

Изучение механизма действия нового анальгетика производного гексаазоизовюрцитана: эффекты медиаторов воспаления

К.А. Лопатина¹, С.Г. Крылова¹, Е.П. Зуева¹, Е.А. Сафонова¹, Т.Г. Разина¹, О.Ю. Рыбалкина¹, Т.Н. Поветьева¹,
Н.И. Суслов¹, Д.А. Кулагина², М.Ю. Минакова¹, С.В. Сысолятин²

¹НИИ фармакологии и регенеративной медицины имени Е.Д. Гольдберга, Томский национальный исследовательский медицинский центр РАН, Томск, Россия;

²ФГБУН Институт проблем химико-энергетических технологий Сибирского отделения РАН, г. Бийск, Россия

Введение. Потенциальные анальгетические препараты могут оказывать тормозящее влияние на развитие воспалительных реакций. Оценка противовоспалительной активности анальгетика является важным этапом доклинического изучения нового лекарственного препарата.

Цель исследования. Анализ антиэкссудативного и антипролиферативного действия тиовюрцина, а также изучение влияния тиовюрцина на эффекты медиаторов воспаления: гистамина, брадикинина, простагландина E₂, арахидоновой кислоты и серотонина.

Материалы и методы. В работе были использованы мыши линии CBA и аутобредные стока CD1 и аутобредные крысы стока SD. Исследуемая инновационная молекула гексаазоизовюрцитан (тиовюрцин) представляет собой 4-(3,4-дибромтиофенкарбонил)-2,6,8,12-тетраацетил-2,4,6,8,10,12-гексаазотетрацикло[5,5,0,0^{3,11},0^{5,9}]-додекан. Для моделирования острого воспаления в апоневроз задней лапы вводили: гистамина дигидрохлорид, брадикинин, простагландин E₂, арахидоновую кислоту, i-Carrageenan, 5-гидроксиทริปтамина гидрохлорид. Хроническое пролиферативное воспаление моделировали имплантацией крысам под кожу спины стерильного ватного тампона. Тиовюрцин вводили в дозах 50, 100 и 200 мг/кг внутрижелудочно курсом в профилактическом и/или лечебном режиме. В качестве препаратов сравнения использовали диклофенак 10 мг/кг и цетиризин 5 мг/кг.

Результаты. Противовоспалительный эффект тиовюрцина при курсовом введении в дозе 200 мг/кг был выражен в ранней фазе и на пике острого каррагенинового воспаления у крыс – через 1 и 3 часа после введения флогогена, однако в условиях хронического воспаления у животных тиовюрцин не проявлял антиэкссудативного и антипролиферативного действия. Тиовюрцин в дозе 200 мг/кг оказывает блокирующий эффект на воспаление у мышей, вызванное брадикинином и арахидоновой кислотой. В отличие от НПВС, тиовюрцин при аналогичном режиме введения животным не блокирует реакцию воспаления, вызванную гистамином, простагландином E₂ и серотином.

Ключевые слова: анальгетик, острое и хроническое воспаление, гексаазоизовюрцитан.

Адрес для корреспонденции: Лопатина Ксения Александровна; k.lopatina@pharmso.ru

DOI: 10.25731/RASP.2018.04.031

New analgetic of hexaasoizowurtzitan derivative: effects of inflammation mediators

K.A. Lopatina¹, S.G. Krilova¹, E.P. Zueva¹, E.A. Safonova¹, T.G. Razina¹, O.Yu. Rybalkina¹, T.N. Povet'eva¹,
N.I. Suslov¹, M.Yu. Minakova¹, D.A. Kulagina², S.V. Sysolyatin²

¹Goldberg Research Institute of Pharmacology and Regenerative Medicine, Tomsk NRMС;

²Institute for Problems of Chemical and Energetic Technologies of the Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences IPCET SB RAS

Introduction. Potential analgesic drugs may inhibit development of inflammation. Evaluation of the anti-inflammatory activity of analgesic is an important stage in the work to identify ways to implement new drug mechanism of action.

Objective. The study of the antiexudative and antiproliferative action of tiowurtzine, as well as the study of the effect of tiowurtzine on the effects of inflammatory mediators: histamine, bradykinin, prostaglandin-E₂, arachidonic acid and serotonin.

Materials and methods. The mice CD1, CBA and SD-rats were used in the work. The investigated innovative hexaazoisowurtzitan molecule (tiowurtzine) is 4-(3,4-dibromothio-phenecarbonyl)-2,6,8,12-tetraacetyl-2,4,6,8,10,12-hexaazatetracyclo[5,5,0,0^{3,11},0^{5,9}]dodecane. Acute inflammation was induced with histamine dihydrochloride, bradykinin, prostaglandin E₂, arachidonic acid, i-Carrageenan, 5-hydroxytryptamine hydrochloride. Chronic inflammation was modeled by implantation of a felt granuloma under rat's skin. Tiowurtzine was administered at doses of 50, 100 and 200 mg/kg intragastrically by the course in preventive and/or therapeutic regimens. Diclofenac 10 mg/kg and cetirizine 5 mg/kg were used as reference drugs.

Results. The anti-inflammatory effect of tiowurtzine (200 mg/kg) was expressed in the early phase and at the peak of acute carrageenan inflammation in rats – 1 and 3 hours after the administration of plogogen. Tiowurtzine did not show antiexudative and antiproliferative action in the conditions of chronic inflammation in animals. Tiowurtzine at a dose of 200 mg/kg has a blocking effect on inflammation in mice caused by bradykinin and arachidonic acid. Unlike NSAIDs, tiowurtzine does not block the reaction of inflammation caused by histamine, prostaglandin E₂ and serotonin.

Keywords: analgesic, acute and chronic inflammation, hexaazoisowurtzitan.

For correspondence: Lopatina K.A.; k.lopatina@pharmso.ru

DOI: 10.25731/RASP.2018.04.031

Введение

Болевые синдромы занимают ведущее место среди самых частых проблем, с которыми сталкивается практически каждый человек. Более 90% заболеваний ассоциированы с болью, частота хронических неонкологических болевых синдромов в европейских странах составляет 20%. В последние годы все большее число разнообразных болевых синдромов входит в список ведущих медицинских причин, ухудшающих качество жизни, приводя при этом к увеличению на популяционном уровне количества лет жизни с нарушенным здоровьем. Независимо от типа, локализации боли, острая она или хроническая, наиболее доступным и распространенным способом борьбы с ней является использование анальгетиков, потребление которых неуклонно растет как в России, так и за рубежом. Разработка принципиально новых классов препаратов, новых молекулярных структур для создания инновационных лекарственных средств на их основе связаны со значительными достижениями в области направленных методов синтеза и компьютерного прогнозирования [1–4]. В ИПХЭТ СО РАН синтезированы молекулы – перспективные кандидаты на лекарственное средство на основе нового фармакофора – производных гексаазоизовюрцитана, из которых выбрано для дальнейшего исследования соединение 4-(3,4-дибромтио-фенкарбонил)-2,6,8,12-тетраацетил-2,4,6,8,10,12-гексаазатетрацикло[5,5,0,0^{3,11},0^{5,9}]додекан (тиовюрцин) для создания на его основе конкурентоспособного препарата-анальгетика.

Предварительные данные об анальгетической эффективности тиовюрцина были получены в пилотных исследованиях на ограниченном числе животных в термическом ноцицептивном тесте «Горячая пластина» и на модели исследования острой висцеральной и соматической глубокой боли «Укусные корчи», получен патент РФ на изобретение [5]. Потенциальные анальгетические препараты могут оказывать тормозящее влияние на развитие воспалительных реакций. Оценка противовоспалительной активности анальгетика является важным этапом работы по выявлению путей реализации механизма действия нового препарата. При оценке противовоспалительной активности анальгетика любого происхождения целесообразным является исследование его действия на моделях острого экссудативного и хронического пролиферативного воспаления с детальным анализом медиаторов, вовлеченных в патологический процесс [6, 7].

Целью настоящей работы явилось исследование анти-экссудативного и антипролиферативного действия тио-

вюрцина, а также изучение влияния тиовюрцина на эффекты медиаторов воспаления: гистамина, брадикинина, простагландина E₂, арахидоновой кислоты и серотонина.

Материалы и методы

Содержание животных и дизайн экспериментов были одобрены Этическим комитетом НИИФиРМ им. Е.Д. Гольдберга (протокол IACUC № 96092015) и соответствовали директиве 2010/63/EU Европейского парламента и Совета Европейского союза по охране животных, используемых в научных целях; Приказу МЗ РФ от 1.08.2016 № 199н. В работе были использованы мыши линии СВА и аутбредные стока CD1 и аутбредные крысы стока SD, полученные из отдела экспериментального биомоделирования НИИФиРМ им. Е.Д. Гольдберга Томского НИМЦ.

Исследуемая инновационная молекула представляет собой полиазотистое полициклическое соединение каркасного строения 4-(3,4-дибромтиофенкарбонил)-2,6,8,12-тетраацетил-2,4,6,8,10,12-гексаазатетрацикло[5,5,0,0^{3,11},0^{5,9}]додекан (рис. 1).

Животные были предварительно рандомизированы, разделены на группы по 10–11 штук. Для моделирования острого воспаления в апоневроз задней лапы мышей вводили: гистамина дигидрохлорид 0,1% раствор, брадикинина 0,005% раствор, простагландина E₂ 0,005% раствор, арахидоновой кислоты 0,1% раствор, 5-гидрокситриптамина гидрохлорид (Sigma, США) 0,01%. Крысам в апоневроз задней лапы вводили раствор i-Carrageenan, Type V 1%. Тиовюрцин вводили в дозах 50, 100 или 200 мг/кг, профилактическим курсом в течение 4 сут, последнее введение за 1 час до индукции воспаления (карагениновый отек) либо в лечебном режиме однократно сразу после введения флогогена (воспаление с медиаторами). В качестве растворителя использовали 9% раствор ДМСО. В качестве препаратов сравнения использовали: Цетрин (цетиризин) (фирма Д-р Редди'с Лабораторис Лтд., г. Хайдарабад, Индия) 1,5 мг/кг внутривентриально через зонд однократно до индукции воспаления; Диклофенак (ООО «Озон», Россия) 10 мг/кг внутривентриально однократно за 1 час до индукции воспаления (мышам) либо профилактическим курсом в течение 4 сут в дозе 5 мг/кг (крысам). Оценивали средний прирост экссудативного отека лапы животного (по разнице между лапой с отеком и лапой без отека) на пике воспаления через 1 и/или 3 час после введения флогогена [7].

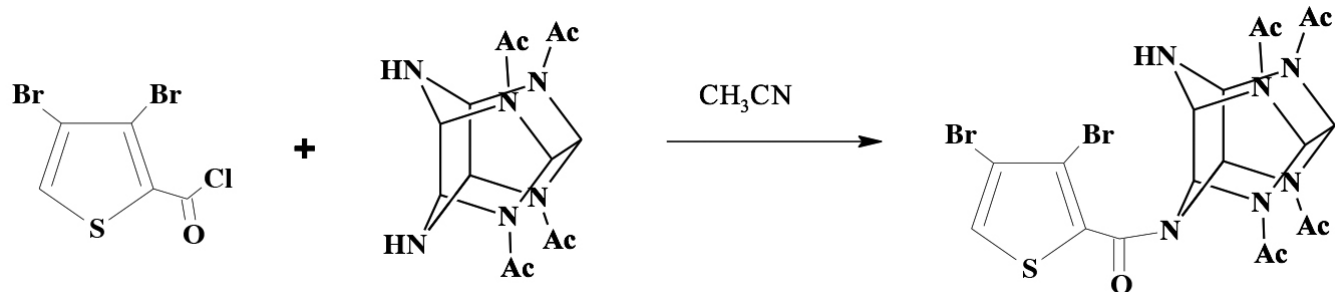


Рис. 1. Схема синтеза тиовюрцина

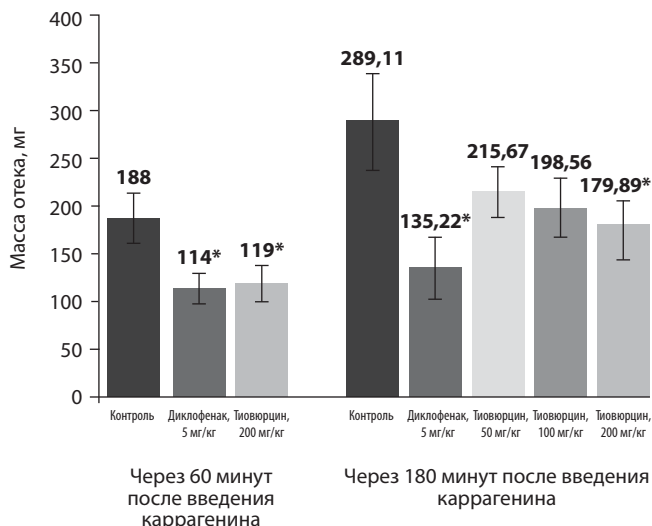
Fig. 1. Synthesis scheme of tiowurtzine

Хроническое пролиферативное воспаление моделировали имплантацией крысам под кожу спины стерильного ватного тампона массой 13 мг. Тиовюрцин (100, 200 мг/кг) и диклофенак натрия (5 мг/кг) вводили внутривенно через зонд однократно ежедневно в течение 7 дней. Животные контрольных групп получали растворители (воду очищенную и 9% ДМСО) в аналогичном режиме. Первое введение тестируемых веществ производили за 1 ч до имплантации. На 8-е сут животных забивали, ватные тампоны с образовавшейся вокруг них грануляционной тканью извлекали, взвешивали на электронных весах и высушивали в термостате до постоянной массы при 37°C. Пролиферативную реакцию оценивали по разнице между массой высушенной гранулемы и исходной массой ватного тампона. Экссудативную реакцию оценивали по разнице между массой сырой и высушенной гранулемы [7].

По каждому из показателей были рассчитаны элементы описательной статистики – средние арифметические значения и стандартные ошибки среднего. Различия считали достоверными при $p \leq 0,05$. Критерий оценки достоверности различий в исследуемых группах был выбран, исходя из малого объема выборки (количество животных в сравниваемых группах 10–11), дизайна исследования (независимые группы). Кроме того, малый объем выборки ограничивает возможности проверки гипотезы о нормальном распределении данных, в соответствии с этим для оценки различий в группах применялся непараметрический критерий проверки гипотез об однородности средних Вилкоксона-Манна-Уитни [8, 9].

Результаты и обсуждения

Для оценки антиэкссудативной активности тиовюрцина использовали модель острого каррагининового отека. Профилактическое введение тиовюрцина в дозе 200 мг/кг приводило к статистически достоверному снижению массы воспаленной лапы и экссудативного отека ($p < 0,05$) относительно соответствующих значений контрольной группы в ранней фазе развития экссудации (через 1 час после введения каррагинина) (рис. 2). На пике каррагининового воспаления (3 ч) масса отека у контрольных животных составила $289,11 \pm 50,68$ мг. Референс-препарат диклофенак



* – достоверное различие с контролем $p < 0,01$

Рис. 2. Влияние тиовюрцина на развитие каррагининового отека у крыс

Fig. 2. The effect of tiowurtzine on the development of carrageenan edema in rats

натрия проявил противовоспалительное действие в этот период наблюдения, которое выразилось в уменьшении массы экссудативного отека в 2,1 раза ($p < 0,05$) по сравнению с контролем. Тиовюрцин, назначаемый превентивно, проявил умеренный противовоспалительный эффект. Снижение массы отека в группе животных, получавших тиовюрцин, относительно контроля имело характер тенденции в низких дозах (50 и 100 мг/кг) и приобретало статистическую достоверность в дозе 200 мг/кг (рис. 2).

При развитии хронического пролиферативного воспаления у животных контрольных групп, получавших воду очищенную и 9% ДМСО, не отмечалось статистически значимых отличий по основным параметрам развития гранулематозно-фиброзной ткани (табл. 1). На фоне выраженных пролиферативных процессов диклофенак натрия (5 мг/кг) способствовал значительному снижению гранулематозной инфильтрации. В группе животных,

Таблица 1. Влияние тиовюрцина на экссудативную и пролиферативную фазы воспаления в тесте «фетровая гранулема» у крыс

Table 1. Effect of tiowurtzine on exudative and proliferative inflammation phases in the test "felt granuloma" in rats

| Группа наблюдения, доза (мг/кг) (количество животных) | Масса сырой гранулемы ($X \pm m$), мг | Масса сухой грануляционно-фиброзной ткани ($X \pm m$), мг | Разница между массой сухой гранулемы и тампона ($X \pm m$), мг | Масса экссудата ($X \pm m$), мг |
|---|---|---|--|-----------------------------------|
| 1. Контроль, вода очищенная (n=10) | 297,90±24,19 | 116,80±15,40 | 103,80±15,40 | 181,70±9,94 |
| 2. Контроль, 9% ДМСО, (n=9) | 276,33±21,38 | 120,22±13,23 | 107,22±13,23 | 155,67±16,88 |
| 3. Диклофенак 5 мг/кг (n=11) | 208,82±19,47 | 75,91±11,57 | 62,91±11,57 | 132,91±8,51 |
| | 1–3 $p < 0,01$ 2–3 $p < 0,05$ | 1–3 $p < 0,05$ 2–3 $p < 0,01$ | 1–3 $p < 0,05$ 2–3 $p < 0,01$ | 1–3 $p < 0,01$ |
| 4. Тиовюрцин, 100 (n=11) | 259,55±31,17 | 99,22±17,19 | 86,36±17,19 | 160,18±14,25 |
| 5. Тиовюрцин, 200 (n=11) | 254,73±21,26 | 94,00±10,01 | 78,36±9,08 | 164,64±15,25 3–5 $p < 0,05$ |

Примечание: в таблице перед уровнем значимости p указаны номера сравниваемых групп

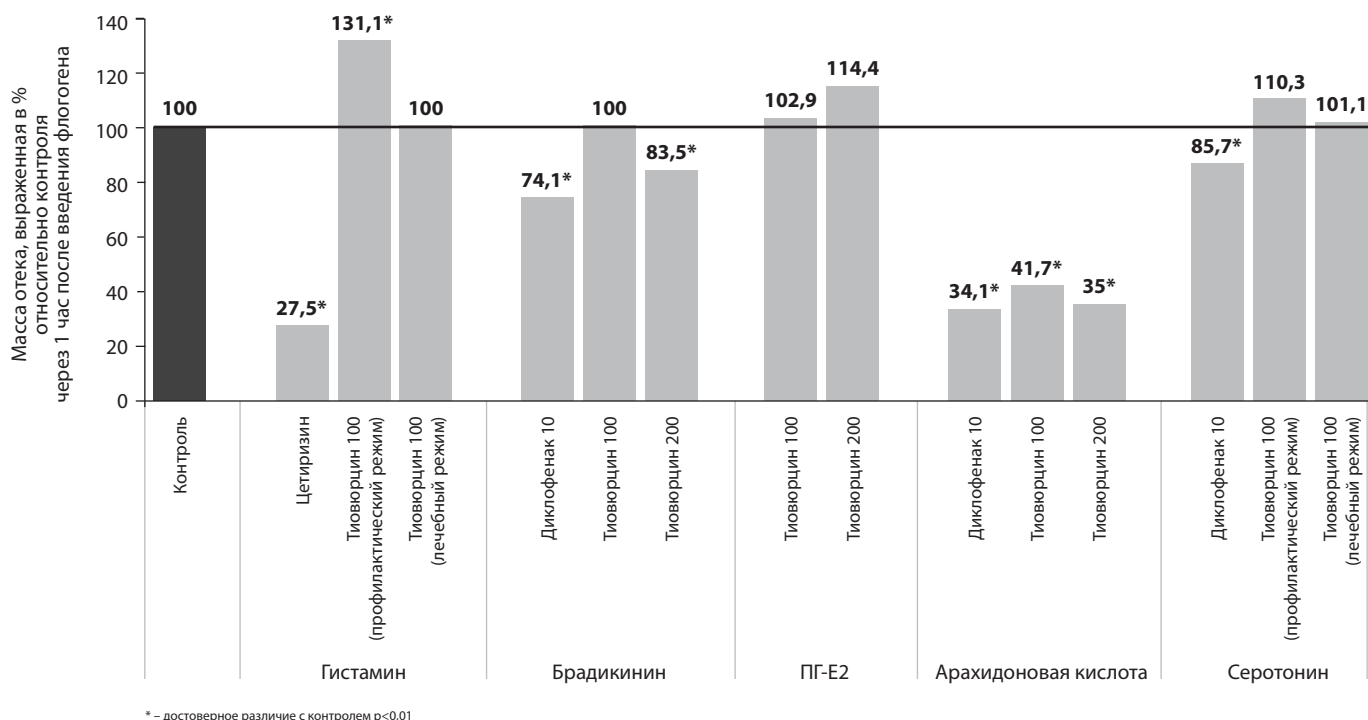


Рис. 3. Влияние тиовюрцина на развитие острой воспалительной реакции у животных, вызванной гистамином, брадикинином, простагландином E_2 , арахидоновой кислотой и серотонином

Fig. 3. The effect of tiowurtzine on the development of an acute inflammatory reaction in animals induced by histamine, bradykinin, prostaglandin E_2 , arachidonic acid and serotonin

получавших НПВС, отмечались минимальные значения массы сырой ($p < 0,01$) и высушенной гранулемы ($p < 0,05$), экссудативного отека ($p < 0,01$). Референс-препарат эффективно угнетал гранулематозную пролиферацию на 39,4% ($p < 0,05$) относительно водного контроля, при этом снижение экссудации составило 26,9% ($p < 0,01$) относительно аналогичного значения у животных, получавших дистиллированную воду (табл. 1).

Введение тиовюрцина в дозах 100 и 200 мг/кг приводило к уменьшению сухой грануляционно-фиброзной массы в 1,2 и 1,3 раза относительно контроля. Однако данное изменение носило характер тенденции.

При изучении механизма действия анальгетиков определенное место отводится исследованию их влияния на метаболизм и эффекты различных медиаторов воспаления, которые в нормальных физиологических концентрациях регулируют функции на клеточном и тканевом уровнях, а в повышенных – отвечают за возникновение и поддержание воспалительных реакций. Определяющее значение в механизме противовоспалительного действия потенциальных анальгетиков имеет ингибирование освобождения гистамина, серотонина, простагландина E_2 ; блокада тканевых реакций на эти биогенные амины, которые играют существенную роль в воспалительном процессе. Серотонин с гистамином считаются основными медиаторами первоначальных микроциркуляторных нарушений в очаге острого воспаления и немедленной фазы повышения проницаемости сосудов. Кроме того, биогенные кинины обуславливают типичные для воспаления зуд и боль. Типичные противовоспалительные препараты – нестероидные противо-

воспалительные средства изменяют взаимодействие тканевых рецепторов с серотонином и гистамином, уменьшают освобождение этих веществ из тканевых базофилов и влияют на процесс образования указанных медиаторов воспаления, их распад и конъюгирование [6, 10]. В терапевтических дозах НПВС на 70–80% снижают образование брадикинина. В основе данного эффекта лежит их способность оказывать неспецифическое ингибирование взаимодействия калликреина с высокомолекулярным кининогеном. Снижение образования брадикинина приводит к торможению активации фосфоорилазы, что ведет к уменьшению синтеза арахидоновой кислоты и, как следствие, проявлению эффектов продуктов ее метаболизма, в том числе простагландинов [10].

Тиовюрцин в дозе 100 мг/кг не обладал провоспалительным эффектом как в лечебном, так и в профилактическом режиме на модели гистаминового отека лапы мышей. При однократном превентивном внутрижелудочном введении исследуемый инновационный препарат в дозах 100 и 200 мг/кг не проявлял противовоспалительную активность в условиях острого экссудативного воспаления, вызванного инъекцией ПГЕ₂. Назначение животным тиовюрцина в дозе 100 мг/кг в однократном профилактическом и лечебном режимах, в отличие от референс-препарата диклофенака натрия, не приводило к противовоспалительной активности на модели острого серотонинового отека (рис. 3).

В условиях острого воспаления, вызванного введением одного из медиаторов воспалительного процесса – брадикинина, препарат сравнения – диклофенак натрия –

проявил статистически достоверную флоголитическую активность. Однократное назначение тиворурцина в дозе 100 мг/кг не приводило к снижению отека, а в дозе 200 мг/кг наблюдался достоверный противовоспалительный эффект, несколько менее выраженный, чем у диклофенака натрия. Кроме того, тиворурцин в дозах 100 и 200 мг/кг при однократном профилактическом введении проявлял выраженный противовоспалительный эффект, сопоставимый с активностью диклофенака натрия, на фоне острого воспаления, вызванного арахидоновой кислотой (рис. 3).

Таким образом, на модели острого воспаления у крыс, вызванного субплантарным введением каррагинина, было показано противовоспалительное действие нового препарата тиворурцина в дозе 200 мг/кг на раннем этапе развития отека (через 1 ч), которое сохранялось до точки максимального прироста отека (3 ч). Проведенные тесты с медиаторами воспалительной реакции показали, что тиворурцин оказывает блокирующий эффект на воспаление, вызванное брадикинином и арахидоновой кислотой. В отличие от НПВС, которые оказывают тормозящее влияние на развитие любого вида воспалительных

реакций вне зависимости от характера повреждающего фактора, фазы и стадии процесса, тиворурцин при семидневном лечебном внутривенном введении через зонд введени (100, 200 мг/кг) аутобредным крысам-самцам CD не проявлял противовоспалительную и антиэкссудативную активность в условиях модели хронического пролиферативного воспаления, а также не влиял на развитие отека, вызванного гистамином, простагландином E₂ и серотонином.

Известно, что механизм анальгетического действия противовоспалительных средств складывается в основном из 2-х компонентов: за счет антиэкссудативных свойств, способствующих уменьшению механического давления воспаленных тканей на болевые рецепторы и, во-вторых, из-за уменьшения альгогенного действия образующихся в нефизиологических количествах в очаге воспаления химических медиаторов боли [7]. Выявленные в настоящем исследовании противовоспалительные эффекты тиворурцина являются частью сложного механизма его анальгетического действия, которое, по данным ранее проведенных экспериментов, носит еще и центральный характер [5] и скорее всего не является ЦОГ-зависимым.

Список литературы

1. Семченко Ф.М., Руфанов К.А., Тохмахчи В.Н. и др. Сильнодействующие ненаркотические анальгетики как направление развития фармацевтики. Разработка и регистрация лекарственных средств. 2016; 1(14): 196–206.
2. Давыдов О.С. Распространенность болевых синдромов и их влияние на качество жизни в мире и в России, по данным исследования глобального бремени болезней за период с 1990 по 2013 г. Российский журнал боли. 2015; 3–4: 11–18.
3. Гречко О.Ю., Спасов А.А., Штарёва Д.М. Опиоидные κ-рецепторы как молекулярная мишень для создания нового поколения обезболивающих лекарственных средств. Химико-фармацевтический журнал. 2016; 50(1): 3–11.
4. Даиров А.К., Спиков В., Адекенов С.М. Молекулярный докинг в оценке биологической активности арглабина и его производных. Российский биотерапевтический журнал. 2017; 16(S1): 30.
5. Крылова С.Г., Амосова Е.Н., Зуева Е.П. и др. 4-(3,4-дибромтиофенкарбонил)-2,6,8,12-тетраацетил-2,4,6,8,10,12-гексаазатетрацикло[5,5,0,0^{3,11},0^{5,9}]додекан в качестве анальгетического средства и способ его получения Патент РФ № 2565766, 2015.
6. Barrot M. Tests and models of nociception and pain in rodents. Neuroscience. 2012; 211: 39–50. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.neuroscience.2011.12.041> PMID: 22244975.
7. Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств. Часть первая / под ред. А.Н. Миронова [и др.]. Москва: Гриф и К, 2013.
8. Лакин Г.Ф. Биометрия. Учеб. пособие для биол. спец. вузов. 4-изд., перераб. и доп. М.: Высшая школа, 1990.
9. Лемешко Б.Ю., Лемешко С.Б. Об устойчивости и мощности критериев проверки однородности средних. Измерительная техника. 2008; 9: 23–28.
10. Mochizucki D. Serotonin and noradrenaline reuptake inhibitors in animal models of pain. Human Psychopharmacology. 2004; 19: 15–19. DOI: 10.1002/hup.620 PMID: 15378668.

References

1. Semchenko F.M., Rufanov K.A., Tokhmakhchi V.N. et al. [Strong non-narcotic analgesics as a direction of development of pharmaceuticals]. Razrabotka i registratsiya lekarstvennykh sredstv. 2016; 1(14): 196–206. (in Russ.)
2. Davydov O.S. [The prevalence of pain syndromes and their impact on the quality of life in the world and in Russia, according to a global burden of disease research for the period from 1990 to 2013]. Russian Journal of Pain. 2015; 3–4: 11–18. (in Russ.)
3. Grechko O.Yu., Spasov A.A., Shtareva D.M. [Opioid κ-receptors as a molecular target for the creation of a new generation of anesthetic drugs]. Khimiko-farmatsevticheskiy zhurnal. 2016; 50(1): 3–11. (in Russ.)
4. Dairov A.K., Spivok V., Adekenov S.M. [Molecular docking in the evaluation of the biological activity of arglabin and its derivatives]. Rossiyskiy bioterapevticheskiy zhurnal. 2017; 16(S1): 30. (in Russ.)
5. Krylova S.G., Amosova E.N., Zueva E.P. et al. 4-(3,4-dibromthiophenecarbonyl)-2,6,8,12-tetraacetil-2,4,6,8,10,12-geksaazatetratsiklo[5,5,0,0^{3,11},0⁵]dodekan v kachestve analgeticheskogo sredstva i sposob ego polucheniya [4-(3,4-dibromthiophenecarbonyl)-2,6,8,12-tetraacetyl-2,4,6,8,10,12-hexaazatetracyclo[5,5,0,0^{3,11},0⁵]dodecane as an analgetic agent and the method for its preparation]. Patent of the Russian Federation № 2565766, 2015. (in Russ.)
6. Barrot M. Tests and models of nociception and pain in rodents. Neuroscience. 2012; 211: 39–50.
7. Rukovodstvo po provedeniyu doklinicheskikh issledovaniy lekarstvennykh sredstv. Chast' pervaya [A guide to preclinical drug research. Part One] / Ed. A.N. Mironov [et al.]. Moscow: Grif and K, 2013. (in Russ.)
8. Lakin G. F. Biometriya [Biometrics]. Textbook. allowance for biol. specialist. universities. 4-ed., Revised. and additional. Moscow: High School, 1990. (in Russ.)
9. Lemesko B.Yu., Lemesko S.B. Ob ustoychivosti i moshchnosti kriteriev proverki odnorodnosti srednikh [On the stability and power of criteria for checking the homogeneity of means]. Izmeritel'naya tekhnika. 2008; 9: 23–28. (in Russ.)
10. Mochizucki D. Serotonin and noradrenaline reuptake inhibitors in animal models of pain. Human Psychopharmacology. 2004; 19: 15–19.

Информация о конфликте интересов и финансировании. Конфликт интересов отсутствует.

Работа выполнена при финансировании и в рамках «Федеральной целевой программы «Развитие фармацевтической и медицинской промышленности Российской Федерации на период до 2020 года и дальнейшую перспективу», является Государственный контракт от 15 августа 2017 г. № 14.Н08.11.0179 на тему «Доклинические исследования инновационного лекарственного средства на основе производных гексаазазовюрцитана для терапии болевого синдрома различной этиологии».