ингибирования высвобождения медиаторов из тучных клеток, активации нейтрофилов, индукции $IL-1\beta$ и $IL-1\alpha$, синтеза и высвобождения фактора некроза опухоли (TNF- α), а также высвобождения цитокинов из Т-лимфоцитов [243, 259].

Производные ксантина обладают бронходилатирующим эффектом. Теофиллин и Дифиллин используются при лечении обструкции дыхательных путей (астма, хронический бронхит, эмфизема и хроническая обструктивная болезнь легких (ХОБЛ) [187] и имеют широкий терапевтический потенциал в лечении COVID-19 [209, 242]. G.C. Wall и др. провели ретроспективное исследование с участием пациентов с COVID-19, нуждавшихся в кислородной поддержке. В процессе лечения они дополнительно получали либо Теофиллин, либо Пентоксифиллин. Пациенты с астмой или ХОБЛ в анамнезе получали Теофиллин, а остальным пациентам давали Пентоксифиллин. Эффективность терапии оценивали посредством сравнения концентрации С-реактивного белка (СРБ) и показателя ROX (определяемый как отношение насыщения кислородом, измеренное с помощью пульсоксиметрии/ FiO_2 , к частоте дыхания) в контрольной группе, состоящей из пациентов с COVID-19, получавших стандартную терапию, и группе, получавшей ксантины с 1-го по 4-й день терапии. Результаты исследования продемонстрировали увеличение показателя ROX (среднее 2,9), снижение СРБ (среднее значение -0,7) и смертности (24%) в группе Теофиллин / Пентоксифиллин. [181]. A. Dahiya и соавторы сообщают о положительном влиянии Теофиллина и Эуфиллина у пациентов с COVID-19 на одну из наиболее распространенных видов аритмий – синусовую брадикардию. Данный вид нарушения ритма связан с развитием вирусного миокардита, ишемией миокарда, а

также может быть следствием побочных действий препаратов, применяемых при лечении COVID-19 [181, 209].

Пентоксифиллин – 3,7-диметил-1-(5-оксогексил)-3,7-дигидро-1Н-пурин-2,6-дион – синтетическое производное ксантина, действующее как ингибитор фосфодиэстеразы [179] и используемое для лечения хронических окклюзионных заболеваний периферических сосудов нижних конечностей [182]. Существует также множество неуказанных показаний к применению пентоксифиллина в различных клинических случаях, таких как рецидивирующие церебральные транзиторные ишемические атаки и застойная сердечная недостаточность [107, 160]. Пентоксифиллин также описан как эффективный ангиогенезный агент при различных патологических состояниях [179].

Ксантины обладают высоким антиагрегационным потенциалом, который реализуется посредством ингибирования фосфодиэстеразы, которая катализирует гидролиз цАМФ и цГМФ, снижает внутриклеточные уровни циклических нуклеотидов, усиливает ингибирующее действие аденозина и, тем самым, регулирует функцию тромбоцитов [48, 68]. Антиагрегационный потенциал Кофеина, Теофиллина, Пентоксифиллина описан во многих исследованиях [43, 69, 121]. В настоящее время, синтезируются новые производные ксантина, обладающие более выраженной активностью [68].

При этом новые производные, в особенности 8-пиперазиномещённые ксантины, демонстрируют существенно более высокую антиагрегационную активность, сравнимую или превышающую таковую у эталонных блокаторов ГП IIb-IIIa (Тирофибан, Эптифибатид). Особого внимания заслуживает препарат Ангипур (3-метил-8-пиперазино-7-(тиетанил-3)-1-бутилксантина гидрохлорид) – оригинальное отечественное соединение, успешно прошедшее II фазу клинических испытаний как высокоэффективный антиагрегант с прямым блокирующим действием на тромбоцитарный рецептор ГП IIb-IIIa [42]. В исследованиях *in vitro* и *in vivo* Ангипур продемонстрировал дозозависимое ингибирование агрегации, индуцированной АДФ, коллагеном и арахидоновой кислотой, при благоприятном профиле безопасности (отсутствие значимого удлинения времени кровотечения в

терапевтических дозах) [1, 2, 39]. Таким образом, в ряду ксантинов идентифицированы соединения с выраженной антиагрегационной активностью, природа которой не ограничивается классическими цАМФ- и аденозин-опосредованными эффектами, а включает прямое взаимодействие с интегринами тромбоцитов.

Как описано выше, биологические свойства ксантинов обусловлены взаимодействием с такими ключевыми системами регуляции клеточного гомеостаза, как антагонизм к аденозиновым рецепторам, ингибирование фермента фосфодиэстеразы и активация гистондеацетилазы. Однако до настоящего времени ни для одного из известных ксантинов не было доказано прямое модулирующее влияние на УПС, в частности на активность деубиквитиназ семейства деубиквитиназ.

Таким образом, производные ксантинов представляют собой уникальный класс соединений, сочетающих доказанную антиагрегационную активность (с успешным клиническим примером применения). Вместе с тем влияние данных соединений на УПС, в том числе на USP-28, являющийся ключевым регулятором апоптоза кардиомиоцитов, остается неисследованным.

Учитывая вышеизложенное, поиск кардиопротекторов в ряду производных ксантина, обладающих мультимодальным действием (кардиопротективным и антиагрегационным), является актуальным и перспективным направлением фармакологии.

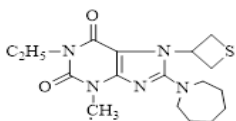
ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Работа подготовлена на базе кафедры фармакологии Института фармации имени А.П. Нелюбина ФГАОУ ВО Первый МГМУ имени И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет). Исследование одобрено на заседании Локального этического Комитета ФГАОУ ВО Первый МГМУ имени И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет) (протокол № 25-25 от 15.12.2025).

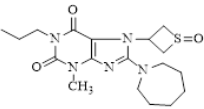
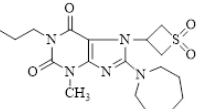
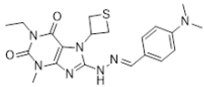
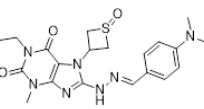
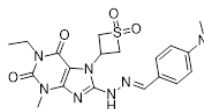
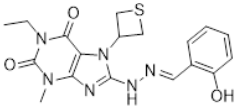
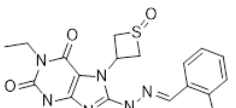
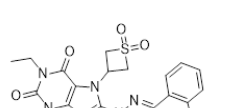
Исследования проводились согласно требованиям «Руководства по проведению доклинических исследований лекарственных средств» (Москва, 2012), а также строго в соответствии с Приказом Министерства здравоохранения Российской Федерации от 18.05.2021 № 464н «Об утверждении Правил проведения лабораторных исследований» и с соблюдением «Правил надлежащей лабораторной практики Евразийского экономического союза в сфере обращения лекарственных средств» (2016).

Объектом исследования является ряд новых производных ксантина, впервые синтезированных на базе лаборатории малых таргетных молекул ФГБОУ ВО БГМУ Минздрава России. Шифры и структурные формулы исследуемых соединений представлены в Таблице 2.1 и в Таблице 2.2 [72, 230].

Таблица 2.1 – Названия, шифры и химические структуры производных 7-тиетанилксантинов

Шифр	Формула	Брутто формула	Молекулярная масса, г/моль
1-a-c		C ₁₇ H ₂₅ N ₅ O ₂ S	363,48

Продолжение Таблицы 2.1

Шифр	Формула	Брутто формула	Молекулярная масса, г/моль
1-В-с		$C_{18}H_{27}N_5O_3S$	393,50
1-с-с		$C_{18}H_{27}N_5O_4S$	409,50
2-а-с		$C_{22}H_{28}N_8O_2S$	427,52
2-В-с		$C_{22}H_{28}N_8O_3S$	443,52
2-с-с		$C_{22}H_{28}N_8O_4S$	459,52
3-а-с		$C_{20}H_{24}N_8O_3S$	400,45
3-В-с		$C_{20}H_{24}N_8O_4S$	416,45
3-с-с		$C_{20}H_{24}N_8O_5S$	432,45

Продолжение Таблицы 2.1

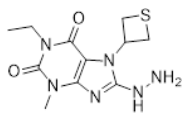
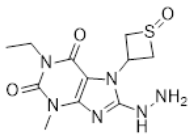
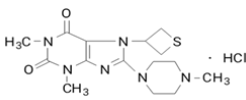
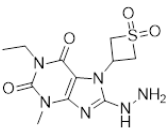
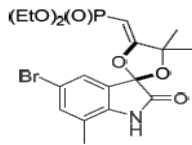
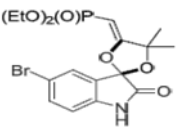
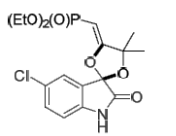
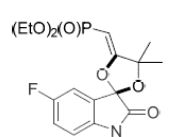
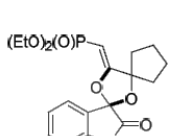
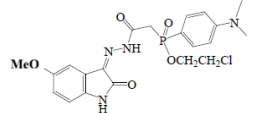
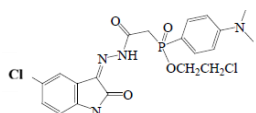
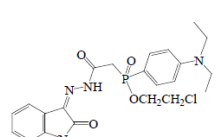
Шифр	Формула	Брутто формула	Молекулярная масса, г/моль
4-а-с		$C_{13}H_{20}N_8O_2S$	296,35
4-в-с		$C_{13}H_{20}N_8O_3S$	312,35
5-а-с		$C_{15}H_{23}ClN_6O_2S$	386,90
4-с-с		$C_{13}H_{20}N_8O_4S$	328,35

Таблица 2.2 – Названия, шифры и химические структуры наиболее активных производных изатина

Шифр	Формула	Брутто формула	Молекулярная масса, г/моль
3d		$C_{22}H_{22}BrClNO_5$	514,73

Продолжение Таблицы 2.2

Шифр	Формула	Брутто формула	Молекулярная масса, г/моль
3e		$C_{22}H_{28}BrNO_5P$	477,49
3g		$C_{21}H_{22}ClNO_5P$	435,84
3h		$C_{21}H_{21}Cl_2NO_5P$	470,28
3k		$C_{26}H_{27}N_2O_5P$	478,48
3a-1		$C_{23}H_{19}ClN_2O_4$	422,86
3b-1		$C_{22}H_{16}Cl_2N_2O_3$	427,28
3e-1		$C_{22}H_{17}ClN_2O_3$	392,83

В качестве препаратов сравнения на разных этапах исследования применялись Ацетилсалициловая кислота, Метопролол, Пентоксифиллин.

На этапе скрининга антиагрегантной активности *in vitro* в качестве препарата сравнения использовалась Ацетилсалициловая кислота (Ацетилсалициловая кислота, Шандонг Ксинхуа Фармасьютикал Ко, Лтд, Китай). Данное вещество было выбрано на основании рекомендаций «Руководства по проведению доклинических исследований лекарственных средств». Кроме того, указанный препарат фигурирует в действующих на территории Российской Федерации клинических рекомендациях по лечению всех форм ишемической болезни сердца.

При изучении кардиотропных свойств исследуемых соединений в качестве препаратов сравнения были выбраны Метопролол и Пентоксифиллин.

Метопролол (Метопролол, Ипка Лабораториз Лимитед, Индия) был выбран на основании его доказанных кардиопротективных свойств как в ситуации острого повреждения миокарда, так и при хронических заболеваниях. Данный препарат снижает смертность от кардиальных причин у пациентов, страдающих хронической сердечной недостаточностью, а также обладает антиангинальным действием и выраженной эффективностью для выживаемости при разных формах острого коронарного синдрома, в связи с чем он включен в клинические рекомендации по данным нозологиям для рутинного применения в практике во всех случаях, за исключением некоторых противопоказаний [208].

Пентоксифиллин (Пентоксифиллин, Сан Фармасьютикал Индастриз Лтд., Индия) был выбран на основании принципа химического подобия: данное вещество относится к производным ксантина, как и исследуемый ряд соединений. Кроме того, пентоксифиллин противопоказан к применению пациентами с ИБС в связи с тем, что он повышает потребность миокарда в кислороде, что позволяет использовать его в качестве препарата отрицательного контроля.

Биологические тест-системы.

Экспериментальная часть работы выполнена на нелинейных крысах-самцах ($m=226,7\pm 22,4$ г) $n= 566$, мышах-самцах и самках ($m=20,3\pm 3,4$ г) $n= 200$ *ex vivo* и *in vivo* при условии строгого соблюдения международных рекомендаций

Европейской конвенции по защите позвоночных животных в лабораторных условиях, требований ГОСТ ISO/IEC 17025-2019, ГОСТ 34566-2019, а также при соблюдении требований нормативных актов, указанных ранее.

На момент эксперимента все животные были соматически здоровы, отсутствовали признаки клинического неблагополучия, дистресса [21]. До и в течение эксперимента животные содержались в условиях вивария при постоянной температуре 20-22°C, относительной влажности воздуха 40-60%, со свободным доступом к питьевой воде и корму (экструдированный корм, ГОСТ Р 50258-92).

Перед началом эксперимента все животные подвергались карантину в течение 7 суток, содержались в индивидуально вентилируемых клетках на подстилках из опилок. Во время эксперимента клетки маркировались с указанием группы и номера, присвоенных конкретному животному, а также даты оперативного вмешательства.

До операции животным ограничили доступ к пище на 12 часов, а свободный доступ к питьевой воде предоставили непосредственно перед началом анестезиологического пособия. В эксперименте *in vivo* после оперативного вмешательства животные содержались в индивидуальных маркированных клетках с чистой подстилкой. Во всех случаях послеоперационная рана обрабатывалась раствором повидон-йода 10% («Бетадин», Раствор для местного и наружного применения 10%, EGIS Pharmaceuticals, PLC, Венгрия).

Методологическая схема (общий дизайн) исследования представлен на Рисунке 2.1, а дизайн моделирования инфаркта на крысах *in vivo* представлен на Рисунке 2.2.

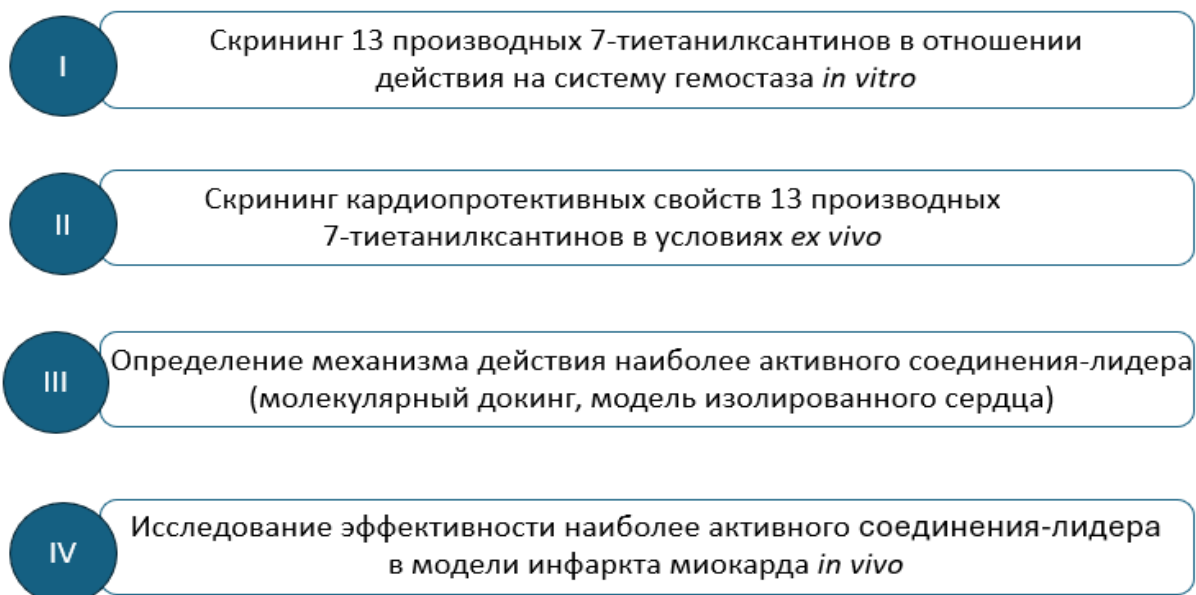


Рисунок 2.1 – Дизайн исследования

Рисунок 2.2 – Схема эксперимента по оценке кардиопротективных свойств на модели инфаркта миокарда *in vivo*

2.1. Скрининг антиагрегационной активности производных ксантина *in vitro*

Исследование *in vitro* проводилось на крови здоровых доноров мужского пола в возрасте 18-25 лет (n=112). Забор крови осуществлялся при помощи вакуумной системы из кубитальной вены (BD Vacutainer® (Dickinson and Company, США). В качестве стабилизатора венозной крови использовался 3,8% раствор цитрата натрия в соотношении 9:1.

Агрегация тромбоцитов изучалась с помощью агрегометра «АТ-02» [9, 19, 36] по методике Борна с применением следующих индукторов агрегации: аденозиндифосфат (АДФ) в концентрации 20 мкг/мл, адреналин – 5 мкг/мл, коллаген – 5 мг/мл, ристомидин – 10 мг/мл («Технология-стандарт», Россия). В качестве растворителя исследуемых соединений использовалась Вода для инъекций для гидрофильных соединений и диметилсульфоксид (Диметилсульфоксид, Акционерное общество «Марбиофарм» (далее – АО «Марбиофарм»), Россия) для липофильных соединений. Исследуемые соединения изучались в концентрациях 10^{-1} – 10^{-5} М.

2.2. Скрининг кардиопротективной активности производных ксантина *ex vivo* на модели изолированного сердца по методу Лангендорфа

Животные (n=170) были разделены на группы по 10 крыс в каждой: 1-я группа – интактные животные (без моделирования ишемии / реперфузии (И/Р), n=10); 2-я группа – контрольная (полный цикл эксперимента с моделированием И/Р, соответствующий времени исследования экспериментальных групп, (n=10), 3-я группа – Соединение 1-а-с ((И/Р) с предварительным введением Соединения 1-а-с интракардиально, n=10), 4-я группа – Соединение 1-в-с (И/Р + предварительно Соединение 1-в-с интракардиально, n=10), 5-я группа – Соединение 1-с-с (И/Р + предварительно Соединение 1-с-с интракардиально, n=10), 6-я группа – Соединение 2-а-с (И/Р + предварительно Соединение 2-а-с интракардиально, n=10), 7-я группа – Соединение 2-в-с (И/Р + предварительно Соединение 2-в-с интракардиально, n=10), 8-я группа – Соединение 2-с-с (И/Р + предварительно Соединение 2-с-с интракардиально, n=10), 9-я группа – Соединение 3-а-с (И/Р + предварительно Соединение 3-а-с интракардиально, n=10), 10-я группа – Соединение 3-в-с (И/Р + предварительно Соединение 3-в-с интракардиально, n=10), 11-я группа – Соединение 3-с-с (И/Р + предварительно Соединение 3-с-с интракардиально, n=10), 12-я группа – Соединение 4-а-с (И/Р + предварительно Соединение 4-а-с интракардиально, n=10), 13-я группа – Соединение 4-в-с (И/Р +

предварительно Соединение 4-в-с интракардиально, n=10), 14-я группа – Соединение 5-а-с (И/Р + предварительно Соединение 5-а-с интракардиально, n=10), 15-я группа – Соединение 4-с-с (И/Р + предварительно Соединение 4-с-с интракардиально, n=10), 16-я группа – Метопролол (И/Р + предварительно Метопролол – интракардиально, n=10), 17-я группа – Пентоксифиллин (И/Р + предварительно Пентоксифиллин – интракардиально, n=10). Все исследуемые соединения вводились в дозах, эквивалентных дозе Метопролола.

В условиях соблюдения правил асептики животных наркотизировали посредством внутримышечного введения комбинации Золетила («Virbac», Франция) и Ксилазина («Ксиланит», закрытое акционерное общество «НИТА-ФАРМ», Россия) в дозе 0,3 мг и 0,8 мг соответственно на каждые 100 г. массы тела [45]. Уровень адекватности глубины анестезии оценивали по утрате роговичного рефлекса и болевой чувствительности (посредством Тое pinch test).

После достижения адекватной глубины анестезии производили срединную лапаротомию, переходящую в билатеральную торакотомию по передней подмышечной линии справа и слева, с открытием доступа непосредственно к органам средостения и легким [44, 46, 47]. Вдоль позвоночника отсекался комплекс органов с сохранением восходящей части и дуги аорты. Извлеченный препарат помещался в охлажденный ($t^{\circ}=2-4^{\circ}\text{C}$) раствор Кребса-Хензеляйта (состав раствора представлен в Таблице 2.3) с целью нивелирования непреднамеренной ишемии миокарда.

Таблица 2.3 – Состав раствора Кребса-Хензеляйта

Компонент	Концентрация, ммоль
Натрий хлористый	118
Натрия гидрокарбонат	24,88
Калий хлористый	4,7

Продолжение Таблицы 2.3

Комонент	Концентрация, ммоль
Калия дигидрофосфат	1,18
Магния сульфат	1,64
Глюкоза безводная	5,55
Кальций хлористый	2,52

Далее восходящий отдел аорты устанавливался на канюлю системы для перфузии изолированных сердец по Лангендорфу (Рисунки 2.3-2.4). Аорта герметизировалась путем наложения лигатуры, далее начинали перфузию раствором Кребса-Хензеля (температура 37°C, pH раствора 7,35), который подвергался аэрации в установке с применением карбогена (газовая смесь, состоящая из 95 об% кислорода и 5 об% углекислого газа). С целью оценки сократительной способности сердца в полость левого желудочка вводили баллон, наполненный дистиллированной водой в таком объеме, чтобы конечное диастолическое давление составляло 10-15 мм рт. ст. Регистрация кардиофизиологических параметров осуществлялась с применением системы PhysExp (общество с ограниченной ответственностью «Кардиопротект», Россия), фиксировались показатели давления, частота сердечных сокращений (ЧСС, уд/мин), конечное диастолическое давление (КДД, мм.рт.ст). Перед началом моделирования ишемически-реперфузионного повреждения инициировался стабилизационный период длительностью 10 минут с целью стабилизации автоматизма в условиях отсутствия гуморальной и нервной регуляции. Далее вводилось исследуемое соединение через дополнительный порт системы перфузии. После этого начинался период ишемии длительностью 40 минут, инициируемый перекрытием основного порта перфузионной системы. По истечении периода ишемии начинался период реперфузии длительностью 120 минут. В течение всего эксперимента сохранялось постоянное давление перфузионного раствора, равное 100 см вод. ст., поддерживаемое постоянством наполнения колбы установки раствором Кребса-Хензеля.



Рисунок 2.3 – Схема установки перфузии изолированного сердца по методу Лангендорфа [228]

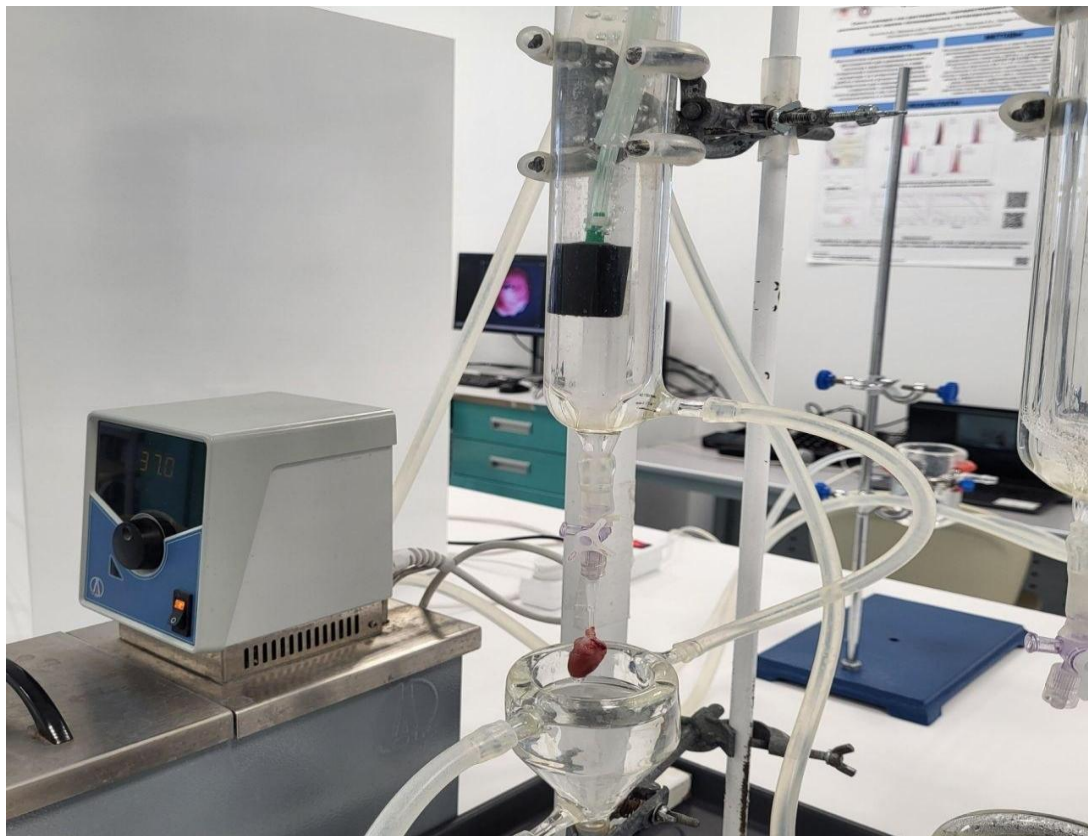


Рисунок 2.4 – Установка изолированного сердца по методу Лангендорфа

В течение эксперимента в стабилизационный период, период ишемии и реперфузии осуществлялся забор перфузата и проводилось измерение кардиофизиологических показателей в следующих контрольных точках: через 10 минут после канюляции аорты, через 5, 30, 60 минут после начала реперфузии.

По окончании эксперимента часть сердец подвергалась макроскопической оценке степени ишемически-реперфузионного повреждения посредством окраски трифенилтетразолия-2,3,5 хлористого (ТТС) [10, 11, 12] по следующей методике: предварительно изготавливались срезы диаметром 1 мм, которые помещали в готовый 1% раствор ТТС и инкубировались в нем при 37⁰С в течение 15 минут. Далее срезы фиксировались в растворе 10% нейтрального забуференного формалина. После фиксации в течение суток срезы сканировались с каждой стороны при помощи сканера HP ScanJet G3110. Размер инфаркта вычисляли планиметрическим методом при помощи программного обеспечения ImageJ (ImageJ, США), результат выражали по суммарной площади ТТС-негативных зон от общей площади среза в процентах.

Другая часть сердец для оценки выраженности степени сосудистой проницаемости подвергалась окрашиванию флуорофором индоцианином зеленым (ICG) [37, 38] по следующей методике: готовили 0,2% раствор ICG, из которого забирали 0,5 мл и смешивали с таким же объемом раствора Кребса Хензеляйта, далее из полученного раствора готовили 0,002%, добавляя раствор Кребса Хензеляйта. Готовый 0,002% раствор ICG вводили в дополнительный порт системы изолированного сердца за 5 минут до окончания периода реперфузии в течение 5 минут. Флуоресценцию регистрировали при помощи оптической системы визуализации LumoTrace (Abisense, Россия) с использованием режима регистрации эпифлуоресценции при инфракрасном спектре излучения с длиной волны 780-808 нм. Зоны сосудистой проницаемости (ARR) детектировали в виде областей свечения белого цвета, расчет осуществляли планиметрически с использованием того же программного пакета, что и при подсчете зоны инфаркта при окраске ТТС. Размер ARR выражали в процентном соотношении детектированных ARR в сумме (ICG положительные области) от общей площади среза.

Биохимический анализ перфузата в рамках данного эксперимента проводили с целью оценки активности кардиоспецифических ферментов: лактатдегидрогеназы (ЛДГ) и креатинфосфокиназы-МВ (КФК-МВ) [20, 26, 29]. Активность ферментов определяли с применением стандартных наборов реагентов.

В рамках расчета ED 50 при внутривенном введении вывод животных проводился через 24 часа после развития ишемически-реперфузионного повреждения миокарда, а в экспериментах, направленных на определение механизма действия, забор материала проводился в следующие временные точки: через 1 час, 3 часа, 12 часов, 1 сутки, 3 сутки, 7 сутки, 14 сутки и 30 сутки.

2.3. Молекулярный докинг

Молекулярный докинг проводился с целью определения вероятного сайта связывания исследуемого соединения 1,3-диметил-8-(4-метилпиперазин-1-ил)-7-(тиетан-3-ил)-1Н-пурин-2,6(3Н,7Н)-дион гидрохлорида под шифром 5-а-с (далее – Соединение 1) (Рисунок 2.5) с убиквитин-специфической протеазой 28 (USP28).

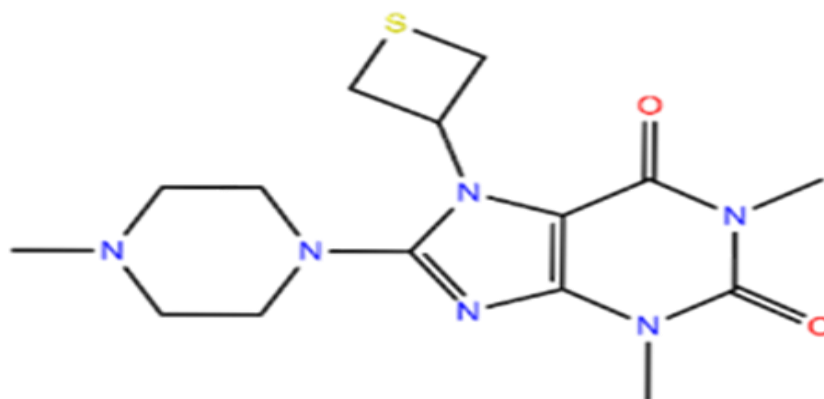


Рисунок 2.5 – Соединение 1 (1,3-диметил-8-(4-метилпиперазин-1-ил)-7-(тиетан-3-ил)-1Н-пурин-2,6(3Н,7Н)-дион гидрохлорида, 5-а-с)

На настоящий момент в Protein Data Bank (RCSB PDB) отсутствуют экспериментальные структуры полноразмерного USP28 (1077 аминокислот). Для

предсказания полноразмерной трёхмерной структуры USP28 была использована методология AlphaFold3 [63]. Однако ввиду высокой гибкости N- и С-концевых регионов, а также наличия внутренне неупорядоченных участков (например, в UCID и SCD), предсказание показало низкие значения predicted local distance difference test (pLDDT) (< 70) для $\sim 30\%$ остатков, особенно в экстремальных доменах (Рисунок 2.6)). Индикатор pLDDT отражает попиксельную надёжность предсказания: значения > 90 – высокая достоверность (структурно упорядоченные домены), 70-90 – умеренная, < 50 – низкая (вероятно, неупорядоченные регионы). В связи с этим, полноразмерная модель не использовалась для детального анализа связывающего кармана.

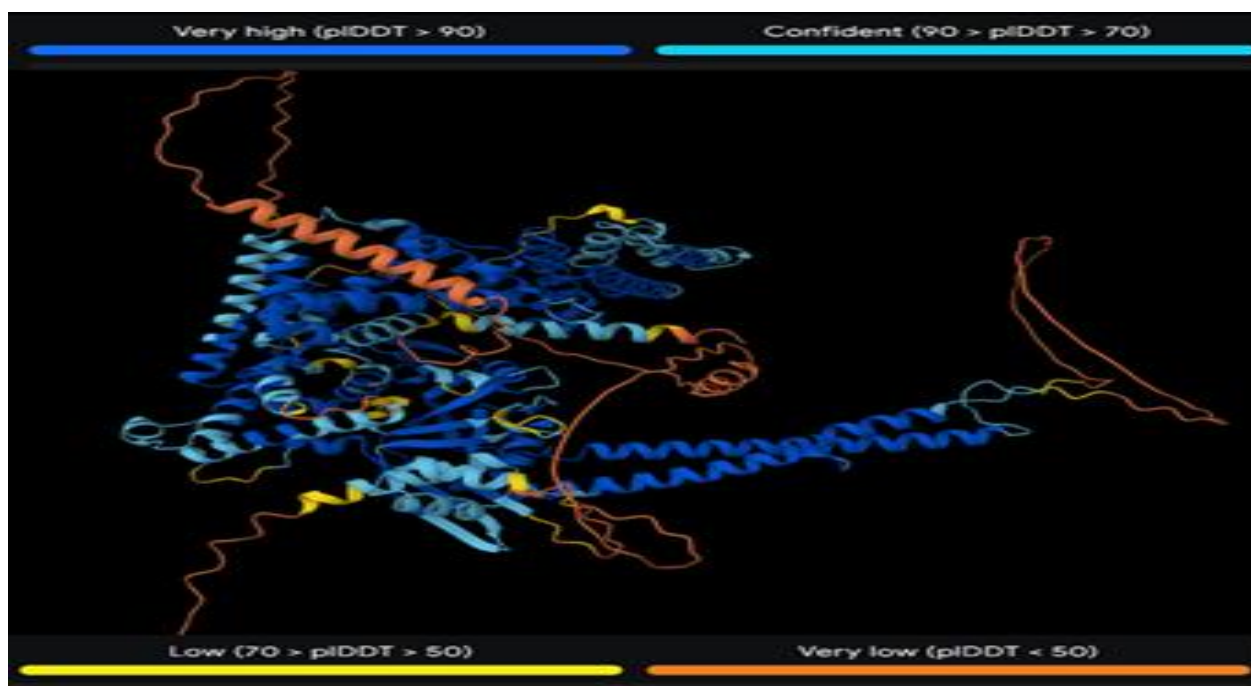


Рисунок 2.6 – Прогнозируемая трёхмерная структура полноразмерного белка USP28 (UniProt Q96RU2), предсказанная с помощью AlphaFold3

Цветовая кодировка отражает надёжность предсказания: оранжевый – очень низкая ($pLDDT < 50$), жёлтый – низкая ($70 > pLDDT > 50$), светло-голубой – уверенная ($90 > pLDDT > 70$), тёмно-синий – очень высокая ($pLDDT > 90$).

Все доступные кристаллические структуры представляют собой фрагменты каталитического домена (обычно остатки ~149-703), часто с удалённой вставкой UCID (Δ UCID) или «кончиком» (Δ tip) для улучшения кристаллизуемости. С целью анализа сайта связывания ингибиторов был выбран PDB ID: 8P14 – структура каталитического домена USP28 (Δ UCID) в комплексе с Визмодегибом (VSM), определённая с разрешением 2.57 Å [180]. Эта структура выбрана по следующим причинам: высокое разрешение и полнота модели, позволяющая надёжно идентифицировать водородные связи, гидрофобные и ионные взаимодействия; Визмодегиб – клинически одобренный препарат (ингибитор SMO), репрофилированный как ингибитор USP28, что повышает физиологическую релевантность наблюдаемого комплекса. В этой структуре чётко визуализирован аллостерический карман, а также ключевые остатки (His261, Glu366, Gln315), определяющие селективность и механизм ингибирования. Таким образом, для дальнейшего молекулярного моделирования была выбрана экспериментально подтверждённая структура 8P14, которая обеспечивает атомарную точность для ключевых регуляторных взаимодействий. Полная последовательность проведения компьютерных экспериментов отображена на Рисунке 2.7.

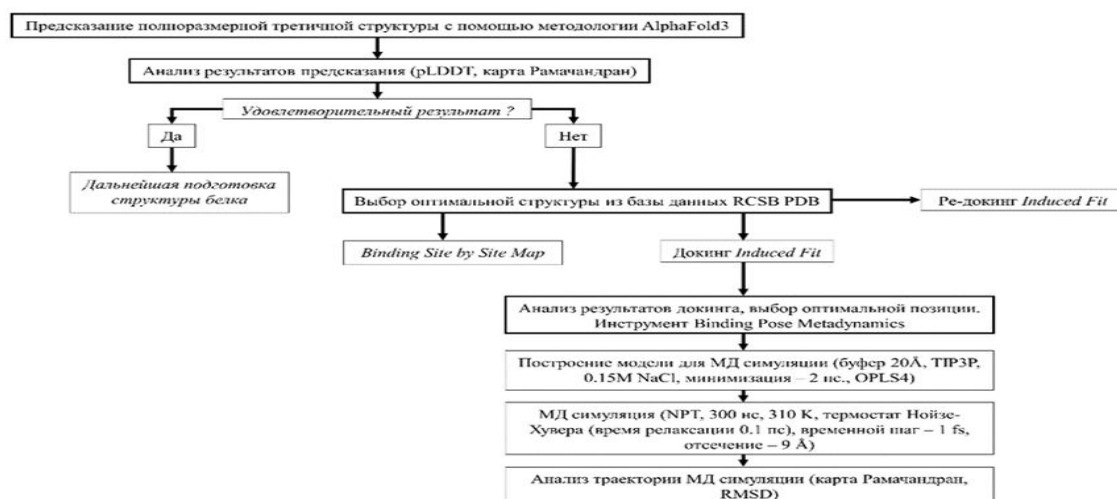


Рисунок 2.7 – Схема последовательности проведения компьютерных экспериментов по предсказанию структуры белка и анализу его взаимодействия с лигандом

Для исследуемого соединения рассчитывалась трехмерная геометрия молекулярной структуры с учетом существования метастабильных конформеров, а также возможных протонированных форм при $\text{pH}=7.00$. Квантово-химические расчеты проводились в программном комплексе GAUSSIAN 16 rev.C.01. Оптимизация геометрических параметров с решением колебательной задачи проводилась с использованием DFT метода M06-2X [265] с базисным набором TZVP [214].

В качестве потенциальной биологической мишени рассматривалась убиквитин-специфичная протеаза 28 (USP28). Геометрические параметры протеина в комплексе с референсным лигандом были загружены из некоммерческой базы данных Protein Data Bank [238] под PDB кодом 8P14 [180]. Модельная структура белка подготовлена с помощью инструментов Schrodinger Protein prepwizard: добавлены и минимизированы атомы водорода, добавлены недостающие боковые цепи аминокислот, восстановлены кратности связей, удалены молекулы растворителя, вся структура ограничено оптимизирована в силовом поле OPLS4 [173]. В качестве потенциального аллостерического сайта связывания в USP28 рассмотрен карман, занятый ингибитором Визмодегибом в кристаллической структуре PDB: 8P14. Визмодегиб связывается в консервативном аллостерическом кармане, расположенном в расщепе между субдоменами «большой палец» (thumb) и «ладонь» (palm) каталитического домена USP28 на расстоянии $\sim 12\text{--}13 \text{ \AA}$ от каталитического цистеина Cys17. Этот карман отсутствует у большинства других USP и служит «молекулярной ловушкой» для ингибиторов [180]. Ключевые взаимодействия Визмодегиба с USP28 отображены на Рисунке 2.8.

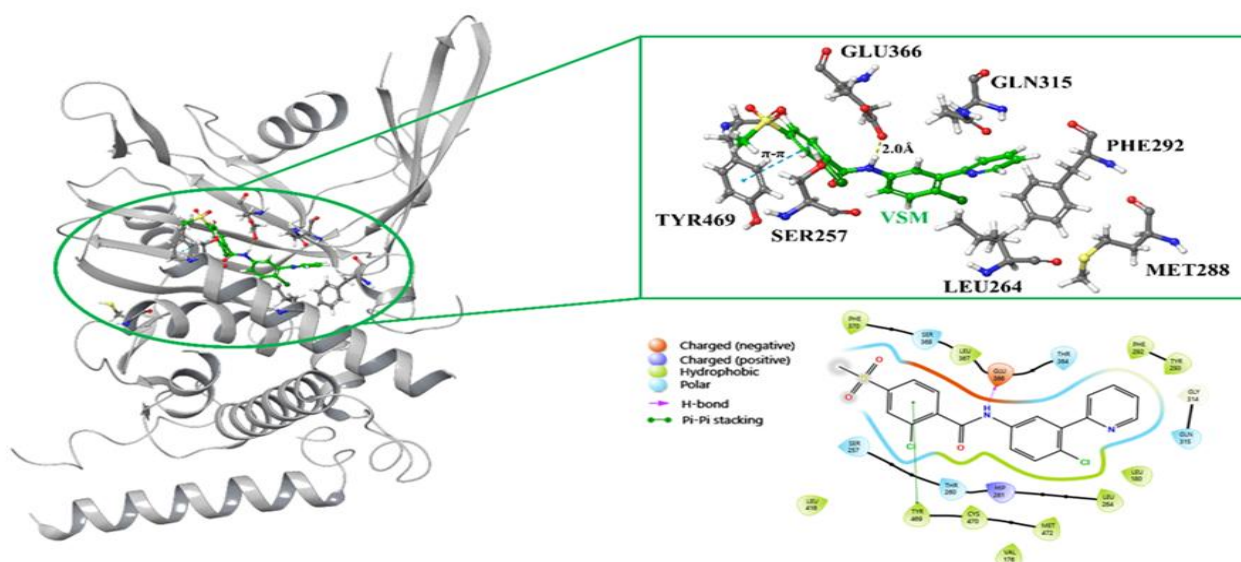


Рисунок 2.8 – Молекулярные взаимодействия ингибитора Визмодегиба с аллостерическим карманом USP28 (PDB ID: 8P14)

Хлорбензольный фрагмент Визмодегиба занимает гидрофобный карман, образованный остатками Phe292, Leu264 и Met288, и участвует в π -стэкинговых взаимодействиях с боковой цепью Tyr469. Амидный линкер образует водородную связь с Glu 366 (расстояние ~ 2.0 Å). Данное взаимодействие играет критически важную роль в связывании и селективности. Пиридиновое кольцо ориентировано к поверхности белка и заполняет пространство между Gln315 и Leu264. Метилсульфонил-заместитель направлен вдоль «широкого» конца кармана к N-концу $\alpha 5$ -спирали и стабилизирует её в «открытом» положении. Связывание Визмодегиба фиксирует спираль $\alpha 5$ в «открытом» состоянии, предотвращая конформационный переход, необходимый для формирования функционально активной (каталитически активной) структуры фермента. В результате убиквитин не может правильно ориентироваться в активном центре, и реакция деубиквитинирования не происходит [180].

Сайт связывания ингибиторов убиквитин-специфичной протеазы 28 расположен внекаталитически, в аллостерическом кармане, образованном субдоменами «большой палец» (thumb) и «ладонь» (palm) каталитического домена [180]. Так как USP28 является мультисайтовым белком, необходимо подтвердить, что карман связывания Визмодегиба – это биологически значимый сайт, а не

артефакт кристаллизации. Для решения этой задачи был использован плагин Site Map. SiteMap – один из наиболее известных инструментов для предсказания сайтов связывания [117, 168]. Данная методология определяет пустые полости пространства в белке путем «прокатки» виртуального сферического зонда, размер которого близок к размеру небольшого лиганда. Далее рекомендуется проводить верификацию найденных мест связывания с данными биологических экспериментов или по меньшей мере аргументировать место связывания на основании структурных и функциональных особенностей исследуемого белка.

В структуре USP28 (PDB ID=8P14) было определено место связывания Визмодегиба с помощью плагина Site Map, SiteScore=1.223. Сайт связывания также расположен в аллостерическом кармане каталитического домена и представляет собой гидрофобную полость (зеленые сферы на Рисунке 2.9). SiteScore > 1.0 – высокая вероятность связывания лигандов. Зелеными сферами отражен гидрофобный карман.

Молекулярный докинг соединений проводился с применением протокола принудительного позиционирования лигандов (IFD) со следующими условиями: гибкие белок и лиганд, размер grid-матрицы составляет 15Å, аминокислоты в радиусе 5Å от лиганда ограничено оптимизированы с учетом влияния лиганда.

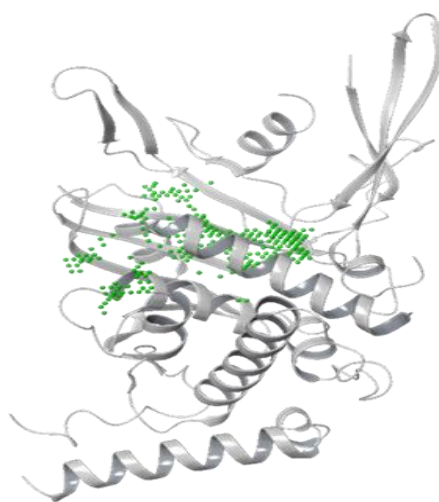


Рисунок 2.9 – Сайт связывания USP28, определенный с помощью плагина SiteMap

Ранжирование решений докинга проводилось путём оценки следующих расчётных параметров: docking score (на основе GlideScore за вычетом штрафов), эффективность лиганда (LE, где учитывается поатомное распределение скоринг-функции), а также параметр модельного значения энергии (Emodel), включающий значение GlideScore, энергию несвязанных взаимодействий и параметры энергии, затрачиваемой на формирование укладки соединения в сайте связывания. Кроме того, для самых выгодных позиций рассчитывалась свободная энергия связывания лиганда и белка в лиганд-белковый комплекс (ΔG_{GBSA}). В расчете использовалась обобщённая модель Борна с переменной диэлектрической проницаемостью. Растворитель (вода) учитывался неявно.

Исследуемый комплекс соединений, полученный в результате молекулярного докинга, использовался для последующей симуляции молекулярной динамики. Лиганд-белковый комплекс был помещен в кубическую коробку размером $3375\text{\AA}^3$, наполненную 0.15 М водным раствором NaCl. Для выравнивания заряда системы добавлялись противоионы (Na^+ и/или Cl^-). Модель растворителя – TIP3P, окружение – NPT. Период регистрируемой симуляции динамики составил 300 наносекунд при температуре в 310К. Протокол подготовки системы к симуляции включал предварительную минимизацию и уравнивание компонентов системы.

2.4. Исследование эффективности Соединения 1 на модели инфаркта миокарда *in vivo*

Животные (n=280) были разделены на 4 группы: 1-я группа – интактная (крысы без оперативного вмешательства, n=10), 2-я группа – контрольная (оперативное вмешательство + внутривенное введение 0,9% раствора Натрия Хлорида 0,3 мл, n=7), 3-я группа – Соединение 1 (моделирование ишемии-реперфузии *in vivo* с предварительным введением до ишемии Соединения 1 в дозе 1,1 мг/кг внутривенно, n=7), 4-я группа – Метопролол (моделирование ишемии-реперфузии *in vivo* с предварительным введением до ишемии Метопролола в дозе

1,0 мг/кг внутривенно, n=7). Исследование осуществляли в 9 контрольных точках для 2, 3 и 4 групп: 1 час, 3 часа, 12 часов, 1 сутки, 3 сутки, 7 сутки, 10 сутки, 14 сутки, 30 сутки.

Анестезиологическое пособие было аналогичным описанному в разделе, посвященном исследованию кардиопротективных свойств на модели изолированного сердца по методу Лангендорфа. После достижения адекватной глубины анестезии была обеспечена проходимость дыхательных путей методом интубации трахеи посредством видеоассистированной ларингоскопии интубационными трубками диаметром 14-18 G (RWD, Китай), с последующей искусственной вентиляцией легких кислородно-воздушной смесью с помощью ИВЛ-аппарата (RWD R415 VentStar, Китай). Были установлены следующие параметры вентиляции: концентрация кислорода во вдыхаемой смеси (FiO_2) = 0,4; дыхательный объем (V_{te}) = 1,5-2,0 мл (из расчета 6-10 мл/кг); частота дыхания (f) = 60-80/мин.; положительное давление в конце выдоха (PEEP) = 5-7 см вод. ст.; лимит давления (P_{lim}) = 30 см вод. ст.

Животное фиксировалось на подогреваемом операционном столе (система «Флогистон», общество с ограниченной ответственностью «Нейроботикс» (далее – ООО «Нейроботикс»), Россия) в положении на спине, далее подключался неинвазивный мониторинг физиологических показателей при помощи системы «Систола» (ООО «Нейроботикс»). После соблюдения всех этапов предоперационной подготовки осуществлялась подготовка операционного поля: удалялась шерсть, проводилась трехкратная обработка области вмешательства спиртовым раствором хлоргексидина биглюконата 0,5% (общество с ограниченной ответственностью «Женел-Трэйд», Россия).

Непосредственно перед началом моделирования инфаркта миокарда проводилась катетеризация внутренней яремной вены (катетер для яремной вены крысы, длина 30 мм, OD 0.8 мм, ID 0,4 мм, Sci-Cat, Россия) для забора крови и введения исследуемых веществ и препаратов сравнения. Инфаркт воспроизводился по методике Selye [217]. Был обеспечен послойный доступ к сердцу – производился кожный разрез в проекции 4 межреберья, отсекалась большая грудная мышца,

рассекались межреберные мышцы. Сердце выводилось в операционную рану с обеспечением прямой визуализации передней межжелудочковой артерии (ПМЖВ). На ПМЖВ накладывалась лигатура с использованием атравматического шелкового шовного материала USP 6/0 (ШЕЛК МР 0,7 (USP 6-0), общество с ограниченной ответственностью Производственно-техническое объединение «Медтехника» (далее – ООО ПТО «Медтехника»)) с использованием кондуктора из эластичного материала (каучук) для обеспечения возможности снятия лигатуры. Через 40 минут лигатура снималась путем срезания шва. Начинался период реперфузии. Пневмоторакс ликвидировался путем активной аспирации воздуха шприцем, далее на грудную клетку накладывался непрерывный шов (ШЕЛК МР 1,5 (USP 4-0), ООО ПТО «Медтехника»). Рана послойно ушивалась и восстанавливалась каркасность грудной клетки. Послеоперационная рана обрабатывалась. Экстубация трахеи выполнялась на фоне восстановления адекватного спонтанного дыхания и защитных рефлексов. Вывод животных, забор венозной крови (для последующей оценки содержания уровня убиквитина в сыворотке) и тканей для гистологического исследования проводился до оперативного вмешательства, а также после него через 1 час, 3 часа, 12 часов, 1, 3, 7, 14 и 30 сутки.

Содержание уровня убиквитина в сыворотке крови определялось с помощью иммуноферментного анализа (ИФА) с применением стандартного набора «Убиквитин» компании Cloud-Clone Corp. (Китай). Референсные значения убиквитина составили 4,5-13,0 нг/мл [87, 93, 126]. Постановка реакции и расчет результатов проводились в строгом соответствии с инструкцией к применению производителя тест-системы.

Для морфологических исследований материал фиксировали в 10% забуференном нейтральном формалине (Биовитрум, Россия). Затем проводили его стандартную гистологическую обработку в изопропиловом спирте (Биовитрум, Россия) возрастающих концентраций, далее материал заключали в парафин (Биовитрум, Россия), изготавливали срезы толщиной 4 мкм. Препараты окрашивали гематоксилином и эозином. Проводили иммуногистохимическую реакцию в аппарате для иммуноокрашивания Autosteiner 360 (Thermo Fisher

Scientific, Великобритания), предварительная демаскировка была выполнена в RT-module (Thermo Fisher Scientific, Великобритания) с маркерами к desmin (clone SI18-00, Huabio, Китай), ubiquitin (clone ARC50024, Abclonal, Китай), USP28 (Polyclonal, Atlas Antibody, США).

Стеклопрепараты были оцифрованы на сканирующем микроскопе Pannoramic 250 (3DHISTECH Ltd., Венгрия). Морфометрия произведена в последней версии программы QuPath 0.6.0 (США) [198] с открытым исходным кодом (Рисунок 2.10).

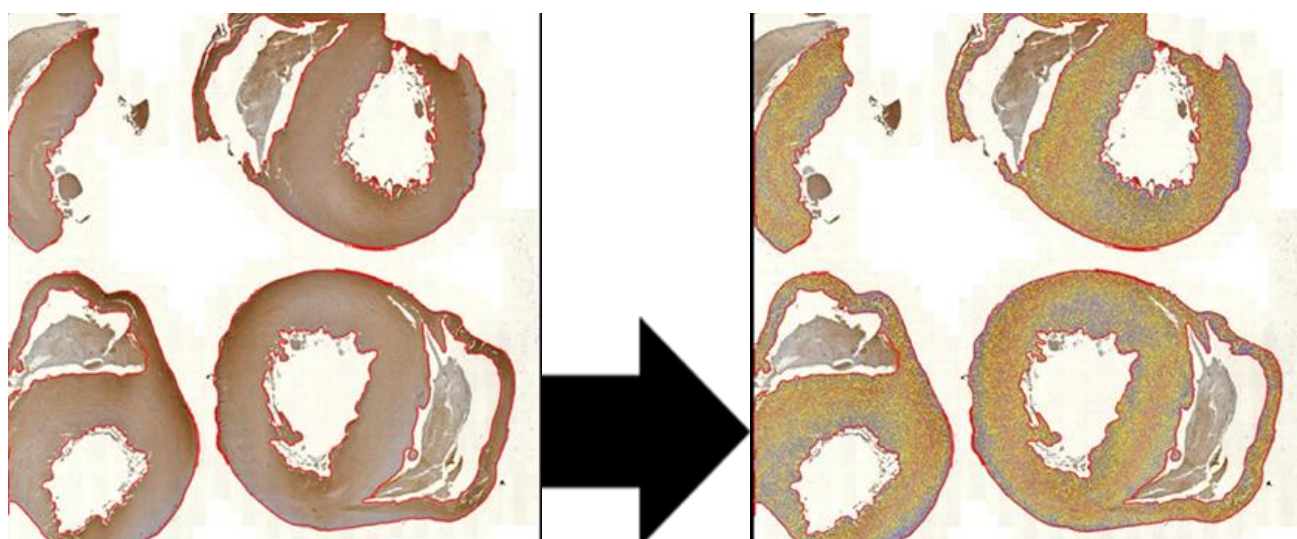


Рисунок 2.10 – Пример морфометрического анализа в программе QuPath с использованием cell detection – set cell intensity classifications

Отношение экспрессии антител в группах оценивалось с помощью раздела «Analyze» и инструмента «Cell Detection», выделялись отдельные клетки с предварительным выделением зоны интереса. В дальнейшем через «Object Classifier» и инструмент «Set Cell Intensity Classifications» клетки разделялись по интенсивности на 1+, 2+, 3+.

Интенсивность иммуногистохимического окрашивания тканей [13, 15, 23, 27] оценивалась по формуле (1).

$$\text{H-score} = 1 * (\% \text{ клеток } 1+) + 2 * (\% \text{ клеток } 2+) + 3 * (\% \text{ клеток } 3+) \quad (1)$$

2.5. Статистическая обработка данных

Накопление и систематизация данных проводились с использованием табличного процессора Microsoft Office Excel 2024 (Microsoft Corporation, США). Статистическая обработка результатов осуществлялась с применением программного обеспечения Stitistica 10.0 компании StatSoft Inc. (США). Нормальность распределения данных проверялась в соответствии с критерием Шапиро-Уилка. Описание групп осуществлялось с помощью двух показателей: медианы и межквартильного интервала. Сравнение нескольких независимых групп проводилось с применением дисперсионного анализа с помощью критерия Крускала-Уоллиса / Манна-Уитни для независимых выборок. В ситуациях повторного наблюдения применялся критерий Фридмана. Тест Фишера использовался для сопоставления категориальных переменных. Корреляционные связи между изучаемыми явлениями оценивались посредством вычисления коэффициента корреляции Спирмена (r), а также коэффициента детерминации (r^2). Для оценки частоты встречаемости тех или иных признаков в выборке применялись парные таблицы и χ^2 Пирсона. Необходимые объем и мощность выборки для ключевых параметров системы гемостаза определялись при помощи модуля Power Analysis программы Statistica. Выживаемость при моделировании инфаркта *in vivo* анализировалась по методу Каплана-Мейера (значения функции выживаемости между точками наблюдений считаются константными), а межгрупповые различия в выживаемости проверялись с учетом критерия Вилкоксона. Порог статистической значимости (p) был задан равным 0,05. Расчет показателей IC50 и ED50 проводился нелинейным регрессионным методом – подгонкой кривой, описывающей процент антиагрегационной активности в логарифмическом уравнении из 4 параметров в программе GraphPad Prism компании GraphPad Software, Inc. (США).

ГЛАВА 3. РЕЗУЛЬТАТЫ СОБСТВЕННЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Данная глава посвящена представлению и анализу результатов экспериментальной оценки активности исследуемых соединений в отношении антиагрегатной и кардиопротективной активности, а также изучению вероятности связывания Соединения 1 с аллостерическим центром фермента USP28, иммуногистохимическому анализу срезов миокарда на детекцию экспрессии убиквитина и USP28 в исследуемых группах.

3.1. Результаты скрининга антиагрегационной активности производных 7-тиетанилксантина *in vitro*

Результаты исследования влияния производных 7-тиетанилксантина на агрегацию тромбоцитов различными индукторами отражены в Таблице 3.1.

Таблица 3.1 – Влияние впервые синтезированных производных ксантина и препаратов сравнения на систему гемостаза *in vitro*, Ме (25-75)

Шифр	Латентный период, % к контролю	Максимальная амплитуда, % к контролю	Скорость агрегации, % к контролю	Время достижения МА, % к контролю
1-а-с	+5,3 (4,7–8,1)*, #	–12,3 (10,8–14,3)*	+7,1 (5,6–8,2)*, #	–15,8 (13,7–17,2)*, #
1-в-с	+7,6 (5,4–8,3)*, #	–8,4 (6,3–10,1)*	–11,4 (8,6–13,4)*	+3,7 (2,8–4,5) #
1-с-с	–11,9 (11,1–14,2)*, #	–5,2 (3,8–7,3)*, #	–16,6 (15,8–20,3)*, #	–10,7 (8,9–12,6)*, #
2-а-с	+7,4 (5,8–8,3)*, #	–12,8 (11,6–14,2)*	–12,8 (10,3–14,2)*	+32,1 (30,4–34,6)*, #
2-в-с	–11,4 (10,5–13,1)*, #	–8,4 (6,8–10,1)*#	+5,3 (4,8–7,2)*, #	–10,2 (9,6–11,7)*, #
2-с-с	–5,4 (3,2–7,1)*, #	–1,3 (1,1–2,7) #	–15,4 (12,7–17,3)*, #	+29,4 (27,3–30,2)*, #
3-а-с	+5,4 (3,6–6,1) *, #	–14,7 (13,5–17,2)*	+8,4 (7,6–10,3)*, #	+16,7 (14,4–17,8)*, #
3-в-с	+6,2 (5,4–7,3) *, #	–11,8 (10,4–14,7)*	–11,5 (10,8–13,8)*	–6,4 (4,2–7,8)*, #

Продолжение Таблицы 3.1

Шифр	Латентный период, % к контролю	Максимальная амплитуда, % к контролю	Скорость агрегации, % к контролю	Время достижения МА, % к контролю
3-с-с	-5,2 (3,3–5,6) *, #	-6,1 (4,2–7,3)*, #	-10,6 (8,4–11,9)*	+11,7 (10,5–13,4)*
4-а-с	+3,3 (3,1–5,2) *, #	16,9 (14,8–21,3)*	+13,8 (13,2–16,4)*, #	+11,9 (10,4–15,7)*
4-в-с	+2,4 (1,7–3,9) *, #	-7,4 (6,3–9,2)*, #	-8,4 (7,2–10,6)*	+13,8 (12,1–15,7)*
5-а-с	-12,6 (9,1–13,8)*, #	-19,4 (18,3–23,5)*, #	-30,2 (28,4–32,7)*, #	+12,4 (11,2–14,8)*
4-с-с	+3,2 (2,7–3,6) #	-3,7 (2,8–3,9)#	+6,7 (4,5–7,9)*, #	-10,8 (9,4–12,3)*, #
Ацетилсалициловая кислота	-2,1 (1,1–2,6)	-13,7 (10,8–16,4)*	-10,5 (7,6–12,3)*	+10,5 (8,7–13,4)*
Примечание: * $p < 0,05$ – в сравнении с контролем; # $p < 0,05$ – в сравнении с Ацетилсалициловой кислотой; $p < 0,05$				

В результате исследования были получены следующие данные: среди 7-тиетанилксантинов соединения с шифрами 1-а-с, 1-в-с, 2-а-с, 3-а-с, 3-в-с, 4-а-с, 5-а-с проявили антиагрегационную активность на уровне препарата сравнения (Ацетилсалициловой кислоты) по показателю снижения максимальной амплитуды (МА). Соединение с шифром 5-а-с проявило активность, превосходящую активность Ацетилсалициловой кислоты. Активность остальных соединений уступала значениям препаратов сравнения. Производные изатина по сравнению с производными 7-тиетанилксантина показали низкую антиагрегационную активность, поэтому дальнейший скрининг кардиопротективной активности не проводился.

3.2. Результаты скрининга кардиопротективной активности производных 7-тиетанилксантина *ex vivo* на модели изолированного сердца по методу Лангендорфа

Результаты исследования дозозависимого кардиопротективного эффекта Метопролола при интракардиальном введении у крыс ($n=60$) в диапазоне доз от 0,05 до 3,0 мг/кг показали, что в дозе 0,5 мг/кг размер зоны некроза в сравнении с

контрольной группой составил 64,3% ($p < 0,05$), в дозе 1,5 мг/кг – 52,1% ($p < 0,05$), в дозе 3 мг/кг – 51,3% ($p < 0,05$). ED50 Метопролола при интракардиальном введении соответствует 1,0 мг/кг.

После определения ED50 Метопролола все исследуемые соединения вводились в дозах, эквивалентных ED50 Метопролола для интракардиального введения.

В качестве оценки наличия или отсутствия кардиопротективных свойств у соединений в рамках скрининга производных 7-тиетанилксантина проводилась макрометрическая оценка зон некроза и сосудистой проницаемости. (Таблица 3.2).

Таблица 3.2 – Влияние производных 7-тиетанилксантинов на размер зон некроза и сосудистой проницаемости при макроскопической оценке, Ме (25-75)

Название группы	Размер зоны некроза (%) при окраске TTC	Размер ARR (%) при окраске ICG
Контроль	67,8 (60,2–72,3)	55,3 (49,4 – 59,3)
1-а-с	61,3 (56,8 – 66,0)	51,4 (47,1 – 56,2)
1-в-с	59,7 (54,5 – 64,8)	49,8 (45,0 – 54,5)
1-с-с	62,4 (57,9 – 67,1)	52,9 (48,2 – 54,5)
2-а-с	57,1 (52,3– 62,0)	46,5 (42,1 – 51,2)
2-в-с	54,8 (49,8 – 60,1)	44,2 (41,0 – 47,8)
2-с-с	56,2 (51,5 – 61,4)	45,7 (41,3 – 50,4)
3-а-с	60,9 (55,9 – 66,2)	50,6 (46,3 – 55,4)
3-в-с	58,3 (52,4 – 63,5)	48,2 (43,4 – 57,1)
3-с-с	63,5 (58,7 – 68,8)	53,2 (48,8 – 57,2)
4-а-с	55,5 (50,8 – 60,7)	44,9 (40,6 – 48,8)

Продолжение Таблицы 3.2

Название группы	Размер зоны некроза (%) при окраске TTC	Размер ARR (%) при окраске ICG
4-в-с	54,3 (49,2 – 57,8)	46,3 (41,2 – 47,5)
5-а-с	47,8 (43,6 – 52,5)	45,7 (39,2 – 51,3)
4-с-с	61,8 (56,9 – 67,0)	52,1 (47,6 – 56,2)
Метопролол	53,2 (48,5 – 57,1)	47,4 (42,7 – 52,2)
Пентоксифил-лин	71,5 (66,8 – 77,2)	63,8 (58,1 – 69,0)
Примечание: ARR – зоны сосудистой проницаемости, TTC – 2,3,5-трифенилтетразолия хлорид, ICG – индоцианин зеленый; $p < 0,05$ по отношению к контролю		

Так, в контрольной группе размер некроза составил 67,8% (60,2-72,3), а размер ARR – 55,3% (49,4-59,3), что указывает на развившееся ишемически-реперфузионное повреждение миокарда. В опытных группах кардиопротективный эффект, сопоставимый с препаратом сравнения Метопролол, имели соединения 2-в-с (TTC – 54,8%, ICG – 44,2%, $p < 0,05$ по отношению к контролю) и 4-в-с (TTC – 49,8%, ICG – 42,1%, $p < 0,05$ относительно группы контроля). Умеренную кардиопротективную активность продемонстрировали вещества 4-а-с, 2-а-с, 2-с-с по показателю ограничения зоны некроза при окраске TTC. Соединение 5-а-с показало эффективную протекцию, превышающую таковую у препарата сравнения Метопролол по всем показателям ($p < 0,05$) (Рисунок 3.1).

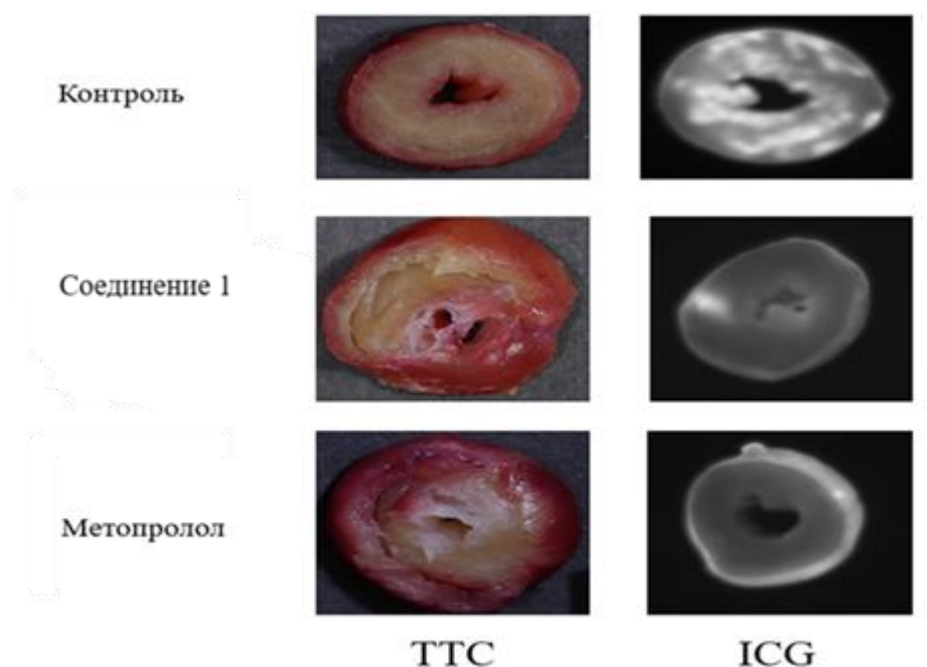


Рисунок 3.1 – Фотографии срезов сердец крыс контрольной и опытных групп (Соединение 5-а-с, Метопролол)

При детекции зон некроза и сосудистой проницаемости соединения 1-в-с, 3-в-с, 1-а-с, 3-а-с, 4-с-с, 1-с-с и 3-с-с проявили слабую кардиопротективную активность, их показатели статистически незначимо отличались от показателей контрольной группы ($p \geq 0,05$). Данные, полученные относительно пентоксифиллина, не противоречат результатам предыдущих исследований [43].

Методика макрометрической оценки на этапе скрининга кардиопротективной оценки легла в основу создания программы ЭВМ «Макрометрическая оценка ишемического и ишемически-реперфузионного повреждения миокарда» (Приложение Б), имеющей следующие технические характеристики:

1. Тип ЭВМ: IBM PC-совмест. ПК.
2. ОС: Windows 2007/2010.
3. Язык программирования: Visual studio 2024 с использованием Python.
4. Объем программы для ЭВМ: 100 КБ.

По результатам оценки кардиофизиологических параметров (Приложение А) были сделаны следующие выводы: наиболее выраженная активность в отношении сохранения систолической и диастолической функции миокарда относительно

контроля отмечается в группе 7 (Соединение 5-а-с), что подтверждает данные, полученные при макрометрической оценке. Необходимо отметить, что эффективность исследуемого соединения превышает эффективность препарата сравнения. Кроме того, умеренная активность была выявлена у соединений с шифрами 1-а-с, 1-в-с, 3-а-с и 4-а-с, однако диастолическая дисфункция в этих группах сохранялась (отмечалось резкое снижение ОСКП по отношению к контролю, что свидетельствует о возникновении контрактуры миокарда вследствие нарушения процесса расслабления).

Таким образом, с учетом результатов скринингов агрегационной и кардиопротективной активностей дальнейшие исследования направлены на изучение механизма действия и оценку эффективности на модели инфаркта *in vivo* в отношении соединения 1,3-диметил-8-(4-метилпиперазин-1-ил)-7-(тиетан-3-ил)-1Н-пурин-2,6(3Н,7Н)-дион гидрохлорида под шифром 5-а-с (Соединение 1).

3.3. Оценка кардиопротективного эффекта и токсичности Соединения 1 *in vivo* на лабораторных животных

Зависимость кардиопротективного эффекта Соединения 1 и Метопролола от их дозы изучалась на модели инфаркта миокарда *in vivo* при внутривенном болюсном введении в диапазоне доз от 0,1 до 5 мг/кг по окончании 24 часов после развития ишемически-реперфузионного повреждения. При введении Метопролола в дозе 0,1 мг/кг в/в зона некроза составила 69,2% ($p < 0,05$), в дозе 0,5 мг/кг – 66,4% ($p < 0,05$), в дозе 5 мг/кг – 43,1%. Рассчитанное значение ED50 для внутривенного введения Метопролола составило ~ 1,02 мг/кг. Соединение 1 в дозе 0,1 мг/кг не приводило к статистически значимому снижению зоны некроза миокарда – 70,1% ($p > 0,05$). Достоверное снижение зоны некротизированного миокарда регистрировалось начиная с 0,3 мг/кг – 54,1 мг/кг. Значение ED50 для Соединения 1 составило ~ 1,09 мг/кг.

Установлено, что Соединение 1 по показателю острой токсичности относится к IV классу опасности – малотоксичное (Таблица 3.3). Значимой разницы в гибели

интактных самцов и самок мышей при внутривенном введении Метопролола и Соединения 1 не наблюдалось.

Таблица 3.3 – Показатели основных параметров токсичности Соединения 1 и препаратов сравнения при внутривенном введении самцам мышей

Шифр	ED50, мг/кг	LD50, мг/кг	ТИ
Метопролол	1,0	92,3	92,3
Соединение 1	1,1	285,3	259,36
Примечание: ТИ – терапевтический индекс			

3.4. Результаты молекулярного докинга Соединения 1

Основная цель молекулярного докинга заключается прежде всего в оценке вероятности связывания Соединения 1 (Рисунок 3.2) в аллостерическом кармане USP-28.

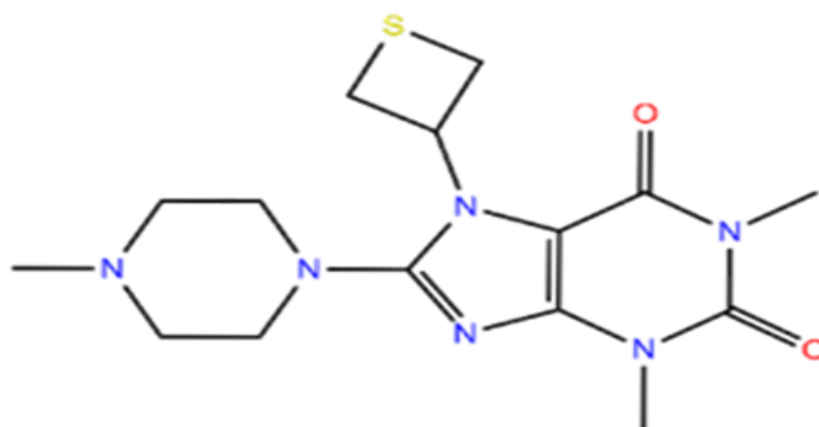


Рисунок 3.2 – Структура Соединения 1

В первую очередь нами была оценена устойчивость всех докинг-позиций с помощью методологии Binding Pose Metadynamics (BPMD). Это гибридный подход, сочетающий молекулярный докинг и ускоренную молекулярную динамику (metadynamics), предназначенный для валидации и ранжирования предсказанных поз лиганда в белковом кармане.

Из всех устойчивых поз выбирается лучшая, имеющая наименьший RMSD, наиболее отрицательную MM/GBSA-энергию, наиболее биологически осмысленный набор взаимодействий (согласующийся с SAR, мутагенезом, аналогами).

На Рисунке 3.3 представлена стабильность различных докинг-позиций лиганда Соединения 1 в аллостерическом кармане каталитического домена USP28, оцененная с помощью Binding Pose Metadynamics (BPMD).

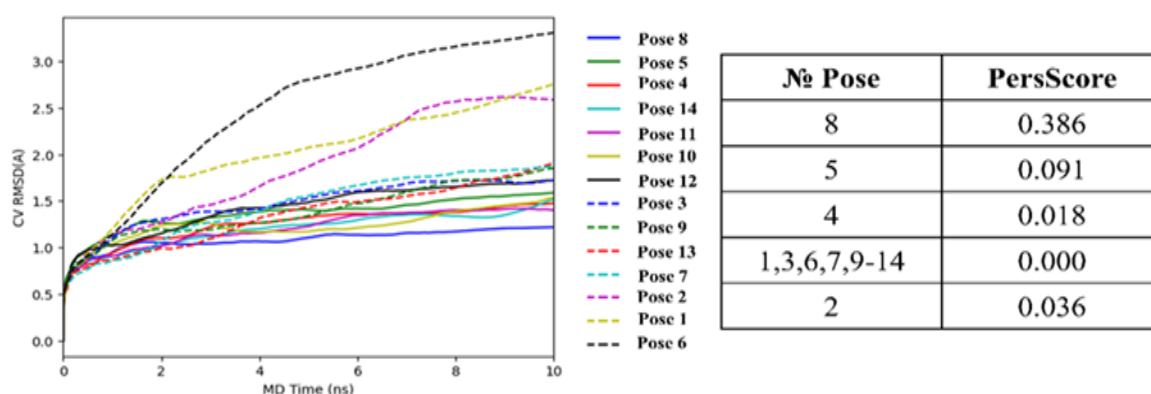


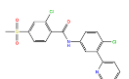
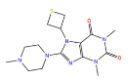
Рисунок 3.3 – Динамическая стабильность различных докинг-позиций лиганда Соединения 1 в аллостерическом кармане USP28, оцененная с помощью Binding Pose Metadynamics

Основным из ключевых показателей стабильности позиции является PersScore (Metadynamics Binding Persistence) – количественная мера устойчивости предсказанной позы лиганда в белковом кармане во время ускоренной молекулярно-динамической (метадинамической) симуляции. Это ключевой выходной параметр BPMD, позволяющий установить, остаётся ли лиганд в предсказанной позе достаточно долго, чтобы её можно было считать биологически правдоподобной, или он быстро «выплывает» из кармана? Если значение PersScore ≥ 0.7 (70%), то позиция высокоустойчива: лиганд почти не смещается, если значение $0.3 \leq \text{PersScore} < 0.7$, то позиция умеренно устойчива: возможны локальные перестройки, но основной каркас сохраняется, если же значение PersScore < 0.3 (30%), то позиция нестабильна: лиганд покидает карман или кардинально меняет ориентацию.

На Рисунке 3.3 также отображены значения RMSD, меры отклонения атомов лиганда от его исходной позиции. Низкий RMSD ($< 1.5 \text{ \AA}$) указывает на стабильную позицию, высокий RMSD ($> 2.5 \text{ \AA}$) – на нестабильную, где лиганд «выплывает» из кармана или меняет свою ориентацию. Таким образом, в результате полученных данных для дальнейших компьютерных экспериментов выбрана докинг-позиция под номером 8 (синяя линия на Рисунке 3.3) в связи с наличием у нее самого высокого значения PersScore и самого низкого значения RMSD.

На основании результатов молекулярного докинга (Таблица 3.4) можно отметить, что аффинность обоих лигандов к USP28 соизмерима. Разница между рассчитанными значениями аффинности (IFD score) составляет 6.53 ккал/моль. Значение Emodel для нативного лиганда ниже, чем для Соединения 1, что указывает на лучшее расположение лиганда в кармане связывания USP28. Оба лиганда находятся в определенном сайте связывания, и у обоих присутствуют водородные связи, но между разными аминокислотными остатками. Энергия связывания ΔG_{GBsa} для комплекса с Соединением 1 ниже, чем для комплекса с нативным лигандом, что говорит о большей эффективности связывания лиганда Соединение 1 с USP28.

Таблица 3.4 – Результаты проведения процедуры молекулярного докинга (для лучших позиций, по версии Binding Pose Metadynamics)

Название лиганда	Docking score	Emodel	IFD score	H-bond	Other interaction	Clash	G_{GBsa} , ккал/моль
 Визмодегиб	-7,835	-79,407	-742,91	Glu366	Tyr469 Halogen bond	–	-61,19
 Соединение 1	-5,757	-62,693	-736,38	Thr260 Tyr427	–	–	-62,95

Позиция молекулярного докинга комплекса USP28 – Соединение 1, соответствующая лучшим энергетическим параметрам, была выбрана с целью создания стартовых систем для молекулярно-динамической симуляции. В течение 300 нс оценивалось положение лиганда в системе и частота межмолекулярных контактов, возникающих между атомами лиганда и аминокислотами в активном сайте. Первым параметром оценки было изучение графика эволюции среднеквадратичного отклонения (RMSD) в течение всего времени симуляции. Анализ RMSD показывает, уравнилась ли исследуемая структура к концу симуляции. Изменения порядка 2-4 Å приемлемы для большинства больших глобулярных белков. Для системы USP28 – Соединение 1 амплитуда колебаний белковой структуры (голубая кривая на Рисунке 3.4) не превышает 3,5 Å. Розовая кривая характеризует уравнивание лиганда относительно белка. Так как среднеквадратичное отклонение для лиганда не превышает амплитуду колебания белка, то лиганд Соединение 1, по-видимому, достаточно прочно располагается в активном сайте.

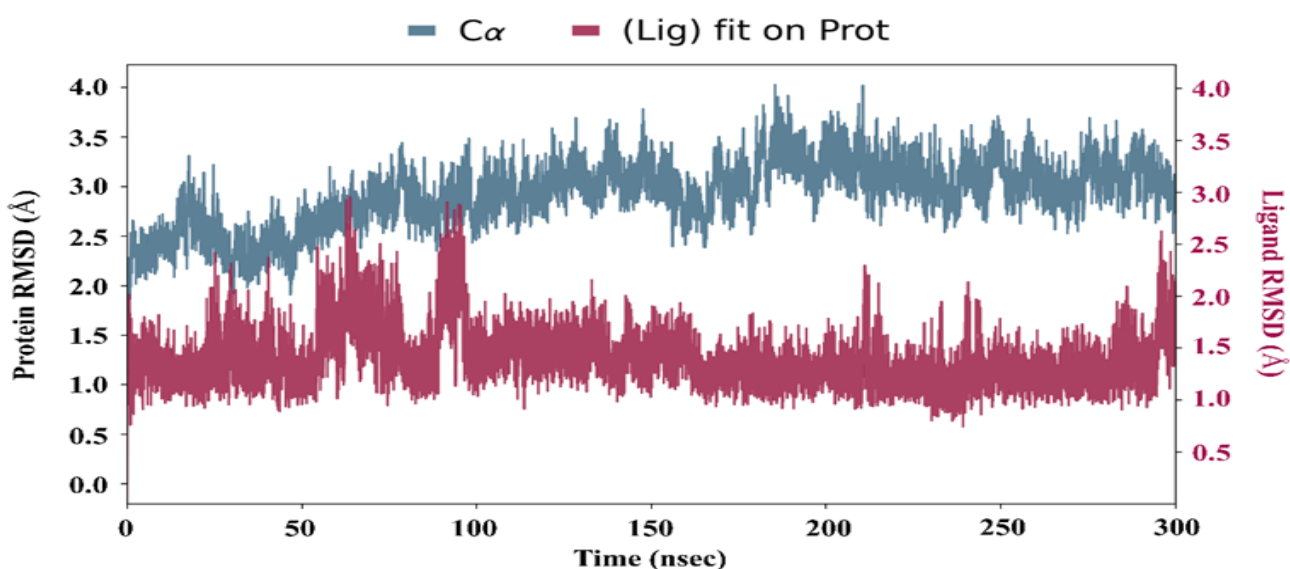


Рисунок 3.4 – Величина RMSD для лиганда Соединение 1 в комплексе с USP28

Таким образом, результаты расчетов показали, что лиганд Соединение 1 способен стабильно взаимодействовать с USP28. С учетом показателя значения

RMSD структуры лиганд – белок можно сделать вывод, что белок в присутствии лиганда Соединение 1 не испытывает значительных конформационных перестроек (Рисунок 3.4).

Далее рассматривались частота и тип межмолекулярных взаимодействий, возникающих между лигандом и аминокислотами сайта связывания в белке (Рисунок 3.5).

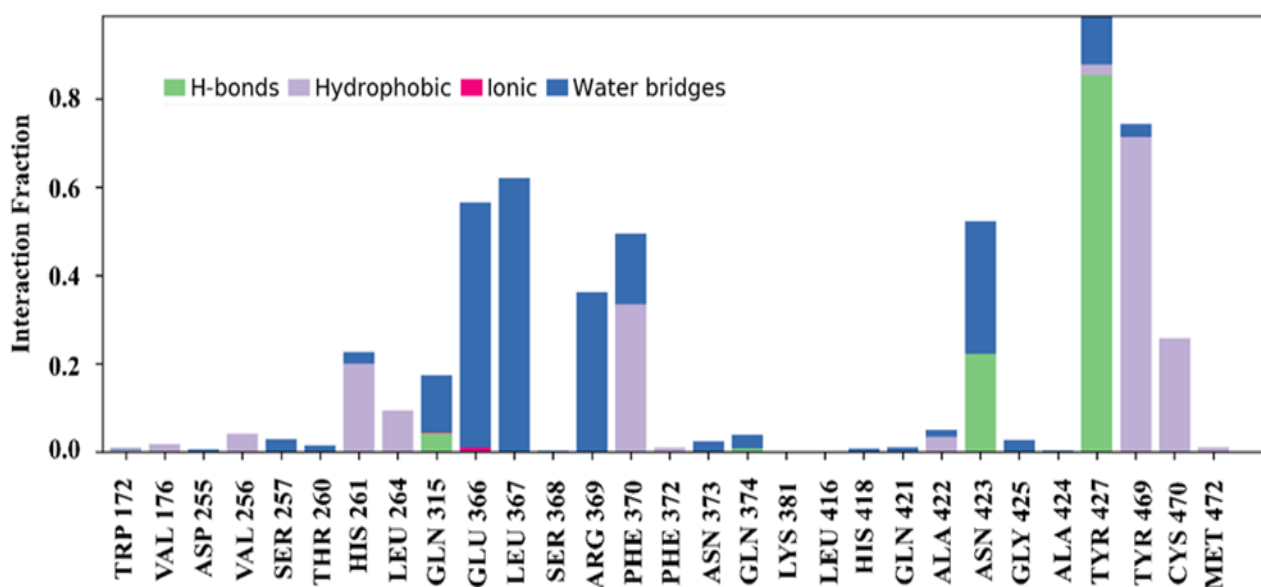


Рисунок 3.5 – Накопление контактов между лигандом Соединение 1 и аминокислотными остатками белка USP28

Взаимодействия между лигандом и белком можно разделить на четыре типа: 1) водородные связи (зеленый цвет), 2) гидрофобные контакты (фиолетовый цвет), 3) солевые (или ионные) мостики (розовый цвет) и 4) взаимодействия, опосредованные молекулами воды (синий цвет). Гистограммы на Рисунке 3.5 характеризуются «накоплением» контактов в течение всего времени симуляции. Например, значение 0.6, характерное для контакта Соединения 1 с Glu366 предполагает, что в течение 60% времени моделирования этот контакт сохраняется.

Лиганд Соединение 1 образует гидрофобные контакты с аминокислотными остатками His261, Phe370, Tyr469, Cys470. Водородные взаимодействия присутствуют между Соединением 1 и Asn423, Tyr427. Также наблюдаются

взаимодействия, опосредованные молекулами воды, между Соединением 1 и Glu366, Leu367, что соответствует нахождению лиганда в определенном сайте связывания (Рисунок 3.6).

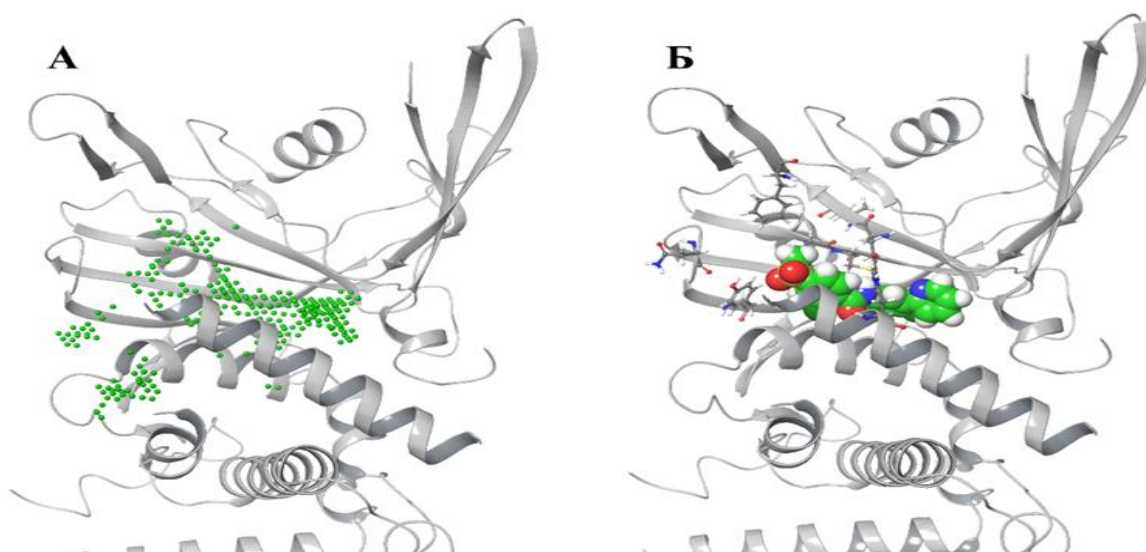


Рисунок 3.6 – Сайт связывания в USP28, определенный ранее (А); визуализация контактов Соединения 1 с USP28 на протяжении молекулярно-динамической симуляции (Б)

Таким образом, лиганд Соединение 1 стабильно удерживается в аллостерическом кармане USP28. Низкое значение RMSD для лиганда (≈ 1.2 Å) за весь период симуляции подтверждает, что выбранная позиция 8 является физически правдоподобной и устойчивой.

Отсутствие значительного «выплывания» лиганда из кармана (RMSD не превышает 1.5 Å). Это свидетельствует о том, что аллостерический карман надёжно удерживает лиганд, что критично для его функционального взаимодействия.

Ключевыми стабилизирующими факторами являются гидрофобные и водородные взаимодействия. Наиболее стабильным является гидрофобный контакт с Tyr469 (80% времени). Этот остаток расположен в глубине кармана и обеспечивает основную силу связывания. Водородные связи с Asn423 и Tyr427 играют важную роль в точной ориентации лиганда, хотя и менее стабильны, чем гидрофобные контакты. Взаимодействие с Glu366, даже опосредованное водой,

сохраняется в 60% времени – это подтверждает центральную роль Glu366 в стабилизации кармана [26]. Отсутствие стерического конфликта и наличие дополнительных контактов повышают вероятность биологической эффективности лиганда Соединение 1. Не было выявлено серьёзных стерических конфликтов или резких изменений конформации белка, что говорит о хорошей совместимости лиганда с карманом. Наличие взаимодействий, опосредованных водой, расширяет спектр возможных химических модификаций лиганда, поскольку такие контакты можно усиливать или ослаблять путём изменения полярности заместителей. Энергетическая оценка подтверждает высокую эффективность связывания. Расчётная свободная энергия связывания (G_{GBsa}) для комплекса USP28 – Соединение 1 составила -62.95 ккал/моль, что ниже, чем для нативного лиганда Визмодегиба (-61.19 ккал/моль), что указывает на более сильное связывание Соединения 1. Сравнение с нативным лигандом Визмодегибом выявляет преимущества Соединения 1: хотя Визмодегиб и Соединение 1 связываются в одном и том же кармане, Соединение 1 образует больше гидрофобных контактов (с His261, Phe370, Tyr469) и более стабильные водородные связи (с Asn423, Tyr427). Анализ динамики контактов указывает на то, что Соединение 1 может быть более эффективным агонистом USP28, чем нативный лиганд Визмодегиб. Эти данные могут служить основанием для дальнейшего дизайна производных Соединения 1 с целью повышения селективности и биодоступности.

3.5. Иммуногистохимический анализ влияния Соединения 1 на деубиквитинирование в условиях ишемии миокарда изолированных сердец

На следующем этапе проводились микроскопические исследования влияния Соединения 1 на убиквитин-деубиквитинирующие ферменты в миокарде изолированных сердец. Данная модель была выбрана ввиду отсутствия экзогенных иммунных и нейрогуморальных факторов для оценки влияния на эндогенном уровне.

В наших исследованиях на модели изолированных сердец проводился иммуногистохимический анализ структурного белка промежуточных филаментов десмина, выступающего как маркера ишемического повреждения. По данным микроскопического исследования уменьшение окрашивания наблюдалось в субэндокардиальных отделах миокарда с разрывами и потерей окрашивания Z-вставок. Подобные изменения характерны для всех групп, при этом в субэпикардиальных и интрамуральных отделах сохраняется четкая экспрессия десмина в кардиомиоцитах. Иммуногистохимическая картина при окрашивании на убиквитин имела отличительные особенности: четкая очаговая экспрессия в цитоплазме кардиомиоцитов, чередующаяся с полным отсутствием окрашивания в других участках. При этом во всех группах выявлены эпикардиальный и ближайшие субэпикардиальные слои с выраженной экспрессией убиквитина, периваскулярные зоны и сами эндотелиальные клетки (Рисунок 3.7).

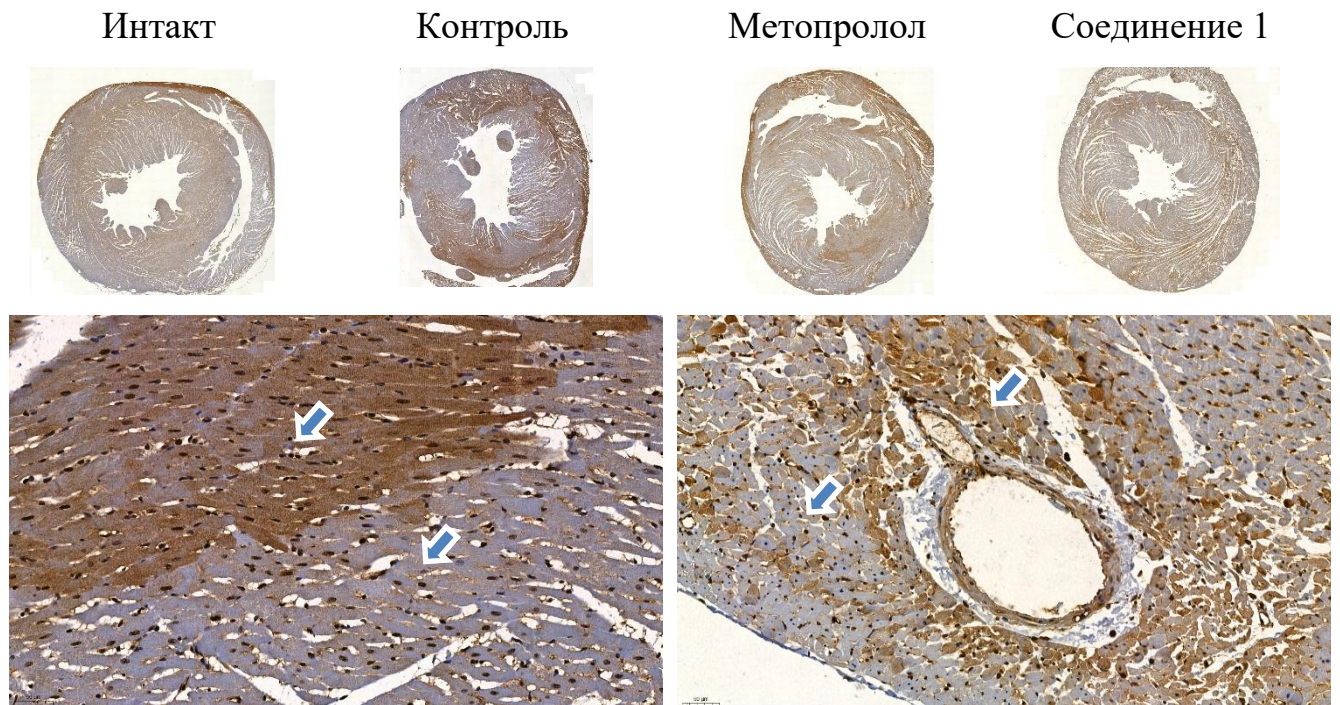


Рисунок 3.7 – Иммуногистохимическое окрашивание на детекцию убиквитина в интактной, контрольной группах и группе Метопролол и Соединение 1. При большом увеличении (x200) видны очаги положительной и отрицательной цитоплазматической экспрессии убиквитина, а также участки периваскулярной экспрессии. ИГХ на детекцию убиквитина

Такие изменения могут быть связаны с самой моделью изолированного сердца, когда исключается экзогенный убиквитин. Кроме того, несмотря на очаговость экспрессии в цитоплазме, во всех клетках прослеживается ядерное окрашивание убиквитина. При оценке групп большие площади снижения ядерно-цитоплазматического окрашивания выявлены в контрольной группе. Отличается также и иммуногистохимическая картина USP28 в изолированных сердцах в разных группах (Рисунок 3.8).

В контрольной группе отмечается цитоплазматическое окрашивание интрамуральных отделов миокарда со снижением, либо полным отсутствием такового в субэндокардиальных. При большом увеличении видна экспрессия USP28 в цитоплазме диффузно или в виде гранул, перинуклеарно, а также на стромальных клетках. В группе контроля визуализируются такие же экспрессии, но со значительным цитоплазматическим окрашиванием. Большинство кардиомиоцитов имеют контрактурные повреждения.

Группа Метопролола выделяется очаговым цитоплазматическим окрашиванием на USP28 кардиомиоцитов, причем окраска ограничена

Z-вставками. Помимо этого, видна экспрессия на стромальных клетках с появлением гранул, по морфологии напоминающих тучные клетки. В группе Соединения 1 отмечается наиболее выраженная экспрессия во всех вышеописанных структурах: цитоплазматическое фоновое окрашивание с гранулами перинуклеарно, в Z-соединениях, на стромальных клетках.

Для подтверждения намеченной микроскопической тенденции в группах был проведен произведен морфометрический подсчет позитивно окрашенных клеток в программе QuPath. Результаты представлены в Таблице 3.5.

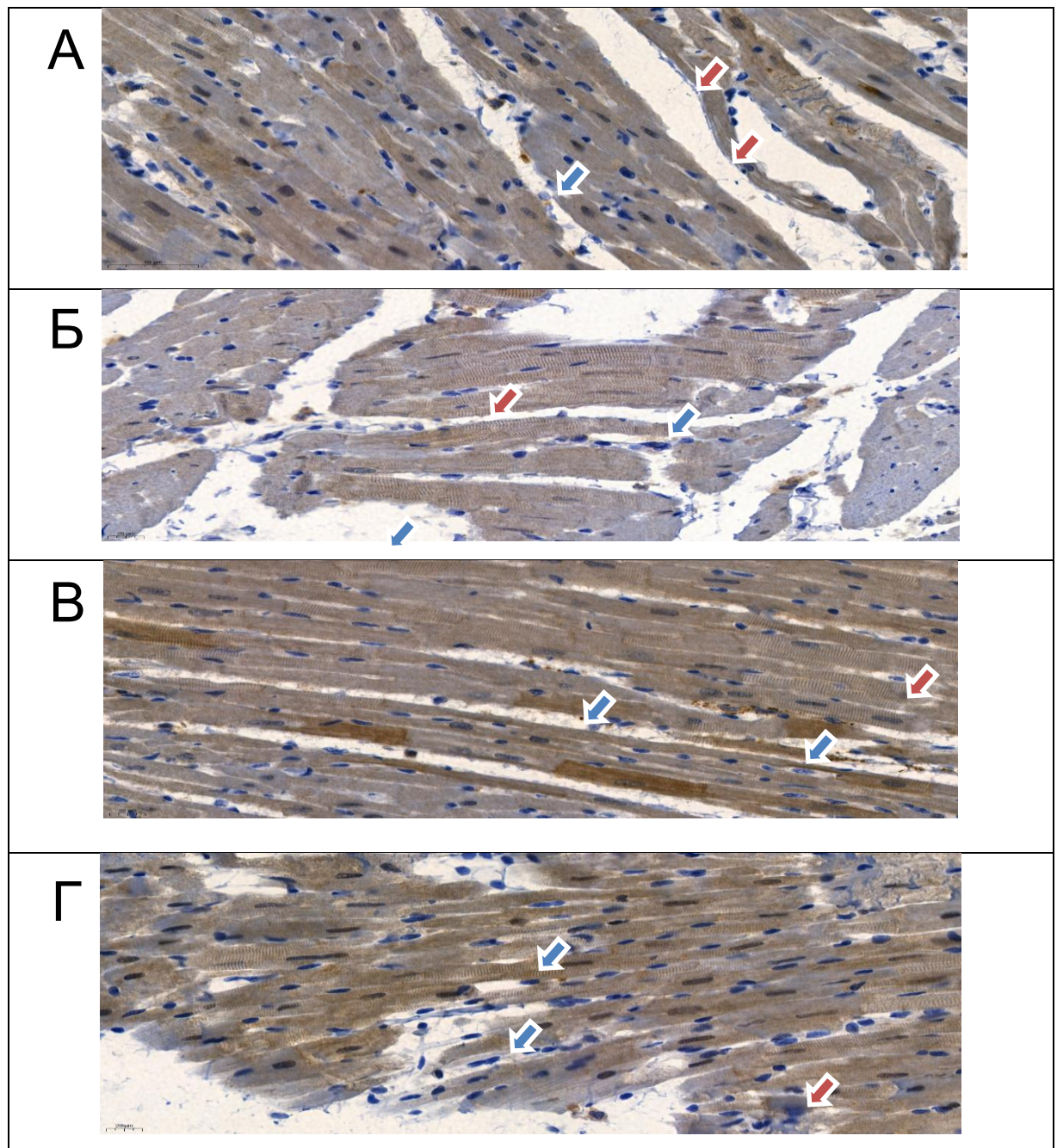


Рисунок 3.8 – Иммуногистохимическое окрашивание сравнительных групп на детекцию USP28. – А) интактная группа: умеренная цитоплазматическая экспрессия в кардиомиоцитах перинуклеарно, диффузно, либо в виде гранул (голубая стрелка), а также в стромальных клетках (оранжевая стрелка); Б) контрольная группа: экспрессия в стромальных клетках (оранжевая стрелка), очаговое цитоплазматическое окрашивание в контрактурных кардиомиоцитах, ограниченных Z-вставками (голубая стрелка); В) Метопролол: очаговая цитоплазматическая экспрессия, ограниченная Z-соединениями, более выражена (голубая стрелка), подчеркиваются и сами Z-вставки и стромальные клетки, обладающие большей гранулярностью (оранжевая стрелка); Г) Соединение 1: самая выраженная цитоплазматическая экспрессия с Z-соединениями (голубая стрелка) и на стромальных клетках (оранжевая стрелка). ИГХ на детекцию USP28. Увеличение x200

Таблица 3.5 – Морфометрический анализ иммуногистохимических маркеров (десмин, убиквитин, USP28) по параметрам процента позитивно окрашенных клеток (% positive) и индекса интенсивности окрашивания (H-score) в сравнительных группах, Ме (25-75%)

ИГХ маркер	Показатель	Группы				
		Интактная	Контрольная	Метопролол	Соединение 1	H-критерий Крускала-Уоллиса
Десмин	%positive	65,67 (60,56–66,9)	63,77 (57–5–72,87)	64,35 (62,78–67,45)	64,87 (61,06–68,99)	H=0,5411 p=0,9098
	H-score	47,29 (43,72–49,09)	45,9 (42,8–50,86)	45,74 (44,13–48,37)	46,94 (44,31–49,4)	H=0,1960 p=0,9782
Убик-витин	%positive	52,61 (47,49–68,88)	67,12 (62,29–70,18) $p_{и}=0,02176$	48,34 (42,68–52,26)	46,95 (44,81–62,98)	H=7,2126 p=0,0654
	H-score	72 (64,43–90,62)	61,83 (56,35–65,97) $p_{и}=0,0351$	63,86 (58,28–70,0) $p_{к}=0,0404$	63,94 (60,69–109,78)	H=6,4264 p=0,0926
USP28	%positive	40,67 (31,58–45,61)	28,08 (22,4–37,87)	38,55 (35,9–47,5) $p_{к}=0,0454$	41,6 (36,96–44,45) $p_{к}=0,0298$	H=6,2405 p=0,1005
	H-score	54,56 (45,28–66,9)	36,13 (25,45–53,26)	55,12 (49,94–64,98) $p_{к}=0,0218$	60,57 (52,08–68,92) $p_{к}=0,0106$	H=8,3207 p=0,0398
Примечание: $p_{и}$ – интактная группа, $p_{к}$ – контрольная группа						

Из Таблицы 3.5 следует, что во время проведения эксперимента во всех группах не наблюдается статистически значимых различий в экспрессии десмина по критерию Крускала-Уоллиса как по количеству позитивно окрашенных клеток ($p=0,9098$), так и по индексу интенсивности окрашивания ($p=0,9782$). Это свидетельствует о том, что времени экспериментального повреждения было слишком мало, чтобы вызвать большую разницу в группах, хотя микроскопический субстрат все же имел свои отличия. Экспрессия убиквитина заметно выше в группе контроля в сравнении с интактной группой (%positive $p=0,02176$; H-score $p=0,0351$). А в группах Метопролола и Соединения 1 в сравнении с интактной группой ($p_{\text{Метопролол}} = 0,0885$; $p_{\text{Соединение 1}} = 0,1749$) не было статистической значимости в количестве позитивных детекций клеток. При этом критерий H-score в группе

Метопролола был ниже, чем в группе интактных животных ($p=0,0404$). Напротив, Соединение 1 по интенсивности окрашивания H-score не отличается от интактной ($p=0,665$). Экспрессия USP28 в группах Метопролола и Соединения 1 была заметно выше, чем в группе контроля, по количеству позитивных окрашиваний ($p_{\text{Метопролол}}=0,0454$; $p_{\text{Соединение 1}}=0,0298$) и интенсивности окрашивания H-score ($p_{\text{Метопролол}}=0,0218$; $p_{\text{Соединение 1}}=0,0106$). При этом данные Таблицы 3.5 демонстрируют высокие показатели количества позитивных детекций и индекс окрашивания H-score, превышающий показатели других групп и свидетельствующий об активации Соединением 1 USP28.

3.6. Исследование эффективности Соединения 1 на модели инфаркта миокарда *in vivo*

Следующим этапом был проведен анализ на моделях ишемически-реперфузионного повреждения миокарда с изучением эффективности Соединения 1 на систему убиквитина в сыворотке крови и тканях сердца.

Результаты исследования уровня убиквитина в сыворотке крови методом ИФА в контрольной и опытных группах представлены в Таблице 3.6.

Исследование уровня убиквитина в сыворотке крови крыс при ишемически-реперфузионном повреждении миокарда на модели инфаркта *in vivo* показало значительное снижение уровня сывороточной экспрессии убиквитина в крови в группе Соединения 1 по отношению к контрольным измерениям во всех временных точках, что свидетельствует о существенном кардиопротективном эффекте, заключающемся в снижении активации убиквитин-протеасомной деградации белка в ответ на ишемически-реперфузионное повреждение.

Динамика снижения уровня убиквитина соответствует общей закономерности, включая контрольную группу, что обусловлено общим путем элиминации. Исходя из этого, мы можем сделать вывод, что различия между группами имеют в своей основе сокращение образования сывороточного убиквитина в группе Соединения 1.

Таблица 3.6 – Уровень убиквитина в исследуемых группах, Ме (25-75%)

Исследуемая группа	Уровень экспрессии убиквитина, нг/мл								
	до ишемии	После реперфузии							
		1 ч.	3 ч.	12 ч.	1 сут.	3 сут.	7 сут.	14 сут.	30 сут.
Интактная	4,6 (4,1–5,2)	–	–	–	–	–	–	–	–
Конт-рольная	4,45 (4,3–5,2)	6,8 (5,4–7,2)#	9,4 (8,2–10,3) #	11,7 (10,1–11,8) #	13,5 (12,0–13,7) #	22,0 (19,5–24,5) #	15,0 (13,0–17,0) #	7,1 (5,1–7,9) #	5,2 (4,6–5,8) #
Соединение 1	4,5 (4,2–5,3)	5,1 (4,6–5,4) *	6,25 (5,9–7,1) *	7,4 (6,9–7,5) *	8,5 (7,5–9,5) *	6,7 (5,9–7,0) *	5,2 (4,9–5,6) *	4,65 (4,1–5,15) *	4,2 (3,7–4,7) *
Метопролол	4,7 (4,2–5,5)	5,41 (4,43–8,81) *	7,71 (6,5–8,4) *	11,2 (10,0–11,6) *	12,9 (11,8–13,5) *	19,4 (18,8–20,1) *	10,0 (8,1–10,4) *	5,4 (4,2–5,7) *	5,2 (4,1–5,5) *
Примечания: * $p < 0,05$ – в сравнении с контрольной группой; # $p < 0,05$ – интактной группой; $p < 0,05$.									

Необходимо отметить, что между группами контроля и Метопролола не было выявлено статистически значимой разницы в уровне экспрессии убиквитина. Напротив, в сравнении с контрольной группой и группой Соединения 1, соединение показало выраженное снижение экспрессии убиквитина, что указывает на стойкий кардиопротективный эффект, реализуемый посредством регуляции убиквитин-протеасомной системы.

В ходе иммуногистохимического исследования с применением окраски на десмин хорошо видны Z-диски и цитоплазма кардиомиоцитов при изучении интактного миокарда (Рисунок 3.9), тогда как в ишемизированном миокарде его экспрессия снижается в цитоплазме сердечных клеток, но визуализируются сохранные Z-вставки, свидетельствующие о целостности межклеточного соединения (Рисунок 3.10). Полное отсутствие экспрессии в цитоплазме и разрыв Z-соединений уже свидетельствуют о повреждениях кардиомиоцитов и их соединений (Рисунок 3.11). Десмин – промежуточный филамент III типа, необходимый для правильной структуры и функции мышцы. Участвует в

поддержании структуры саркомеров, соединяя Z-диски, формируя миофибриллы и связывая их не только с сарколеммальным цитоскелетом, но и с ядром и митохондриями, обеспечивая при этом прочность всего мышечного волокна во время сокращений.

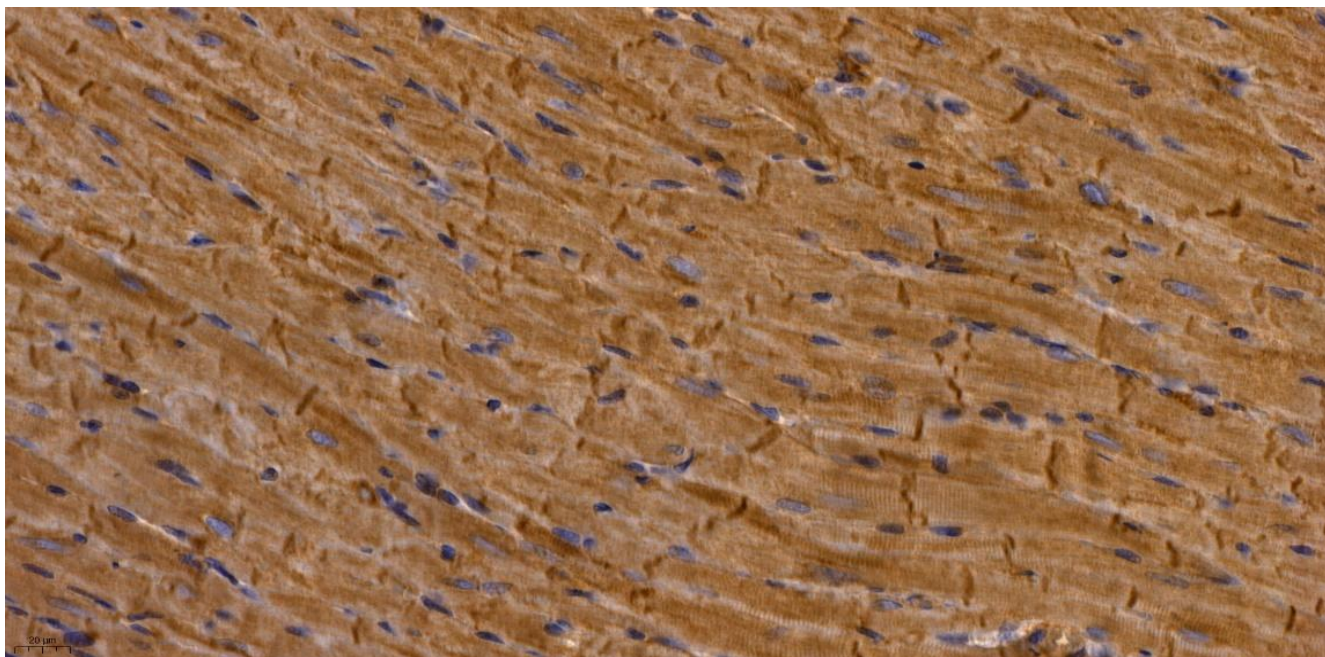


Рисунок 3.9 – Иммуногистохимическое окрашивание сердечной ткани на детекцию десмина – сохраненный миокард с хорошей экспрессией в цитоплазме клеток и Z-дисках (стрелка). ИГХ детекцию десмина. Увеличение x 400

В исследовании использован убиквитин, состоящий из трех прямых повторов кодирующей последовательности убиквитина. Таким образом, белок экспрессируется как полиубиквитиновый предшественник. Ядерно-цитоплазматическая экспрессия отмечается на всех клетках сердца, включая кардиомиоциты с Z-дисками, стромальные и эндотелиальные клетки (Рисунок 3.12). В ишемически измененных зонах видно зернистое накопление в цитоплазме, при этом отмечается выраженная экспрессия в ядре клетки. Такие участки снижения экспрессий имеют зональный характер.

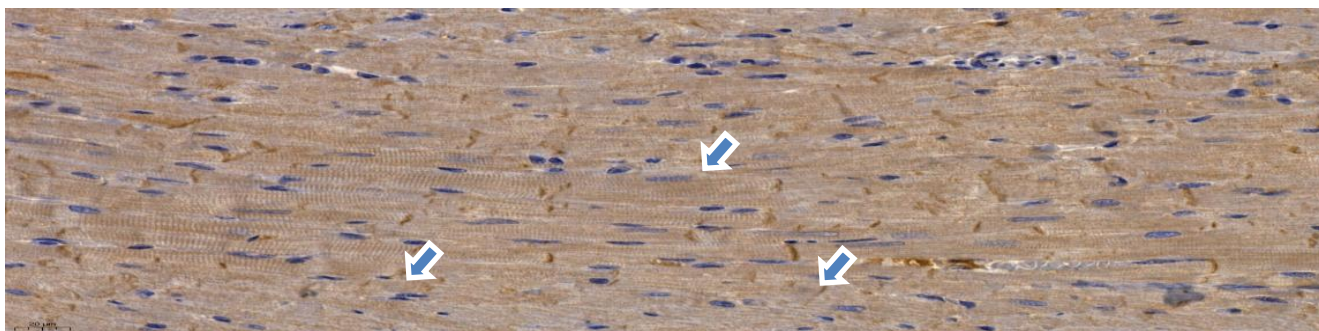


Рисунок 3.10 – Иммуногистохимическое окрашивание сердечной ткани на детекцию десмина – участки ишемизированного миокарда со снижением экспрессии, обращает на себя внимание сохранная экспрессия на Z-вставках (стрелка). ИГХ на детекцию десмина. Увеличение x 400

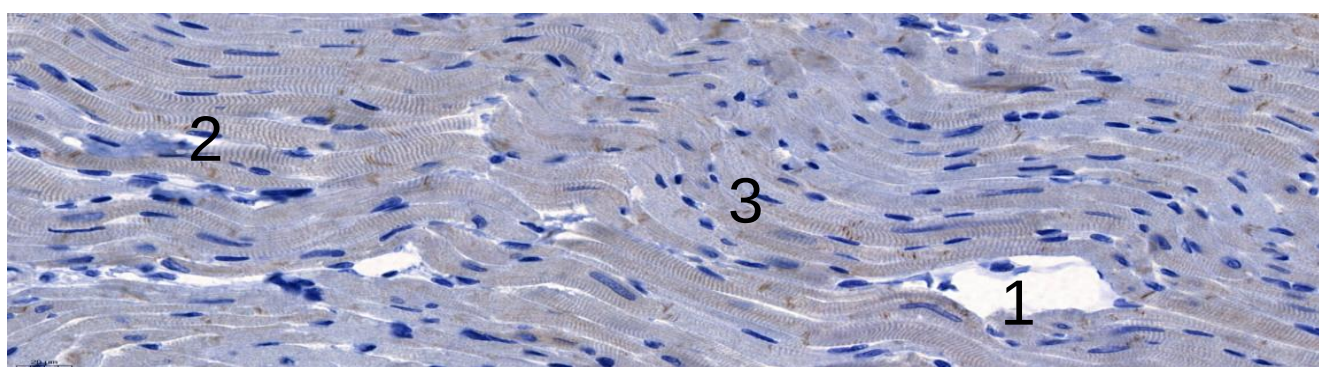


Рисунок 3.11 – Иммуногистохимическое окрашивание сердечной ткани на детекцию десмина – очаги поврежденного миокарда: отсутствие экспрессии в цитоплазме клеток, сами кардиомиоциты имеют волнообразный ход (1), видны контрактурные повреждения (2), и отсутствуют Z-соединения (3). ИГХ на детекцию десмина. Увеличение x 400

USP28, деубиквитирующий фермент E3, который участвует в убиквитинировании – многоступенчатом ферментативном процессе. Необходимо отметить, что убиквитин-протеасомная система в миокарде необходима для обновления саркомерных белков, регуляции ионных каналов и управления окислительным стрессом. Как было описано в предыдущих главах, USP28 особенно заметен в миокарде благодаря высокой экспрессии в кардиомиоцитах и участию в критически важных патологических процессах [50]. Поэтому очевидно, что экспрессия ферментов USP28 обнаружена там же, где и экспрессия убиквитина: в ядрах и цитоплазмах кардиомиоцитов, в Z-дисках, в стромальных и эндотелиальных клетках (Рисунок 3.13).

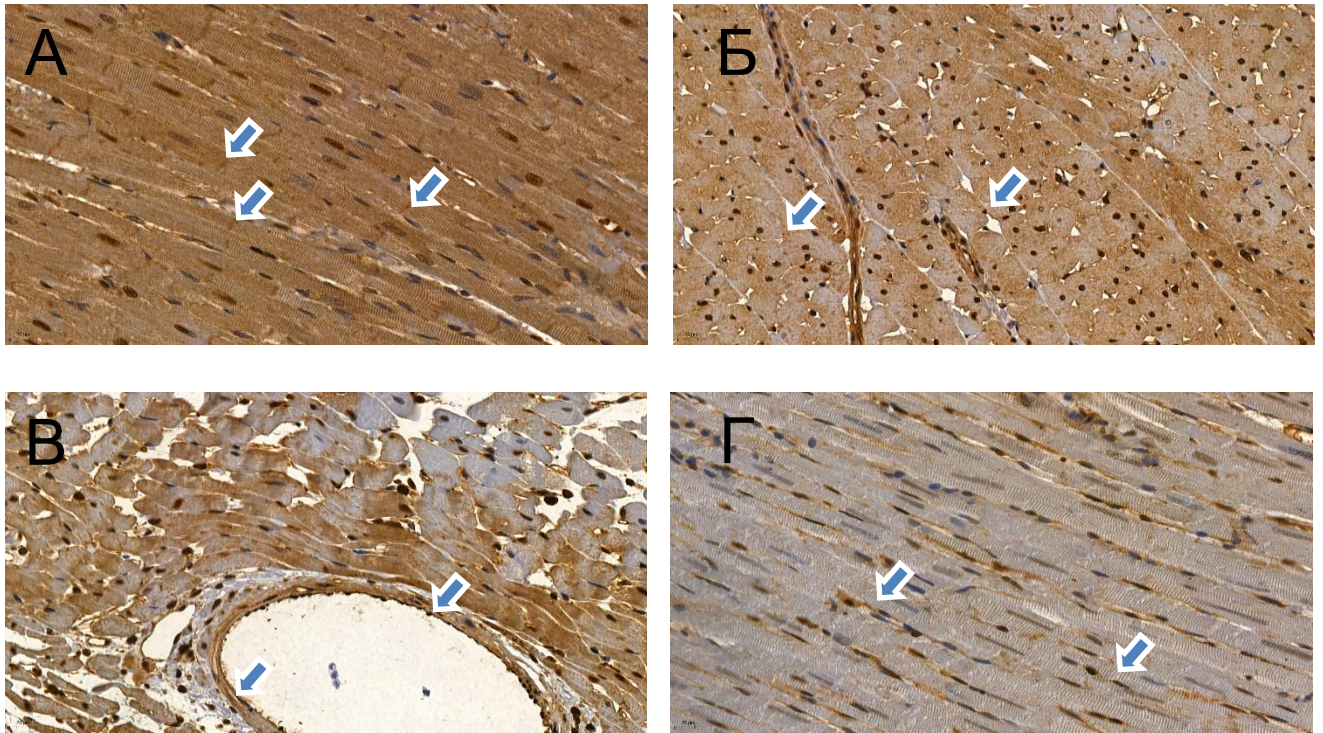


Рисунок 3.12 – Иммуногистохимическое окрашивание сердечной ткани на детекцию убиквитина. Окраска носит ядерно-цитоплазматический характер: А – экспрессия отмечается помимо самих сердечных клеток, а также на Z-вставках (стрелка); Б – визуализируются участки очагового снижения экспрессии в цитоплазме на фоне сверхэкспрессии в ядрах (стрелка); В – экспрессия видна и на эндотелиальных клетках (стрелка); Г – в зонах повреждённой ткани выявлена экспрессия на стромальных клетках (стрелка). ИГХ на детекцию убиквитина. Увеличение x 400

При микроскопическом анализе срезов миокарда в контрольной группе наблюдаются следующие явления: снижение уровня экспрессии десмина в субэндокардиальной зоне левого желудочка в первые часы реперфузионного повреждения, наибольшее по площади в области вершины органа; к 3-му часу затрагиваются, помимо субэндокардиальной, и интрамуральные отделы всего сердца, а к первым суткам вовлекается и межжелудочковая перегородка.

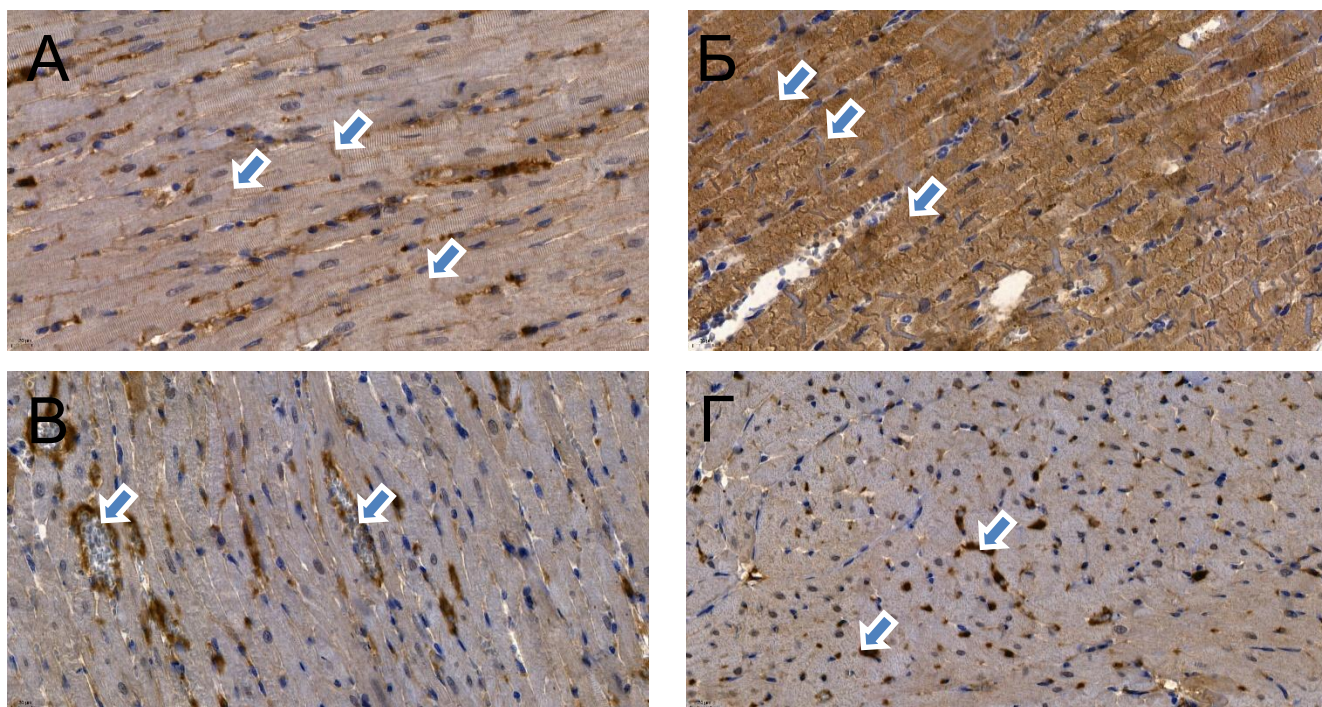


Рисунок 3.13 – Иммуногистохимическое окрашивание сердечной ткани на детекцию USP28: А – помимо фонового окрашивания в капиллярах, заметна позитивная экспрессия в Z-дисках кардиомиоцитов (стрелка); Б – выраженная ядерно-цитоплазматическая экспрессия в поврежденных кардиомиоцитах (стрелка); В – положительная экспрессия на эндотелиальных клетках (стрелка); Г – экспрессия в стромальных клетках (стрелка). ИГХ на детекцию USP28.

Увеличение x 400

При анализе экспрессии убиквитина отмечается умеренная экспрессия всего миокарда с гиперэкспрессией в эндотелиальных клетках, Z-дисках, снижение экспрессии очагово в субэндокардиальных и субэпикардиальных отделах миокарда; к 3-му часу повреждения обнаруживается расширение зоны снижения экспрессии в цитоплазме кардиомиоцитов субэндокардиальной локализации миокарда наряду с гиперэкспрессией в ядрах, наблюдается также повышенная экспрессия убиквитина в цитоплазме кардиомиоцитов субэпикардиальной части миокарда; к 1-м суткам повреждения в кардиомиоцитах субэндокардиальной зоны появляются гранулы экспрессии убиквитина в цитоплазме, некоторые ядра клеток не окрашиваются, повышенная ядерно-цитоплазматическая экспрессия остается в субэпикардиальной зоне миокарда и эндотелиальных клетках. Экспрессия USP-28 в первые часы эксперимента носит очаговый характер по всему миокарду – в

Z-дисках субэндокардиальной зоны, цитоплазме кардиомиоцитов интрамуральных отделов и очагово субэпикардиальной зоне миокарда; такая же экспрессия наблюдается к 3-му часу, но с увеличением в субэпикардиальных отделах, эндотелиальных клетках и фоновым окрашиванием в интерстициальном пространстве; к 1-м суткам визуализируется более четкая картина – умеренная и выраженная ядерно-цитоплазматическая экспрессия субэпикардиальной зоны миокарда с тенденцией снижения степени окрашивания ближе к субэндокарду, вплоть до полной потери экспрессии.

В группе животных, которым вводили Метопролол, наблюдаются схожие тенденции экспрессии десмина, при этом отмечается некоторая зональная положительная экспрессия к 1-м суткам эксперимента (Рисунок 3.14).

Экспрессия убиквитина в сравнении с контрольной группой более выражена как к 3-му часу, так и к 1-м суткам эксперимента. Окрашивание ядерно-цитоплазматическое и наблюдается во всех зонах миокарда с некоторым снижением в субэндокардиальной локализации миокарда. При большем увеличении в данной зоне видна выраженная ядерная и гранулярная экспрессия в цитоплазме. Экспрессия USP28, как и в группе контроля, представляет очаговый характер с зонами положительной и сниженной экспрессии в цитоплазме; преимущественно видна перинуклеарно в клетках, эндотелиальных клетках сосудов, интерстициальных клетках и фоново в межуточном пространстве миокарда.

При микроскопическом анализе после 3-х суток визуализируются зоны рубцовых изменений в интерстиции миокарда и периваскулярно. В таких участках пропадает экспрессия десмина, отмечается выраженная экспрессия убиквитина на фибробластах, лимфоцитах и плазмócитах, а экспрессия USP28 имеет фоновый характер в цитоплазме кардиомиоцитов и позитивную окраску на эндотелиальных клетках (Рисунок 3.15).

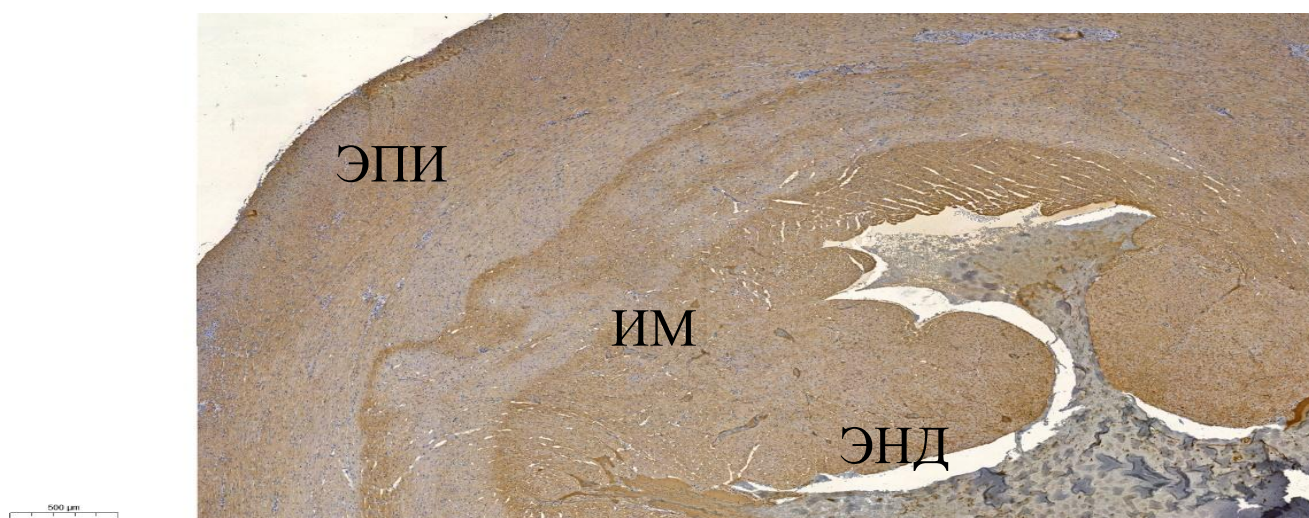


Рисунок 3.14 – Зональное позитивное окрашивание десмином в миокарде левого желудочка – субэпикардальная (ЭПИ), интрамуральная (ИМ) и субэндокардиальная (ЭНД) часть миокарда. ИГХ на детекцию десмина. Увеличение x 32

Общей тенденцией экспрессии десмина к 14-м суткам эксперимента является снижение в цитоплазме кардиомиоцитов субэндокардиальной локализации миокарда как в группе контроля, так и в группе Метопролола. Экспрессия же убиквитина, напротив, имеет тенденцию к увеличению во всех структурах миокарда и зонах рубцовой деформации. Фермент USP28 преимущественно фоново представлен в интерстициальном пространстве, в клетках – перинуклеарно, в некоторых визуализируется в цитоплазме в виде гранул.

Таким образом, микроскопический анализ срезов миокарда в группе Соединения 1 показал сохранение равномерной экспрессии десмина в субэндокардиальной зоне. К первым суткам отмечалось очаговое незначительное его снижение в субэндокардиальных глубоких слоях, интактность наблюдалась в интрамуральных отделах и межжелудочковой перегородке. К 3-м суткам десмин экспрессировался в цитоплазме большого количества кардиомиоцитов. Также в группе Соединения 1 отсутствовало избыточное накопление убиквитина. Так, в раннем периоде реперфузии отмечалась сниженная и равномерная экспрессия с сохранением ядерного окрашивания. Сверхэкспрессия в эндотелии, а также в Z-дисках была выражена меньше, чем в контрольной группе.

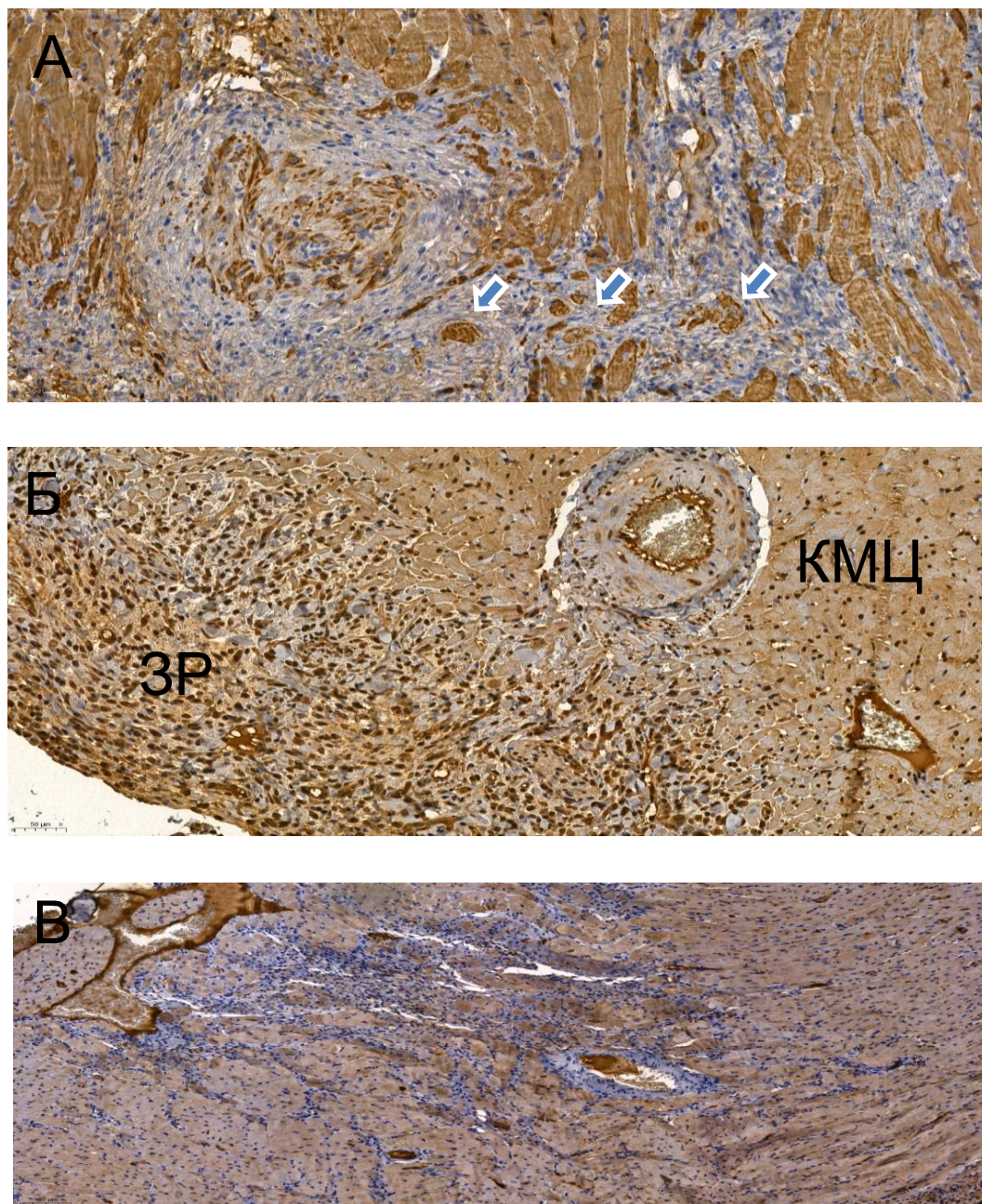


Рисунок 3.15 – Микроскопическая картина рубцовых изменений в миокарде и экспрессии иммуногистохимических маркеров в них: А – экспрессия десмина сохранена в кардиомиоцитах, некоторые из которых деформированы и окружены соединительной тканью (стрелка). ИГХ на детекцию десмина; Б – выраженная экспрессия убиквитина в зоне рубца (ЗР) и ядерно-цитоплазматическая экспрессия в сохранных кардиомиоцитах (КМЦ). ИГХ на детекцию убиквитина; В – умеренная цитоплазматическая экспрессия в кардиомиоцитах (КМЦ), окружающих зону рубца, и позитивная экспрессия на эндотелиальных клетках (стрелка). ИГХ на детекцию USP28. Увеличение x 200

В первые сутки в субэндокардиальной зоне отсутствовал убиквитин, ядра были окрашены равномерно. ИГХ на детекцию USP28 в данной группе показала стойкое увеличение экспрессии фермента в сравнении с контрольной группой и группой Метопролола. В первые часы реперфузии отмечалась интенсивная окраска без очагового распространения. К 1-м и 3-м суткам экспрессия USP28 оставалась на высоком уровне во всех зонах миокарда, тогда как в контрольной группе она была максимальной. Перинуклеарная и интерстициальная окраска была максимально интенсивной, что указывает на увеличение экспрессии USP28 Соединением 1. В отличие от контрольной группы и группы Метопролола, к 3-м суткам не были сформированы рубцовые изменения.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Результаты скрининга кардиопротективной активности и механизма действия в отношении УПС депонированы в базе данных «Библиотека соединений, активных в отношении USP-28 и/или USP-40, проявляющих кардиопротективное и антитромботическое действия» (Свидетельство о регистрации базы данных RU 2024625426, 25.11.2024. Заявка № 2024625186 от 12.11.2024). Полученные данные свидетельствуют о том, что убиквитин-протеасомная система является важным защитным механизмом при острых повреждениях миокарда, а Метопролол, снижая окислительный стресс, оказывает на нее положительный эффект. Нами установлено, что на модели изолированного сердца также нет прямого воздействия Метопролола на убиквитин и деубиквитирующие ферменты. Соединение 1, напротив, оказывает активацию выработки прежде всего фермента USP28, который имеет выраженную экспрессию в цитоплазме кардиомиоцитов и стромальных клетках миокарда.

На основании полученных в ходе исследования данных можно сделать вывод, что Соединение 1 демонстрирует выраженный кардиопротективный эффект, который реализуется посредством активации фермента USP28. На фоне введения Соединения 1 при моделировании ишемически-реперфузионного повреждения наблюдается стойкое снижение экспрессии убиквитина в сыворотке крови, при морфологическом анализе отмечается сохранение десмина, отсутствие признаков ремоделирования миокарда. В отличие от Метопролола, который не реализует свой кардиопротективный потенциал посредством связывания с USP28 и не стабилизирует процесс апоптоза кардиомиоцитов, Соединение 1 эффективно влияет на протеостаз, предотвращая ишемически-реперфузионное повреждение миокарда, что подтверждает его перспективность как агониста фермента USP28, обладающего выраженной кардиопротективной активностью.

ВЫВОДЫ

1. Изученные соединения ряда 7-тиетанилксантинов под шифрами 1-а-с, 1-в-с, 2-а-с, 3-а-с, 3-в-с, 4-а-с проявили антиагрегационную активность на уровне препарата сравнения (Ацетилсалициловая кислота), снижая показатель максимальной амплитуды агрегации в среднем на 15,7% ($p < 0,05$). Антиагрегационная активность соединения-лидера (1,3-диметил-8-(4-метилпиперазин-1-ил)-7-(тиетан-3-ил)-1Н-пурин-2,6(3Н,7Н)-дион гидрохлорида) была выше, чем у Ацетилсалициловой кислоты на 41,7% ($p < 0,05$).

2. Кардиопротективный эффект, сопоставимый с препаратом сравнения Метопролол, выявлен у соединений 2-в-с (ТТС – 54,8%, ICG – 44,2%, $p < 0,05$ по отношению к контролю) и 4-в-с (ТТС – 49,8%, ICG – 42,1%, $p < 0,05$ относительно контроля). Соединение 1,3-диметил-8-(4-метилпиперазин-1-ил)-7-(тиетан-3-ил)-1Н-пурин-2,6(3Н,7Н)-дион гидрохлорид показало эффективную протекцию, превышающую значения препарата сравнения Метопролол по всем показателям ($p < 0,05$).

3. Методом молекулярного докинга установлено, что 1,3-диметил-8-(4-метилпиперазин-1-ил)-7-(тиетан-3-ил)-1Н-пурин-2,6(3Н,7Н)-дион гидрохлорида стабильно удерживается в аллостерическом кармане USP28, что обуславливает его кардиопротективные свойства.

4. Экспериментально установлено, что экспрессия USP28 в группах Метопролола и 1,3-диметил-8-(4-метилпиперазин-1-ил)-7-(тиетан-3-ил)-1Н-пурин-2,6(3Н,7Н)-дион гидрохлорида была заметно выше, чем в группе контроля по количеству позитивных окрашиваний ($p = 0,0454$ vs $p = 0,0298$) и интенсивности окрашивания H-score ($p = 0,0218$ vs $p = 0,0106$).

5. Установлен выраженный кардиопротективный эффект соединения 1,3-диметил-8-(4-метилпиперазин-1-ил)-7-(тиетан-3-ил)-1Н-пурин-2,6(3Н,7Н)-дион гидрохлорида на модели экспериментального инфаркта миокарда *in vivo*: регистрировалось стойкое снижение экспрессии убиквитина в сыворотке крови, при морфологическом анализе отмечалось сохранение десмина, отсутствие

признаков ремоделирования миокарда по сравнению с группами контроля и Метопролола. По данным морфометрического анализа, зона некроза достоверно меньше в сравнении с контрольной группой ($p < 0,05$), что соответствует снижению площади инфаркта на 34% ($p < 0,01$).

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. Рекомендовать соединение 1,3-диметил-8-(4-метилпиперазин-1-ил)-7-(тиетан-3-ил)-1Н-пурин-2,6(3Н,7Н)-дион гидрохлорид, обладающее мультимодальным действием в терапии ишемически-реперфузионного повреждения, к дальнейшим исследованиям по оценке безопасности с перспективой получения разрешения на проведение доклинических и клинических исследований.

2. Рекомендовать поиск и разработку препаратов, селективно действующих на убиквитин-протеасомную систему, на основе производных 7-тиетанилксантина.

3. Рекомендовать применение для скрининга кардиотропных эффектов программу для ЭВМ «Макрометрическая оценка ишемического и ишемически-реперфузионного повреждения миокарда».

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ

АКШ – аортокоронарное шунтирование

ББ – бета-блокаторы

ГМГ-КоА редуктаза – 3-гидрокси-3-метилглутарил-коэнзим А редуктаза

ДИПК – дистантное ишемическое preconditionирование

ДНК – дезоксирибонуклеиновая кислота

иАПФ – ингибитор ангиотензинпревращающего фермента

ИБС – ишемическая болезнь сердца

ИК – искусственное кровообращение

ИМ – инфаркт миокарда

ИПК – ишемическое preconditionирование

ИПостК – ишемическое postconditionирование

ИРП – ишемически-реперфузионное повреждение

КФК-МВ – креатинфосфокиназа-МВ

ЛДГ – лактатдегидрогеназа

ЛЖ – левый желудочек

ЛИПК – локальное ишемическое preconditionирование

ЛПНА – левая передняя нисходящая артерия

УПС – убиквитин-протеасомная система

ФВ – фракция выброса

ARR – зона сосудистой проницаемости

DUB – деубиквитирующие ферменты

ЕМТ – эпителиально-стромальный переход

GSK-3-beta – протеинкиназа-С и гликогенсинтазакиназа-3 бета

H&E – гематоксилин и эозин

ICG – индоцианин зеленый

МАРК – митоген-активированная протеинкиназа

mitoK-АТР – митохондриальный АТФ-чувствительный калиевый канал

Mfn2 – митофузин-2

mPTP – митохондриальные поры проницаемости

MSI – индекс спасенного миокарда

PI3K – фосфоинозитид-3-киназа

pLDDT – predicted local distance difference test

RISK – киназа, спасающая от реперфузионного повреждения

SAFE – фактор, усиливающий выживаемость клеток

STAT3 – сигнальный трансдуктор и активатор транскрипции 3

TTC – 2,3,5-трифенилтетразолия хлорид

USP – убиквитин-специфическая протеаза

USP28 – убиквитин-специфическая протеаза 28

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Антиагрегантная активность ангипура на моделях артериального и венозного тромбоза / А. А. Спасов, А. Ф. Кучерявенко, В. С. Сиротенко [и др.]. – Текст : непосредственный // Экспериментальная и клиническая фармакология. – 2021. – Т. 84 – № 9. – С. 20-23.
2. Антитромботическая активность нового антиагрегантного соединения ангипур. / А. А. Спасов, А. Ф. Кучерявенко, Ф. А. Халиуллин [и др.]. – Текст : непосредственный // Тромбоз, гемостаз и реология. – 2022. – № 2. – С. 41-46.
3. Балан, А. В. Кардиопротективная терапия в практике анестезиолога / А. В. Балан. – Текст : непосредственный // Интерактивная наука. – 2020. – № 4 (50). – С. 18-21.
4. Баязитова, В. А. Фармакологическая кардиопротекция при остром инфаркте миокарда / В. А. Баязитова, А. З. Шарафеев. – Текст : непосредственный // Практическая медицина. – 2015. – № 3-2 (88). – С. 41-45.
5. Борщев, Ю. Ю. Влияние кишечной микробиоты на устойчивость миокарда к ишемическому-реперфузионному повреждению / Ю. Ю. Борщев, Д. Л. Сонин, С. М. Минасян. – Текст : непосредственный // Сибирский журнал клинической и экспериментальной медицины. – 2023. – № 4. – С. 86-96.
6. Борщев, Ю. Ю. Внутриклеточный сигнальный путь MEK1/2-ERK1/2 участвует в реализации кардиопротективного эффекта пробиотических штаммов при системном воспалительном ответе у крыс / Ю. Ю. Борщев, С. М. Минасян, И. Ю. Буровенко. – Текст : непосредственный // Бюллетень сибирской медицины. – 2026. – № 1. – С. 24-31.
7. Бульон, В. В. Кардиопротекция при ишемическом повреждении миокарда / В. В. Бульон, И. Б. Крылова, Е. Н. Селина. – Текст : непосредственный // Обзоры по клинической фармакологии и лекарственной терапии. – 2018. – № 2. – С. 13-17.
8. Быстрова, В. И. Ω -3 полиненасыщенные жирные кислоты: эффекты, биодоступность, применение во время беременности / В. И. Быстрова, Е. В.

Шрайнер, Г. И. Лифшиц. – Текст : непосредственный // Вопросы гинекологии, акушерства и перинатологии. – 2025. – № 3. – С. 132-141.

9. Валиуллина, З. А. Антиагрегантная активность новых производных изатина, содержащих четвертичный аммониевый центр: специальность 3.3.6 «Фармакология, клиническая фармакология» : диссертация на соискание ученой степени кандидата медицинских наук / Валиуллина Зульфия Альбертовна ; Федеральное гос. бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Башкирский гос. мед. университет» М-ва здравоохранения Российской Федерации. – Уфа, 2025. – 139 с. – Текст : непосредственный.

10. Виды эффектов SARS-CoV-2 на организм человека: от коагулопатии до «цитокинового шторма» / К. М. Николайчук, С. А. Яковлева, Е В Шрайнер. [и др.] – Текст : непосредственный // Врач. – 2025. – № 3. – С. 11-16.

11. Галагудза, М. М. Современные представления о механизмах самообновления и репаративной регенерации миокарда: сравнительно-эволюционный аспект / М. М. Галагудза, Г. Б. Белостоцкая. – Текст : непосредственный // Научная интеграция в биомедицине: фундаментальные и прикладные аспекты : Сборник научных трудов. – СПб. : Первый С.-петерб. гос. мед. ун-т им. акад. И.П. Павлова, 2023. – С. 16-55.

12. Гемостатические эффекты вазоконстрикторных и проагрегантных препаратов при кровотечениях из желудочно-кишечного тракта. Обзор литературы / И. Д. Крылова, В. И. Корунас, З. А. Валиуллина [и др.]. – Текст : непосредственный // Современные проблемы науки и образования. – 2022. – № 5. – С. 146.

13. Гистопатологические различия миокарда левого предсердия в зависимости от фенотипа хронической сердечной недостаточности / В. С. Щекин, И. И. Терегулов, Т. И. Валинуров [и др.]. – Текст : непосредственный // Вестник современной клинической медицины. – 2026. – № 19 1. – С. 97-106.

14. Дозозависимые противовоспалительные, эндотелиопротективные, кардиопротективные эффекты аторвастатина / Т. В. Долженкова, В. И. Якушев, М. В. Покровский [и др.]. – Текст : непосредственный // Человек и его здоровье. – 2010. – № 3. – С. 26-31.

15. Изучение влияния фабомотизола дигидрохлорида на морфологическую картину левого желудочка сердца у крыс с подострым инфарктом миокарда / И. А. Мирошкина, А. В. Сорокина, И. Б. Цорин [и др.]. – Текст : непосредственный // Фармакокинетика и фармакодинамика. – 2021. – № 4. – С. 29-35.
16. Изучение кардиопротективных свойств новых производных 3-бензилксантина (соединений а-10, А-12 и а-148) / А. С. Шкода, М. В. Дьячков, Е. В. Александрова [и др.]. – Текст : непосредственный // Вестник новых медицинских технологий. – 2013. – Т XX – № 3. – С. 114-117.
17. Интраоперационная защита миокарда: современность и перспективы / С. М. Минасян, М. М. Галагудза, К. Ю. Георгиевская. [и др.] – Текст : непосредственный // Научная интеграция в биомедицине: фундаментальные и прикладные аспекты : Сборник научных трудов. – СПб. : Первый С.-петерб. гос. мед. ун-т им. акад. И.П. Павлова, 2023. – С. 74-96.
18. Ишемическое и фармакологическое прекондиционирование / В. В. Лихванцев, В. В. Мороз, О. А. Гребенчиков [и др.]. – Текст : непосредственный // Общая реаниматология. – 2011. – № 6. – С. 59-65.
19. Кардиопротективное действие триметазида у крыс со сформировавшейся алкогольной кардиомиопатией в период абстиненции / И. А. Мирошкина, Е. О. Ионова, А. В. Надорова [и др.]. – Текст : непосредственный // Молекулярная медицина. – 2018. – Т. 16 – № 1. – С. 44-50
20. Кардиотропные свойства соединения ZMEI-3 – потенциального ингибитора белков Ерас / С. А. Крыжановский, Г. В. Мокров, И. Б. Цорин [и др.]. – Текст : непосредственный // Фармакокинетика и фармакодинамика. – 2024. – № 4. – С. 39-48.
21. Катетеризация сосудов мелких лабораторных животных при проведении биомедицинских исследований: технологические аспекты метода (обзор) / К. Н. Лапин, И. А. Рыжков, В. А. Мальцева, Е. В. Удуг. – Текст : непосредственный // Бюллетень сибирской медицины. – 2021. – № 3. – С. 168-181.

22. Козлов, И. А. Фармакологическая кардиопротекция: что нового? / И. А. Козлов. – Текст : непосредственный // Вестник анестезиологии и реаниматологии. – 2019. – № 16 (2). – С. 57-66.
23. Маркеры повреждения миокарда при интервенционном лечении тахикардий / О. Л. Зайфрид, К. А. Чуева, Е. С. Васичкина [и др.]. – Текст : непосредственный // Патология кровообращения и кардиохирургия. – 2020. – Т. 24. – № 1. – С. 9-17.
24. Маслов, Л. Н. Ишемическое посткондиционирование сердца. Анализ экспериментальных и клинических данных / Л.Н. Маслов, И.Г. Халиулин – Текст : непосредственный. // Комплексные проблемы сердечно–сосудистых заболеваний. 2015. Т. 0. – № 3. – С. 37-46.
25. Методы экстракорпоральной детоксикации и система гемостаза пациентов с раком яичников. Клинический случай / А. С. Сафонов, М. В. Забелин, А. А. Измайлов [и др.]. – Текст : непосредственный // Креативная хирургия и онкология. – 2023. – Т. 13 – № 2. – С. 165-170.
26. Михаленко, Е. П. Сигнальные пути: механизм регуляции пролиферации и выживаемости опухолевых клеток / Е. П. Михаленко, А. Н. Щаюк, А. В. Кильчевский – Текст : непосредственный. // Молекулярная И Прикладная Генетика. – 2019. – Т. 26. – С. 145-157.
27. Мустафин, Т. И. Пути оптимизации морфологической диагностики различных типов инфаркта миокарда / Т. И. Мустафин, С. В. Щекин, В. С. Щекин. – Текст : непосредственный // Якутский медицинский журнал. – 2020. – № 1 (69). – С. 30-33.
28. Нейрохимические аспекты фармакологической активности кардиотропного соединения АЛМ-802S / И. Б. Цорин, Л. Г. Колик, М. Б. Витинова [и др.]. – Текст : непосредственный // Фармакокинетика и фармакодинамика. – 2025. – № 3. – С. 39-46.
29. Омега-3 полиненасыщенные жирные кислоты в лечении и профилактике сердечно-сосудистых заболеваний / Е. В. Шрайнер, В. И. Быстрова, Е. А.

Покушалов, Д. А. Кудлай. – Текст : непосредственный // Тромбоз, гемостаз и реология. – 2025. – № 2. – С. 66-74.

30. Основы клинико-анатомического анализа при различных типах инфаркта миокарда / Т. И. Мустафин, В. С. Щекин, А. В. Чижова, С. В. Щекин. – Текст : непосредственный // Медицинский вестник Башкортостана. – 2019. – Т. 14 – № 2 (80). – С. 18-21.

31. Оценка противогипоксической активности потенциального кардиопротективного средства / Е. В. Волотова, И. Н. Тюренков, В. М. Берестовицкая, О. С. Васильева. – Текст : непосредственный // Вестник Российского университета дружбы народов. – 2008. – № 8. – С. 229-232.

32. Оценка экспериментальной эффективности метаболической поддержки миокарда в условиях ишемически-реперфузионного повреждения / В. И. Корунас, И. Д. Крылова, В. С. Щекин [и др.]. – Текст : непосредственный // Известия ГГТУ. Медицина, фармация. – 2024. – № 2. – С. 19-23.

33. Параметры микроциркуляции в коже как диагностические маркеры нарушения центрального и церебрального кровообращения при геморрагическом шоке (экспериментальное исследование) / И. А. Рыжков, Н. В. Голубова, К. Н. Лапин [и др.]. – Текст : непосредственный // Общая реаниматология. – 2025. – № 3. – С. 11-25.

34. Патологические основы метаболической кардиопротекции / А. А. Михайлис, О. О. Андрощук, Н. Е. Беланова [и др.]. – Текст : непосредственный // Медико-фармацевтический журнал «Пульс». – 2009. – № 3. – С. 260-265.

35. Подтверждение валидности разработанной трансляционной модели хронической сердечной недостаточности у крыс / И. Б. Цорин, В. В. Барчуков, Е. О. Ионова [и др.]. – Текст : непосредственный // Фармакокинетика и фармакодинамика. – 2020. – № 2. – С. 11-16.

36. Поиск природных средств, обладающих антикоагулянтной и антиагрегантной активностью / Э. Х. Галияхметова, С. Р. Хасанова, А. Айжаркын [и др.]. – Текст : непосредственный // Вестник воронежского государственного университета. Серия: химия. Биология. Фармация. – 2024. – № 2. – С. 70-76.

37. Применение метода флуоресцентной ангиографии с использованием индоцианина зеленого: экспериментальные и клинические исследования / Т. А. Леявина, О. В. Корнюшин, Р. Р., Шемилов. [и др.] – Текст : непосредственный // Регионарное кровообращение и микроциркуляция. – 2025. – № 3 (95). – С. 4-12.
38. Процак, Е. С. Роль оценки основных гемодинамических параметров в современной экспериментальной практике / Е. С. Процак, Ю. Ю. Борщев, М. М. Галагудза. – Текст : непосредственный // Регионарное кровообращение и микроциркуляция. – 2023. – № 1 (85). – С. 103-109.
39. Результаты пилотного клинического исследования безопасности и эффективности оригинального антитромбоцитарного препарата из группы ингибиторов гликопротеиновых IIb/IIIa-рецепторов при остром коронарном синдроме / С. В. Лукьянов, Ю. Ф. Глухов, Е. В. Тавлуева [и др.]. – Текст : непосредственный // Кардиоваскулярная терапия и профилактика. – 2023. – Т. 22 – № 7. – С. 3573.
40. Роль АМФ-активируемой протеинкиназы в изменении устойчивости миокарда к ишемическому и реперфузионному повреждению под действием метформина при сахарном диабете тип 2 / Е. Н. Кравчук, Е. Н. Гринева, М. М. Галагудза [и др.]. – Текст : непосредственный // Артериальная гипертензия. – 2024. – Т. 18 – № 3. – С. 206-212.
41. Роль убиквитин-протеасомной системы в развитии острого повреждения миокарда / Д. А. Кудлай, В. В. Тарасов, И. Д. Крылова [и др.]. – Текст : непосредственный // Терапевтический архив. – 2025. – № 12. – С. 1031-1036.
42. Самородов, А. В. Разработка нового блокатора рецептора ГП IIb–IIIa тромбоцитов в ряду производных ксантина : специальность 14.03.06 «Фармакология, клиническая фармакология» : диссертация на соискание ученой степени доктора медицинских наук / Самородов Александр Владимирович ; Казанский государственный медицинский университет. – Казань, 2018. – 279 с. – Текст : непосредственный.
43. Синтез, антиагрегационные и антикоагуляционные свойства некоторых производных 1-бензилизатина / А. В. Богданов, А. Я. Мельникова, Е. Е. Пономарев

[и др.]. – Текст : непосредственный // Вестник Томского государственного университета. Химия. – 2025. – № 38. – С. 86-96.

44. Скрининг кардиотропной активности в ряду α , ω -диарилметильных производных бис-(ω -аминоалкил)аминов / С. А. Крыжановский, А. М. Лихошерстов, И. Б. Цорин [и др.]. – Текст : непосредственный // Фармакокинетика и фармакодинамика. – 2016. – № 2. – С. 10-13.

45. Способ оценки повреждения миокарда в условиях перфузии изолированного сердца по методу Лангендорфа / Ю. Ванг, Е. А. Смолярчук, И. Д. Крылова [и др.]. – Текст : непосредственный // Фармация и фармакология. – 2024. – № 12, № 2. – С. 105-116.

46. Сравнительная оценка эхокардиографических характеристик левого желудочка сердца у самок и самцов крыс / Е. О. Ионова, В. В. Барчукова, М. Б. Вититнова [и др.]. – Текст : непосредственный // Фармакокинетика и фармакодинамика. – 2021. – № 1. – С. 14-17.

47. Сравнительное изучение кардиопротекторного действия триметазидина и фабомотизола гидрохлорида у крыс со сформировавшейся алкогольной кардиомиопатией в условиях продолжающегося потребления этанола / И. Б. Цорин, И. А. Мирошкина, Е. О. Ионова [и др.]. – Текст : непосредственный // Фармакокинетика и фармакодинамика. – 2016. – № 3. – С. 38-41.

48. Тромбоцитарные микровезикулы у пациентов с раком яичников как предиктор развития тромбоэмболических осложнений / А. С. Сафонов, И. Г. Мустафин, М. В. Забелин [и др.]. – Текст : непосредственный // Казанский медицинский журнал. – 2025. – Т. 106 – № 3. – С. 358-366.

49. Фармацевтические аспекты оказания помощи пациентам на этапе интенсивной терапии / Г. Я. Ибрагимова, А. В. Самородов, К. Н. Золотухин [и др.]. – Текст : непосредственный // Современные проблемы науки и образования. – 2021. – № 1. – С. 69.

50. Шляхто, Е. В. Воздействие на автономную регуляцию сердечно-сосудистой системы как стратегическое направление лечения артериальной гипертензии, нарушений ритма и сердечной недостаточности / Е. В. Шляхто, А. О. Конради, Н.

- Э. Звартау. – Текст : непосредственный // Российский кардиологический журнал. – 2022. – № 9. – С. 92-104.
51. Шурыгин, М. Г. Посткондиционирование как метод повышения выживаемости тканей при ишемическом повреждении / М. Г. Шурыгин, И. А. Шурыгина, Н. Н. Дремина – Текст : непосредственный. // Acta Biomedica Scientifica. – 2016. – Т. 1. – № 4. – С. 183-186.
52. Экспериментальное обоснование основных методов реперфузии миокарда с позиции современных представлений о развитии и течении острого коронарного синдрома / Т. А. Абзалилов, С. Н. Нурланова, И. И. Баширов [и др.]. – Текст : непосредственный // Медицинский вестник Башкортостана. – 2021. – Т. 16 – № 6 . – С. 65-70.
53. Экспрессия протеинкиназы с при дистантном ишемическом preconditionировании во время кардиохирургических вмешательств / А. Е. Баутин, М. М. Галагудза, Д. М. Ташханов [и др.]. – Текст : непосредственный // Анестезиология и реаниматология. – 2015. – Т 60 – № 6. – С. 4-8.
54. Эндотелиопротективные, кардиопротективные эффекты аторвастатина и его комбинаций с L-аргинином и резвератролом в эксперименте / Т. В. Долженкова, В. И. Якушев, М. В. Покровский [и др.]. – Текст : непосредственный // Кубанский научный медицинский вестник. – 2010. – № 7. – С. 61-65.
55. Эпидемиология, патогенез и лечение аритмий связанных с острым инфарктом миокарда (обзор литературы) / Д. Д. Муминов, Е. А. Стрельникова, Р. А. Габдрахимова [и др.]. – Текст : непосредственный // Известия ГГТУ. Медицина, фармация. – 2025. – № 2 (22). – С. 20-25.
56. A 60-s postconditioning protocol by percutaneous coronary intervention inhibits myocardial apoptosis in patients with acute myocardial infarction / W. S. Zhao, L. Xu, L. F. Wang [et al.]. – Текст : непосредственный// Apoptosis: An International Journal on Programmed Cell Death. – 2009. – № 10. – P. 1204-1211.
57. A cathepsin D-cleaved 16 kDa form of prolactin mediates postpartum cardiomyopathy / D. Hilfiker-Kleiner, K. Kaminski, E. Podewski [et al.]. – Текст : непосредственный // Cell. – 2007. – № 128(3). – P. 589-600.

58. A critical role for PPAR α -mediated lipotoxicity in the pathogenesis of diabetic cardiomyopathy: modulation by dietary fat content / B. N. Finck, X. Han, M. Courtois [et al.]. – Текст : непосредственный // Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America. – 2003. – № 100 (3). – P. 1226-1231.
59. A murine model of inducible, cardiac-specific deletion of STAT3: its use to determine the role of STAT3 in the upregulation of cardioprotective proteins by ischemic preconditioning / R. Bolli, A. B. Stein, Y. Guo [et al.]. – Текст : непосредственный // Journal of Molecular and Cellular Cardiology. – 2011. – № 4. – P. 589-597.
60. A novel feedback loop between DYRK2 and USP28 regulates cancer homeostasis and DNA damage signaling / L. Suanes-Cobos, I. Aguilera-Ventura, M. Torres-Ramos [et al.]. – Текст : непосредственный // Cell Death and Differentiation. – 2026. – № 1. – P. 77-91.
61. A role for the deubiquitinating enzyme USP28 in control of the DNA-damage response / D. Zhang, K. Zaugg, G. S. Duncan, S. Elledge. – Текст : непосредственный // Cell. – 2006. – № 126 (3). – P. 529-542.
62. A small-molecule PI3K α activator for cardioprotection and neuroregeneration / G. Q. Gong, B. Bilanges, B. Allsop [et al.]. – Текст : непосредственный // Nature. – 2023. – № 618 (7963). – P. 159-168.
63. Accurate structure prediction of biomolecular interactions with AlphaFold 3 / J. Abramson, J. Adler, J. Dunger [et al.]. – Текст : непосредственный // Nature. – 2024. – № 630 (8016). – P. 493-500.
64. Ambrosioni, E. The effect of the angiotensin-converting-enzyme inhibitor zofenopril on mortality and morbidity after anterior myocardial infarction. The Survival of Myocardial Infarction Long-Term Evaluation (SMILE) Study Investigators / E. Ambrosioni, C. Borghi, B. Magnani – Текст : непосредственный. // The New England Journal of Medicine. – 1995. Vol. 332. – № 2. – P. 80-85.
65. An adenosinergic positive feedback loop extends pharmacological cardioprotection duration / G. Wölkart, S. Gissing, H. Stessel [et al.]. – Текст : непосредственный // British Journal of Pharmacology. – 2024. – № 23. – P. 4920-4936.

66. An Update on the Multifaceted Roles of STAT3 in the Heart / Z. Harhous, G. W. Booz, M. Ovize [et al.]. – Текст : непосредственный // *Frontiers in Cardiovascular Medicine*. – 2019. – № 6 – P.150.
67. Angiotensin II is mitogenic in neonatal rat cardiac fibroblasts / W. Schorb, G. W. Booz, D. E. Dostal [et al.]. – Текст : непосредственный// *Circulation Research*. – 1993. – № 6. – P. 1245-1254.
68. Antiplatelet Effects of Selected Xanthine-Based Adenosine A2A and A2B Receptor Antagonists Determined in Rat Blood / M. Kubacka, S. Mogilski, M. Bednarski [et al.]. – Текст : непосредственный // *International Journal of Molecular Sciences*. – 2023. – Vol. 24 – № 17. – P. 13378.
69. Anti-platelet therapy: phosphodiesterase inhibitors / P. Gresele, S. Momi, E. Falcinelli [et al.]. – Текст : непосредственный // *British Journal of Clinical Pharmacology*. – 2011. – № 72. – P. 634-646.
70. Apoptosis and post-infarction left ventricular remodeling / A. Baldi, A. Abbate, R. Bussani [et al.]. – Текст : непосредственный // *Journal of Molecular and Cellular Cardiology*. – 2002. – № 34(2). – P. 165-174.
71. Atorvastatin-induced cardioprotection is mediated by increasing inducible nitric oxide synthase and consequent S-nitrosylation of cyclooxygenase-2 / S. Atar, Y. Ye, Y. Lin [et al.]. – Текст : непосредственный // *American journal of physiology. Heart and circulatory physiology*. – 2006. – № 5. – P. H1960-1968.
72. Base-Catalyzed Reaction of Isatins and (3-Hydroxyprop-1-yn-1-yl)phosphonates as a Tool for the Synthesis of Spiro-1,3-dioxolane Oxindoles with Anticancer and Anti-Platelet Properties / A. V. Murashkina, A. V. Bogdanov, I. D. Krylova [et al.]. – Текст : непосредственный // *Molecules (Basel, Switzerland)*. – 2024. – № 19. – P. 4764.
73. Benzie, I. F. F. Antioxidant power of angiotensin-converting enzyme inhibitors in vitro / I. F. F. Benzie, B. Tomlinson. – Текст : непосредственный // *British Journal of Clinical Pharmacology*. – 1998. – № 2. – P. 168-169.
74. Boengler, K. Mitochondria “THE” target of myocardial conditioning / K. Boengler, G. Lochnit, R. Schulz. – Текст : непосредственный. // *American Journal of Physiology–Heart and Circulatory Physiology*. 2018. Vol. 315. № 5. – P. H1215-H1231.

75. Boengler, K. Mitochondrial Kinase Signaling for Cardioprotection / K. Boengler, C. Eickelmann, P. Kleinbongard. – Текст : непосредственный // *Int J Mol Sci.* – 2024. – № 8. – P. 4491.
76. Bulluck, H. Ischaemic conditioning: are we there yet? / H. Bulluck, D. J. Hausenloy. – Текст : непосредственный // *Heart.* – 2015. – № 13. – P. 1067-77.
77. Caffeine for treatment of Parkinson disease: a randomized controlled trial / B. R. Postuma, E. A. Lang, P. R. Munhoz [et al.]. – Текст : непосредственный // *Neurology.* – 2012. – Vol. 79 – № 7. – P. 651-658.
78. Caffeine induces age-dependent increases in brain complexity and criticality during sleep / P. Thölke, M. Arcand-Lavigne, T. Lajnef [et al.]. – Текст : непосредственный // *Communications Biology.* – 2025. – Vol. 30. – № 1. – P. 685.
79. Cancer-Induced Cardiac Dysfunction: Mechanisms, Diagnostics, and Emerging Therapeutics in the Era of Onco-Cardiology / S. Saha, P. K. Singh, P. Roy [et al.]. – Текст : непосредственный // *Cancers.* – 2025. – № 19. – P. 3225.
80. Cao, L. J. Non-invasive remote ischemic preconditioning for patients with heart failure undergoing cardiac catheterization: a network meta-analysis of randomized controlled trials / L. J. Cao, W. J. Wang, Q. X. Zhou. – Текст : непосредственный // *Journal of Cardiothoracic Surgery.* – 2024. – № 19 (1) – P. 573.
81. Cardiac protective effects of remote ischaemic preconditioning in children undergoing tetralogy of fallot repair surgery: a randomized controlled trial / Q. Wu, T. Wang, S. Chen [et al.]. – Текст : непосредственный // *European Heart Journal.* – 2018. – № 12. – P. 1028-1037.
82. Cardiomyocyte-derived USP28 negatively regulates antioxidant response and promotes cardiac hypertrophy via deubiquitinating TRIM21 / J. Han, L. Lin, Z. Fang [et al.]. – Текст : непосредственный // *Theranostics.* – 2024. – № 16. – P. 6236-6248.
83. Cardioprotection by ischemic postconditioning is lost in aged and STAT3-deficient mice / K. Boengler, A. Buechert, Y. Heinen [et al.]. – Текст : непосредственный // *Circulation Research.* – 2008. – № 1. – P. 131-135.

84. Cardioprotection: the role of beta-blocker therapy / B. M. Egan, J. Basile, R. J. Chilton, J. D. Cohen. – Текст : непосредственный // *Journal of clinical hypertension (Greenwich)*. – 2005. – № 7. – P. 409-416.
85. Cardioprotective effects of transforming growth factor-beta1 during early reoxygenation or reperfusion are mediated by p42/p44 MAPK / G. F. Baxter, M. M. Mocanu, B. K. Brar [et al.]. – Текст : непосредственный // *Journal of Cardiovascular Pharmacology*. – 2001. – № 6. – P. 930-9.
86. Cardioprotective Role of Captopril: From Basic to Applied Investigations / M. Stoiljkovic, V. Jakovljevic, J. Milosavljevic [et al.]. – Текст : непосредственный // *International Journal of Molecular Sciences*. – 2025. – № 15. – P. 7215.
87. Chen, Y. PINK1-phosphorylated mitofusin 2 is a Parkin receptor for culling damaged mitochondria / Y. Chen, G. W. 2nd Dorn. – Текст : непосредственный // *Science*. – 2013. – № 6131. – P. 471-475.
88. Clenbuterol induces muscle-specific attenuation of trophy though effects on the ubiquitin-proteasome pathway / T. Yimlamai, S. L. Dodd, S. E. Borsr, S. Park. – Текст : непосредственный // *Journal of Applied Physiology*. – 2005. – № 1. – P. 71-80.
89. Clenbuterol suppresses proteasomal and lysosomal proteolysis and atrophy-related genes in denervated rat soleus muscles independently of Akt / D. A. Gonçalves, W. A. Silveira, E. C. Lira [et al.]. – Текст : непосредственный // *American journal of physiology. Endocrinology and metabolism*. – 2012. – № 1. – P. E123-133.
90. Cohen, M. V. Cardioprotection: spotlight on PKG / M. V. Cohen, J. M. Downey. – Текст : непосредственный // *British Journal of Pharmacology*. – 2007. – № 6. – P. 833-834.
91. Combined Intrahospital Remote Ischemic Perconditioning and Postconditioning Improves Clinical Outcome in ST-Elevation Myocardial Infarction: Long-Term Results of the LIPSIA CONDITIONING Trial / T. Stiermaier, J. O. Jensen, K. P. Rommel [et al.]. – Текст : непосредственный // *Circulation Research*. – 2019. – № 10. – P. 1482-1491.
92. Comparison between zofenopril and ramipril in combination with acetylsalicylic acid in patients with left ventricular systolic dysfunction after acute myocardial infarction:

- results of a randomized, double-blind, parallel-group, multicenter, European study (SMILE-4) / C. Borghi, E. Ambrosioni, S. Novo [et al.]. – Текст : непосредственный // *Clinical Cardiology*. – 2012. – № 35 (7). – P. 416-23.
93. Comparison of Effect of Ischemic Postconditioning on Cardiovascular Mortality in Patients With ST-Segment Elevation Myocardial Infarction Treated With Primary Percutaneous Coronary Intervention With Versus Without Thrombectomy / J. M. Madsen, C. Glinge, R. Jabbari [et al.]. – Текст : непосредственный // *The American Journal of Cardiology*. – 2022. – P. 18-24.
94. Constantinescu, C. S. Captopril and lisinopril suppress production of interleukin-12 by human peripheral blood mononuclear cells / C. S. Constantinescu, D. B. Goodman, E. S. Ventura. – Текст : непосредственный // *Immunology Letters*. – 1998. – № 62 (1). – P. 25-31.
95. De Brito, O. M. Mitofusin 2 tethers endoplasmic reticulum to mitochondria / O. M. de Brito, L. Scorrano – Текст : непосредственный. // *Nature*. – 2008. – Vol. 456. – № 7222. – P. 605-610.
96. Deubiquitinases in Neurodegeneration / A. I. Bello, R. Goswami, S. L. Brown [et al.]. – Текст : непосредственный // *Cells*. – 2022. – № 11 (3). – P. 556.
97. Differential Oligomerization of the Deubiquitinases USP25 and USP28 Regulates Their Activities / F. Sauer, T. Klemm, R. Babu, I. Tessmer. – Текст : непосредственный // *Molecular Cell*. – 2019. – № 3. – P. 421-435.e10.
98. Distinct USP25 and USP28 Oligomerization States Regulate Deubiquitinating Activity / M. Gersch, J. L. Wagstaff, A. V. Toms [et al.]. – Текст : непосредственный // *Molecular Cell*. – 2019. – № 74 (3). – P. 436-451.e7.
99. Dual regulation of Fbw7 function and oncogenic transformation by Usp28 / C. Schüle-Völk, E. Wolf, J. Zhu [et al.]. – Текст : непосредственный // *Cell Reports*. – 2014. – № 3. – P. 1099-1109.
100. Dzau, V. J. Clinical implications for therapy: possible cardioprotective effects of ACE inhibition / V. J. Dzau – Текст : непосредственный // *British Journal of Clinical Pharmacology*. – 1989. – № 28 Suppl 2. – P. 183S-187S.

101. Effect of COMBinAktion therapy with remote ischemic conditioning and exenatide on the Myocardial Infarct size: a two-by-two factorial randomized trial (COMBAT-MI) / D. B. B. García, I. Otaegui, J. F. Rodríguez-Palomares [et al.]. – Текст : непосредственный // Basic Res Cardiol. – 2021. – № 116 (1). – P. 4.
102. Effect of early metoprolol on infarct size in ST-segment-elevation myocardial infarction patients undergoing primary percutaneous coronary intervention: the Effect of Metoprolol in Cardioprotection During an Acute Myocardial Infarction (METOCARD-CNIC) trial / B. Ibanez, C. Macaya, V. Sánchez-Brunete [et al.]. – Текст : непосредственный // Circulation. – 2013. – № 128 (14). – P. 1495-503.
103. Effect of Ischemic Postconditioning During Primary Percutaneous Coronary Intervention for Patients With ST-Segment Elevation Myocardial Infarction: A Randomized Clinical Trial / T. Engstrøm, H. Kelbæk, S. Helqvist [et al.]. – Текст : непосредственный // JAMA Cardiology. – 2017. – № 5. – P. 490-497.
104. Effect of ischemic postconditioning on infarct size in patients with ST-elevation myocardial infarction treated by primary PCI results of the POSTEMI (Postconditioning in ST-Elevation Myocardial Infarction) randomized trial / S. Limalanathan, G. Ø. Andersen, N. E. Kløw [et al.]. – Текст : непосредственный // Journal of the American Heart Association. – 2014. – № 3 (2). – P. e000679.
105. Effect of Remote Ischemic Preconditioning on Myocardial Injury in Noncardiac Surgery: The PRINCE Randomized Clinical Trial / M. Greco, G. Lombardi, C. Brusasco [et al.]. – Текст : непосредственный // Circulation. – 2025. – № 152 (17). – P. 1194-1205.
106. Effects of different angiotensin-converting enzyme (ACE) inhibitors on ischemic isolated rat hearts: relationship between cardiac ACE inhibition and cardioprotection / G. J. Grover, P. G. Sleph, S. Dzwonczyk [et al.]. – Текст : непосредственный // The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics. – 1991. – № 257 (3) – P. 919-929.
107. Effects of pentoxifylline in patients with chronic Chagas cardiomyopathy: A randomized, double-blind, controlled pilot trial / K. S. Martins, D. M. Tanaka, C. G. Fabricio [et al.]. – Текст : непосредственный // PLoS neglected tropical diseases. – 2025. – Vol. 19 – № 10. – P. e0013555.

108. Effects of remote ischemic preconditioning on contrast-induced acute kidney injury after percutaneous coronary intervention in patients with chronic total occlusion / G. L. Yan, M. M. Yang, P. F. Zuo [et al.]. – Текст : непосредственный // *Zhonghua Yi Xue Za Zhi*. – 2021. – № 11. – P. 776-781.
109. Exercise Regulates MicroRNAs to Preserve Coronary and Cardiac Function in the Diabetic Heart / J. K. Lew, J. T. Pearson, E. Saw [et al.]. – Текст : непосредственный // *Circulation Research*. – 2020. – № 127 (11). – P. 1384-1400.
110. Fas pathway is a critical mediator of cardiac myocyte death and MI during ischemia-reperfusion in vivo / P. Lee, M. Sata, D. J. Lefer [et al.]. – Текст : непосредственный // *Am J Physiol Heart Circ Physiol*. – 2003. – № 2. – P. H456-463.
111. Frishman, W. H. Beta blockers as cardioprotective agents: Part I--Insights into mechanisms of action / W. H. Frishman. – Текст : непосредственный // *American Journal of Managed Care*. – 2002. – № 8 (9 Suppl). – P. 13-17.
112. Gibbons, G. H. Cardioprotective mechanisms of ACE inhibition. The angiotensin II-nitric oxide balance / G. H. Gibbons. – Текст : непосредственный // *Drugs*. – 1997. – № 54 Suppl 5. – P. 1-11.
113. Glycogen synthase kinase-3 β plays a pro-apoptotic role in beta-adrenergic receptor-stimulated apoptosis in adult rat ventricular myocytes: Role of beta1 integrins / B. Menon, J. N. Johnson, R. S. Ross [et al.]. – Текст : непосредственный // *Journal of Molecular and Cellular Cardiology*. – 2007. – № 3. – P. 653-661.
114. Gradual reperfusion reduces infarct size and endothelial injury but augments neutrophil accumulation / H. Sato, J. E. Jordan, Z. Q. Zhao [et al.]. – Текст : непосредственный // *The Annals of Thoracic Surgery*. – 1997. – № 4. – P. 1099-1107.
115. Gruppo, Italiano per lo Studio della Sopravvivenza nell'infarto Miocardico GISSI-3: effects of lisinopril and transdermal glyceryl trinitrate singly and together on 6-week mortality and ventricular function after acute myocardial infarction / Italiano per lo Studio della Sopravvivenza nell'infarto Miocardico Gruppo. – Текст : непосредственный // *Lancet*. – 1994. – № 343(8906). – P. 1115-1122.
116. GSK3 β Serine 389 Phosphorylation Modulates Cardiomyocyte Hypertrophy and Ischemic Injury / L. Vaini, S. Taponen, S. M. Kinnunen [et al.]. – Текст :

- непосредственный // International Journal of Molecular Sciences. – 2021. – № 24. – P. 13586.
117. Halgren, T. A. Identifying and characterizing binding sites and assessing druggability / T. A. Halgren – Текст : непосредственный. // Journal of Chemical Information and Modeling. – 2009. – Vol. 49. – № 2. – P. 377-389.
118. Hausenloy, D. J. Ischaemic conditioning and reperfusion injury / D. J. Hausenloy, D. M. Yellon – Текст : непосредственный. // Nature Reviews. Cardiology. 2016. – Vol. 13.– № 4. – P. 193-209.
119. Healthcare Management in Cardio-Oncology, Clinical Strategies and Future Perspectives: A Narrative Review / V. Quagliariello, M. Berretta, F. Maurea [et al.]. – Текст : непосредственный // Healthcare. – 2025. – № 13 (20). – P. 2599.
120. Heart Disease and Stroke Statistics–2021 Update: A Report From the American Heart Association / S. Virani, A. Alonso, H. Aparicio [et al.]. – Текст : непосредственный// Circulation. – 2021. – № 8. – P. e254-e743.
121. Hemorheological, cardiorespiratory, and cerebrovascular effects of pentoxifylline following acclimatization to 3,800 m / R. Steele. A. Howe, T. D. Gibbons [et al.]. – Текст : непосредственный // American journal of physiology. Heart and circulatory physiology. – 2024. – Vol. 326 – № 3. – P. 705-714.
122. Heusch, G. Cardioprotection by ACE inhibitors in myocardial ischaemia/reperfusion. The importance of bradykinin / G. Heusch, J. Rose, T. Ehring. – Текст : непосредственный // Drugs. – 1997. – № 54 Suppl 5. – P. 31-41.
123. Heusch, G. Cardioprotection in cardio–oncology: a case for concern? / G. Heusch – Текст : непосредственный. // Cardiovascular Research. – 2023. – Vol. 119. –№ 12. – P. e144-e145.
124. Heusch, G. Molecular basis of cardioprotection: signal transduction in ischemic pre–, post–, and remote conditioning. / G. Heusch – Текст : непосредственный. // Circulation research. – 2015. – № 116 (4). – P. 674-699
125. Heusch, G. Myocardial ischaemia–reperfusion injury and cardioprotection in perspective / G. Heusch – Текст : непосредственный. // Nature Reviews. Cardiology. – 2020. – Vol. 17.– № 12. – P.773-789.

126. Heusch, G. Postconditioning: old wine in a new bottle? / G. Heusch. – Текст : непосредственный // Journal of the American College of Cardiology. – 2004. – № 5. – P. 1111-1112.
127. Heusch, G. Protection from cardiotoxicity of cancer chemotherapy: a novel target for remote ischaemic conditioning? / G. Heusch, T. Rassaf – Текст : непосредственный. // Cardiovascular Research. – 2021. – Vol.117. – № 4. – P.985-986.
128. Heusch, G. The in-situ pig heart with regional ischemia/reperfusion – ready for translation / G. Heusch, A. Skyschally, R. Schulz – Текст : непосредственный. // Journal of Molecular and Cellular Cardiology. – 2011. – Vol. 50. – № 6. – P.951-963.
129. Heusch, G. Treatment of Myocardial Ischemia/Reperfusion Injury by Ischemic and Pharmacological Postconditioning. / G. Heusch. – Текст : непосредственный // Comprehensive Physiology. – 2015. – № 5 (3). – P. 1123-1145.
130. Hidden Pathway to a Major Concern: The Role of Pyroptosis in Inducing Myocardial Infarction Reperfusion Injury and Emerging Therapeutic Targets / Z. A. Mohammed, M. M. Patni, M. M. Qassim [et al.]. – Текст : непосредственный // Cureus. – 2025. – № 17 (12). – P. e98370.
131. HIF-1 α in myocardial ischemia-reperfusion injury (Review) / J. Zheng, P. Chen, J. Zhong [et al.]. – Текст : непосредственный// Molecular Medicine Reports. – 2021. – № 5. – P. 352.
132. Horrigan, L. A. Immunomodulatory effects of caffeine: Friend or foe? / L. A. Horrigan, J. P. Kelly, T. J. Connor. – Текст : непосредственный // Pharmacology & Therapeutics. – 2006. – Vol. 111 – № 3. – P. 877-892.
133. Hypercholesterolemia abrogates the cardioprotection of ischemic postconditioning in isolated rat heart: roles of glycogen synthase kinase-3 β and the mitochondrial permeability transition pore / N. Wu, X. Zhang, Y. Guan [et al.]. – Текст : непосредственный// Cell Biochemistry and Biophysics. – 2014. – № 1. – P. 123-130.
134. Identification and Characterization of Dual Inhibitors of the USP25/28 Deubiquitinating Enzyme Subfamily / J. D. Wrigley, G. Gavoru, I. Simpson [et al.]. – Текст : непосредственный // ACS chemical biology. – 2017. – № 12. – P. 3113-3125.

135. Impact of peroxisome proliferator-activated receptor- α on diabetic cardiomyopathy / L. Wang, Y. Cai, L. Jian [et al.]. – Текст : непосредственный// Cardiovascular Diabetology. – 2021. – № 20. – P. 2.
136. Improving Preclinical Assessment of Cardioprotective Therapies (IMPACT) criteria: guidelines of the EU-CARDIOPROTECTION COST Action / S. Lecour, I. Andreadou, H. E. Bøtker [et al.]. – Текст : непосредственный // Basic Research in Cardiology. – 2021. – № 116 (1). – P. 52.
137. In silico studies of natural product-like caffeine derivatives as potential MAO-B inhibitors/AA2AR antagonists for the treatment of Parkinson's disease / Y. Boulaamane, M. A. A. Ibrahim, M. R. Britel, A. Maurady. – Текст : непосредственный // Journal of integrative bioinformatics. – 2022. – № 4. – P. 20210027.
138. Induction of RISK by HMG-CoA reductase inhibition affords cardioprotection after myocardial infarction / G. Vilahur, L. Casaní, E. Peña [et al.]. – Текст : непосредственный // Atherosclerosis. – 2009. – № 1. – P. 95-101.
139. Influence of Short and Long Hyperglycemia on Cardioprotection by Remote Ischemic Preconditioning-A Translational Approach / K. Feige, S. Roth, R. M'Pembele [et al.]. – Текст : непосредственный // International Journal of Molecular Sciences. – 2022. – № 23 (23). – P. 14557.
140. Inhibition of myocardial injury by ischemic postconditioning during reperfusion: comparison with ischemic preconditioning. / Z. Q. Zhao, J. Corveta, M. E. Halkos [et al.]. – Текст : непосредственный// American Journal of Physiology. Heart and Circulatory Physiology. – 2003. – № 285(2). – P. H579-588.
141. Ischaemic preconditioning - Current knowledge and potential future applications after 30 years of experience / K. Stokfisz, A. Ledakowicz-Polak, M. Zagorski, M. Zielinska. – Текст : непосредственный// Advances in Medical Sciences. – 2017. – № 2. – P. 307-316.
142. Ischemic Postconditioning in Pigs No Causal Role for RISK Activation / A. Skyschally, P. van Caster, K. Boengler [et al.]. – Текст : непосредственный// Circulation Research. – 2009. – № 1. – P. 15-18.

143. Ischemic Preconditioning in Atrial Fibrillation / M. A. Mohamed, S. Gorva, A. Hammoud [et al.]. – Текст : непосредственный // Discoveries (Craiova). – 2025. – № 3. – P. e213.
144. Jovanović, A. Cardioprotective Signaling: Outline and Future Directions / A. Jovanović – Текст : непосредственный. // Biomedicines. – 2025. – Vol. 13. – № 12. – P. 2973.
145. Katz, A. M. Angiotensin II: hemodynamic regulator or growth factor? / A. M. Katz. – Текст : непосредственный // Journal of Molecular and Cellular Cardiology. – 1990. – № 22 (7). – P. 739-47.
146. Kishore, R. Roles of STATs signaling in cardiovascular diseases / R. Kishore, S.K. Verma – Текст : непосредственный. // JAK–STAT. – 2012. – Vol. 1. № 2. – P. 118-124.
147. Kleinbongard, P. Cardioprotection by early metoprolol- attenuation of ischemic vs. reperfusion injury? / P. Kleinbongard. – Текст : непосредственный // Basic Res Cardiol. – 2020. – № 115 (5). – P. 54.
148. Kleinbongard, P. Cardioprotection by remote ischemic conditioning and its signal transduction / P. Kleinbongard, A. Skyschally, G. Heusch – Текст : непосредственный. // Pflugers Archiv: European Journal of Physiology. 2017. – Vol.469. – № 2. – P. 159-181.
149. Kleinbongard, P. Perspective: mitochondrial STAT3 in cardioprotection / P. Kleinbongard. – Текст : непосредственный // Basic Research in Cardiology.– 2023. – № 118 (1). – P. 32.
150. KLF5 Is Induced by FOXO1 and Causes Oxidative Stress and Diabetic Cardiomyopathy / I. D. Kyriazis, M. Hoffman, L. Gaignebet [et al.]. – Текст : непосредственный // Circulation Research. – 2021. – № 3. – P. 335-357.
151. Komander, D. Breaking the chains: structure and function of the deubiquitinases / D. Komander, M. J. Clague, S. Urbé. – Текст : непосредственный // Nature Reviews Molecular Cell Biology. – 2009. – № 10 (8). – P. 550-63.

152. Konstantinidis, K. Mechanisms of cell death in heart disease / K. Konstantinidis, R. S. Whelan, R. N. Kitsis. – Текст : непосредственный // *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology*. – 2012. – № 32 (7). – P. 1552-1562.
153. Li, Y. Molecular Mechanisms of DUBs Regulation in Signaling and Disease / Y. Li, D. Reverter – Текст : непосредственный. // *International Journal of Molecular Sciences*. – 2021. – Vol. 22. – № 3. – P. 986.
154. Linkage of β 1-adrenergic stimulation to apoptotic heart cell death through protein kinase A-independent activation of Ca^{2+} /calmodulin kinase II / W. Zhu, S. Q. Wann, K. Chakir [et al.]. – Текст : непосредственный // *The Journal of Clinical Investigation*. – 2003. – № 5. – P. 617-625.
155. Long-term effect of remote ischemic conditioning on infarct size and clinical outcomes in patients with anterior ST-elevation myocardial infarction / D. Verouhis, P. Sörensson, A. V. Gourine [et al.]. – Текст : непосредственный // *Catheterization and Cardiovascular Interventions: Official Journal of the Society for Cardiac Angiography & Interventions*. – 2021. – № 3. – P. 386-392.
156. Long-term effects of ischemic postconditioning on clinical outcomes: 1-year follow-up of the POST randomized trial / J. Y. Hahn, C. W. Yu, H. S. Park [et al.]. – Текст : непосредственный // *Am Heart J*. – 2015. – № 169 (5). – P. 639-646.
157. Long-term impact of postconditioning on infarct size and left ventricular ejection fraction in patients with ST-elevation myocardial infarction / P. Sörensson, L. Rydén, N. Saleh [et al.]. – Текст : непосредственный // *BMC Cardiovascular Disorders*. – 2013. – № 13. – P. 22.
158. Lymperopoulos, A. Adrenergic nervous system in heart failure: pathophysiology and therapy / A. Lymperopoulos, G. Rengo, W. J. Koch. – Текст : непосредственный // *Circulation Research*. – 2013. – № 113 (6). – P. 739-53.
159. Matsumura, N. Glutathione-Mediated Neuroprotective Effect of Purine Derivatives / N. Matsumura, K. Aoyama – Текст : непосредственный. // *International Journal of Molecular Sciences*. – 2023. – Vol.24. – № 17. – P.13067.

160. McCarty, M. F. Pentoxifylline for vascular health: a brief review of the literature / M. F. McCarty, J. H. O'Keefe, J. J. DiNicolantonio. – Текст : непосредственный // Open Heart. – 2016. – Vol. 3 – № 1. – P. e000365.
161. Methylxanthines and Neurodegenerative Diseases: An Update / D. Janitschke, A. A. Lauer, C. M. Bachmann [et al.]. – Текст : непосредственный // Nutrients. – 2021. – № 13. – P. 803.
162. Metoprolol blunts the time-dependent progression of infarct size / M. Lobo-Gonzalez, C. Galán-Arriola, X. Rossello [et al.]. – Текст : непосредственный // Basic Research in Cardiology. – 2020. – № 115 (5). – P. 55.
163. Mocanu, M. M. Caspase inhibition and limitation of myocardial infarct size: protection against lethal reperfusion injury / M. M. Mocanu, G. F. Baxter, D. M. Yellon – Текст : непосредственный. // British Journal of Pharmacology. – 2000. – Vol. 130. – № 2. – P. 197-200.
164. Multicenter Trial of Remote Ischemic Preconditioning for Heart Surgery / P. Meybohm, B. Bein, O. Brosteanu [et al.]. – Текст : непосредственный // The New England Journal of Medicine. – 2015. – № 373(15). – P. 1397-407.
165. Murry, C. E. Preconditioning with ischemia: a delay of lethal cell injury in ischemic myocardium / C. E. Murry, R. B. Jennings, K. A. Reimer. – Текст : непосредственный // Circulation. – 1986. – № 5. – P. 1124-1136.
166. Myocardial protection by insulin at reperfusion requires early administration and is mediated via Akt and p70s6 kinase cell-survival signaling / A. K. Jonassen, M. N. Sack, O. D. Mjøs, D. M. Yellon. – Текст : непосредственный // Circulation Research. – 2001. – № 89 (12). – P. 1191-1198.
167. Natural compounds regulate the PI3K/Akt/GSK3 β pathway in myocardial ischemia-reperfusion injury / A. H. Ajzashokouhi, R. Rezaee, N. Omidkhoda, G. Karimi. – Текст : непосредственный // Cell Cycle. – 2023. – № 7. – P. 741-757.
168. Nayal, M. On the nature of cavities on protein surfaces: application to the identification of drug-binding sites / M. Nayal, B. Honig – Текст : непосредственный. // Proteins. – 2006. – Vol. 63. – № 4. – P. 892-906.

169. Neuroprotective Effect of Caffeine in Alzheimer's Disease / Y. M. Yelanchezian, H. J. Waldvogel, R. L. M. Faull, A. Kwakowsky. – Текст : непосредственный // *Molecules*. – 2022. – Vol. 27. – № 12. – P. 3737.
170. Neuroprotective Effects of Guanosine in Ischemic Stroke-Small Steps towards Effective Therapy / K. Chojnowski, M. Opielka, W. Nazar [et al.]. – Текст : непосредственный // *International Journal of Molecular Sciences*. – 2021. – № 22 (13). – P. 6898.
171. O'Sullivan, K. E. Understanding STAT3 signaling in cardiac ischemia / K. E. O'Sullivan. – Текст : непосредственный // *Basic Research in Cardiology*. – 2016. – № 3. – P. 27.
172. Okamoto, F. Reperfusion conditions: importance of ensuring gentle versus sudden reperfusion during relief of coronary occlusion / F. Okamoto. – Текст : непосредственный // *The Journal of Thoracic and Cardiovascular Surgery*. – 1986. – № 3 Pt 2. – P. 613-620.
173. OPLS4: Improving Force Field Accuracy on Challenging Regimes of Chemical Space / C. Lu, C. Wu, D. Ghoreishi [et al.]. – Текст : непосредственный // *Journal of Chemical Theory and Computation*. – 2021. – № 17 (7). – P. 4291-4300.
174. Opposing effects of beta(1)- and beta(2)-adrenergic receptors on cardiac myocyte apoptosis : role of a pertussis toxin-sensitive G protein / C. Communal, K. Singh, D. B. Sawyer, W. S. Colucci. – Текст : непосредственный // *Circulation*. – 1999. – № 22. – P. 2210-2212.
175. Optimal myocardial protection strategy for coronary artery bypass grafting without cardioplegia: prospective randomised trial / M. Codispoti, T. Sundaramoorthi, R. A. Saad [et al.]. – Текст : непосредственный // *Interact Cardiovasc Thorac Surg*. – 2006. – № 5 (3). – P. 217-221.
176. Oyama, Y. Dose-dependent effects of esmolol–epinephrine combination therapy in myocardial ischemia and reperfusion injury / Y. Oyama, J. Blaskowsky, T. Eckle. – Текст : непосредственный // *Current pharmaceutical design*. – 2019. – № 19. – P. 21992206.

177. Pagliaro, P. Cardioprotection Reloaded: Reflections on 40 Years of Research / P. Pagliaro, G. Alloatti, C. Penna. – Текст : непосредственный // *Antioxidants*. – 2025. – № 7. – P. 889.
178. Pan, Y. Efficacy of high-dose rosuvastatin preloading in patients undergoing percutaneous coronary intervention: a meta-analysis of fourteen randomized controlled trials / Y. Pan. – Текст : непосредственный // *Lipids in Health and Disease*. – 2015. – № 14. – P. 97.
179. Parsimonious Effect of Pentoxifylline on Angiogenesis: A Novel Pentoxifylline-Biased Adenosine G Protein-Coupled Receptor Signaling Platform / W. Khoury, R. Trus, X. Chen [et al.]. – Текст : непосредственный // *Cells*. – 2023. – Vol. 12 – № 8. – P. 1199.
180. Patzke, J. V. Structural basis for the bi-specificity of USP25 and USP28 inhibitors / J. V. Patzke. – Текст : непосредственный // *EMBO Reports*. – 2024. – № 7. – P. 2950-2973.
181. Pentoxifylline or theophylline use in hospitalized COVID-19 patients requiring oxygen support / G. C. Wall, H. L. Smith, M. W. Trump [et al.]. – Текст : непосредственный // *The clinical respiratory journal*. – 2021. – № 15. – P. 843-846.
182. Pharmacokinetics and Quantitative Structure-Pharmacokinetics Relationship Study of Xanthine Derivatives with Antidepressant, Anti-Inflammatory, and Analgesic Activity in Rats / A. Świerczek, M. Szafarz, A. Cios [et al.]. – Текст : непосредственный // *Pharmaceutics*. – 2024. – № 11. – P. 1463.
183. Pharmacological interventions for anthracycline-induced cardiotoxicity in breast cancer: a systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials / P. Vacharanukrauh, K. J. Miller, S. M. Alif [et al.]. – Текст : непосредственный // *Breast Cancer Research and Treatment*. – 2025. – № 1. – P. 1-23
184. Piskur, J. R. Statins as cardioprotective agents / J. R. Piskur, N. J. Stone. – Текст : непосредственный // *The American Journal of Managed Care*. – 2002. – № 8 (9 Suppl). – P. 25-29.
185. Pleiotropic Effects of Simvastatin Are Associated With Mitigation of Apoptotic Component of Cell Death Upon Lethal Myocardial Reperfusion-Induced Injury / T.

- Rajtik, S. Carnicka, A. Szobi [et al.]. – Текст : непосредственный // *Physiological research / Academia Scientiarum Bohemoslovaca*. – 2012. – № Suppl 2. – P. S33-41.
186. Pohanka, M. Caffeine Role in the Age-Related Neurodegenerative Diseases, A Review / M. Pohanka. – Текст : непосредственный // *Mini-Reviews in Medicinal Chemistry*. – 2022. – № 22. – P. 2726-2735.
187. Possible Beneficial Actions of Caffeine in SARS-CoV-2 / B. S. Romero-Martínez, L. M. Montaña, H. Solís-Chagoyán [et al.]. – Текст : непосредственный // *International Journal of Molecular Sciences*. – 2021. – № 22. – P. 5460.
188. Postconditioning during coronary angioplasty in acute myocardial infarction: The POST-AMI trial / G. Tarantini, E. Favaretto, M. P. Marra [et al.]. – Текст : непосредственный // *International Journal of Cardiology*. – 2012. – № 1. – P. 33-38.
189. Postconditioning the Human Heart / P. Staat, G. Rioufol, C. Piot [et al.]. – Текст : непосредственный // *Circulation*. – 2005. – № 14. – P. 2143-2148.
190. «Postconditioning» the human heart: multiple balloon inflations during primary angioplasty may confer cardioprotection / C. E. Darling, P. B. Solari, C. S. Smith [et al.]. – Текст : непосредственный // *Basic Research in Cardiology*. – 2007. – № 3. – P. 274-248.
191. Postconditioning's protection is not dependent on circulating blood factors or cells but involves adenosine receptors and requires PI3-kinase and guanylyl cyclase activation / X. M. Yang, S. Philipp, J. M. Downey, M. V. Cohen. – Текст : непосредственный // *Basic Research in Cardiology*. – 2005. – № 1. – P. 57-63.
192. Pretorius, J. Dual inhibition of monoamine oxidase B and antagonism of the adenosine A2A receptor by (E,E)-8-(4-phenylbutadien-1-yl)caffeine analogues / J. Pretorius. – Текст : непосредственный // *Bioorganic & Medicinal Chemistry*. – 2008. – № 18. – P. 8676-8684.
193. Prieto-Garcia, C. Inhibition of USP28 overcomes Cisplatin-resistance of squamous tumors by suppression of the Fanconi anemia pathway / C. Prieto-Garcia. – Текст : непосредственный // *Cell Death and Differentiation*. – 2022. – № 3. – P. 568-584.

194. Protective Effect of Remote Ischemic Preconditioning against Myocardial Ischemia-Reperfusion Injury in Rats and Mice: A Systematic Review and Meta-Analysis / L. Chen, Y. Weng, A. Qing [et al.]. – Текст : непосредственный // *Reviews in Cardiovascular Medicine*. – 2022. – № 23 (12). – P. 413.
195. Prunier, F. The RIPOST-MI study, assessing remote ischemic preconditioning alone or in combination with local ischemic postconditioning in ST-segment elevation myocardial infarction / F. Prunier. – Текст : непосредственный // *Basic Research in Cardiology*. – 2014. – № 2. – P. 400.
196. Przyklenk, K. Aging mouse hearts are refractory to infarct size reduction with post-conditioning / K. Przyklenk. – Текст : непосредственный // *Journal of the American College of Cardiology*. – 2008. – № 14. – P. 1393-1398.
197. Przyklenk, K. Regional ischemic «preconditioning» protects remote virgin myocardium from subsequent sustained coronary occlusion / K. Przyklenk. – Текст : непосредственный // *Circulation*. – 1993. – № 3. – P. 893-899.
198. QuPath: Open source software for digital pathology image analysis / P. Bankhead, M. B. Loughrey, J. A. Fernández [et al.]. – Текст : непосредственный // *Scientific Reports*. – 2017. – № 7 (1). – P. 16878.
199. Randomized controlled trial of the effects of remote ischemic preconditioning on children undergoing cardiac surgery: first clinical application in humans / M. M. Cheung, R. K. Kharbanda, I. E. Konstantinov [et al.]. – Текст : непосредственный // *Journal of the American College of Cardiology*. – 2006. – № 11. – P. 2277-2282.
200. Reduction of myocardial infarct size by fluvastatin / C. P. Tiefenbacher, J. Kapitza, V. Dietz [et al.]. – Текст : непосредственный // *American Journal of Physiology–Heart and Circulatory Physiology*. – 2003. – № 1. – P. H59-H64.
201. Regulation of STAT3 and its role in cardioprotection by conditioning: focus on non-genomic roles targeting mitochondrial function / S. Comità, S. Femmino, C. Thairi [et al.]. – Текст : непосредственный // *Basic Research in Cardiology*. – 2021. – № 116 (1). – P. 56.

202. Regulation of USP28 Deubiquitinating Activity by SUMO Conjugation / Y. Zhen, P. A. Knobel, T. H. Stracker, D. Reverter. – Текст : непосредственный // The Journal of Biological Chemistry. – 2014. – № 50. – P. 34838-34850.
203. Remote ischaemic preconditioning modifies serum apolipoprotein D, met-enkephalin, adenosine, and nitric oxide in healthy young adults / M. W. Ng, J. Angerosa, I. E. Konstantinov [et al.]. – Текст : непосредственный // Clinical and experimental pharmacology & physiology. – 2019. – № 11. – P. 995-1000.
204. Remote ischemic conditioning / G. Heusch, H. E. Bøtker, K. Przyklenk [et al.]. – Текст : непосредственный // Journal of the American College of Cardiology. – 2015. – № 65 (2). – P. 177-195.
205. Remote Ischemic Preconditioning and Outcomes of Cardiac Surgery / D. J. Hausenloy, L. Candilio, R. Evans [et al.]. – Текст : непосредственный // The New-England Medical Review and Journal – 2015. – № 15. – P. 1408-1417.
206. Remote ischemic preconditioning prevents high-altitude cerebral edema by enhancing glucose metabolic reprogramming / R. Han, X. Yang, X. Ji, B. Zhou. – Текст : непосредственный // CNS Neuroscience & Therapeutics. – 2024. – № 9. – P. e70026.
207. Reperfusion Injury: How Can We Reduce It by Pre-, Per-, and Postconditioning / M. Buske, S. Desch, G. Heusch [et al.]. – Текст : непосредственный // Journal of Clinical Medicine. – 2023. – № 13 (1). – P. 159.
208. Results of Preclinical Studies of 4-(2-(4-nitrophenyl)-2-oxoethyl)-1-(thietane-3-yl)-1H-1,2,4-triazole-4-th Bromide in Relation to the Hemostasis System in vivo / Y. Wang, N. R. Bulatova, I. D. Krylova [et al.]. – Текст : непосредственный // Drug development & registration. – 2024. – № 13 (1). – P. 241-246.
209. Role of Etophylline and Theophylline Prolonged Release Tablet in COVID-19 Associated Sinus Node Dysfunction / A. Dahiya, R. Sharma, A. Singh [et al.]. – Текст : непосредственный // Journal of the Association of Physicians of India. – 2022. – № 70. – P. 11-12.
210. Role of Ischemic Preconditioning in the Cardioprotective Mechanisms of Monomeric C-Reactive Protein-Deposited Myocardium in a Rat Model / E. N. Kim, J. S.

- Choi, C. J. Kim [et al.]. – Текст : непосредственный // Journal of Chest Surgery. – 2021. – № 54 (1). – P. 9-16.
211. Role of the Protein Kinase C- ϵ -Raf-1-MEK-1/2-p44/42 MAPK Signaling Cascade in the Activation of Signal Transducers and Activators of Transcription 1 and 3 and Induction of Cyclooxygenase-2 After Ischemic Preconditioning / Y. T. Xuan, Y. Guo, Y. Zhu [et al.]. – Текст : непосредственный // Circulation. – 2005. – № 13. – P. 1971-1978.
212. Rosuvastatin enhances the protective effects of ischemic postconditioning on myocardial ischaemia-reperfusion injury in type 2 diabetic rat / W. Cai, J. Fang, Z. Chen [et al.] // Chinese journal of cardiovascular diseases. – 2010. – Vol.38 – № 9. –P. 814-818.
213. Sattarpour, R. Cardioprotective strategies of ACEi/ARBs and beta-blockers against anthracycline-induced cardiotoxicity in pediatric cancer survivors: a systematic review / R. Sattarpour, M. Noori – Текст : непосредственный. // Cardio-oncology. – 2026. – Vol. 12 – P. 41.
214. Schäfer, A. Fully optimized contracted Gaussian basis sets of triple zeta valence quality for atoms Li to Kr / A. Schäfer, C. Huber, R. Ahlrichs. – Текст : непосредственный // The Journal of Chemical Physics. – 1994. – № 8. – P. 5829-5835.
215. Schindler, R. Angiotensin-converting-enzyme inhibitors suppress synthesis of tumour necrosis factor and interleukin 1 by human peripheral blood mononuclear cells / R. Schindler, C. A. Dinarello, K. M. Koch – Текст : непосредственный. // Cytokine. – 1995. – Vol. 7. – № 6. – P 526-533.
216. Schulman, D. Urocortin protects the heart from reperfusion injury via upregulation of p42/p44 MAPK signaling pathway / D. Schulman, D. S. Latchman, D. M. Yellon. – Текст : непосредственный // American Journal of Physiology. Heart and Circulatory Physiology. – 2002. – № 4. – P. H1481-1488.
217. Selye, H. Simple Techniques for the Surgical Occlusion of Coronary Vessels in the Rat / H. Selye. – Текст : непосредственный // Angiology. – 1960. – № 5. – P. 398-407.

218. SENP1-mediated deSUMOylation of USP28 regulated HIF-1 α accumulation and activation during hypoxia response / S. C. Du, L. Zhu, Y. X. Wang [et al.]. – Текст : непосредственный // Cancer Cell International. – 2019. – № 4.
219. Shook, P. L. Macrophages in the Inflammatory Phase following Myocardial Infarction: Role of Exogenous Ubiquitin / P. L. Shook, M. Singh, K. Singh. – Текст : непосредственный // Biology. – 2023. – № 9. – P. 1258.
220. Simvastatin in contrast to postconditioning reduces infarct size in hyperlipidemic rabbits: possible role of oxidative/nitrosative stress attenuation / E. K. Iliodromitis, I. Andreadou, E. Prokavas [et al.]. – Текст : непосредственный // Basic Research in Cardiology. – 2010. – № 105 (2). – P. 193-203.
221. Skyschally, A. Humoral transfer and intramyocardial signal transduction of protection by remote ischemic preconditioning in pigs, rats, and mice / A. Skyschally. – Текст : непосредственный // American Journal of Physiology. Heart and Circulatory Physiology. – 2018. – № 1. – P. H159-H172.
222. STAT signaling in ischemic heart: a role of STAT5A in ischemic preconditioning / G. Yamaura, T. Turoczi, F. Ramamoto [et al.]. – Текст : непосредственный // American Journal of Physiology. Heart and Circulatory Physiology. – 2003. – № 2. – P. H476-482.
223. STAT3, a key regulator of cell-to-cell communication in the heart / A. Haghikia, M. Rieke-Hoch, B. Stapel [et al.]. – Текст : непосредственный // Cardiovasc Res. – 2014. – № 102 (2). – P. 281-289.
224. STAT5 activation and cardioprotection by remote ischemic preconditioning in humans: short communication / G. Heusch, J. Musiolik, E. Kottenberg [et al.]. – Текст : непосредственный // Circulation Research. – 2012. – № 1. – P. 111-115.
225. Stat5-dependent cardioprotection in late remote ischaemia preconditioning / H. Chen, X. Y. Jing, Y. J. Shen [et al.]. – Текст : непосредственный // Cardiovascular Research. – 2018. – № 114 (5). – P. 679-689.
226. Statins and cardioprotection--more than just lipid lowering? / A. Ludman, V. Venugopal, D. M. Yellon, D. J. Hausenloy. – Текст : непосредственный // Pharmacology & Therapeutics. – 2009. – № 1. – P. 30-43.

227. Statins inhibit beta-adrenergic receptor-stimulated apoptosis in adult rat ventricular myocytes via a Rac1-dependent mechanism / M. Ito, T. Adachi, D. R. Pimentel [et al.]. – Текст : непосредственный // *Circulation*. – 2004. – № 110 (4). – P. 412-418.
228. Sutherland, F. J. The isolated blood and perfusion fluid perfused heart / F. J. Sutherland, D. J. Hearse. – Текст : непосредственный // *Pharmacological Research*. – 2000. – № 6. – P. 613-627.
229. Synthesis and Antitumor Activity of Hybrid Compounds Based on Aryl-Substituted Isatins and 2-Chloroethynyl 4-(Dimethylamino)phenyl(2-hydrazinyl-2-oxoethyl)phosphinate / A. V. Bogdanov, A. A. Ivanova, I. D. Krylova. [et al.] – Текст : непосредственный // *Russian Journal of General Chemistry*. – 2024. – № 8. – P. 1962-1966.
230. Targeting deubiquitinase USP28 for cancer therapy / X. Wang, Z. Liu, L. Zhang [et al.]. – Текст : непосредственный // *Cell Death & Disease*. – 2018. – № 2. – P. 186.
231. Targeting mitochondrial dynamics by regulating Mfn2 for therapeutic intervention in diabetic cardiomyopathy / L. Hu, M. Ding, D. Tang [et al.]. – Текст : непосредственный // *Theranostics*. – 2019. – № 13. – P. 3687-3706.
232. Tell, S. Lipid management for cardiovascular risk reduction in type 1 diabetes / S. Tell, K. J. Nadeau, R. H. Eckel. – Текст : непосредственный // *Current opinion in endocrinology, diabetes, and obesity*. – 2020. – № 4. – P. 207-214.
233. The beta(2)-adrenergic receptor delivers an antiapoptotic signal to cardiac myocytes through G(i)-dependent coupling to phosphatidylinositol 3'-kinase / A. Chesley, M. S. Lundberg, T. Asai [et al.]. – Текст : непосредственный // *Circulation Research*. – 2000. – № 12. – P. 1172-1179.
234. The deubiquitinase USP28 controls intestinal homeostasis and promotes colorectal cancer / M. E. Diefenbacher, N. Popov, S. M. Blake [et al.]. – Текст : непосредственный // *The Journal of clinical investigation*. – 2014. – № 124 (8). – P. 3407-18.
235. The dual role of glycogen synthase kinase-3 beta (GSK3 β) in neurodegenerative pathologies: interplay between autophagy and disease progression / H. H. Alhassan, K. Janiyani, M. Surti [et al.]. – Текст : непосредственный // *Frontiers in Pharmacology*. – 2025. – № 16 – P. 1693805

236. The HNF-1 β -USP28-Claspin pathway upregulates DNA damage-induced Chk1 activation in ovarian clear cell carcinoma / F. Ito, C. Yoshimoto, Y. Yamada [et al.]. – Текст : непосредственный // *Oncotarget*. – 2018. – № 9 (25). – P. 17512-17522.
237. The myocardial JAK/STAT pathway: from protection to failure / K. Boengler, D. Hilfiker-Kleiner, H. Drexler [et al.]. – Текст : непосредственный // *Pharmacol Ther*. – 2008. – № 120(2). – P. 172-85.
238. The Protein Data Bank / H. M. Berman, J. Westbrook, Z. Feng [et al.]. – Текст : непосредственный // *Nucleic Acids Research*. – 2000. – № 1. – P. 235-242.
239. The role of deubiquitinases in cardiac disease / X. Zhan, Y. Yang, Q. Li, F. He. – Текст : непосредственный// *Expert Reviews in Molecular Medicine*. – 2024. – № 26. – P. e3.
240. The Role of Oxidative Stress in Cardiac Disease: From Physiological Response to Injury Factor / R. D'Oria, R. Schipani, A. Leonardini [et al.]. – Текст : непосредственный // *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*. – 2020. – P. 5732956.
241. The role of PI3K α isoform in cardioprotection / X. Rossello, J. A. Riquelme, J. He [et al.]. – Текст : непосредственный// *Basic Research in Cardiology*. – 2017. – № 6. – P. 66.
242. Theophylline: Old Drug in a New Light, Application in COVID-19 through Computational Studies / M. L. Montaña, B. Sommer, J. C. Gomez-Verjan [et al.]. – Текст : непосредственный // *International Journal of Molecular Sciences*. – 2022. – Vol. 23 – № 8. – P. 4167.
243. Theophylline-based hybrids as acetylcholinesterase inhibitors endowed with anti-inflammatory activity: synthesis, bioevaluation, in silico and preliminary kinetic studies / A. A. Elgazar, R. A. El-Domany, W. M. Eldehna, F. A. Badria. – Текст : непосредственный // *RSC Advances*. – 2023. – Vol. 13 – 36. – P. 25616-25634.
244. Ubiquitin-independent proteasomal degradation driven by C-degron pathways / Y. Makaros, A. Raiff, R. T. Timms [et al.]. – Текст : непосредственный // *Molecular Cell*. – 2023. – № 11. – P. 1921-1935.

245. Ubiquitin-specific protease 28: the decipherment of its dual roles in cancer development / X. Ren, M. Jiang, P. Ding [et al.]. – Текст : непосредственный // *Experimental Hematology and Oncology*. – 2023. – № 12. – P. 27.
246. Uric Acid Protects against Focal Cerebral Ischemia/Reperfusion-Induced Oxidative Stress via Activating Nrf2 and Regulating Neurotrophic Factor Expression / B. Ya, Q. Liu, H. Li [et al.]. – Текст : непосредственный // *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*. – 2018. – P. 6069150.
247. USP13 ameliorates myocardial infarction injury by inhibiting ferroptosis via stabilizing ALDOA / P. Li, D. Chen, C. Zhang [et al.]. – Текст : непосредственный // *Redox Biology*. – 2026. – № 89. – P. 103995.
248. USP13 reduces septic mediated cardiomyocyte oxidative stress and inflammation by inducing Nrf2 / D. Wu, R. Yuan, L. Zhang, M. Sun. – Текст : непосредственный // *Allergologia Et Immunopathologia*. – 2023. – № 2. – P. 160-167.
249. USP25 Ameliorates Pathological Cardiac Hypertrophy by Stabilizing SERCA2a in Cardiomyocytes / B. Ye, H. Zhou, Y. Chen [et al.]. – Текст : непосредственный // *Circulation Research*. – 2023. – № 4. – P. 465-480.
250. USP28 deletion and small molecule inhibition destabilises c-Myc and elicits regression of squamous cell lung carcinoma / E. J. Ruiz, A. Pinto-Fernández, A. P. Turnbull [et al.]. – Текст : непосредственный // *eLife*. – 2021. – № 10. – P. e71596.
251. USP28 is recruited to sites of DNA damage by the tandem BRCT domains of 53BP1 but plays a minor role in double-strand break metabolism / P. A. Knobel, R. Belotserkovskaya, Y. Galanty [et al.]. – Текст : непосредственный // *Molecular and Cellular Biology*. – 2014. – № 34(11). – P. 2062-2074..
252. USP28 promotes tumor progression and glycolysis by stabilizing PKM2/Hif1- α in cholangiocarcinoma / Q. Qiao, J. Wang, S. Liu [et al.]. – Текст : непосредственный // *Cellular Oncology*. – 2024. – № 47. – P. 2217-2231.
253. USP28 promotes tumorigenesis and cisplatin resistance by deubiquitinating MAST1 protein in cancer cells / J. K. Karapurkar, J. C. Colaco, B. Suresh [et al.]. – Текст : непосредственный // *Cellular and Molecular Life Sciences*. – 2024. – № 81(1). – P. 145.

254. USP28 Serves as a Key Suppressor of Mitochondrial Morphofunctional Defects and Cardiac Dysfunction in the Diabetic Heart / S. Xie, S. Q. Liu, T. Zhang [et al.]. – Текст : непосредственный // *Circulation*. – 2024. – № 9. – P. 684-706.
255. USP28-Based Deubiquitinase-Targeting Chimeras for Cancer Treatment / Z. Wang, C. Qian, Y. Xiong [et al.]. – Текст : непосредственный // *Journal of the American Chemical Society*. – 2025. – № 16. – P. 13754-13763.
256. Ventricular premature beat-driven intermittent restoration of coronary blood flow reduces the incidence of reperfusion-induced ventricular fibrillation in a cat model of regional ischemia / H. S. Na, Y. I. Kim, Y. W. Yoon [et al.]. – Текст : непосредственный // *American Heart Journal*. – 1996. – № 132(1 Pt 1). – P. 78-83.
257. Vincent, H. H. Cardioprotection by blockade of beta2-adrenoceptors / H. H. Vincent. – Текст : непосредственный // *European Heart Journal*. – 1983. – № suppl.D. – P. 109-115.
258. Xanthine Derivatives: A Molecular Modeling Perspective / R. Suravajhala, R. Poddar, S. Nallapeta, S. Ullah. – Текст : непосредственный // *Agricultural Bioinformatics*. – 2014. – № 1 – P. 283-291.
259. Xanthine scaffold: scope and potential in drug development / N. Singh, A. K. Shreshtha, M. S. Thakur, S. Patra. – Текст : непосредственный // *Heliyon*. – 2018. – № 10. – P. e00829.
260. Xinbao Pill attenuated chronic heart failure by suppressing the ubiquitination of β -adrenergic receptors / X. Tian, Z. Huang, Y. Wang [et al.]. – Текст : непосредственный // *Phytomedicine: international journal of phytotherapy and phytopharmacology*. – 2023. – № 115. – P. 154830.
261. Xu, Y. Immune and inflammatory mechanism of remote ischemic conditioning: A narrative review / Y. Xu, Y. Wang, X. Ji. – Текст : непосредственный // *Brain Circulation*. – 2023. – № 2. – P. 77-87.
262. Yellon, D. M. Preconditioning the human myocardium / D. M. Yellon, A. M. Alkhulaifi, W. B. Pugsley. – Текст : непосредственный // *Lancet*. – 1993. – № 8866. – P. 276-277.

263. Yellon, D. M. Reperfusion injury revisited: is there a role for growth factor signaling in limiting lethal reperfusion injury? / D. M. Yellon, G. F. Baxter. – Текст : непосредственный // Trends in Cardiovascular Medicine. – 1999. – № 9(8). – P. 245-249.
264. Yellon, D. M. The RISK pathway leading to mitochondria and cardioprotection: how everything started / D. M. Yellon, K. S. Beikoghli, S. M. Davidson. – Текст : непосредственный // Basic Research in Cardiology. – 2023. – № 1. – P. 22.
265. Zhao, Y. The M06 suite of density functionals for main group thermochemistry, thermochemical kinetics, noncovalent interactions, excited states, and transition elements: two new functionals and systematic testing of four M06–class functionals and 12 other functionals / Y. Zhao, D. G. Truhlar. – Текст : непосредственный // Theoretical Chemistry Accounts. – 2008. – № 1. – P. 215-241.
266. Zofenopril: Blood pressure control and cardio-protection / C. Borghi, G. Ambrosio, D. B. P. Van, G. Mancia. – Текст : непосредственный // Cardiology Journal. – 2022. – № 2. – P. 305-318.
267. β -Adrenergic Receptor Trafficking, Degradation, and Cell Surface Expression Are Altered in Dermal Fibroblasts from Hypertrophic Scars / A. A. El, A. Prasai, Y. Wang [et al.]. – Текст : непосредственный // Journal of Investigative Dermatology. – 2018. – № 138(7). – P. 1645-1655.

ПРИЛОЖЕНИЕ А. Результаты оценки кардиофизиологических показателей и кардиоспецифических ферментов при ишемии и реперфузии в контрольных точках

Таблица А.1 – Кардиофизиологические показатели и уровень кардиоспецифических ферментов при ишемии-реперфузии в группах контроля, Соединения 1 и Метопролола, Ме (25%–75%)

Показатель	Контрольная группа					Соединение 1					Метопролол				
	Интактные значения	До ишемии	Реперфузия			Интактные значения	До ишемии	Реперфузия			Интактные значения	До ишемии	Реперфузия		
			5 мин.	30 мин.	60 мин.			5 мин.	30 мин.	60 мин.			5 мин.	30 мин.	60 мин.
рН	7,42 (7,35–7,44)*	7,27 (7,09–7,34)	6,78 (6,62–6,94)*	7,17 (7,12–7,22)	7,21 (7,1–7,32)*	7,35 (7,11–7,46)	7,1 (6,9–7,18)	6,82 (6,6–6,98)*	7,16	7,3 (7,23–7,37)*	7,38 (7,15–7,44)*	7,04(7,00–7,08)	6,80 (6,64–7,00)*	7,2 (7,09–7,23)	7,31 (7,25–7,37)*
САД, мм рт.ст.	–	122,2 (108,5–134,4)	91,0 (100,1–84,2)*	98,1 (104,1–94,0)*	105,1 (113,6–96,0)*	–	125,2 (115,3–132,2)	99,0 (101,1–89,2)*	(7,10–7,25)	108,3 (112,8–97,4)*	–	116,0 (104,2–121,2)	89,0 (75,1–99,1)*	94,2 (91,0–12,2)*	97,1 (139,2–147,1)*
ДАД, мм рт.ст.	–	10,2 (8,9–11,4)	55,3 (46,9–58,0)*	46,7 (35,2–49,9)*	37,8 (26,7–48,5)*	–	10,6 (8,9–11,6)	53,2 (39,0–55,2)*	104,5 (102,2–94,4)*	10,5 (14,5–20,3)*	–	11,6 (9,08–12,4)	52,2 (47,0–58,2)*	45,2 (44,0–47,6)*	39,6 (33,6–48,7)*
ПД, мм рт.ст.	–	106,3 (104,0–107,6)	41,2 (38,3–42,5)*	64,3 (62,7–65,0)*	71,3 (70,2–73,5)*	–	105,0 (104,0–108,0)	47,4 (35,3–45,5)*	41,3 (34,0–49,7)*	78,1 (73,0–79,3)*	–	106,1 (102,0–105,6)	35,6 (31,5–40,5)*	51,3 (44,7–58,1)*	66,3 (59,0–71,1)*
ЧСС, уд/мин	–	241,0 (237,6–245,1)	290,2 (287,1–296,3)*	264,3 (251,6–274,8)	278,9 (257,6–283,8)	–	244,0 (237,6–245,1)	302,2 (297,1–315,3)*	68,1 (65,5–62,0)*	242,3 (238,4–259,6)	–	235,0 (235,6–247,1)	288,2 (280,4–300,4)*	261,3 (251,6–284,6)	250,7 (237,6–252,8)
ОСКП	–	13,8 (12,3–14,7)	9,8 (7,8–11,4)*	10,3 (9,2–10,8)	11,4 (10,5–13,7)	–	13,1 (11,4–13,9)	11,2 (10,4–12,5)	272,1 (263,4–310,6)	12,6 (11,9–13,5)	–	14,0 (12,2–14,4)	10,1 (8,1–11,4)	10,5 (9,6–12,2)	12,0 (10,8–13,1)
КФК–МВ, Ме/л	–	10,4 (9,8–11,7)	12,3 (10,7–13,8)	17,4 (15,8–19,2)*	21,3 (19,4–22,6)*	–	10,7 (9,7–12,1)	12,1 (10,2–12,9)	11,9 (11,2–13,4)	19,4 (17,6–22,7)	–	10,2 (9,4–11,4)	12,4 (10,1–13,2)	17,0 (15,2–18,7)	20,9 (19,8–22,2)

Продолжение Таблицы А.1

Показатель	Контрольная группа					Соединение 1					Метопролол				
	Интактные значения	До ишемии	Реперфузия			Интактные значения	До ишемии	Реперфузия			Интактные значения	До ишемии	Реперфузия		
			5 мин.	30 мин.	60 мин.			5 мин.	30 мин.	60 мин.			5 мин.	30 мин.	60 мин.
ЛДГ, Ме/л	–	16,2 (15,4–17,9)	18,3 (17,6–20,4)	28,4 (24,5–30,7)*	32,6 (28,4–34,7)*	–	15,9 (15,1–17,5)	17,4 (16,6–18,2)	15,9 (14,8–18,4)	28,7 (27,7–33,5)	–	16,0 (17,1–19,4)	18,1 (16,9–20,1)	27,8 (23,9–29,1)	31,6 (29,4–35,1)
Примечание: САД/ДАД/ПД – систолическое/диастолическое/пульсовое давление, ЧСС – частота сердечных сокращений. * $p \leq 0,05$ показатели до ишемии vs после ишемии															

ПРИЛОЖЕНИЕ Б. Результаты интеллектуальной деятельности

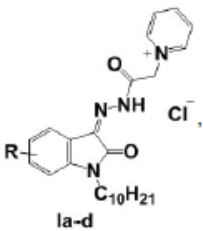
РОССИЙСКАЯ ФЕДЕРАЦИЯ  ФЕДЕРАЛЬНАЯ СЛУЖБА ПО ИНТЕЛЛЕКТУАЛЬНОЙ СОБСТВЕННОСТИ		(19) RU (11) 2 844 554 ⁽¹³⁾ C1 (51) МПК <i>C07D 209/34</i> (2006.01) <i>A61K 31/404</i> (2006.01) <i>A61P 7/02</i> (2006.01)	RU 2 844 554 C1
(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ПАТЕНТУ			
(52) СПК <i>C07D 209/34</i> (2025.05); <i>A61K 31/404</i> (2025.05); <i>A61P 7/02</i> (2025.05)			
(21)(22) Заявка: 2025111109, 28.04.2025 (24) Дата начала отсчета срока действия патента: 28.04.2025 Дата регистрации: 04.08.2025 Приоритет(ы): (22) Дата подачи заявки: 28.04.2025 (45) Опубликовано: 04.08.2025 Бюл. № 22 Адрес для переписки: 420088, Респ. Татарстан, г. Казань, ул. Арбузова, 8, Калачев Алексей Алексеевич		(72) Автор(ы): Богданов Андрей Владимирович (RU), Самородов Александр Владимирович (RU), Валиуллина Зульфия Альбертовна (RU), Корунас Владислав Игоревич (RU), Крылова Ирина Дмитриевна (RU), Кадомцева Марина Евгеньевна (RU), Ильин Антон Викторович (RU) (73) Патентообладатель(и): Федеральное государственное бюджетное учреждение науки «Федеральный исследовательский центр "Казанский научный центр Российской академии наук"» (RU) (56) Список документов, цитированных в отчете о поиске: RU2822271C1, 03.07.2024. RU2816105C1, 26.03.2024. Богданов А. В. и др. СИНТЕЗ И БИОЛОГИЧЕСКАЯ АКТИВНОСТЬ АММОНИЕВЫХ ПРОИЗВОДНЫХ ИЗАТИНА //Химия и технология растительных веществ. - 2022. - С. 21, 11.11.2022. Bogdanov A. V. et al. New N-Mannich bases obtained from isatin and piperazine derivatives: the synthesis and evaluation of antimicrobial (см. прод.)	
(54) Производные 1-додецилизатина, обладающие противотромботическим действием (57) Реферат: Изобретение относится к производному 1-додецилизатина формулы I		где R = 5-C ₂ H ₅ (a), 5-F (b), 5-Br (c), 6-Br (d), а также к применению производного 1-додецилизатина формулы I в качестве средства, обладающего противотромботическим действием. Технический результат: получены новые соединения, которые могут быть применимы в расширении арсенала биологически активных веществ, проявляющих антикоагуляционную и антиагрегационную активность. 2 н.п. ф-лы, 2 табл., 6 пр.	
			

Рисунок Б.1 – Титульный лист патента на изобретение RU 2844554 C1, 04.08.2025

РОССИЙСКАЯ ФЕДЕРАЦИЯ



(19) RU (11)

2 808 110⁽¹³⁾ C1

(51) МПК

A61K 36/28 (2006.01)

B01D 11/02 (2006.01)

A61P 7/02 (2006.01)

ФЕДЕРАЛЬНАЯ СЛУЖБА
ПО ИНТЕЛЛЕКТУАЛЬНОЙ СОБСТВЕННОСТИ

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ПАТЕНТУ

(52) СПК

A61K 36/28 (2023.08); B01D 11/02 (2023.08); A61P 7/02 (2023.08)

(21)(22) Заявка: 2023107277, 27.03.2023

(24) Дата начала отсчета срока действия патента:
27.03.2023Дата регистрации:
23.11.2023

Приоритет(ы):

(22) Дата подачи заявки: 27.03.2023

(45) Опубликовано: 23.11.2023 Бюл. № 33

Адрес для переписки:

117198, Москва, ул. Миклухо-Маклая, 6,
ФГАОУ ВО "Российский университет дружбы
народов имени Патриса Лумумбы" (РУДН),
Патентно-информационный отдел ЦТТ

(72) Автор(ы):

Елапов Александр Александрович (RU),
Марахова Анна Игоревна (RU),
Пупыкина Кира Александровна (RU),
Самородов Александр Владимирович (RU),
Баширова Линара Ирековна (RU),
Валиуллина Зульфия Альбертовна (RU),
Крылова Ирина Дмитриевна (RU)

(73) Патентообладатель(и):

Федеральное государственное автономное
образовательное учреждение высшего
образования "Российский университет
дружбы народов имени Патриса Лумумбы"
(РУДН) (RU)

(56) Список документов, цитированных в отчете
о поиске: RU 2085205 C1, 27.07.1997. RU
2758906 C1, 02.11.2021. А.И. МАРАХОВА и
др. Разработка методики количественного
определения флавоноидов в цветках
трехреберника продырявленного
Tripleurospermum perforatum (L.) schi.bip. //
Медицинский вестник Башкортостана. Том
17, N 5 (101), 2022, стр.57-62. ЕЛАПОВ А.А. и
др. Особенности экстракции флавоноидов из
(см. прод.)

(54) Средство, обладающее антиагрегационным и антикоагулянтным действием, и способ его получения

(57) Реферат:

Заявленное изобретение относится к
фармацевтической промышленности, а именно к
средству, обладающему антиагрегационной и
антикоагулянтной активностью. Средство,
обладающее антиагрегационным и
антикоагулянтным действием, представляющее
сухой экстракт, полученный экстракцией
аналитической пробы травы трехреберника
продырявленного, собранной до цветения, массой
около 1,0 г -точная навеска, измельченного до
величины частиц, проходящих сквозь сито с
отверстиями размером 1 мм, в ультразвуковой

ячейке 50 мл спирта этилового 40% с
озвучиванием в течение 3 минут в
термостатируемом режиме при частоте колебаний
22 кГц и мощности ультразвука 90 Вт;
последующим фильтрованием в мерную колбу
емкостью 250 мл через бумажный фильтр и
переносом сырья из ячейки вместе с фильтром в
круглодонную колбу вместимостью 250 мл,
соединенную с обратным холодильником с
последующей экстракцией 100 мл спирта
этилового 40% путем нагревания на плитке с
закрытой спиралью в течении 20 мин;

RU 2808110 C1

RU 2808110 C1

Рисунок Б.2 – Титульный лист патента на изобретение RU 2808110 C1,
23.11.2023



Рисунок Б.3 – Титульный лист патента на изобретение RU 2859018,
25.03.2026

РОССИЙСКАЯ ФЕДЕРАЦИЯ

**RU2025622764**ФЕДЕРАЛЬНАЯ СЛУЖБА
ПО ИНТЕЛЛЕКТУАЛЬНОЙ СОБСТВЕННОСТИ**ГОСУДАРСТВЕННАЯ РЕГИСТРАЦИЯ БАЗЫ ДАННЫХ, ОХРАНЯЕМОЙ
АВТОРСКИМИ ПРАВАМИ**Номер регистрации (свидетельства):
2025622764

Дата регистрации: 26.06.2025

Номер и дата поступления заявки:
2025622243 03.06.2025Дата публикации и номер бюллетеня:
26.06.2025 Бюл. № 7Контактные реквизиты:
нет

Автор(ы):

Муминов Диор Дильшатovich (RU),
Щекин Влас Сергеевич (RU),
Ванг Ю (CN),
Самородов Александр Владимирович (RU),
Корунас Владислав Игоревич (RU),
Крылова Ирина Дмитриевна (RU),
Баширова Линара Ирековна (RU),
Халиуллин Феркат Адельзянович (RU),
Тюрин Антон Викторович (RU)

Правообладатель(и):

Федеральное государственное бюджетное
образовательное учреждение высшего
образования «Башкирский государственный
медицинский университет» Министерства
здравоохранения Российской Федерации (RU)

Название базы данных:

Реестр лабораторных животных с ишемическим и/или реперфузионным повреждением миокарда
(экспериментальный этап)

Реферат:

База данных предназначена для систематизации информации по оценке роли деубиквитирующих ферментов в ишемически-реперфузионном повреждении миокарда и создания новых средств профилактики и лечения синдрома ишемии и реперфузии миокарда. База данных включает антропометрические и экспериментальные данные, полученные на животных разных видов в условиях *in vivo*: вид животного, лабораторные (ОАК, биохимический анализ крови, ИФА, вязкости крови, гемостазиограмма и др.) и инструментальные (мониторинг ЭКГ, ЭХоКГ и др.) методы исследования. Помимо прижизненных данных, база данных содержит результаты некропсий, в том числе результаты гистохимических окрасок миокарда ГОФП-методом и трихромом по Маллори, иммуногистохимической окраски с выявлением экспрессии к ubiquitin, desmin, активность ферментов USP28/40 и др. База данных может быть использована в практике доклинических исследований как справочный и демонстрационный материал, в научно-исследовательской работе и в образовательном процессе. Тип ЭВМ: IBM PC-совмест. ПК; ОС: Windows 10.

Вид и версия системы управления базой данных: Excel 2013

Объем базы данных: 549 КБ

Рисунок Б.4 – Титульный лист свидетельства о регистрации базы данных
RU 2025622764, 26.06.2025

РОССИЙСКАЯ ФЕДЕРАЦИЯ



СВИДЕТЕЛЬСТВО
о государственной регистрации базы данных

№ 2024625426

**Библиотека соединений, активных в отношении USP28
и/или USP40, проявляющих кардиопротективное и
антитромботическое действия**

Правообладатель: *Федеральное государственное бюджетное
образовательное учреждение высшего образования
«Башкирский государственный медицинский университет»
Министерства здравоохранения Российской Федерации (RU)*

Авторы: *Ванг Ю (CN), Ванг Же (CN), Чен Ханю (CN), Самородов
Александр Владимирович (RU), Корунас Владислав Игоревич
(RU), Крылова Ирина Дмитриевна (RU)*

Заявка № **2024625186**
Дата поступления **12 ноября 2024 г.**
Дата государственной регистрации
в Реестре баз данных **25 ноября 2024 г.**

Руководитель Федеральной службы
по интеллектуальной собственности

Ю.С. Зубов

Этот документ является официальным документом
Федеральной службы по интеллектуальной собственности
и подлежит государственной регистрации.
Подпись: Зубов Ю.С. Сергеевич.
Должность: Руководитель Федеральной службы по интеллектуальной собственности.
Место: Москва, Россия. Дата: 25.11.2024.



Рисунок Б.5 – Титульный лист свидетельства о регистрации базы данных
RU 2024625426, 25.11.2024

РОССИЙСКАЯ ФЕДЕРАЦИЯ



RU2024625738

ФЕДЕРАЛЬНАЯ СЛУЖБА
ПО ИНТЕЛЛЕКТУАЛЬНОЙ СОБСТВЕННОСТИ
**ГОСУДАРСТВЕННАЯ РЕГИСТРАЦИЯ БАЗЫ ДАННЫХ, ОХРАНЯЕМОЙ
АВТОРСКИМИ ПРАВАМИ**

Номер регистрации (свидетельства): 2024625738 Дата регистрации: 04.12.2024 Номер и дата поступления заявки: 2024625411 21.11.2024 Дата публикации и номер бюллетеня: 04.12.2024 Бюл. № 12 Контактные реквизиты: нет	Автор(ы): Богданов Андрей Владимирович (RU), Бухаров Сергей Владимирович (RU), Иванова Анастасия Александровна (RU), Кадомцева Марина Евгеньевна (RU), Корунас Владислав Игоревич (RU), Крылова Ирина Дмитриевна (RU), Назмиева Ксения Александровна (RU), Валиуллина Зульфия Альбертовна (RU), Нурланова Сабина Нурлановна (KG), Самородов Александр Владимирович (RU), Юлдашов Соатбой Жиянбоевич (UZ), Давилов Абдураим Авлакулович (UZ) Правообладатель(и): Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Башкирский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации (RU)
---	--

Название базы данных:

Библиотека производных изатина, ксантина и пирокатехина, обладающих кардиопротективным и антитромботическим действиями

Реферат:

База данных предназначена для систематизации информации о фармакологической активности новых соединений, их структуре и характеристиках, создания новых средств профилактики и лечения тромбоза, синдрома ишемии и реперфузии миокарда. База данных содержит реестр экспериментальных данных синтетических и природных химических соединений. Для каждого соединения приведены следующие параметры: лабораторный шифр, структурная формула, брутто-формула, молекулярная масса, результаты оценки острой токсичности, антиагрегационной, антикоагуляционной и кардиопротективной активности, результаты расчетов *in silico* физико-химических свойств и результатов прогноза PASS-Online и PASS Professional, результаты докинга в активные сайты предполагаемых белков-мишеней. База данных может быть использована как справочный и демонстрационный материал, а также применяться в учебном процессе. Тип ЭВМ: IBM PC – совмест. ПК. ОС: IBM PC – совмест. ПК.

Вид и версия системы управления базой данных: Excel 2013

Объем базы данных: 525 КБ

Рисунок Б.6 – Титульный лист свидетельства о регистрации базы данных RU 2024625738, 04.12.2024



Рисунок Б.7 – Титульный лист свидетельства о регистрации программы для ЭВМ RU 2025615761, 07.03.2025