

ОСОБЕННОСТИ ФАРМАКОЛОГИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ НЕКОТОРЫХ ПРОИЗВОДНЫХ 4-ОКСО-1,4-ДИГИДРОПИРИМИДИНА И ХИНАЗОЛИНОНА-4 В ЭКСПЕРИМЕНТЕ НА НАРКОТИЗИРОВАННЫХ И БОДРСТВУЮЩИХ ЖИВОТНЫХ

Лысенко Т.А.¹, Арльт А.В.¹, Зацепина Е.Е.¹

¹*Пятигорский медико-фармацевтический институт – филиал Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Волгоградский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, Пятигорск, e-mail: prk@pmedpharm.ru*

Критичные нарушения мозгового кровообращения являются назревшей медицинской и социальной проблемой. Арсенал лекарственных средств, прикрывающих мозг от повреждающих факторов и последствий ишемии, а также гипоксии, постоянно расширяется. Определенный интерес представляют 4-оксо-1,4-дигидропириимидина и хиначолинона-4 производные, обладающие, по литературным данным, гипотензивными, психотропными, ноотропными, противовоспалительными, иммуномодулирующими свойствами. В связи с этим представляют интерес изучение новых производных 4-оксо-1,4-дигидропириимидина и хиначолинона-4, с влиянием на основные показатели гемодинамики мозгового кровообращения и артериального давления. Известно о значимой роли ГАМК в процессах физиологии и патологии мозга. Поэтому поиск и исследование новых производных ГАМК-позитивных соединений является актуальной задачей на современном этапе. Проведены экспериментальные исследования с влиянием новых производных 4-оксо-1,4-дигидропириимидина и хиначолинона-4 на динамику изменения артериального давления и объёмной скорости мозгового кровотока (ОСМК) наркотизированных животных. Полученные данные показывают мягкое снижение уровня артериального давления у нового производного 4-оксо-1,4-дигидропириимидина (PDMGAB) в среднем на 10% по сравнению с исходными значениями, что примерно коррелирует с данными препарата сравнения - веществом ГАМК. Производные 4-оксо-1,4-дигидропириимидина (№ 295) и хиначолинона-4 (x3) более значимо снижают скорость мозгового кровотока, что, возможно, благоприятно при геморрагических состояниях и отёке мозга. В исследовании производных 4-оксо-1,4-дигидропириимидина и хиначолинона-4 на устойчивость животных к циркуляторной гипоксии выявлена достоверная церебропротекторная активность у вещества PDMGAB в дозе 50 мг/кг. В отдельной серии экспериментов исследовали производное 4-оксо-1,4-дигидропириимидина с условно лабораторным шифром PDMTz на параметры артериального давления у бодрствующих животных в сравнении с официальным препаратом папаверина гидрохлоридом. Выявлено достоверное незначительное снижение уровня артериального давления у бодрствующих животных в течение 60 мин. эксперимента.

Ключевые слова: эксперимент, производные 4-оксо-1,4-дигидропириимидина, хиначолинона-4, лабораторные животные, артериальное давление, гипоксия, мозговое кровообращение, системная гемодинамика.

FEATURES OF PHARMACOLOGICAL ACTIVITY OF SOME DERIVATIVES OF 4-OXO-1,4-DIHYDROPYRIMIDINE AND QUINAZOLINONE-4 IN AN EXPERIMENT ON ANESTHETIZED AND AWAKE ANIMALS

Lisenko T.A.¹, Arlt A.V.¹, Zatcepina E.E.¹

¹*Pyatigorsk Medical and Pharmaceutical Institute - a branch of the FGBOU VO «Volgograd State Medical University» of the Ministry of Health of Russia, Pyatigorsk, e-mail: prk@pmedpharm.ru*

Acute disorders of cerebral circulation are an urgent medical and social problem. The arsenal of drugs that protect the brain from damaging factors and the effects of ischemia, as well as hypoxia, is constantly expanding. Of particular interest are derivatives of 4-oxo-1,4-dihydropyrimidine, and quinazolinone-4, which, according to literature data, have hypotensive, psychotropic, nootropic, anti-inflammatory, immunomodulatory properties. In this regard, it is of interest to study new derivatives of 4-oxo-1,4-dihydropyrimidine and quinazolinone-4 on the main indicators of hemodynamics of cerebral circulation and blood pressure. It is known about the significant role of GABA in the processes of physiology and pathology of the brain. Therefore, the search and study of derivatives of GABA-positive compounds is an urgent task at the present stage. Experimental studies have been carried out with the influence of new derivatives of 4-oxo-1,4-dihydropyrimidine and quinazolinone-4 on the dynamics of changes in blood pressure and volumetric velocity of cerebral blood flow (OSMC) of anesthetized animals. The obtained data show a mild decrease in blood pressure in the new derivative of 4-oxo-1,4-dihydropyrimidine (PDMGAB) by an average of 10% compared to the initial values, which approximately correlates with the data of

the comparison drug - the substance GABA. Derivatives of 4-oxo-1,4-dihydropyrimidine (No. 295), and quinazolinone-4 (x3) more significantly reduce the rate of cerebral blood flow, which may be beneficial for hemorrhagic conditions and cerebral edema. A study of derivatives of 4-oxo-1,4-dihydropyrimidine and quinazolinone-4 on the resistance of animals to circulatory hypoxia revealed significant cerebroprotective activity in the substance PDMGAB at a dose of 50 mg/ kg. In a separate series of experiments, a derivative of 4-oxo-1,4-dihydropyrimidine with the PDMTz laboratory cipher was studied for blood pressure parameters in awake animals in comparison with the official preparation papaverine hydrochloride. A significant slight decrease in the level of blood pressure in awake animals was revealed during 60 minutes of the experiment.

Keywords: experiment, derivatives of 4-oxo-1,4-dihydropyrimidine, quinazolinone-4, laboratory animals, blood pressure, hypoxia, cerebral circulation, systemic hemodynamics.

Высокий процент заболеваний сердечно-сосудистой системы на сегодняшний день является особенностью современного ритма жизни среднестатистического человека во всем мире, и в частности в России. Подавляющее количество пациентов не обращают внимания на ранние симптомы патологий, что делает организм уязвимым для любых внешних атак. Многообразие негативных факторов, которые одновременно способны поражать организм, объединяет один ключевой момент, в итоге пострадавший участок ткани или системы подвергается гипоксии и ишемии. Но если при гипоксии достаточно наладить поступление адекватного количества требуемого кислорода для нормальной жизнедеятельности каждой клетки участка повреждения, то при ишемии наблюдается более глубокий процесс разлада, который вызван не только недостаточностью кислорода, но и патологическим сдвигом метаболизма. Известно, что большинство систем и тканей организма способны сохранить жизнедеятельность без особого ущерба несколько минут. Но возможен и другой путь развития ситуации при длительном недостатке кислорода или если очевидно прогрессирующее нарастание болезни - это ишемический каскад. В процессе ишемического каскада идет накопление повреждающих метаболитов, угрожающих митохондриальной функции клетки. Это катализирует процесс активации ферментов, обладающих автолизирующим, протеолитическим действием, который также агрессивно атакуют клетки тканей и системы организма, и при внезапном и массивном восстановлении кровоснабжения ишемизированного участка ситуация осложняется реперфузионной травмой. Что, по сути, еще опаснее, чем сам по себе ишемический каскад. Так как идет стремительное образование свободных перекисных радикалов и активных форм кислорода, которые также атакуют неисправно работающую систему [1-3]. Повреждения клетки становятся и внешними, приобретая локальное распределение. Причины ишемии всегда связывают с нарушением кровоснабжения, и как осложнение данного нарушения чаще всего рассматриваются такие патологии, как инсульты и реперфузионные повреждения, а также сердечные приступы. Одной из самых распространенных причин нарушения физиологии работы кровеносного русла выступает артериальная гипертензия, один из самых мощных факторов риска в современном мире по приближению отдаленной смертности. Именно она называется

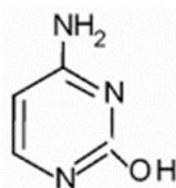
основной причиной ишемического инфаркта, внутреннего кровоизлияния мозга. Большое количество проведенных исследований продемонстрировало связь между этими патологиями, значительный процент пациентов с нарушением кровоснабжения подвергается большому риску развития ишемического повреждения и выраженными рецидивами даже при благоприятном исходе терапии. В настоящее время обзор литературных данных по имеющимся исследованиям данных патологий позволил переоценить некоторые рекомендации, предложенные международными протоколами лечения, особенно для категорий пациентов с сердечно-сосудистыми нарушениями [2-4]. Есть данные, которые свидетельствуют, что у пациентов с высокими рисками патологий пороговые величины артериального давления для интенсификации терапии должны быть «мягче», чем для лиц с менее выраженными рисками [2; 4]. Поэтому исследование и поиск новых производных, обладающих эффективным противоишемическим действием, является актуальным и перспективным направлением. С этой целью интерес представляют соединения, близкие по структуре к естественным пиримидинам. Доказано, что составной частью нуклеиновых кислот являются именно пиримидиновые основания, которые характеризуются диверсификационной активностью: анаболической, противовоспалительной, регенеративно-репаративной, иммуностимулирующей. Природные пиримидиновые основания:

4-аминопиримидин-2-(1H)-он (цитозин)

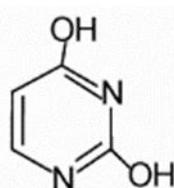
пиримидин-2,4(1H,3H)-дион (урацил)

2,4-дигидрокси-5-метилпиримидин (тимин)

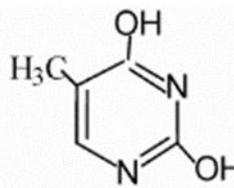
Структурные формулы пиримидиновых оснований:



цитозин



урацил



ТИМИН

Синтетические производные пиримидина завоевали внимание медицины еще в сороковые годы прошлого столетия. Уникальный урациловый фрагмент лиганда повышает избирательность и селективность действия: стэкинг-взаимодействия (base stacking) с остатками аминокислот рецепторов (ферментов) благодаря ароматической системе; водородное связывание атомами кислорода карбонильных участков. Несомненные плюсы: низкий профиль токсичности и выраженная стимуляция защитных сил организма посредством адаптации в условиях поражения благодаря поливалентному механизму воздействия на фундаментальные процессы жизнедеятельности клетки. А также широк и разнообразен спектр фармакологической активности данной группы [5; 6]. Все это дает возможность для новых

изысканий и интерпретаций биологической активности синтетических аналогов пиримидиновых производных с целью расширения области терапевтического применения.

Цель исследования. Изучение церебропротекторной активности некоторых производных 4-оксо-1,4-дигидропиримидина (условно лабораторные шифры PDMGAB, № 295) и хиначолина-4 (x3), а также активности влияния производного N-гетероциклического 4-оксо-1,4-дигидропиримидина с лабораторным шифром PDMTz на артериальное давление у экспериментальных животных в условиях бодрствования.

Материал и методы исследования. В экспериментальных исследованиях было использовано 24 мыши и 144 крысы линии Wistar. Содержание животных в виварии соответствовало критериям лабораторной практики (GLP) и Приказу МЗ РФ № 267 от 29.03.2003 г. «Об утверждении правил лабораторной практики». Все методики с животными проводились в соответствии с международными этическими нормами работы с лабораторными животными [7]. Эксперимент по определению острой токсичности был поставлен на 24 обоеполых белых мышях массой 20-25 г, а также на 20 крысах линии Wistar массой 220±10 г, по методу Кербера [8]. Исследуемые вещества – производные 4-оксо-1,4-дигидропиримидина (PDMGAB, PDMTz, № 295) и хиначолина-4 (x3) - получены на кафедре органической химии ПМФИ под руководством зав. кафедрой, проф. Оганесяна Э.Т. Авторы выражают особую благодарность проф. Э.Т. Оганесяну и проф. И.П. Кодониди за предоставленные вещества. Вещества с лабораторными шифрами PDMGAB, № 295 и x3 вводили лабораторным крысам в виде суспензии с твином-80 в объеме 0,5 мл внутрибрюшинно в дозе 3100 мг/кг. Экспериментальные животные находились под наблюдением 14 суток, акцент внимания: внешний вид, изменение в поведенческих реакциях и количество летальных исходов. Церебропротекторную активность изучали на модели измерения скорости мозгового кровотока (в объеме), использован был метод водородного клиренса [8; 9]. Ишемия головного мозга была воспроизведена с использованием одной из экспериментальных моделей, заключающейся в окклюзии общих сонных артерий необратимо, у крыс [9; 10]. Для изучения влияния N-гетероциклического производного 4-оксо-1,4-дигидропиримидина с условным экспериментальным шифром PDMTz на артериальное давление (системное) использовали 16 крыс-самцов линии Wistar массой 220±10 г. За 24 часа до операции прекращалась подача корма, вода была постоянно доступна. Наркотизированным крысам (нембутал, из расчета 35 мг/кг массы животного) вводили полиэтиленовые катетеры, заполненные раствором гепарина (1 мл/50 мл воды для инъекций): один в брюшную аорту через левую бедренную артерию для измерения артериального давления, второй катетер в брюшную полость для введения исследуемого вещества. Периферические концы катетеров проводили под кожей и фиксировали в межлопаточной области. Через сутки после

проведенного оперативного вмешательства животные были разделены на 2 группы по восемь в каждой. Первой группе бодрствующих животных через катетер, введенный в брюшную полость, вводили исследуемое вещество с лабораторным шифром PDMTz в дозе 50 мг/кг массы животного. Второй группе бодрствующих животных таким же способом вводили препарат сравнения. В качестве препарата сравнения был выбран официальный препарат: спазмолитик миотропного действия – 2%-ный раствор папаверина гидрохлорида в дозе 10 мг/кг массы крысы. Второй катетер, введенный в брюшную аорту, соединяли с датчиком многоканальной компьютерной программы Bioscel и регистрировали показатели артериального давления в режиме реального времени. Статистическую обработку результатов проводили с помощью метода Стьюдента с использованием компьютерной программы BIOSTAT [11]. На начальном этапе расчета группы суммарной статистики проводили с помощью арифметической величины (M) и ошибкой (m). Оценку изменений основных значений проводили, исходя из разности между выборочными параметрами, используя t -критерий Стьюдента. Учитывая, что этим условиям удовлетворяла лишь часть эмпирических распределений признаков, проверку о равенстве основных средних проводили с помощью U -критерия Манна-Уитни для независимых переменных. Нулевую гипотезу не принимали во внимание в случае $p < 0,05$.

Результаты исследования и обсуждение. Анализировали острую токсичность способом введения исследуемых веществ в виде суспензии (вещество+1-2 капли твин-80), внутривентриально в дозе 3100 мг/кг массы животных. Контрольная группа животных получала 0,9%-ный раствор с добавлением твина – 80 в эквивалентном объеме. За время наблюдения в опытной и контрольной группах не отмечали погибших животных, а также особых изменений во внешнем виде и поведении мышей. Таким образом, максимально переносимая доза производных 4-оксо-1,4-дигидропиримидина вещества (PDMGAB, № 295) и производного хиназолинона-4 (x3) превышает 3000 мг/кг, что позволяет отнести исследуемые вещества по классификации К.К. Сидорова к 6-му классу – «относительно безвредные» вещества. Влияние производных 4-оксо-1,4-дигидропиримидина вещества PDMGAB с фрагментом ГАМК в структуре, вещества № 295 и производного хиназолинона-4 (лаб. шифр x3) на изменение скорости мозгового кровотока (объемной) изучали в дозе 50 мг/кг. Результаты, полученные в результате исследований, представлены в таблице 1.

Таблица 1

Влияние производных 4-оксо-1,4-дигидропиримидина (PDMGAB, № 295) и производного хиназолинона-4 (x3) на динамику изменения объемной скорости мозгового кровотока (ОСМК) наркотизированных животных ($M \pm m$, $\Delta\%$, $n=8$)

Время после введения	Контроль с твином-80	ГАМК	PDMGAB	№ 295	х3
Исходные данные ОСМК (мл/100 г/мин.)	105,8 ± 3,4	107,4 ± 4,3	104,2 ± 4,3	109,9 ± 5,6	121,9 ± 7,4
5 мин.	7,6 ± 2,6	-6,7 ± 3,4	-19,1 ± 2,8&\$	-32,1 ± 8,0&\$	-0,4 ± 2,1
15 мин.	4,6 ± 3,4	-10,4 ± 4,2	-20,2 ± 4,8\$	-47,2 ± 4,8&\$	-28,1 ± 5,7&\$
30 мин.	5,5 ± 4,5	-15,7 ± 1,9	-13,8 ± 5,9	-43,5 ± 6,1&\$	-32,4 ± 4,9&\$
45 мин.	5,4 ± 3,7	-15,9 ± 2,7	-18,7 ± 4,1\$	-56,3 ± 3,4&\$	-39,6 ± 2,3&\$
60 мин.	4,9 ± 4,5	-10,3 ± 2,2	-8,1 ± 4,1	-58,1 ± 5,5&\$	-45,3 ± 3,6&\$

Примечание: & - данные статистически значимы относительно исходных данных ($p \leq 0,05$);

\$ - данные статистически значимы относительно контрольного раствора с твином-80.

В контрольных опытах была отмечена тенденция к некоторому увеличению объемной скорости кровотока мозга, особенно сразу после введения, что можно объяснить действием солубилизатора твин-80. Вещество PDMGAB при этом статистически значимо снижало объем скорости кровотока в мозге у наркотизированных крыс в течение 45 минут эксперимента, в среднем на 18%. К 60-й минуте эффект нивелировался.

Вещество № 295 существенно снижало объем скорости кровотока в мозге, и к финалу эксперимента было равно $-58,1 \pm 9,5$. Статистически значимые отличия отмечались в течение всего эксперимента, с постоянным снижением к концу опытов (максимально на 58,1% к 60-й минуте). Производные хиназолинона-4 (лаб. шифр х-3) достоверно уменьшали объем скорости кровотока в мозге, с максимумом к 60-й минуте наблюдения (на 45%).

Таким образом, наименьшее падение ОСМК среди исследованных веществ вызывает вещество PDMGAB с фрагментом ГАМК в структуре. Учитывая его гипотензивный эффект, оно является наиболее интересным и перспективным для дальнейшего изучения.

Отдельная серия эксперимента была посвящена изучению влияния производных 4-оксо-1,4-дигидропиримидина вещества PDMGAB с фрагментом ГАМК в структуре, вещества № 295 и производного хиназолинона-4 (лаб. шифр х3) на устойчивость лабораторных крыс к гипоксии, используя метод циркуляторной гипоксии. Экспериментальные вещества вводили в дозах 50 и 75 мг/кг в сравнении с серией контроля (введением 0,9%-ного раствора натрия хлорида) и препаратом сравнения веществом ГАМК (в дозе 50 мг/кг) за 45-60 минут до окклюзии сонных артерий.

Таблица 2

Влияние производных 4-оксо-1,4-дигидропиримидина (PDMGAB, № 295) и производного хиназолинона-4 (x3) на выживаемость лабораторных крыс при циркуляторной гипоксии головного мозга (профилактическое однократное введение за 40-45 мин. до окклюзии сонных артерий)

Иssl. вещества	0,9% NaCl	ГАМК	PDMGAB	PDMGAB	№ 295	№ 295	x 3	x3
Дозы		50	50	75	50	75	50	75
Кол-во животных	10	10	10	10	10	10	10	10
Кол-во выживших								
Через 24 ч Абс.	4	8	8	6	6	6	6	6
%	40	80*	80*	60	60	60	60	60
Через 48 ч Абс.	3	8	7	5	5	5	6	5
%	30	80*	70*	50	50	50	60*	50
Через 72 ч Абс.	2	7	7	5	5	4	4	3
%	20	70*	70*	50*	50	40	40	30

Примечание: * - достоверные данные относительно контрольных данных ($p \leq 0,05$).

Как видно из представленной таблицы 2, вещество ГАМК в дозе 50 мг/кг вызывает выживаемость животных (70%), что достоверно по отношению к серии контроль экспериментальных животных. 4-оксо-1,4-дигидропиримидина производное PDMGAB также аналогично ГАМК вызывает высокий уровень выживших животных по отношению к контрольной серии (70%). Производное 4-оксо-1,4-дигидропиримидина под условным экспериментальным шифром № 295 в дозе 50 мг/кг вызвало выживаемость 50% животных, однако при изменении дозы до 75 мг/кг выживаемость животных составила лишь 40%. Производное хизанолинона-4 (лаб. шифр x3) в дозе 50 мг/кг вызвало выживаемость 40%, а в более высокой дозе 75 мг/кг - 30%. В результате проведенных серий экспериментов можно проследить уверенную церебропротекторную активность у 4-оксо-1,4-дигидропиримидина производного (под условным экспериментальным шифром PDMGAB) в дозе 50 мг/кг. Необходимо отметить положительную тенденцию к антигипоксическому действию у вещества с лаб. шифром № 295 в дозе 50 мг/кг. Согласно литературным данным, ГАМК-позитивные вещества обладают психотропными свойствами, влияют на мозговое кровообращение, обладают гипотензивными свойствами, а также противоаритмическим эффектом [12-14].

Следующая серия экспериментов предполагала изучение влияние вещества под условным экспериментальным шифром PDMTz и препарата сравнения папаверина

гидрохлорида на артериальное давление, процесс регистрации во времени составил 60 минут. Полученные результаты оценивали в процентном отношении к исходным данным. Результаты эксперимента статистически обработаны и представлены в таблице 3.

Таблица 3

Влияние N-гетероциклического производного 4-оксо-1,4-дигидропиримидина с лабораторным шифром PDMTz и препарата сравнения на системное артериальное давление у бодрствующих крыс в процентном отношении к исходным данным ($M \pm m$, $n=6$)

Исследуемые вещества	Исходное АД мм рт. ст	Через 30 мин.	Через 60 мин.
Папаверина гидрохлорид 10 мг/кг	124,2±5,6	-6,2±4,6	-7,1±2,2*
PDMTz 50 мг/кг	120,4±6,3	-8,2±2,1*	-8,3±1,8*

Примечание: *- $p < 0,05$ по сравнению с исходными данными.

Результаты проведенного эксперимента выявили достоверное гипотензивное действие у N-гетероциклического производного 4-оксо-1,4-дигидропиримидина с лабораторным шифром PDMTz у бодрствующих животных относительно исходных данных, сходное с гипотензивным действием официального препарата папаверина гидрохлорида.

Заключение. Изучение острой токсичности производных 4-оксо-1,4-дигидропиримидинов показало, согласно классификации К.К. Сидорова, «относительную безвредность» изучаемых соединений, относящихся к VI классу. В результате экспериментальных исследований выявили, что некоторые производные 4-оксо-1,4-дигидропиримидина и хиназолинона-4 оказывают статистически значимое влияние на системную гемодинамику у наркотизированных и бодрствующих животных. Наименьшее влияние на изменение объемной скорости мозгового кровотока в эксперименте показало 4-оксо-1,4-дигидропиримидина производное (под условным экспериментальным шифром PDMGAB) в дозе 50 мг/кг. Выявлена церебропротекторная активность у 4-оксо-1,4-дигидропиримидина производного (лаб. шифр PDMGAB) в дозе 50 мг/кг. Доказано, что N-гетероциклическое производное 4-оксо-1,4-дигидропиримидина с условным экспериментальным шифром PDMTz обладает мягким гипотензивным действием.

Список литературы

1. Литвицкий П. Ф. Гипоксия // Вопросы современной педиатрии. 2016. Т. 15. № 1. С. 45-58.

2. Воронина Т.А. Роль гипоксии в развитии инсульта и судорожных состояний. Антигипоксанты // Обзоры по клинической фармакологии и лекарственной терапии. 2016. № 1. С. 63-70.
3. Лукьянова Л.Д., Кирова Ю.И., Сукоян Г.В. Сигнальные механизмы адаптации к гипоксии и их роль в системной регуляции // Биологические мембраны. 2012. № 4. С. 238–252.
4. Баринов Э.Ф., Статинова Е.А., Сохина В.С., Фабер Т.И., Максименко О.Л. Факторы риска и молекулярные механизмы их участия в патогенезе хронической ишемии мозга // Архив клинической и экспериментальной медицины. 2020. № 2. С. 121–128.
5. Кодониди И.П., Арльт А.В., Оганесян Э.Т., Ивашев М.Н. Целенаправленный поиск и фармакологическая активность ГАМК-позитивных соединений. Пятигорск: Пятигорская ГФА, 2011. 282 с.
6. Гендугов Т. А., Глушко А. А., Чиряпкин А. С., Чиряпкин В. С. Прогнозирование анксиолитического действия, опосредованного ГАМК А рецептором, методом молекулярного докинга // Бюллетень науки и практики. 2020. Т. 6. № 5. С. 38-45.
7. Percy du Cert N.P., Hurst V., Lidster K., Pearl E.J., Ahluwalia A., Alam S., Avey M.T., Baker M., Brown W.J., Clark A., Cuthill I.S., Dirnagle W., Emerson M., Garner P., Holgate S.T., Howells D.U., Karp N.A., Lazich S.E., McCallum K.J., MacLeod M., Pearl E.J., Petersen O.H., Rawl F., Reynolds P., Rooney K., Sena E.S., Silberberg S.D., Stekler T., Wurbel H. ARRIVE 2.0 Guidelines: Updated guidelines for animal research reporting. *Biology Plos*. 2020. Vol. 18. No. 7. P. 3000410.
8. Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств. Часть первая. Методические рекомендации по изучению общетоксического действия лекарственных средств. Изучение хронической токсичности. Гриф и К. М., 2012. С. 17-19.
9. Зацепина Е.Е. Экспериментальное изучение возможности использования экстракта форзиции промежуточной (*Forsythia intermedia* Zabel.) в периоде постишемии мозга с целью нейропротекции // Современные проблемы науки и образования. 2021. № 4. [Электронный ресурс]. URL: <https://science-education.ru/ru/article/view?id=30996> (дата обращения: 14.03.2022).
10. Лысенко Т.А. Сравнительное изучение влияния экстрактов растительного происхождения на выживаемость лабораторных животных при различных видах гипоксии мозга в эксперименте // Современные проблемы науки и образования. 2021. № 5. [Электронный ресурс]. URL: <https://science-education.ru/ru/article/view?id=31090>(дата обращения: 14.03.2022).
11. Макарова Н.В. Статистический анализ медико-биологических данных с использованием пакетов статистических программ Statistica, SPSS, NCSS, SYSTAT:

методическое пособие / Всерос. центр экстрен. и радиац. медицины им. А.М. Никифорова МЧС России СПб.: Политехника-сервис, 2012. 178 с.

12. Тюренков И.Н., Куркин Д.В., Волотова Е.В. Литвинов А.А., Бакулин Д.А. Влияние различных композиций фенибута с органическими кислотами на неврологический, когнитивный и поведенческий дефицит у крыс при фокальной ишемии головного мозга // Сибирский медицинский журнал (Иркутск). 2012. № 8. С. 61-63.

13. Кодониди И., Оганесян Э. Молекулярное конструирование и синтез ГАМК-ергических соединений. Изд-во LAP LAMBERT Academic Publishing, 2014. 112 с.

14. Радионова Е. С., Федорова О. В., Титова Ю.А., Русинов Г. Л., Чарушин В. Н. Синтез подандов с дигидропиримидиновыми фрагментами на основе полиэфиров с концевыми ацетоацетамидными группами // Химия гетероциклических соединений. 2015. №. 5. С.478-482.