

УДК 547.574.3:615.015

## 2-Гидроксиэтиламмониевые соли органилсульфанил(сульфонил)уксусных кислот – новые фармакологически активные соединения

А. Н. МИРСКОВА, Р. Г. МИРСКОВ, С. Н. АДАМОВИЧ, М. Г. ВОРОНКОВ

Иркутский институт химии им. А. Е. Фаворского Сибирского отделения РАН, ул. Фаворского, 1, Иркутск 664033 (Россия)

E-mail: mirskova@irioch.irk.ru

(Поступила 27.12.10; после доработки 05.05.11)

### Аннотация

В настоящем обзоре приведены разработанные авторами препаративные методы синтеза органилсульфанил(сульфонил)уксусных кислот и их 2-гидроксиэтиламмониевых солей. Последние представляют собой новый класс фармакологически активных веществ, обладающих антиагрегационной, мембраностабилизирующей, антиоксидантной, цитостатической, кардиотропной, гипохолестеринемической активностью. Найдены соединения с сочетанной иммуностропной и противоопухолевой активностью, перспективные для создания передовых лекарственных средств для лечения иммунодефицитных, аутоиммунных, онкологических и других заболеваний.

**Ключевые слова:** органилсульфанил(сульфонил)уксусные кислоты, 2-гидроксиэтиламмониевые соли, синтез, фармакологическая активность

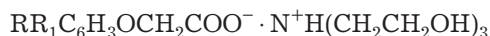
### Оглавление

Введение .....	467
Синтез исходных органилсульфанил(сульфонил)уксусных кислот .....	468
Фармакологическая активность 2-гидроксиэтиламмониевых солей органилсульфанил(сульфонил)уксусных кислот .....	470
Антитромботические, гипохолестеринемические и протекто-адаптационные свойства .....	471
Иммуноактивные свойства .....	474
Противоопухолевая активность .....	475
Токсикологические исследования .....	475
Заключение .....	476

### ВВЕДЕНИЕ

Ароксиалканкарбоновые кислоты и их производные со второй половины прошлого века нашли широкое применение в качестве эффективных стимуляторов роста сельскохозяйственных растений и как гербициды для борьбы с сорняками в посевах различных культур [1]. Исследования, проведенные в 1980–1990-х годах в Иркутском институте органической химии Сибирского отделения АН

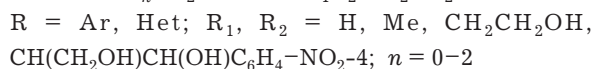
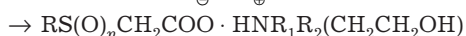
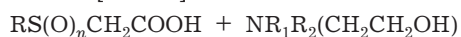
СССР совместно с рядом научно-исследовательских институтов и организаций медицинского и сельскохозяйственного профиля, показали, что 2-гидроксиэтиламмониевые соли ароксидуксусных кислот обладают высокой специфической биологической активностью и перспективны для применения в медицине и сельском хозяйстве. Так, трис-(2-гидроксиэтил)-аммоний-2-метилфеноксиацетат и трис-(2-гидроксиэтил)аммоний-2-метил-4-хлорфеноксиацетат с общей формулой



где R = 2-CH<sub>3</sub>, R<sub>1</sub> = H (**I**) – лекарственный препарат трекрезан, а R = 2-CH<sub>3</sub>, R<sub>1</sub> = 4-Cl (**II**) – хлоркрезацин. Будучи нетоксичными (LD<sub>50</sub> = 3000 и 1500 мг/кг соответственно), соединения **I** и **II** обладают адаптогенными, гемопоз- и иммуномодулирующими свойствами [2–18]. Они повышают устойчивость организма животных при цитотоксической гипоксии, гипер- и гипотермии, интоксикации алкоголем, солями тяжелых металлов, фосфорорганическими соединениями, при воздействии электромагнитного излучения. Хлоркрезацин **II** эффективно подавляет пролиферацию опухолевых клеток мастоцитомы, меланомы, лимфомы и гепатомы, тормозит процесс метастазирования клеток гепатомы в легкие, превосходя по этим свойствам известный препарат “5-Фторурацил” [16].

Под названием “крезацин” соединение **I** используется в сельском хозяйстве для увеличения урожайности и устойчивости сельскохозяйственных культур, для повышения продуктивности животноводства, птицеводства, рыбобразведения, пчеловодства, служит стимулятором роста полезных микроорганизмов [19–28].

Серосодержащие аналоги этих соединений – алканоламмониевые соли органилсульфанил(сульфонил)уксусных кислот (АСК) – синтезированы нами реакцией соответствующих кислот с моно-, ди- и триэтаноламином, диметил- и диэтилэтаноламином, 1-(4-нитрофенил)-2-амино-1,3-диоксипропанолом с выходом 70–90 % при 60–70 °С в спиртовой среде по схеме [29–38]



Будучи нетоксичными соединениями (LD<sub>50</sub> = 1300–6000 мг/кг), АСК проявляют высокую и разнообразную биологическую активность, которая не уступает, а зачастую и превосходит активность родственных им алканоламмониевых солей ароксидуксусных кислот. В работе [28] приведены результаты испытаний и применения АСК в качестве новых высокоэффективных ростостимулирующих препаратов в биотехнологических процессах культивирования полезных бактерий, грибов; при

производстве кормовых и пекарских дрожжей, пищевой лимонной кислоты, лечебно-профилактического препарата “Бифидумбактерин”; в технологии изготовления пивоваренного солода, выращивания тутового и дубового шелкопряда. В данной работе обсуждаются разработанные нами эффективные методы синтеза органилсульфанил(сульфонил)уксусных кислот – исходных соединений для получения АСК. Показана высокая и многосторонняя фармакологическая активность АСК, что открывает перспективы для разработки на их основе передовых лекарственных средств.

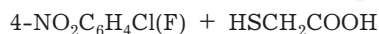
#### СИНТЕЗ ИСХОДНЫХ ОРГАНИЛСУЛЬФАНИЛ(СУЛЬФОНИЛ)-УКСУСНЫХ КИСЛОТ

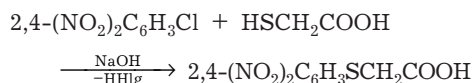
В отличие от 2-гидроксиэтиламинов (товарных продуктов) синтез второго компонента АСК, арил(гетерил)сульфанил(сульфонил)уксусных кислот, с выходом до 90 % осуществлен нами с применением наиболее распространенного для алкил- и ряда арилсульфанилуксусных кислот метода получения [29], основанного на взаимодействии органилтиолов с монохлоруксусной кислотой в водной щелочной среде при 90–100 °С в течение 1.5–2 ч:



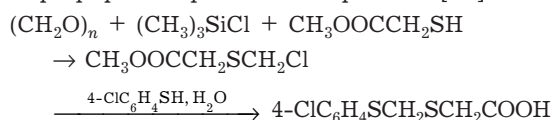
R = Ph, 2-MeC<sub>6</sub>H<sub>4</sub>, 4-MeC<sub>6</sub>H<sub>4</sub>, 2-ClC<sub>6</sub>H<sub>4</sub>, 4-ClC<sub>6</sub>H<sub>4</sub>, 4-MeOC<sub>6</sub>H<sub>4</sub>, 4-FC<sub>6</sub>H<sub>4</sub>, 4-CF<sub>3</sub>C<sub>6</sub>H<sub>4</sub>, 4-BrC<sub>6</sub>H<sub>4</sub>, 4-NO<sub>2</sub>C<sub>6</sub>H<sub>4</sub>, 2,4-Cl<sub>2</sub>C<sub>6</sub>H<sub>3</sub>, 2,5-Cl<sub>2</sub>C<sub>6</sub>H<sub>3</sub>, 2-Me, 4-ClC<sub>6</sub>H<sub>3</sub>, 3,4-Me<sub>2</sub>C<sub>6</sub>H<sub>3</sub>, 2,4-Me<sub>2</sub>C<sub>6</sub>H<sub>3</sub>, 3-(2-НООСС<sub>6</sub>H<sub>4</sub>ННСО)С<sub>6</sub>H<sub>4</sub>, 3-(3-НООСС<sub>6</sub>H<sub>4</sub>ННСО)С<sub>6</sub>H<sub>4</sub>, индол-3-ил, пиридин-2-ил, пиримидин-2-ил, 5-бутил-пиримидин-2-ил, хиолин-2-ил, пурин-8-ил, 1,3-бензимидазол-2-ил, 1,3-бензтиазолил.

2(4)-Нитро- и 2,4-динитрофенилсульфанилуксусные кислоты получены с высоким выходом при взаимодействии фтор(хлор)-2(4)-нитробензолов или 2,4-динитрохлорбензола с тиогликолевой кислотой при 80 °С в спиртовой щелочи. В то же время в литературе [30] описан метод синтеза 4-нитрофенилсульфанилуксусной кислоты, который осуществляется в безводной среде в присутствии щелочных металлов [30]:





Разработан метод синтеза метилового эфира хлорметилсульфанилуксусной кислоты, который при взаимодействии с 4-хлортиофенолом с высоким выходом образует 4-хлорфенилсульфанилметилсульфанилуксусную кислоту. Для получения  $\alpha$ -хлорсульфида впервые применена хлорметилирующая система параформ – триметилхлорсилан [31]:

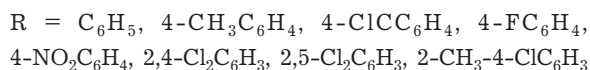
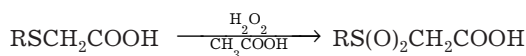


Учитывая высокую биологическую активность производных индола, синтезирован ряд 1-Н-, 1-*R*-индол-3-илсульфанилуксусных кислот по оригинальной методике [32, 33] без использования нестойких, аллергенных и труднодоступных индолтиолов. Индол-3-илсульфанилуксусные кислоты синтезированы с выходом более 80 % взаимодействием индол-3-илизотиуроний йодидов, полученных *in situ* из индолов, тиомочевины, йода (в соотношении 1 : 2 : 1 соответственно) в присутствии йодистого калия, с монохлоруксусной кислотой и щелочью в спиртовой среде. Чистота соединений без дополнительной очистки достигала 94–99 % (схема 1).

Используя этот прогрессивный подход к синтезу индолилсульфанилуксусных кислот реакцией 1-замещенных пиррола с йодом, тиомочевинной и галогенкарбоновыми кислотами, мы впервые получили 1-бензилпиррол-2-сульфанил-

уксусные и 1-метилпиррол-2-сульфанилуксусные кислоты с выходом 59–68 % [34] (схема 2).

Для синтеза арилсульфанилуксусных кислот, содержащих шестивалентный атом серы, в литературе используется метод окисления арилсульфанилуксусных кислот избытком окислителя, однако при этом часто образуется смесь продуктов. Нами разработан селективный метод окисления арилсульфанилуксусных кислот 30 %  $\text{H}_2\text{O}_2$  в ледяной уксусной кислоте при соотношении реагентов 1 : 2 : 2 в две ступени: с выдержкой смеси при комнатной температуре в течение 3–24 ч и кипячением в течение 15 мин на заключительном этапе. Это позволило увеличить выход (65–93 %) и чистоту целевых продуктов [35, 36]:



4-Метил- и 4-хлорфенилсульфанилуксусные кислоты получены также с выходом до 70 % окислением соответствующих арилсульфанилуксусных кислот 30 %  $\text{H}_2\text{O}_2$  в уксусном ангидриде.

Наиболее удобный препаративный метод синтеза арилсульфанилуксусных кислот и их эфиров, исключаящий использование свободных тиолов, – конденсация арилсульфинатов натрия с монохлоруксусной кислотой. Варьированием соотношения реагентов, температуры, времени, природы растворителя получены продукты конденсации с выходом 85–93 % и высокой степени чистоты [35, 36]:

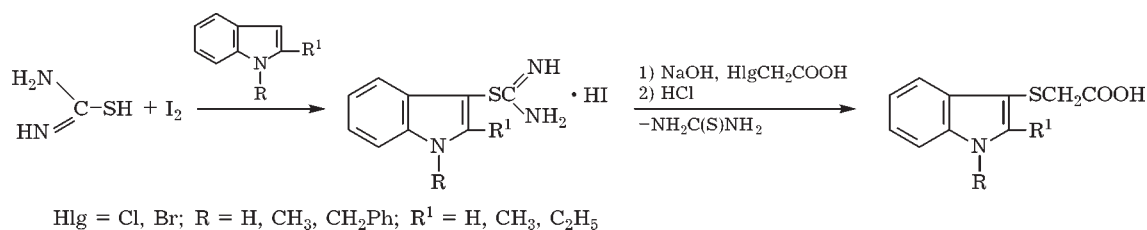


Схема 1.

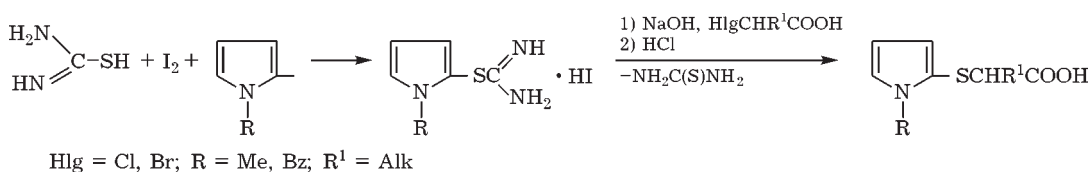


Схема 2.

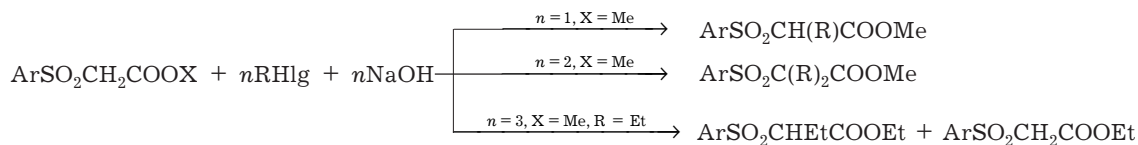


Схема 3.



R = H, 4-CH<sub>3</sub>, 4-Cl

Для синтеза арилсульфонилалканкарбоновых кислот с разветвленной углеродной цепью использован метод их алкилирования алкилгалогенидами и бензилхлоридом в присутствии гидроксида натрия. В зависимости от соотношения реагентов образуются продукты моно- либо диалкилирования с выходом 73–85 % [36] (схема 3).

#### ФАРМАКОЛОГИЧЕСКАЯ АКТИВНОСТЬ АСК

Известно, что исходные для синтеза АСК органилсульфанил(сульфонил)уксусные кислоты, некоторые их производные и 2-гидроксиэтиламины проявляют отдельные виды фармакологической активности. Так, 2-метил-4-хлор- и 2,4-дихлорфенилсульфанилуксусные кислоты обладают анестезирующими свойствами [37]. Гипотензивную активность проявляет фторсодержащая фенилсульфанилуксусная кислота [38]. Кислоты, в состав которых входит 4-хлорфенилсульфанильная группа, проявляют гипохолестеринемическую и анестезирующую активность [39], препятствуют выделению гистамина из лейкоцитов крови, могут быть использованы как антиаллергические средства [40], рекомендованы для лечения сердечно-сосудистых заболеваний [41]. Циклогексилфенилэтилиденсульфинил(сульфонил)уксусные кислоты, их алкиловые эфиры и амиды обладают антитромботической активностью, положительно влияют на холестеринный и триглицеридный обмен [42]. Фенилзамещенные сульфанилуксусные кислоты проявляют антиаритмическую активность [43]. Гидразиды хлор-, метокси-, этокси-, нитрозамещенных акридинил-9-сульфанилуксусных кислот, будучи умеренно токсичными соединениями, проявляют нейротропную, противовоспалительную, анальгезирующую,

антигипоксическую и противомикробную активность [44]. Цитостатической активностью обладают гидрохлориды гидразидов 5,6-диметилбензимидазолил-2-сульфанил-, 2-аминобензтиазолил-3-сульфанил- и 1,3-диметилксантинил-8-сульфанилуксусной кислоты [45]. Исследовано влияние производных бензимидазолил-2-сульфанилуксусных кислот, содержащих тиетановый цикл, на гуморальное и клеточное звено иммунитета. Установлено, что в зависимости от строения они оказывают как иммуностимулирующий, так и иммуносупрессивный эффект [46].

2-Гидроксиэтиламины – второй компонент для синтеза АСК – также обладают свойствами биологически активных соединений [47, 48]. Они входят в состав ряда физиологически важных веществ и лекарственных препаратов. Так, 2-гидроксиэтиламмониевый фрагмент присутствует в молекулах холина, ацетилхолина и коламина. Моноэтаноламин является составной частью кефалинов, а диметилэтаноламин – лецитина, относящихся к классу фосфолипидов. Последние играют важную роль в живых организмах, участвуя в образовании нервных клеток и плазмы крови. Моноэтаноламин представляет собой промежуточный продукт в биосинтезе и метаболизме аминокислоты глицина, необходимой для формирования различных органов и тканей. Фрагмент NCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>O входит в состав фосфолипидов, коэнзима Q, витамина B<sub>12</sub>. Сообщалось об антиоксидантном действии этаноламинов. Ингибирующее влияние этаноламинов возрастает с увеличением числа гидроксильных групп в молекуле аминспирта. Аминспирты нормализуют углеводный обмен, стимулируют накопление гликогена в печени, биосинтез нуклеиновых кислот и протеинов [47, 48]. Исследовано влияние моно-, ди- и триэтаноламина на электрокинетический потенциал кровяных пластинок. В концентрациях 10<sup>-3</sup>–10<sup>-4</sup> М они ингибируют функциональную активность тромбоцитов, причем

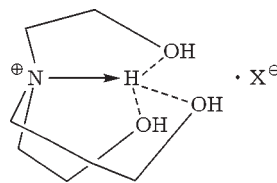
наибольшая активность отмечена для триэтанолamina [49]. На основе диметил-, диэтилэтанолamina, пиридил- и морфолилэтанолamina синтезированы лекарственные препараты, обладающие антиаллергическими и антигистаминными свойствами [48]. Активность этих соединений, близких по структуре к гистамину, но в отличие от него нетоксичных, объясняется повышенной способностью образовывать комплексы с белками и ионами металлов.

В химиотерапии рака нашли применение соединения с так называемым ипритным азотом ( $\text{NHCH}_2\text{CH}_2\text{Cl}$ ) или азиридиновыми ядрами, которые гидролизуются в организме до этанолamiнов, образующих комплексы с металлами и оказывающих специфическое алкилирующее воздействие на раковые клетки [50]. Алканолamiны активно участвуют в метаболизме различных внутриклеточных систем, как в виде комплексов с ионами металлов (если это необходимо для введения во внутриклеточную среду недостающих металлов), так и в составе органических соединений со встроенным "ипритным азотом" (если их использовать для связывания ионов нежелательных металлов) [48].

Проведен скрининг физиологической активности около 100 синтезированных нами АСК. Установлено, что при низкой токсичности они проявляют адаптогенную, гемопоэз- и иммуномодулирующую, противоопухолевую, антиметастатическую, антиагрегационную активность, повышают устойчивость организма животных при гипоксии, гипер- и гипотермии, воздействии ультразвука и  $\gamma$ -облучения.

Высокая биологическая активность АСК, как и родственных им алканоламмониевых солей ароксисукусных кислот, превосходящая активность исходных кислот и алканолamiнов, вероятно, связана с их необычным строением. Методом рентгеновской дифракции на примере трекрезана и трис-(2-гидроксиэтил)аммоний-4-хлорфенилсульфанилацетата нами установлена оригинальная компактная трициклическая (2,8,9-тригидропротатрановая) структура этих соединений, содержащая связь  $\text{N} \rightarrow \text{H}$  и внутримолекулярные трифуркационные связи  $\text{H} \cdots \text{OH}$  [51, 52] (схема 4).

Такая компактная структура триэтаноламмониевых солей арокси- и органилсульфанил(сульфонил)уксусных кислот, по-видимому,



$\text{X} = 2\text{-CH}_3\text{-C}_6\text{H}_4\text{OCH}_2\text{COO}, 4\text{-Cl-C}_6\text{H}_4\text{SCH}_2\text{COO}$

Схема 4.

повышает их способность эффективно преодолевать клеточные барьеры. Подобной моно- или бициклической эндоструктурой теоретически могут обладать соли и других алканолamiнов (моно- и метилэтанолamina, диэтанолamina и диметилэтанолamina) с органилсульфанил(сульфонил)уксусными кислотами, также исследованные нами в качестве новых фармакологически активных веществ.

#### *Антитромботические, гипохолестеринемические и протекто-адаптационные свойства*

Образование тромбоцитарных и других клеточных агрегатов, закупоривающих мелкие сосуды и нарушающих систему микроциркуляции крови, связано с изменением функциональной активности тромбоцитов. При действии 2-гидроксиэтиламмониевых солей арилсульфанилуксусных кислот в концентрациях  $10^{-5}$ – $10^{-7}$  М во всех случаях отмечено повышение электрокинетического потенциала тромбоцитов и ингибирование индуцированной аденозиндифосфатом (АДФ) агрегации тромбоцитов [49, 53–59]. Эффект соединений зависит от природы, числа и положения заместителей в ароматическом ядре и возрастает в случае электроотрицательных заместителей (4-Cl, 4-NO<sub>2</sub>, 2,3-Cl<sub>2</sub>, 3,5-Cl<sub>2</sub>). Влияние алканоламмониевого фрагмента АСК исследовано на примере 2-гидроксиэтиламмониевых солей 4-хлорфенилсульфанилуксусной кислоты. Ингибирование агрегации тромбоцитов в концентрации  $10^{-6}$  М составило для моно-, ди- и триэтаноламмониевых солей 36, 40 и 45 % соответственно. С увеличением количества оксиэтильных заместителей, по-видимому, повышается сродство к клеточным мембранам тромбоцитов. Алканоламмониевые соли органилсульфанил(сульфонил)уксусных кислот, в состав которых входит шестивалент-



ный атом серы (сульфонильная группа), активны в меньших концентрациях по сравнению с их аналогами, содержащими двухвалентный (сульфанильный) атом серы [49, 53–55]. Аналогично производным серосодержащих кислот трис-(2-гидроксиэтил)аммониевая соль фенилселеноуксусной кислоты препятствует агрегации тромбоцитов при использовании в качестве индукторов АДФ, тромбина и фосфолипазы С [58].

Для расширенных исследований фармакологической активности *in vitro* и *in vivo* отобраны следующие наиболее активные соединения: трис-(2-гидроксиэтил)аммоний-4-хлорфенилсульфонил-ацетат – сульфациетамин (СФА) [55] с формулой  $4\text{-ClC}_6\text{H}_4\text{SO}_2\text{CH}_2\text{COO}^- \cdot \text{HN}^+(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{OH})_3$  и трис-(2-гидроксиэтил)аммоний-индол-3-илсульфанилацетат – индацетамин (ИНА) с формулой [59]  $3\text{-Ind-S-CH}_2\text{COO}^- \cdot \text{N}^+\text{H}(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{OH})_3$ .

В присутствии СФА в концентрациях  $10^{-5}$ – $10^{-7}$  М индуцированная АДФ агрегация тромбоцитов *in vitro* ингибировалась на 80–85 %, поверхностный заряд тромбоцитов при этом через 15 мин увеличивался на 30–35 %. Агрегация тромбоцитов, индуцируемая серотонином, адреналином, гистамином, тромбином, также почти полностью ингибировалась сульфациетамином.

В опытах *in vivo* при внутривенном введении кроликам СФА в дозе 1 мг/кг через 15 мин АДФ-индуцированная агрегация тромбоцитов понижалась на 57 % по сравнению с контролем. Заряд тромбоцитов увеличивался при этом на 35 % по сравнению с интактными тромбоцитами. Соединение СФА замедляло начало времени свертывания крови уже через 15 мин с 50 до 234 с. В тесте “тромбопластинное время” действие соединения также проявлялось через 15 мин и продолжалось до 24 ч. При предварительном введении СФА в дозе 2 мг/кг крысам внутривенно и последующем быстром введении тромбина (в дозе, вызывающей летальный исход у 70 % животных) выживаемость животных повышалась на 50–65 % [49, 53–55].

Один из перспективных путей воздействия на тромботический процесс – применение препаратов, сочетающих антиагрегантное и антиокислительное действие. Антиоксидантное действие СФА изучено в сравнении с ионолом. В качестве экспериментального

теста использован метод ингибирования индуцированной ионами железа (II) слабой хемилюминесценции (ХЛ) плазмы, обогащенной тромбоцитами. В концентрации  $10^{-6}$  М СФА на 57 % ингибирует индуцированную ХЛ плазмы (ионол в дозе  $10^{-3}$  М – только на 15–20 %). Преимущество СФА также состоит в высокой антитромботической и мембранозащитной активности.

При неблагоприятных условиях под воздействием внешних и внутренних факторов (гипоксия, температурные воздействия, облучение, интоксикации, сердечнососудистые заболевания) происходят изменения целостности и функциональной активности мембран эритроцитов, что приводит к активации свертывающей системы крови, расстройству процессов ее микроциркуляции, гемодинамическим изменениям. Изучено влияние СФА на резистентность мембран эритроцитов кролика к химическому, сапониновому и ультразвуковому гемолизу *in vitro*. В концентрациях  $10^{-5}$ – $10^{-7}$  М СФА повышал резистентность мембран эритроцитов к HCl на 12–39 %, к сапонинам – на 5–12, к УЗ-гемолизу – на 17–40 %. Увеличение резистентности эритроцитов к повреждающим факторам под действием сульфациетамин обусловлено, по-видимому, влиянием вещества на прочность белково-липидных комплексов мембран эритроцитов [49, 53–55].

Высокий защитный эффект показал индацетамин [59]. При инкубации эритроцитов с ИНА в концентрациях  $10^{-4}$ – $10^{-2}$  М их катифоретическая мобильность возрастала на 9–20 %. В концентрациях  $10^{-2}$ – $10^{-10}$  М ИНА *in vitro* увеличивал резистентность мембран эритроцитов к экстремальным воздействиям химических и механических повреждений (HCl, сапонины, бактериальный эндотоксин *Salmonella thyphimurium* (ЭТ), ультразвук,  $\gamma$ -облучение). В концентрациях  $10^{-4}$ – $10^{-8}$  М защитный эффект ИНА при УЗ-воздействии составлял 19–49 %, при действии сапонинов – 18–39 %. При предварительном инкубировании 5 % суспензии эритроцитов кроликов в течение 30 мин с ИНА в концентрациях  $10^{-2}$ – $10^{-4}$  М перед облучением в дозе 500 крад гемолиз эритроцитов составил 0.7–18 % по отношению к контролю (в контроле – 100 %). В случае радиационного повреждения

мембран эритроцитов происходит выход гемоглобина из клеток, поэтому о степени их разрушения можно судить по количеству выделившегося свободного гемоглобина. В концентрации  $10^{-6}$ – $10^{-5}$  М ИНА снижал выход свободного гемоглобина из клеток через 60 мин на 36–49 %, в концентрациях  $10^{-4}$  М через 180 мин – на 39–60 %.

В дозе 0.2 мг/кг ИНА оказывал влияние на интенсивность инициированных ионами  $Fe^{2+}$  реакций пероксидного окисления липидов в изолированных мембранах эритроцитов. Под действием ИНА угнеталась способность мембран эритроцитов к переокислению. Через 60 мин после введения ИНА содержание активных продуктов окисления тиобарбитуровой кислоты уменьшалось на 29 %, через 120 мин – на 37.7 %. Повышение антиокислительных свойств мембран эритроцитов, по-видимому, является одним из основных механизмов защитного действия ИНА.

Учитывая большую роль тромбоцитов в гемостазе и при диссеминированном внутрисосудистом свертывании крови (ДВС), исследовано влияние ИНА на мембраны тромбоцитов. В опытах *in vitro* установлен высокий защитный эффект ИНА – ингибирование агрегации тромбоцитов, блокирование реакции высвобождения и метаболизма эндогенной арахидоновой кислоты, увеличение концентрации свободных SH-групп на мембранах. В концентрациях  $10^{-3}$ – $10^{-2}$  М ИНА снижал степень агрегации тромбоцитов, вызванной АДФ, на 16–80 %, тромбином – на 10–44 %, фосфолипазой С – на 29–37 %. Скорость агрегации при этом снижалась на 27–73, 29–81 и 36–53 % соответственно. Максимальный ингибирующий эффект соединения при агрегации, индуцированной арахидоновой кислотой и ЭТ, составил 38–73 и 15–74 % соответственно.

Резистентность мембран тромбоцитов к дезинтегрирующим факторам зависит от уровня свободных сульфгидрильных групп. После инкубации тромбоцитов с ИНА в дозах  $1.5 \cdot 10^{-3}$ – $1.2 \cdot 10^{-2}$  М в течение 15 мин при 37 °С концентрация свободных SH-групп возрастала в диапазоне от  $0.68 \cdot 10^{-5}$  до  $3.07 \cdot 10^{-5}$  М (в контроле –  $0.65 \cdot 10^{-5}$  М).

Выявлено положительное влияние ИНА на параметры центральной гемодинамики и сократительной функции миокарда при развитии ДВС

у кроликов. При эндотоксиновом ДВС-синдроме изменяются артериальное давление, минутный объем сердца (МОС) и общее периферическое сопротивление сосудов (ОПС). При внутривенном введении ИНА в дозе 25 мг/кг, начиная с 31 мин после введения, наблюдается устойчивое повышение артериального давления в течение 5 ч, увеличение ОПС в течение 2 ч, тогда как МОС за это время не изменялся. При этом улучшались и основные показатели сократительных функций миокарда.

Патогенез атеросклероза тесно связан с тромбозом и гиперхолестеринемией, способствующими развитию сердечно-сосудистых поражений. Для лечения этих заболеваний перспективно применение препаратов, сочетающих антитромботическую, антиоксидантную и гипохолестеринемическую активность с низкой токсичностью. На беспородных белых крысах изучена гипохолестеринемическая активность СФА [60] и ИНА [61]. Экспериментальную гиперлипидемию создавали путем однократного внутрибрюшинного введения животным неионного детергента – твина-80 из расчета 200 мг на 100 г массы тела (твиновая модель) в 1 мл дистиллированной воды. Препараты СФА и ИНА вводили внутрибрюшинно в концентрациях 25 и 50 мг/кг через 5 мин после введения детергента. Эффективность соединений оценивали через 1 сут и сравнивали с клофибратом, вводимым в тех же дозах. Установлено, что СФА вызывал снижение уровня общего холестерина на 53 % в дозе 25 мг/кг и на 63 % в дозе 50 мг/кг, а ИНА в дозе 25 мг/кг снижал уровень общего холестерина и триглицеридов крови на 36 и 42 % соответственно по сравнению с контролем. Препарат сравнения в дозах 25 и 50 мг/кг снижал уровень холестерина на 25 и 27 % соответственно, уровень триглицеридов – на 20 %. Гипохолестеринемическое действие СФА и ИНА не сопровождалось нежелательными побочными эффектами и проявлялось не только в уменьшении общего уровня холестерина, но и, что особенно важно, в понижении содержания в крови атерогенных липопротеидов низкой плотности в большей степени, чем снижение уровня холестерина. Липопротеидный состав крови нормализовался, и содержание холестерина приближалось к физиологической норме.

Проблемы повышения адаптационного потенциала организма при различных экстремальных воздействиях в настоящее время приобретают все большее значение. Исследованы защитные свойства СФА к гипоксии и нагрузке при внутрибрюшинном введении его белым беспородным мышам. Препарат применяли в течение 1 мес. в дозах 4 и 60 мг/кг. Устойчивость к гипоксии выявляли при помощи барокамеры "Ку-7", определяя максимальную высоту подъема и максимальное время пребывания животных на высоте 12 000 м до появления у них бокового положения. Об устойчивости животных к физической нагрузке судили по времени плавания их в воде при температуре 18 °С до первого погружения в воду. Установлено, что оптимальная доза препарата составила 4 мг/кг, при этом максимальная продолжительность пребывания животных на высоте 12 000 м в 2.5–3 раза превышала продолжительность их пребывания в контроле. Максимальный потолок "подъема" оказался на 3000–4000 м выше для опытных животных по сравнению с контрольными. Препарат СФА также повышал устойчивость организма к физической нагрузке. Так, при дозе 4 мг/кг длительность плавания мышей возрастала более чем в два раза по сравнению с интактными животными.

#### Иммуноактивные свойства

Селективные иммуномодуляторы – новый и актуальный раздел иммунофармакологии. Существующие препараты как иммуностимуляторы, так и иммунодепрессанты обладают неспецифическим характером действия. При этом иммунодепрессанты характеризуются выраженной токсичностью, высоким риском развития побочных реакций и наличием целого ряда противопоказаний.

Актуальной задачей является создание новых иммуноактивных препаратов для лечения аутоиммунных, иммунокомплексных, иммунодефицитных, лимфопролиферативных, онкологических, аллергических заболеваний, осложнений при трансплантации органов и костного мозга и других заболеваний, связанных с активацией В-системы иммунитета и продукцией разнообразных антител.

В настоящее время нет лекарственных средств, разрешенных к медицинскому применению и способных селективно изменять баланс цитокинов Th1/Th2 в нужном направлении [62].

На основании скрининга иммуноактивных свойств АСК *in vitro* и *in vivo* впервые в ряду трис-(2-гидроксиэтил)аммониевых солей арил- и индол-3-илсульфанил(сульфонил)уксусных кислот выявлены соединения с потенциальной способностью изменять баланс продукции про-/противовоспалительных цитокинов клетками Th1 или Th2, формируя клеточный или гуморальный иммунитет соответственно с минимальным потенциалом нежелательного влияния на различные системы организма, в том числе на процессы кроветворения и иммунопоза [63–72].

Наиболее подробно в качестве перспективных соединений для создания новых иммуномодуляторов исследованы (ИНА) [63–66] и его структурный аналог – трис-(2-гидроксиэтил)-аммоний-1-бензил-индол-3-илсульфанилацетат (ВМ) [67–72] с формулой



Отличительная особенность ИНА и ВМ состоит в том, что они обладают выраженной антипролиферативной активностью в культуре *in vitro* и иммунодепрессивными свойствами *in vivo* при относительно низкой токсичности. Индацетамин обладает выраженными эритро- и иммунопоземодулирующими свойствами. Так, у мышей с различными клиническими вариантами иммунопатологии (иммунодефицитом, анемией, иммунокомплексным гломерулонефритом) он восстанавливает пролиферативно-дифференцировочные параметры гемопоэтических предшественников эритропоза. В частности, ИНА ингибирует продукцию провоспалительных цитокинов ИЛ-1 $\beta$ , ФНО $\alpha$ , снижает число ранних эритроидных предшественников, стимулирует количество предшественников гранулоидно-макрофагального ряда. Благодаря этому устраняется анемия, восстанавливаются функции иммунитета. В экспериментальной модели аутоиммунного заболевания (иммунокомплексный гломерулонефрит) ИНА проявляет выраженный клинический эффект (устраняет анемию, повышает массу тела животных, снижает СОЭ и протеинурию), что обусловлено подавлением продукции провоспалительных цитокинов, по-



нижением гиперплазии эритропоэза с ранних стадий дифференцировки эритрона у больных мышей. По данным морфологического изучения, соединение тормозит развитие мезангиального пролиферативного гломерулонефрита.

Препарат ВМ в культуре *in vitro* подавляет митогенстимулированную пролиферацию клеток селезенки мышей и лимфоцитов крови человека, опухолевых клеток разных линий, а также стимулированную тестостероном пролиферацию стволовых кроветворных клеток костного мозга мышей [67]. Препарат ВМ является иммунодепрессантом с противоопухолевым эффектом. Показано, что он может подавлять Th2-зависимую активацию В-клеток (ингибирование антителообразования, продукции IgE), т. е. обладает антиаллергическими свойствами.

Иммунодепрессант ВМ обладает малой способностью к кумуляции, не угнетает кроветворение, не проявляет побочных нефро- и гепатотоксических свойств известных иммунодепрессантов циклоспорина А и азатиоприна [67].

Следует отметить, что ИНА [63–65] и ВМ [67–69] способны избирательно влиять на соотношение функции Т- или В-системы иммунитета, вызывая девиацию иммунного ответа в определенном направлении (Th1 или Th2).

### Противоопухолевая активность

Исследована цитостатическая активность арилзамещенных АСК *in vitro* в отношении клеток асцитных форм опухолей лимфаденомы НК/Лу, аденокарциномы Эрлиха, лимфаденомы Фишера и саркомы 37 по степени торможения синтеза нуклеиновых кислот в опухолевых клетках [73].

Выявлены соединения, обладающие высокой цитостатической активностью в дозах 1–10 мкг/мл, сравнимой с активностью известного противоопухолевого препарата “Новэмбихин”. В опытах *in vivo* (на беспородных белых мышах) на четырех штаммах перевиваемых опухолей наибольшую активность проявили трис-(2-гидроксиэтил)аммониевые соли 2-метил-, 4-хлорфенилсульфанил- и 3,4-диметилсульфонилауксусных кислот: они подавляли рост штаммов Эрлиха, Фишера и саркомы 37 на 68–88 %. При этом канцеростати-

ческая активность солей арилсульфонилауксусных кислот оказалась выше по сравнению с таковой для соответствующих арилсульфанилпроизводных [73].

Исследована противоопухолевая активность трис-(2-гидроксиэтил)аммониевых солей 1-метилендиол-3-илсульфанил- и ВМ в дозах 3–300 мкг/мл на линейных и гибридных мышах [70]. Исследование проводилось <sup>3</sup>H-тимидиновым методом на клетках мастоцитомы Р815, меланомы В16, лимфомы L1210 и гепатомы Г27. В качестве препарата сравнения использовали широко применяемый в онкологии цисплатин в дозе 6 мкг/мл. На опухолевых клетках четырех типов наибольший дозозависимый цитотоксический эффект проявил ВМ. Максимальный эффект этого соединения (подавление роста опухолей на 89–99 %) достигался при дозах 150 мкг/мл на всех использованных типах опухолевых клеток, что свидетельствует об отсутствии дифференциальной чувствительности опухолевых клеток к этому соединению.

При изучении противоопухолевой активности *in vivo* на опухолях лимфолейкоза L1210, меланомы В16 и гепатомы Г2 трис-(2-гидроксиэтил)аммоний-1-метилендиол-3-сульфанилацетат и ВМ уменьшали количество метастазов в легкие на 17–43 %. Установлено, что ВМ проявляет антиметастатический эффект, сравнимый с эффектом цисплатина. Выявлена эффективность комбинированного применения ВМ с цисплатином (1/2 дозы) на метастазирование меланомы В16: эффект комбинации оказался существенно выше (около 70 %) по сравнению с применением каждого из препаратов в отдельности (26.2 и 49.4 % соответственно) благодаря проявлению потенцирующего эффекта. В отличие от цисплатина ВМ нетоксичен.

### Токсикологические исследования

Исследование острой токсичности АСК проводилось на беспородных белых мышах при внутрибрюшинном способе введения. Большинство синтезированных соединений нетоксичны для теплокровных животных ( $LD_{50} = 1300–6000$  мг/кг) и перспективны для расширенных медико-биологических испытаний.

В ряду 2-гидроксиэтиламмониевых солей арилсульфонилуксусных кислот прослеживается тенденция к увеличению токсичности при введении второго заместителя в бензольное кольцо аниона и уменьшению числа 2-гидроксиэтильных групп в аммониевом фрагменте. Более подробно исследована токсичность соединений, которые перспективны для практического использования в качестве потенциальных лекарственных средств.

Так, токсичность СФА при внутрибрюшинном введении составляет 6000 мг/кг. Соединения АСК, содержащие гетероциклический радикал, как правило, менее токсичны, чем их аналоги с ароматическим радикалом. На беспородных белых мышах при внутрибрюшинном и *per os* введении проведено изучение острой и хронической токсичности ИНА. При внутрибрюшинном введении  $LD_{50} = 3000$  мг/кг, при введении *per os* – 4466 мг/кг. Вещество не обладает кожно-нарывным и резорбтивным действием. В хроническом опыте при введении препарата в дозе 10 мг/кг не выявлено отклонений в тканях органов животных. Индацетамин не обладает аллергенными, мутагенными, цитотоксическими и тератогенными свойствами.

Детально исследована острая и хроническая токсичность ВМ [71, 72]. При определении острой токсичности этого вещества среднесмертельные дозы для мышей в зависимости от пола составили 1300–1500 мг/кг, для крыс – 470–700 мг/кг, что позволяет отнести это соединение к III классу опасности. Благодаря низкой способности к кумуляции, оно не накапливается в организме животных в опасных концентрациях. Введение препарата животным в течение полугода привело лишь к незначительным изменениям на кардиограмме. При изучении аллергенных и мутагенных свойств соединения ВМ с использованием различных экспериментальных моделей не установлено нежелательных побочных эффектов в виде проявлений аллергии и мутагенности. В экспериментах на животных ВМ проявляет легкое обезболивающее и противовоспалительное действие, не оказывает существенного влияния на центральную нервную и сердечно-сосудистую систему, не влияя на частоту и ритм дыхания.

Изучение фармакокинетики соединения ВМ показало, что оно быстро поступает в системный кровоток кролика при внутрижелудочном введении и определяется в течение 24 ч [72]. Его абсолютная биодоступность составляет 0.71. Максимальное содержание соединения ВМ обнаружено в почках и печени, а минимальное – в сердечной и скелетной мышцах, а также в головном мозге. Биохимические исследования состояния печени и почек свидетельствуют о его безопасности как лекарственного препарата.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

2-Гидроксиэтиламмониевые соли органилсульфанил(сульфонил)уксусных кислот, препаративные методы получения которых из доступного сырья разработаны нами, – это новый класс фармакологически активных веществ, обладающих высокой антиагрегационной, мембраностабилизирующей, антиоксидантной, антиметастатической, кардиотропной, гипохолестеринемической активностью. Выявлены нетоксичные препараты (ИНА, ВМ) с иммуностропной и противоопухолевой активностью, перспективные для создания пероральных лекарственных средств для лечения иммунодефицитных, аутоиммунных, онкологических и других заболеваний.

Работа выполнена при финансовой поддержке Программы фундаментальных исследований Президиума РАН № 5 “Фундаментальные науки – медицине” (проект ФНМ-12).

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- 1 Мельников Н. Н. Пестициды. М.: Химия, 1987. 222 с.
- 2 Регистр лекарственных средств России. М.: Информхим, 1995. 487 с.
- 3 Платонова Р. Н., Воронков М. Г., Ольховенко В. П., Поляченко В. М., Карпова Н. И., Парфенов Г. Г., Дьяков В. М., Семенова Н. В., Платонова А. Т., Ратнер Е. Т. // Докл. РАН. 1976. Т. 226, № 6. С. 1433.
- 4 Воронков М. Г., Батоев Ц. Ж., Цибекмитова Г. Ц., Семенова Н. В. // Докл. РАН. 1985. Т. 284, № 1. С. 241.
- 5 Воронков М. Г., Семенова Н. В., Казимировская В. Б., Холдеева Л. Н., Москвитина Л. Т., Непша В. Д., Новикова Н. В. // Хим.-фарм. журн. 1986. Т. 20, № 8. С. 952.
- 6 Пат. 2099051 РФ, 1997.
- 7 Казимировская В. Б., Семенова Н. В., Москвитина Л. Т., Непша В. Д., Новикова Н. В., Воронков М. Г. // Эксперим. и клин. фармакология. 1995. Т. 58, № 3. С. 37.

- 8 Ширинский В. С., Колесникова О. П., Кудалева О. Т., Семенова Н. В., Жук Е. А., Мирскова А. Н., Тузова М. Н., Сухенко Т. Г., Воронков М. Г., Козлов В. А. // Там же. 1993. Т. 56, № 3. С. 42.
- 9 Колесникова О. П., Кудалева О. Т., Сухенко Т. Г., Лимонов В. Л., Козлов В. А., Мирскова А. Н., Воронков М. Г. // Докл. РАН. 2003. Т. 391, № 3. С. 410.
- 10 Воронков М. Г., Мирскова А. Н., Левковская Г. Г. // Там же. 2002. Т. 385, № 3. С. 411.
- 11 Кассин В. Ю., Николаев М. П., Миронова Л. Д., Ролик И. С., Конюшко О. И., Мирскова А. Н., Воронков М. Г. // Рос. оториноларингология. 2004. Т. 5, № 12. С. 85.
- 12 Шибанов П. Д., Ганопольский В. П., Зарубина И. В., Жумашев А. Б., Елистратов А. А. // Нейронауки. 2006. Т. 5, № 3. С. 43.
- 13 Воронков М. Г., Колесникова О. П., Расулов М. М., Мирскова А. Н. // Хим.-фарм. журн. 2007. Т. 41, № 5. С. 13.
- 14 Воронков М. Г., Расулов М. М. // Там же. 2007. Т. 41, № 1. С. 3.
- 15 Воронков М. Г., Софронов Г. А., Старченко Д. А., Адамович С. Н., Мирскова А. Н. // Докл. РАН. 2009. Т. 428, № 1. С. 125.
- 16 Колесникова О. П., Мирскова А. Н., Адамович С. Н., Мирсков Р. Г., Кудалева О. Т., Воронков М. Г. // Там же. 2009. Т. 425, № 4. С. 556.
- 17 Мирскова А. Н., Адамович С. Н., Мирсков Р. Г., Воронков М. Г. // Там же. 2010. Т. 433, № 5. С. 710.
- 18 Воронков М. Г., Нурбеков М. К., Бобкова С. Н., Каратулова Л. К., Сусова М. И., Расулов М. М. // Там же. 2010. Т. 431, № 2. С. 261.
- 19 А. с. 638315 СССР, 1977.
- 20 Хонходжаева Д. А., Воронков М. Г. // Докл. РАН. 1993. Т. 333, № 1. С. 124.
- 21 Воронков М. Г., Семенова Н. В., Цейтлина В. Р., Яковлева З. М. // Там же. 1994. Т. 335, № 3. С. 390.
- 22 Воронков М. Г., Горбалинский В. А., Дьяков В. М. // Там же. 1999. Т. 369, № 3. С. 831.
- 23 Воронков М. Г., Дыбан А. П., Дьяков В. М., Симбирцев Н. Л. // Там же. 1999. Т. 364, № 4. С. 703.
- 24 Павел Ю. Г., Карус А. Л., Кумар Ю. А., Шаттштейндер Т. К., Воронков М. Г. // Там же. 2002. Т. 385, № 3. С. 419.
- 25 Мирскова А. Н., Левковская Г. Г., Ступина А. Г., Чхенкели В. А., Воронков М. Г. // Там же. 2003. Т. 390, № 2. С. 280.
- 26 Воронков М. Г., Далмаа Г., Церенпил Ш., Угтахбаяр О., Чимидцогзол А. // Там же. 2005. Т. 404, № 4. С. 562.
- 27 Макарова Л. Е., Боровский Г. Б., Булатова А. М., Соколова М. Г., Воронков М. Г., Мирскова А. Н. // Агрохимия. 2006. № 10. С. 41.
- 28 Мирскова А. Н., Левковская Г. Г., Мирсков Р. Г., Воронков М. Г. // Журн. орган. химии. 2008. Т. 44, Вып. 10. С. 1501.
- 29 Pasto D. J., McMillan D., Murphy T. // J. Org. Chem. 1965. Vol. 30. P. 2688.
- 30 Wittman J., Fromm E. // Berichte. 1908. Vol. 4. P. 2264.
- 31 Евстафьева И. Т., Левковская Г. Г., Мирскова А. Н. // Журн. орган. химии. 1998. Т. 34, Вып. 9. С. 1305.
- 32 А. с. 1473294 СССР, 1987.
- 33 Левковская Г. Г., Рудякова Е. В., Мирскова А. Н. // Журн. орган. химии. 2002. Т. 38, Вып. 11. С. 1697.
- 34 Рудякова Е. В., Мирскова А. Н., Левковская Г. Г. // Там же. 2008. Т. 44, Вып. 10. С. 1539.
- 35 Мирскова А. Н., Левковская Г. Г., Гусева С. А., Крюкова Ю. И. // Там же. 1984. Т. 20, Вып. 3. С. 602.
- 36 Левковская Г. Г., Мирскова А. Н., Гусева С. А., Крюкова Ю. И. // Там же. 1984. Т. 20, Вып. 7. С. 1439.
- 37 Erdman H., Nilsson J. // Acta Chem. Scand. 1949. Vol. 3. P. 901.
- 38 Пат. 89804 США, 1981.
- 39 Климов А. М., Никульчева Н. Г. // Кардиология. 1972. № 6. С. 133.
- 40 Пат. 770062 США, 1978.
- 41 Пат. 13950176 Великобритания, 1980.
- 42 Пат. 2546319 ФРГ, 1977.
- 43 Пат. 2219923 ФРГ, 1980.
- 44 Мартыновский А. А., Самура Б. А., Омельянчик В. Н. // Хим.-фарм. журн. 1990. Т. 24, № 7. С. 31.
- 45 Строкин Ю. В., Красовский И. А., Овруцкий В. М., Проценко Л. Д., Крезмер А. А., Александрова Е. В., Красовский А. Н., Вотяков В. И., Шарыкина Н. И., Шашихина М. Н., Бухтиярова Т. А., Жаврид С. В., Ребянская Л. В. // Там же. 1990. Т. 24, № 7. С. 45.
- 46 Халиуллин Ф. А., Алехин Е. К., Клен Е. Э., Рябчинская Л. А., Катаев В. А., Богданова А. Ш. // Там же. 2001. Т. 35, № 1. С. 12.
- 47 Мецлер Д. Биохимия. М: Мир, 1980. Т. 1. 380 С.
- 48 Kunaszewska M. // Sci. Bull. Lodz Techn. Univ. 1976. Vol. 31, No. 267. P. 5.
- 49 Левковская Г. Г., Крюкова Ю. И., Казимировская В. Б., Холдеева Л. Н., Мирскова А. Н., Воронков М. Г. // Хим.-фарм. журн. 1984. Т. 18, № 4. С. 431.
- 50 Williams D. K. // Chem. Rev. 1972. Vol. 72. P. 203.
- 51 Старова Г. Л., Франк-Каменецкая О. В., Фундаменский В. С., Семенова Н. В., Воронков М. Г. // Докл. РАН. 1981. Т. 260, № 4. С. 888.
- 52 Шкловер В. Е., Гридунова Г. В., Стручков Ю. Т., Воронков М. Г., Крюкова Ю. И., Мирскова А. Н. // Там же. 1983. Т. 269, № 2. С. 387.
- 53 Нефедова Т. В., Казимировская В. Б., Левковская Г. Г., Брюзгин А. А., Гусева С. А., Мирскова А. Н., Воронков М. Г. // Хим.-фарм. журн. 1986. Т. 20, № 3. С. 291.
- 54 Левковская Г. Г., Гусева С. А., Казимировская В. Б., Холдеева Л. Н., Воронков М. Г., Мирскова А. Н. // Там же. 1986. Т. 20, № 3. С. 295.
- 55 А. с. 1045569 СССР, 1983.
- 56 Нефедова Т. В., Бойко М. И., Казимировская В. Б., Иванов А. А., Левковская Г. Г., Гусева С. А., Брюзгин А. А., Воронков М. Г. // Докл. РАН. 1990. Т. 311, № 4. С. 1000.
- 57 Нефедова Т. В., Кубатиев А. А., Казимировская В. Б., Черняховская Б. И., Мирскова А. Н., Гусева С. А., Левковская Г. Г., Воронков М. Г. // Хим.-фарм. журн. 1988. Т. 22, № 10. С. 1197.
- 58 Нефедова Т. В., Кубатиев А. А., Мартынов А. В., Гусева С. А., Казимировская В. Б., Мирскова А. Н., Новикова Н. В., Лобанова Е. Г., Непша В. Д., Москвитина Л. Т., Воронков М. Г. // Там же. 1987. Т. 21, № 9. С. 1081.
- 59 Мирскова А. Н., Адамович С. Н., Мирсков Р. Г., Воронков М. Г. // Докл. РАН. 2010. Т. 435, № 4. С. 561.
- 60 Пат. 1417426 РФ, 1993.
- 61 Пат. 2034540 РФ, 1995.
- 62 Аллергология и иммунология: национальное руководство / под ред. Р. М. Хаитова, Н. И. Ильиной. М: ГЭОТАР-Медиа, 2009. 657 с.
- 63 Колесникова О. П., Кудалева О. Т., Сухенко Т. Г., Лыков А. П., Гайдуль К. В., Лимонов В. Л., Мирскова А. Н., Левковская Г. Г., Воронков М. Г., Козлов В. А. // Эксперим. и клин. фармакология. 2006. Т. 69, № 3. С. 47.
- 64 Пат. 2108100 РФ, 1998.

- 65 Колесникова О. П., Мирскова А. Н., Адамович С. Н., Кудаева О. Т., Мирсков Р. Г., Воронков М. Г. // Бюл. СО РАМН. 2010. Т. 30, № 6. С. 12.
- 66 Колесникова О. П., Мирскова А. Н., Кудаева О. Т., Гойман Е. В., Гаврилова Е. Д., Перминова О. М., Адамович С. Н. // Сб. тр. науч. конф. "Медицинская геномика и протеомика". Новосибирск: изд. ИХБФМ СО РАН, 2010. С. 21.
- 67 Лимонов В. Л., Шурлыгина А. В., Робинсон М. В., Мельникова Е. В., Колесникова О. П., Гайдуль К. В., Мирскова А. Н., Труфакин В. А. // Бюл. СО РАМН. 2005. Т. 115, № 1. С. 70.
- 68 Колесникова О. П., Кудаева О. Т., Ненашева Е. В., Гольдина И. А., Гойман Е. В., Лыков А. П., Сафронова И. В., Лимонов В. Л., Мирскова А. Н., Рудякова Е. В. // Бюл. СО РАМН. 2007. Т. 124, № 2. С. 14.
- 69 Колесникова О. П., Кудаева О. Т., Ненашева Е. В., Гольдина И. А., Гойман Е. В., Сафронова И. В., Лимонов В. Л., Мирскова А. Н., Адамович С. Н., Гайдуль К. В., Козлов В. А. // Материалы конф. "Создание новых лекарственных препаратов" / под ред. Е. Д. Гольдберга. Томск: Изд-во Том. ун-та, 2007. С. 26.
- 70 Колесникова О. П., Кудаева О. Т., Сухенко Т. Г., Лыков А. П., Долгих Т. В., Гайдуль К. В., Мирскова А. Н., Левковская Г. Г., Воронков М. Г., Козлов В. А. // ВИЛИМ (доклинические исследования) / под ред. К. В. Гайдуля, О. П. Колесниковой. Новосибирск, 2008. С. 29.
- 71 Колесникова О. П., Кудаева О. Т., Гойман Е. В., Лыков А. П., Долгих Т. В., Гайдуль К. В., Мирскова А. Н., Левковская Г. Г., Воронков М. Г., Козлов В. А. // Там же. С. 37.
- 72 Гайдуль К. В., Колесникова О. П., Кудаева О. Т., Гойман Е. В., Гаврилова Е. Д., Демчук В. Ф., Козлов В. А. // Там же. С. 123.
- 73 Воронков М. Г., Мирскова А. Н., Левковская Г. Г. // Докл. РАН. 2002. Т. 386, № 3. С. 411.