

На правах рукописи

ШТАРЁВА ДАРЬЯ МИХАЙЛОВНА

**ОБЕЗБОЛИВАЮЩИЕ СВОЙСТВА КОНДЕНСИРОВАННОГО
ПРОИЗВОДНОГО БЕНЗИМИДАЗОЛА**

14.03.06.- фармакология, клиническая фармакология

АВТОРЕФЕРАТ
диссертации на соискание ученой степени
кандидата фармацевтических наук

Волгоград - 2014

Работа выполнена в ГБОУ ВПО «Волгоградский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации.

Научный руководитель:

Зав. кафедрой фармакологии ВолгГМУ,
Академик РАН,
Заслуженный деятель науки РФ,
доктор медицинских наук,
профессор

Спасов Александр Алексеевич

Официальные оппоненты:

Резников Константин Михайлович

заслуженный деятель науки РФ, доктор медицинских наук, профессор,
Государственное бюджетное образовательное учреждение высшего
профессионального образования «Воронежская медицинская академия имени Н.Н.
Бурденко» Министерства здравоохранения Российской Федерации, кафедра
фармакологии, заведующий кафедрой

Крикова Анна Вячеславовна

доктор фармацевтических наук, Государственное бюджетное образовательное
учреждение высшего профессионального образования «Смоленская
государственная медицинская академия» Министерства здравоохранения
Российской Федерации, кафедра управления и экономики фармации, заведующая
кафедрой

Ведущее учреждение: Федеральное государственное бюджетное учреждение
«Научно-исследовательский институт фармакологии имени В.В. Закусова» РАМН

Защита состоится «___» _____ 2014 г. в ____ ч. на заседании
Диссертационного Совета Д 208.008.02 при ГБОУ ВПО «Волгоградский
государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения
Российской Федерации по адресу: 400131, г. Волгоград, пл. Павших борцов, 1

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке ГБОУ ВПО «Волгоградский
государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения
Российской Федерации»

Автореферат разослан «___» _____ 2014 г.

Ученый секретарь

Диссертационного Совета,
доктор биологических наук

Бугаева Л.И.

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность темы исследования.

Опиоидные анальгетики представляют собой класс лекарственных препаратов, которые применяют для купирования острого болевого синдрома при травмах, обширных ожогах, в послеоперационный период, инфаркте миокарда, при онкологических и неврологических заболеваниях [Гузевых Л.С., 2009; Гусев Е.И., Скворцова В.И., 2010; Суслина З.А., 2012; Кукес В.Г., 2012; Ahlbeck K., 2011; Fields H.L., 2011; Negri A., 2013]. В настоящее время наиболее часто применяют обезболивающие средства, которые неселективно действуют на опиоидные рецепторы. Их клиническое использование ограничено рядом побочных эффектов, которые могут быть как центральными, так и периферическими [McNicol E., 2003]. Важными проблемами применения опиоидных анальгетиков являются такие нежелательные явления как респираторная депрессия, толерантность к обезболивающему действию и развитие наркотической зависимости [Игнатов Ю.Д., 2001; Фисенко В.П., 2002; Звартау Э.Э. 2007; Петров В.И., 2009; Collett B.J., 1998; Ballantyne J.C., 2003]. Одним из подходов к созданию эффективных и безопасных анальгетиков является поиск их среди избирательных рецепторных лигандов [Игнатов Ю.Д., 2001; Воронина Т.А., 2010; Kivell B., 2010].

Из всех подтипов опиоидных рецепторов именно субпопуляция каппа-рецепторов представляет собой одну из наиболее привлекательных мишеней для создания принципиально новых высокоэффективных оригинальных препаратов без побочных эффектов, характерных для неселективных опиоидных анальгетиков [Carlezon W.J., 2009; Vanderah T.W. 2010; Lemos J.C., 2011; Nagase H., 2011]. Существует немало доказательств того, что селективные агонисты каппа-опиоидных рецепторов проявляют выраженную антиноцицептивную активность на экспериментальных моделях боли [Pasternak, G. W., 1980; Vonvoigtlander, P. F., 1983; Millan, M. J., 1989; Zhou L., 2013]. В отличие от мю-опиоидных агонистов, селективные каппа-рецепторные агонисты не вызывают респираторной депрессии, а также явлений физической и психической зависимости [Raehal, K. M., 2005]. Таким образом, поиск и изучение анальгетиков с каппа-опиоидным агонистическим механизмом действия позволит в значительной мере повысить

эффективность и безопасность проводимой обезболивающей терапии [Воронина Т.А., 2010; Звартау Э.Э., 2007; Vanderah T.W., 2010].

На основании литературных данных [Carlezon W.A., 2009; Nagase H., 2011; Yekkirala A.S., 2013] можно сделать вывод о том, что известные селективные каппа-опиоидные лиганды имеются среди производных бензимидазола. В результате предварительных исследований по синтезу и изучению каппа-агонистической активности различных конденсированных производных бензимидазола, проведенных в Волгоградском государственном медицинском университете и НИИ ФОХ Южного федерального университета было выявлено соединение под лабораторным шифром РУ-1205 с выраженной каппа-агонистической активностью [Анисимова В.А., 2009; Гречко О.Ю., 2010].

Тема утверждена на заседании Ученого Совета ВолгГМУ (протокол №9 от 11 мая 2012 г.) и включена в план НИР.

Степень разработанности. Большая потребность в высокоэффективных и безопасных анальгетиках остается актуальной проблемой современной клинической практики. Агонисты каппа-опиоидных рецепторов, наряду с выраженной обезболивающей активностью, не вызывают основных побочных эффектов, характерных для неселективных опиоидных анальгетиков. В Российской Федерации в настоящее время применяют агонисты каппа-опиоидных рецепторов неселективного действия.

Цель исследования. Изучение фармакологической активности и механизма анальгетического действия субстанции и лекарственных форм нового конденсированного производного бензимидазола под лабораторным шифром РУ-1205 с установленной каппа-рецепторной агонистической активностью.

Задачи исследования.

1. Изучить анальгетическую активность соединения РУ-1205 с каппа-агонистической активностью на супраспинальном, спинальном и периферическом уровнях организации болевой чувствительности.
2. Определить влияние исследуемого соединения на μ - и κ -опиоидные рецепторы.
3. Исследовать влияние РУ-1205 на основные нейромедиаторные системы мозга с определением возможного спектра нейротропной активности.

4. Определить величину острой токсичности (LD_{50}) субстанции и лекарственных форм соединения РУ-1205.
5. Исследовать общефармакологические свойства соединения РУ-1205.
6. Определить наличие синдрома отмены при хроническом введении изучаемого вещества.
7. Изучить обезболивающую активность соединения РУ-1205 в твердой и инъекционной лекарственных формах.
8. Исследовать зависимость фармакодинамических свойств от фармакокинетики соединения РУ-1205.

Научная новизна исследования. Впервые показано, что соединение РУ-1205 оказывает выраженную антиноцицептивную активность на супраспинальном, спинальном и периферическом уровнях организации болевой чувствительности. Впервые изучено и доказано, что соединение РУ-1205 по механизму действия является агонистом каппа-опиоидных рецепторов и не влияет на мю-рецепторы, анальгетический эффект тестируемого вещества блокируется селективным антагонистом каппа-опиоидных рецепторов - норбиналторфимином. Впервые исследован спектр нейротропной активности соединения РУ-1205 и его общефармакологические свойства. Установлено, что после хронического введения исследуемое соединение не вызывает признаков синдрома отмены при провокации налоксоном.

Теоретическая и практическая значимость работы. Исследования проведены при финансовой поддержке ФЦП «Развитие фармацевтической и медицинской промышленности Российской Федерации на период до 2020 года и дальнейшую перспективу» в рамках госконтракта № 11411.1008700.13.090 от 13.09.2011 по теме «Доклинические исследования лекарственного средства с каппа-опиоидной агонистической активностью на основе производного имидазобензимидазола». Новое соединение под лабораторным шифром РУ-1205 оказывает выраженное обезболивающее действие. При хроническом введении изучаемое вещество не вызывает признаков синдрома отмены. Твердая и инъекционная лекарственные формы нового каппа-опиоидного анальгетика – соединения РУ-1205 оказывают обезболивающее действие равное по величине субстанции данного вещества. Материалы диссертационной работы входят в

регистрационное досье на лекарственное средство с каппа-опиоидной агонистической активностью, без наркотического потенциала, проявляющего анальгетический эффект.

Методология и методы исследования. Согласно поставленным задачам выбраны современные высокоинформативные методические подходы, имеющиеся в Волгоградском государственном медицинском университете. В качестве объектов исследования использованы нелинейные половозрелые самки и самцы мышей и крыс, а также кролики-самцы породы «Шиншилла». Исследование обезболивающих свойств соединения РУ-1205 проводили согласно методическим рекомендациям по изучению анальгетической активности лекарственных средств [Миронов А.Н., 2012], а также использования методов статистической обработки данных.

Основные положения, выносимые на защиту.

1. 9 - (2 - морфолиноэтил) - 2 - (4 - фторфенил) имидазо [1,2- α] бензимидазол – соединение под лабораторным шифром РУ-1205 проявляет дозозависимое анальгетическое действие. На центральных моделях ноцицептивных реакций превосходит препарат сравнения – буторфанол тартрат в 4 раза, на периферических – равен ему по величине обезболивающей активности. Максимальный обезболивающий эффект при подкожном введении соединения РУ-1205 развивается через 90 минут после достижения максимальной концентрации в плазме крови.

2. Соединение РУ-1205 оказывает выраженную каппа - агонистическую активность ($ЭК_{50}=2,2\times10^{-9}$), не влияет на мю-опиоидные рецепторы, а также снижает фенаминовую гиперактивность мышей и число судорожных приступов, вызванных пикротоксином и бикикуллином.

3. По показателям острой токсичности соединение РУ-1205 в виде субстанции, гранулята таблеток и лиофилизата относится к классу малотоксичных веществ. Тестируемое соединение при хроническом введении после провокации налоксоном не вызывает прыжковой активности, «барабанного боя», птоза, диареи, встряхиваний головой, стука зубами и потери массы тела.

4. Исследуемое соединение при введении в дозах до 25 мг/кг не вызывает изменений функционального состояния вегетативной нервной системы и эмоционального статуса экспериментальных животных.

5. Соединение РУ-1205 в виде твердой и инъекционной лекарственной формы проявляет статистически значимую анальгетическую активность, равную по величине и продолжительности действия субстанции исследуемого вещества.

Внедрение результатов исследования. Данные о фармакологической активности каппа-опиоидных агонистов включены в лекционные курсы на кафедре фармакологии, кафедре фармакологии и биофармации ФУВ, кафедре фармацевтической и токсикологической химии Волгоградского государственного медицинского университета, на кафедре фармакологии Кубанского государственного медицинского университета. В работе НИИ фармакологии ВолгГМУ, Волгоградского медицинского научного центра применяется комплексный подход для поиска и изучения новых соединений с каппа-агонистической активностью.

Связь темы исследования с проблемным планом фармацевтических наук. Диссертационная работа выполнена в соответствии с планом научно-исследовательской работы Волгоградского государственного медицинского университета и является фрагментом федеральной целевой программы «Развитие фармацевтической и медицинской промышленности Российской Федерации на период до 2020 года и дальнейшую перспективу» в рамках госконтракта № 11411.1008700.13.090 от 13.09.2011.

Степень достоверности и апробация результатов. Высокая степень достоверности полученных результатов подтверждается достаточным объемом экспериментальных исследований, проведенных на кроликах, крысах и мышах обоего пола; использованием современных методов и методических подходов, высокотехнологического оборудования в соответствии с рекомендациями по доклиническому изучению лекарственных средств с анальгетической активностью, а также параметрических и непараметрических критериев статистической обработки данных.

Основные материалы диссертации докладывались и обсуждались на XVII Региональной конференции молодых исследователей Волгоградской области, 2012

г.; 70,71,72-й итоговой научных конференциях студентов и молодых ученых Волгоградского государственного медицинского университета, Волгоград 2012, 2013, 2014 гг.; IV Всероссийском научно-практическом семинаре для молодых ученых с международным участием «Современные проблемы медицинской химии. Направленный поиск новых лекарственных средств», Волгоград 2012; IV съезде фармакологов России «Инновации в современной фармакологии», Казань, 2012; I Всероссийской научно-практической конференции молодых ученых «Проблемы разработки новых лекарственных средств», Москва, 2013.

Основные результаты диссертации подтверждены 16 публикациями, в том числе 2 в ведущих рецензируемых научных журналах, рекомендованных Минобрнауки РФ.

Личный вклад автора.

Автором самостоятельно проведен поиск и анализ зарубежных и отечественных источников литературы. Вклад автора является определяющим и заключается в непосредственном участии на всех этапах исследования по изучению фармакологической активности и механизма анальгетического действия нового конденсированного производного бензимидазола – соединения РУ-1205: решения поставленных задач, обсуждения результатов, разработке практических рекомендаций. Автору принадлежит ведущая роль в проведении экспериментальных исследований на всех его этапах. При написании диссертационной работы автором лично выполнен сбор первичных данных, статистическая обработка, анализ и обобщение полученных результатов, формулировка выводов и практических рекомендаций, оформление рукописи.

Структура и объем диссертации.

Диссертация изложена на 132 страницах машинописного текста и состоит из введения, 8 глав, выводов, практических рекомендаций и списка литературы, включающего 32 отечественных и 201 зарубежных источников. Работа иллюстрирована 33 таблицами и 23 рисунками.

ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

В первой главе представлен анализ отечественной и зарубежной литературы на тему: «Каппа-опиоидные рецепторы как мишень действия лекарственных препаратов». В первом разделе рассматривается строение

опиоидной рецепторной системы, а также молекулярная структура, распространение, основные функции и вовлечение в физиологические процессы каппа-опиоидных рецепторов. Второй раздел литературного обзора посвящен анализу известных на сегодняшний день лигандов селективных и неселективных агонистов и антагонистов каппа-опиоидных рецепторов. В заключительном разделе обзора рассматриваются производные бензимидазола как потенциальные высокоселективные агонисты каппа-опиоидных рецепторов.

Вторая глава диссертации посвящена описанию материалов и методов исследования. Эксперименты были выполнены на 983 нелинейных половозрелых белых мышах массой 20-25 г, 176 нелинейных белых крысах массой 220-250 г, 15 кроликах породы «Шиншилла» массой 4-4,5 кг. Все животные были доставлены из питомников: ООО «Питомник РАМН» (г. Москва), ФГУП ПЛЖ «Рапполово» РАМН (Ленинградская обл., д. Рапполово), ФГУП "НИИ ГТП" ФМБА России (г. Волгоград). Содержание животных осуществлялось в стандартных условиях вивария ВолГМУ на полнорационной диете (ГОСТ Р 50258-92), с соблюдением правил лабораторной практики при проведении доклинических исследований в РФ, регламентированных ГОСТ Р 51000.3 96 [1996] и ГОСТ Р 51000.4 96 [1996], а также правил и Международных рекомендаций «Европейской конвенции о защите позвоночных животных, используемых для экспериментов или в иных научных целях» [The European Convention, 1986]. Все экспериментальные исследования были выполнены согласно заключению этической экспертизы от 17.12. 2011 г, протокол № 149-2012, лицензии на осуществление деятельности по обороту наркотических средств, психотропных веществ и их прекурсоров, культивированию наркосодержащих растений (ЛО-34-04-000022 от 12.10.2012г.). Исследования проведены с использованием субстанции соединения РУ-1205 дигидрохлорида 9-(2-морфолиноэтил)-2-(4-фторфенил)имидазо[1,2-*a*]бензимидазола, синтезированного ЗАО «ЭМПИЛС-ФОХ» (г. Ростов-на-Дону) и готовых лекарственных форм (инъекционной и твердой дозированной), производства ФГБУ «НИИ фармакологии им В.В.Закусова» РАМН (г. Москва). Изучение анальгетической активности исследуемых веществ проводили в соответствии с «Руководством по проведению доклинических исследований лекарственных средств» [Воронина Т.А., 2012] с использованием следующих

методов: метод термического раздражения в тесте «Горячая пластина» [Kitchen I., Crowder M., 1985]; метод электрического раздражения в тестах электрической стимуляции корня хвоста крыс с определением порога ноцицептивных реакций [Le Bars D., 2001]; метод химического раздражения в тесте «Укусные корчи» [Koster R., 1959] и формалиновой боли [Dubuisson D., 1977]; метод механического раздражения в тесте Рандалл-Селлитто [Randall L.O., Selitto J.J., 1957]; модель нейропатического болевого синдрома в тесте тактильной аллодинии [Bennett G.J., Xie Y.K., 1988]. Количественное определение субстанции соединения РУ-1205 в образцах крови проводилось с использованием высокоэффективной жидкостной хроматографии*. В экспериментах *in silico* применялся метод сходства к эталонам [Molecular Similarity, 1995] и метод докинга [AutoDock Vina 1.1.1]**. Исследования *in vitro* были выполнены на тромбоцитах кролика с использованием техники малоуглового светорассеяния на модели активации тромбоцитов [Дергачев, 1998]. Каппа-рецепторный механизм действия оценивался в экспериментах *in vitro* в соответствии с методикой [Oka, 1980], влияние веществ на мю-рецепторы изучалось на модели [Coupar and Liu, 1996, Gray A.C., 2005]. Для подтверждения каппа-опиоидного характера действия веществ выполнялись тесты с селективным каппа-антагонистом норбиналторфимином. Оценку опиоидного и каппа-опиоидного компонента механизма обезболивающего действия *in vivo* исследовали на модели термического раздражения в тесте «Горячая пластина». Для оценки нейрорхимического спектра действия исследуемого вещества применялись разнообразные методические приемы при сочетанном введении соединения РУ-1205 с анализаторными агентами. Влияние на моноаминергические структуры мозга изучали в тестах с галоперидолом (1 мг/кг), апоморфином (1 мг/кг), фенамином (5 мг/кг), клофелином (0,1 мг/кг), резерпином (2,5 мг/кг), 5-гидрокситриптамиином (300 мг/кг), L-ДОФА (100 мг/кг; 500 мг/кг); холинергическое действие определялось с учетом модуляции эффектов ареколина (25 мг/кг), никотина (6 мг/кг); ГАМК-эргическое влияние-в тесте с пикротоксином (2,5 мг/кг), бикикуллином (2,7 мг/кг).

* - выражаем благодарность за проведенные исследования д.б.н., зав.лаборатории фармакокинетики Смирновой Л.А. и аспиранту каф.фармакологии Рашенко А.И.

** - выражаем благодарность за проведенные исследования д.б.н. Васильеву П.М.

Острая токсичность была исследована согласно требованиям системы оценки общетоксического действия фармакологических средств и методическим указаниям по изучению общетоксического действия фармакологических средств [Арзамасцев Е.В., 2012]***. Наличие синдрома отмены оценивали после хронического введения исследуемого вещества при провокации налоксоном [Воронина Т.А., 2012]. Изучение общего токсического действия проводили с использованием схемы многотестового наблюдения по Ирвину [Irwin S., 1964].

Статистическую обработку данных проводили с использованием программы «GraphPad Prism 5.0» (GraphPad Software, USA), Microsoft Office Excel 2003 (Microsoft, США) с использованием непараметрического метода сравнения независимых групп Манна-Уитни (U-test), точного критерия Фишера для альтернативных реакций, рангового однофакторного анализа Краскела-Уоллиса. Для расчета ЛД₅₀ при изучении острой токсичности вещества РУ-1205 использовали классический метод Личфилда-Вилкоксона с использованием регрессионной статистики (Microsoft Excel). Уровень значимости $p < 0,05$.

Третья глава. Изучение антиноцицептивной активности соединения РУ-1205. Соединение РУ-1205 в диапазоне доз 0,01-1 мг/кг оказывало выраженную дозозависимую анальгетическую активность на различных моделях ноцицептивных реакций (табл. 1). Изучаемое соединение эффективно блокирует ноцицептивные реакции на спинальном, супраспинальном уровнях организации болевой чувствительности, запускает как центральные, так и периферические механизмы анальгезии. Наиболее выраженное антиноцицептивное действие отмечается на центральных моделях алгезии в тестах «Горячая пластина», «Вокализация» и «Пролонгированная вокализация», где соединение РУ-1205 превосходит по обезболивающей активности и индексу относительной безопасности эталонный препарат в среднем в 4 и 6 раз, соответственно. В тестах, характеризующих периферический уровень организации болевой чувствительности (Рандалл-Селитто, «Укусные корчи», формалиновая боль), исследуемое вещество равно по уровню ЭД₅₀ буторфанолу. На модели нейропатического болевого синдрома исследуемое соединение РУ-1205 на 14 день после перевязки при ежедневном внутривнутреннем введении в дозе 1 мг/кг повышало порог

*** - выражаем благодарность за проведенные исследования к.б.н., с.н.с. НИИ фармакологии ВолгГМУ Мазановой Л.С.

тактильной аллодинии на 64% по отношению к контрольной группе, хотя и уступало по активности препарату сравнения буторфанолу.

Таблица 1.

Величина обезболивающей эффективности (ЭД₅₀), показатель острой токсичности (ЛД₅₀) и терапевтический индекс (ТИ=ЛД₅₀/ЭД₅₀) соединения РУ-1205 и буторфанол на центральных и периферических моделях болевой чувствительности.

Тест	Вещество	ЭД ₅₀	ЛД ₅₀	ТИ (ЛД ₅₀ / ЭД ₅₀)
Супраспинальный уровень организации болевой чувствительности				
Горячая пластина	РУ-1205	0,002	306,0	153000,0
	Буторфанол	0,01	192,0*	19200,0
Вокализация	РУ-1205	0,003	306,0	102000,0
	Буторфанол	0,01	192,0*	19200,0
Пролонгированная вокализация	РУ-1205	0,004	306,0	76500,0
	Буторфанол	0,02	192,0*	9600,0
Супраспинальный + периферический уровни организации болевой чувствительности				
Рандалл-Селитто	РУ-1205	0,06	306,0	5100,0
	Буторфанол	0,04	192,0*	4800,0
Спинальный уровень организации болевой чувствительности				
Отдергивание хвоста	РУ-1205	0,003	306,0	102000,0
	Буторфанол	0,001	192,0*	192000,0
Периферический уровень организации болевой чувствительности				
Уксусные корчи	РУ-1205	0,05	306,0	6120,0
	Буторфанол	0,06	192,0*	3200,0
Формалин I фаза	РУ-1205	0,49	306,0	624,5
	Буторфанол	0,32	192,0*	600,0
Формалин II фаза	РУ-1205	0,43	306,0	711,6
	Буторфанол	0,48	192,0*	400,0

Примечание:*- ЛД₅₀ буторфанол тартрата (в/бр, мыши) по данным BBPSDY Pharmacology and Biochemical Properties of Drug Substances Drug Substances, 2, 19 (1979).

При изучении зависимости фармакодинамических свойств от фармакокинетики было выявлено, что сначала возникает повышение концентрации соединения РУ-1205 в плазме крови до максимального значения, а затем через 90 минут наблюдается максимальный обезболивающий эффект (рис. 1), что, вероятно, связано с особенностями проникновения тестируемого вещества через гематоэнцефалический барьер. Повторное увеличение обезболивающей активности без возрастания концентрации может свидетельствовать о наличии метаболитов соединения РУ-1205.

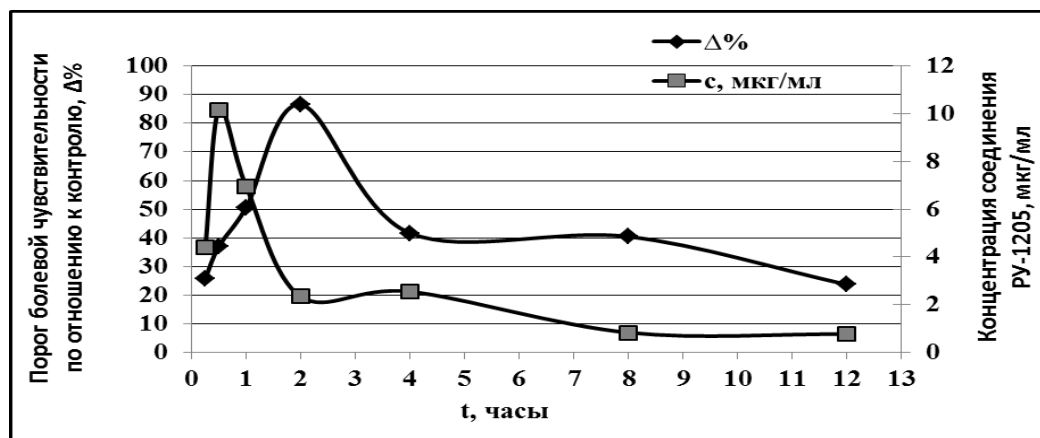


Рис.1. Динамика концентрации РУ-1205 в плазме крови и выраженность обезболивающего эффекта после подкожного введения в тесте «Отдергивание хвоста».

Четвертая глава. Изучение механизмов анальгетического действия соединения РУ-1205. Для подтверждения каппа-рецепторного механизма действия вещества РУ-1205 *in silico* были построены методами молекулярной механики и квантовой химии 3D-модели *. Установлено, что исследуемое соединение РУ-1205 имеет достаточно высокое 3D-геометрическое сходство с высокоселективным каппа-опиоидным агонистом U50,488 и образует прочный лиганд-рецепторный комплекс, для которого расчетная величина энергии докинга сопоставима с соответствующим показателем для U50,488.

В исследовании *in vitro* на модели активации тромбоцитов кролика соединение РУ-1205 проявляет высокую каппа-агонистическую активность. Исследуемое соединение вызывало дозозависимую норбиналторфимин-обратимую активацию тромбоцитов и превосходило по каппа-опиоидному рецепторному действию, индексу относительной безопасности препараты сравнения буторфанол и U-50,488 в 2,3; 2,6 и 5,3; 35,8 раз соответственно (табл. 2).

Для изучения каппа-рецепторного компонента действия были проведены исследования *in vitro* на препаратах семявыносящего протока кролика (СПК). Соединение РУ-1205 проявило высокую концентрационно-зависимую эффективность, подавляя вызванные электрической стимуляцией сокращения препарата СПК в диапазоне наномолярных концентраций.

По величине ЭК₅₀ соединение РУ-1205 было равно селективному агонисту каппа-опиоидных рецепторов - U-50,488 и превосходило агонист каппа- и парциальный агониста мю-опиоидных рецепторов - буторфанола тартрат. Эффекты изучаемого вещества на фоне инкубации ткани с селективным антагонистом каппа-

опиоидных рецепторов μ or-BN1 в концентрации 1 μ M угнетались на 91%. Норбинаторфимин блокировал эффекты U-50,488 на 79%, а буторфанол на 56% (рис. 2).

Таблица 2.

Величина каппа-агонистической активности ($ЭК_{50}$), острой токсичности ($ЛД_{50}$), условный терапевтический индекс ($ТИ = ЛД_{50} / ЭК_{50}$) буторфанол, U50,488, вещества РУ-1205 на модели активации тромбоцитов методом малоуглового светорассеяния.

Вещество	$ЭК_{50}$ (М)	$ЛД_{50}$ (мг/кг)	$ЛД_{50}$ (М/кг)	ТИ ($ЛД_{50} / ЭК_{50}$)
РУ-1205	$3,9 \cdot 10^{-5}$	306,0	$7,0 \cdot 10^{-4}$	17,9
Буторфанол	$1,7 \cdot 10^{-4}$	192,0*	$5,8 \cdot 10^{-4}$	3,4
U50,488	$1,5 \cdot 10^{-4}$	25,0**	$0,7 \cdot 10^{-4}$	0,5

Примечание: *- LD_{50} буторфанол тартрата (в/бр, мыши) по данным BBPSDY Pharmacology and Biochemical Properties of Drug Substances, 2, 19 (1979); ** Res. Compl. Med., 11, 144-149 (2004).

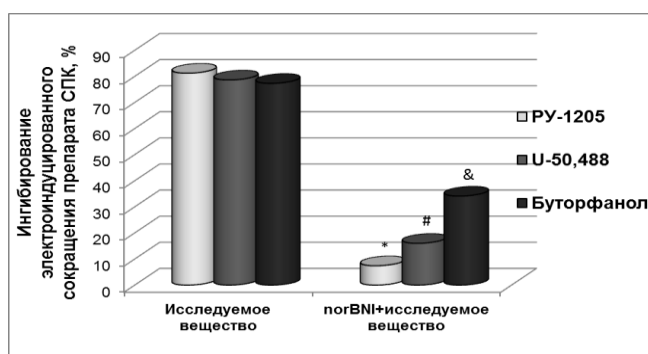


Рис. 2. Влияние соединений РУ-1205, U-50,488 и буторфанол (в дозе $ЭД_{80}$) на вызванные электрической стимуляцией сокращения препарата семявыносящего протока кролика.

Примечание: * - данные статистически значимы по отношению к РУ-1205-индуцированным эффектам ($p \leq 0,05$); # - данные статистически значимы по отношению к U-50,488-индуцированным эффектам ($p \leq 0,05$); & - данные статистически значимы по отношению к буторфанол-индуцированным эффектам ($p \leq 0,05$).

Для изучения влияния соединения РУ-1205 на μ о-опиоидные рецепторы были проведены исследования *in vitro* на изолированном препарате подвздошной кишки крысы (ПКК). Соединение РУ-1205 и буторфанол в диапазоне наномолярных концентраций оказались не эффективны и только в максимальных концентрациях (100 μ M) проявляли незначительное (23,8 и 27,6% соответственно) ингибирующее влияние на вызванное электрической стимуляцией сокращение препарата кишечника, которое не устранялось как в присутствии каппа-селективного антагониста норбинаторфимина, так и неизбирательного опиоидного антагониста налоксона. Тогда как морфин налоксонообратимо подавлял электроиндуцированные сокращения изолированного отрезка подвздошной кишки крысы (рис. 3). При этом показатель $ЭК_{50}$ на указанной экспериментальной модели

составил $2,6 \times 10^{-7} \text{M}$, что хорошо согласуется с данными литературы [Gray A.C., 2005]. Специфичность опиоидного и каппа-опиоидного характера действия соединения РУ-1205 оценивали *in vivo* на модели термического раздражения в тесте «Горячая пластина». Вещество РУ-1205 и препарат сравнения – буторфанола тартрат в дозе ЭД₈₀ при внутривнутрибрюшинном введении вызывали статистически значимое налоксонообратимое действие (рис. 4). При предварительном подкожном введении селективного антагониста каппа-опиоидных рецепторов – норбинаторфимина (10 мг/кг) анальгетическая активность соединения РУ-1205 и препарата сравнения – U-50,488 статистически значимо уменьшалась в 6,2 и 2,2 раза соответственно (рис. 4).

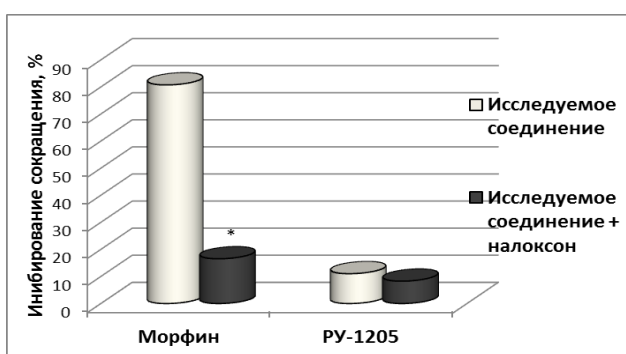


Рис.3. Влияние неселективного опиоидного антагониста налоксона на ингибирование сократительной активности подвздошной кишки крысы морфином и соединением РУ-1205. **Примечание:***- статистически значимо по отношению к исследуемому веществу ($p \leq 0,05$).

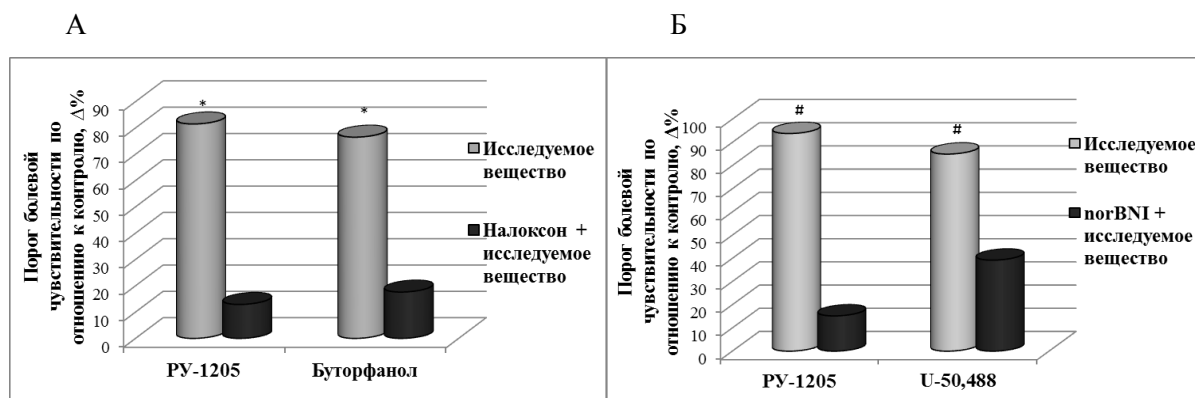


Рис.4. Влияние соединений РУ-1205, U-50,488 и буторфанола тартрата (в дозе ЭД₈₀) на антиноцицептивные эффекты в тесте «Горячая пластина» при предварительном введении антагонистов: А- налоксона; Б-норбинаторфимина. **Примечание:*** – статистически значимо по отношению к животным, предварительно получавшим налоксон ($p \leq 0,05$); # – статистически значимо по отношению к животным, предварительно получавшим норбинаторфимин ($p \leq 0,05$).

Пятая глава. Взаимодействия соединения РУ-1205 с анализаторами нейромедиаторных систем. Нейротропные средства, в том числе и каппа-селективные агонисты, реализуют свои эффекты с вовлечением различных нейромедиаторных систем мозга [Pasternak G.W., 2011]. Для расширения

представлений о механизме действия нового соединения актуальным является изучение его влияния на проявления действия различных нейромедиаторных анализаторов [Воронина Т.А., 2012]. В результате изучения влияния соединения РУ-1205 с установленной каппа-опиоидной активностью на другие нейромедиаторные системы были выявлены нейрохимические закономерности его действия. В тесте с фенамином было выявлено статистически значимое снижение гиперактивности мышей по сравнению с контрольной группой животных. При проведении исследований с пикротоксином и бикукуллином, моделирующими судороги, было выявлено противосудорожное действие соединения РУ-1205 (табл.3).

Таблица 3

Влияние соединения РУ-1205 на основные нейротрансмиттерные системы мозга.

Нейромедиаторные системы мозга	РУ-1205
Дофаминергическая	↓
Холинергическая	-
Адренергическая	-
Серотонинергическая	-
ГАМК-ергическая	↑

Примечание: ↓ - снижение активности нейромедиаторной системы; ↑ - повышение активности нейромедиаторной системы; – - отсутствие влияния на нейромедиаторную систему.

Шестая глава. Изучение общепармакологических свойств соединения РУ-1205. При изучении острой токсичности субстанции, гранулята таблеток и лиофилизата соединения РУ-1205 было выявлено, что по показателям ЛД₅₀ их можно отнести к классу малотоксичных соединений (табл. 4).

Одной из наиболее изучаемых проблем функциональных изменений опиоид-опосредованных реакций в ответ на действие анальгетиков является исследование их влияния на развитие синдрома отмены. В результате проведенного исследования было показано, что тестируемое вещество РУ-1205 после хронического введения при провокации налоксоном не вызывает признаков синдрома отмены в виде прыжков, птоза, «барабанного боя», диареи, стука зубами, встряхивания головы и потери массы тела при хроническом введении (рис. 5). При изучении общепармакологических свойств соединения РУ-1205 по Ирвину было выявлено, что тестируемое вещество при однократном внутрибрюшинном введении в дозах до 25 мг/кг не вызывает значительных изменений функционального состояния вегетативной нервной системы и эмоционального

статуса экспериментальных животных. В дозах 50 и 100 мг/кг наблюдалось незначительное угнетение ипсилатерального и слухового рефлекса, снижение ректальной температуры, снижение длительности удержания на вращающемся стержне, горизонтальной и вертикальной двигательной активности.

Таблица 4

Показатели острой токсичности (ЛД₅₀) субстанции и лекарственных форм соединения РУ-1205.

Путь введения	Пол животных	ЛД ₅₀ субстанции (мг/кг)	ЛД ₅₀ лекарственной формы (мг/кг)
Опыты на мышах			
внутрижелудочно	самцы	1315,66	Более 1000
	самки	1565,05	Более 1000
Опыты на крысах			
внутрижелудочно	самцы	1426,99	Более 1000
	самки	1180,99	Более 1000
Опыты на мышах			
подкожно	самцы	316,16	Более 300
	самки	510,19	Более 300
Опыты на крысах			
подкожно	самцы	1639,32	Более 300
	самки	1498,89	Более 300

Седьмая глава. Изучение обезболивающих свойств соединения РУ-1205 в твердой и инъекционной лекарственных формах. Изучение обезболивающей активности субстанции и лекарственных форм соединения РУ-1205 проводили на модели термического раздражения в тесте «Горячая пластина». Было установлено, что гранулят таблеток и лиофилизат изучаемого соединения проявляют статистически значимую анальгетическую активность равную субстанции исследуемого вещества (рис. 6). Обезболивающий эффект субстанции соединения РУ-1205 и лекарственных форм вещества при подкожном и пероральном введении является статистически значимым и сохраняется до 8 часов экспериментального исследования. При оценке пикового времени и продолжительности анальгезии отмечается некоторая пролонгация обезболивающей активности гранулята таблеток изучаемого соединения по сравнению с субстанцией, что, вероятно, связано с фармакокинетическими особенностями. По величине анальгетической активности лиофилизат соединения РУ-1205 равен субстанции изучаемого вещества.

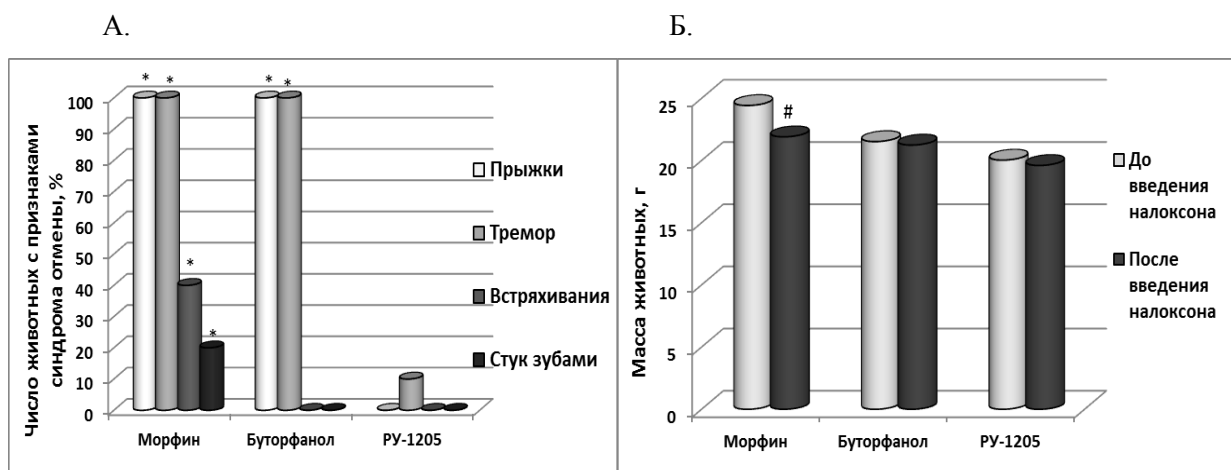


Рис.5. Влияние соединений РУ-1205, морфина и бупорфаноло на развитие синдрома отмены. А – тест на зависимость при хроническом введении; Б - влияние морфина, бупорфаноло, соединения РУ-1205 на изменение массы тела животных в условиях хронического введения веществ. **Примечание:** * – данные статистически значимы по отношению к контрольной группе животных ($p \leq 0,05$); # – данные статистически значимы по отношению к группе животных до введения налоксона ($p \leq 0,05$).

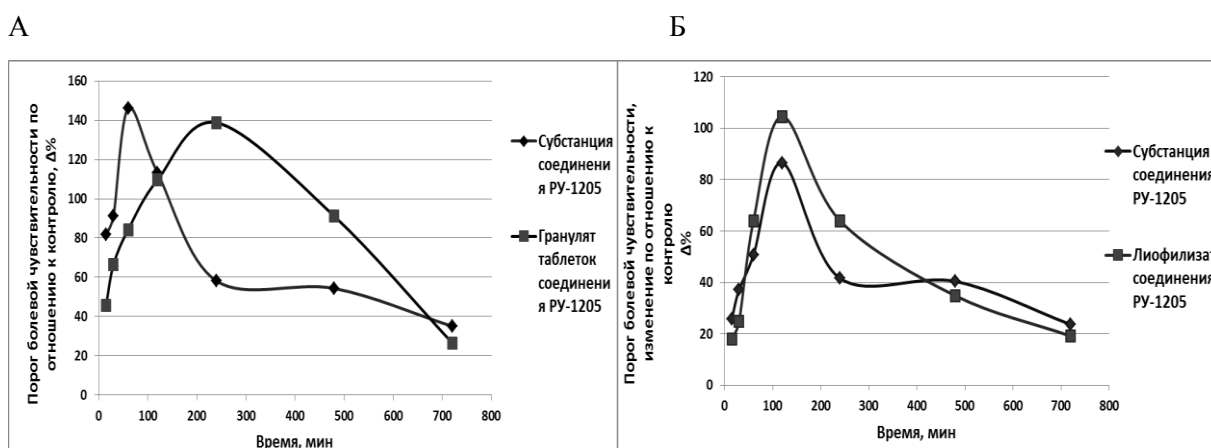


Рис.6. Влияние субстанции и лекарственных форм соединения РУ-1205 на антиноцицептивные эффекты в тесте «Горячая пластина»

А – влияние субстанции и гранулята таблеток соединения РУ-1205(5 мг/кг, per os); Б – влияние субстанции и лиофилизата соединения РУ-1205 (1 мг/кг, п/к).

Восьмая глава посвящена обсуждению полученных результатов. Существуют убедительные доказательства потенциальной роли каппа-опиоидной рецепторной системы в развитии анальгезии [Pasternak G.W., 2011]. В литературных источниках имеются многочисленные данные об эффективности агонистов каппа-опиоидных рецепторов при различных болевых синдромах [Wilson et al., 2000; Dortch-Carnes J., 2005; Nakao K., 2009]. Изучение антиноцицептивной активности нового соединения – РУ-1205 позволило выявить выраженное дозозависимое анальгетическое действие исследуемого вещества на различных ноцицептивных моделях. Установлено, что обезболивающее действие

тестируемого вещества реализуется на различных уровнях проведения и модуляции ноцицептивной чувствительности. Наиболее выраженная анальгетическая активность отмечалась на центральных моделях алгезии, характеризующих супраспинальный уровень болевой чувствительности. Изучение взаимосвязи фармакокинетики и фармакодинамики является необходимым для оценки зависимости концентрации исследуемых веществ в плазме крови и наблюдаемых эффектов [Meibohm В., 1997]. Величина максимальной анальгетической активности соединения РУ-1205 не совпадала по времени с пиком концентрации в плазме крови, что может быть связано с особенностями проникновения исследуемого соединения через гематоэнцефалический барьер. Повторное увеличение обезболивающей активности без возрастания концентрации может свидетельствовать о наличии метаболитов соединения РУ-1205. Следующим этапом исследования явилось изучение механизма действия соединения РУ-1205 с использованием комплексного подхода, включающего серию экспериментов *in silico*, *in vitro* и *in vivo*. В ходе комплексной оценки *in silico* был определен высокий уровень пространственного сходства вещества РУ-1205 с трехмерной структурой селективного каппа-агониста – U-50,488. В исследованиях *in vitro* на тромбоцитах кролика была выявлена высокая норбиналторфимин-обратимая каппа-агонистическая активность исследуемого соединения, однако, данная модель хотя и является одной из наиболее популярных для оценки молекулярного механизма действия новых фармакологических соединений, она не относится к стандартным методам определения механизма действия. Поэтому были выполнены экспериментальные исследования на СПК, который является специфичным для изучения каппа-рецепторных лигандов [Oka et al., 1980], а также ПКК, угнетение сокращений которой характерно при активации мю- опиоидных рецепторов [Cooper I.A., 1995; Gray A.C. et al., 2005]. Было выявлено, что тестируемое вещество оказывает выраженное каппа-агонистическое норбиналторфимин-обратимое действие на препаратах СПК, и не эффективно на препаратах подвздошной кишки крысы. Тогда как, морфин, наоборот, не проявлял какой-либо активности на препаратах семявыносящего протока кролика, но налоксонообратимо подавлял электроиндуцированные сокращения изолированного отрезка подвздошной кишки крысы, что согласуется с результатами других авторов

[Gray A., 2005]. Это позволяет сделать вывод об отсутствии влияния соединения РУ-1205 на мю-опиоидные рецепторы. Подобные результаты представлены в литературных источниках для селективного агониста каппа-опиоидных рецепторов – U-50,488 [Watanabe J., 1989; Lu S.N., 1991]. Важным этапом при изучении механизма действия является оценка способности антагонистов опиоидных рецепторов блокировать анальгетическое действие исследуемых веществ в условиях целостного организма. В экспериментах *in vivo* при совместном введении РУ-1205 с неселективным антагонистом опиоидных рецепторов – налоксоном и селективным антагонистом каппа-опиоидных рецепторов – норбинаторфимином в тесте «Горячая пластина» было выявлено статистически значимое снижение анальгетической активности. Представленные данные подтверждались литературными данными, которые описывают дозозависимую норбинаторфимин-обратимую анальгезию селективных каппа-агонистов [Ackley M.A., 2001; Drake S.T., 2007]. Таким образом, полученные результаты свидетельствуют о преимущественном каппа-рецепторном компоненте действия соединения РУ-1205. Для того чтобы расширить представления о механизме действия соединения РУ-1205 с установленным каппа-рецепторным профилем изучали его влияние на проявления действия различных нейромедиаторных анализаторов. Было установлено, что соединение РУ-1205 не влияет на эффекты галоперидола, апоморфина, никотина, ареколина, клофелина, резерпина, L-ДОФА и 5-гидрокситриптофана. В тестах с пикротоксином и бикуккуллином, моделирующих судороги, было установлено, что соединение РУ-1205 снижает количество судорожных приступов, что, вероятно, может быть обусловлено как аллостерическими взаимодействиями с компонентами ГАМК-А рецепторного комплекса [Birniir B., 2000] так и влиянием на Ca^{2+} -зависимые- K^{+} токи [Pflieger J.F., 2002]. Исследования по изучению острой токсичности субстанции, твердой лекарственной формы в виде гранулята таблеток и инъекционной лекарственной формы в виде лиофилизата было выявлено, что и субстанция, и лекарственные формы соединения РУ-1205 по изучаемым показателям относятся к классу малотоксичных соединений по И.В. Саноцкому. Одной из главных проблем применения опиоидных анальгетиков является развитие физической зависимости и синдрома отмены [Tabatabai S.M., 2013]. При проведении экспериментальных

исследований было установлено, что соединение РУ-1205 после хронического введения при провокации налоксоном не вызывает признаков синдрома отмены. При изучении общепармакологических свойств соединения РУ-1205 по Ирвину было выявлено, что тестируемое вещество при однократном внутрибрюшинном введении в дозах до 25 мг/кг не вызывает изменений функционального состояния вегетативной нервной системы и эмоционального статуса экспериментальных животных. Известно, что при применении лекарственного средства в определенной лекарственной форме возможно изменение величины его фармакологической активности, что может быть связано с фармакокинетическими особенностями соединения. Было установлено, что исследуемое вещество в твердой лекарственной форме в виде гранулята таблеток и инъекционной лекарственной форме в виде лиофилизата оказывает выраженное антиноцицептивное действие, равное субстанции РУ-1205. Анальгетический эффект как субстанции, так и лекарственных форм исследуемого вещества при подкожном и пероральном введении является статистически значимым и сохраняется до 8 часов экспериментального исследования. Пролонгация обезболивающей активности твердой лекарственной формы соединения РУ-1205 в виде гранулята таблеток по сравнению с субстанцией может быть связана с особенностями фармакокинетики исследуемого соединения.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В результате проведенного исследования было установлено, что 9 - (2 - морфолиноэтил) – 2 - (4 - фторфенил) имидазо [1,2- α] бензимидазол – соединение под лабораторным шифром РУ-1205 оказывает выраженное дозозависимое анальгетическое действие на супраспинальном, спинальном и периферическом уровнях организации болевой чувствительности, а также изучена корреляция фармакодинамических свойств от фармакокинетики РУ-1205. Исследования *in silico*, *in vitro*, *in vivo* свидетельствуют о преимущественном каппа-рецепторном компоненте действия исследуемого соединения. Установлен нейрохимический спектр активности и общепармакологические свойства исследуемого соединения, а также то, что вещество РУ-1205 при хроническом введении не вызывает признаков синдрома отмены при провокации налоксоном. По показателям ЛД₅₀ исследуемое соединение в виде субстанции и лекарственных форм (твердой и инъекционной)

относится к классу малотоксичных веществ. Выявлено, что тестируемое вещество в твердой лекарственной форме в виде гранулята таблеток и инъекционной лекарственной форме в виде лиофилизата оказывает выраженное антиноцицептивное действие, равное субстанции РУ-1205.

ВЫВОДЫ

1. 9 - (2 - морфолиноэтил) – 2 - (4 - фторфенил) имидазо [1,2- α] бензимидазол – соединение под лабораторным шифром РУ-1205 в диапазоне доз 0,01-1 мг/кг проявляет дозозависимое анальгетическое действие на различных моделях ноцицептивных реакций, в тестах соматической, висцеральной, тонической боли, вызванной термическими, электрическими и химическими стимулами. Наиболее выраженная анальгетическая активность отмечается на центральных моделях алгезии, где соединение РУ-1205 превосходит по обезболивающей активности и индексу относительной безопасности препарат сравнения буторфанол тартрата в среднем в 4 и 6 раз, соответственно. В тестах, характеризующих периферический уровень организации болевой чувствительности, исследуемое вещество равно по величине ЭД₅₀ препарату сравнения.

2. Максимальный обезболивающий эффект при подкожном введении соединения РУ-1205 развивается через 90 минут после достижения максимальной концентрации в плазме крови.

3. В исследованиях *in vitro* соединение РУ-1205 оказывает норбинаторфимин-обратимую каппа - агонистическую активность. На модели активации тромбоцитов кролика тестируемое вещество по величине ЭК₅₀ превосходит буторфанол и U-50,488 в 2,3 и 2,6 раз соответственно. На изолированном препарате семявыносящего протока кролика изучаемое соединение по силе каппа-рецепторного действия равно селективному агонисту каппа-опиоидных рецепторов - U-50,488 и превосходит буторфанол тартрат. Исследуемое соединение не взаимодействует с мю-опиоидными рецепторами. В экспериментальных исследованиях *in vivo* соединение РУ-1205 вызывает налоксон- и норбинаторфимин-обратимую антиноцицептивную активность в тесте «Горячая пластина». Вещество РУ-1205 имеет высокое 3D-геометрическое

сходство с высокоселективным каппа-опиоидным агонистом U50,488 и сопоставимо ему по величине энергии связывания.

4. Соединение РУ-1205 в дозе 1 мг/кг не влияет на эффекты галоперидола, апоморфина, никотина, ареколина, клофелина, резерпина, L-ДОФА и 5-гидрокситриптофана. Исследуемое вещество снижает фенаминовую гиперактивность мышечной и число судорожных приступов, вызванных пикротоксином и бикикуллином.

5. Соединение РУ-1205 в виде субстанции, гранулята таблеток и лиофилизата относится к классу малотоксичных веществ с учетом классификации токсичности веществ по И.В. Саноцкому и И.В. Березовской.

6. Вещество РУ-1205 при хроническом введении не вызывает признаков синдрома отмены при провокации налоксоном, а при введении в дозах до 25 мг/кг не вызывает изменений функционального состояния вегетативной нервной системы и эмоционального статуса экспериментальных животных.

7. Соединение РУ-1205 в твердой (гранулят таблеток) и инъекционной (лиофилизат) лекарственных формах проявляет статистически значимую анальгетическую активность, равную по величине ЭД₅₀ и продолжительности действия субстанции вещества РУ-1205 на модели термического раздражения в тесте «Горячая пластина».

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. Производное конденсированных бензимидазолов - РУ-1205 рекомендуется для дальнейших исследований в качестве потенциального анальгетика.

2. Продолжить синтез 9-, 2-фторфенил - замещенных имидазо [1,2-α] бензимидазола как соединений с каппа-опиоидной агонистической активностью.

СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

Статьи в ведущих рецензируемых научных журналах, рекомендованных Минобрнауки РФ:

1. Изучение рецепторного механизма анальгетического действия соединения РУ-1205 / Гречко О.Ю., Спасов А.А., **Штарёва Д.М.**, Ращенко А.И.//Вестник ВолгГМУ. -2014, №1(49) – С. 61-63.

2. Анальгетические свойства производного морфолиноэтилимидазобензимидазола / Спасов А.А., Гречко О.Ю., **Штарёва Д.М.**, Анисимова В.А.// Эксп. и клин. фармакол.-2013.- Т.76, №9.- С.15-18.

Статьи в журналах и сборниках материалов конференций:

3. Изучение анальгетической активности нового производного бензимидазола/**Чикун (Штарёва) Д.М.**, Ращенко А.И., Елисеева Н.В.//Материалы юбилейной 70-й открытой научно-практической конференции молодых ученых и студентов с международным участием «Актуальные проблемы экспериментальной и клинической медицины», Волгоград, 2012 г. – С. 339.
4. Поиск in silico производных конденсированных азолов с высокой каппа-опиоидной агонистической активностью/Кругликов М.Е., Васильев П.М., Спасов А.А., Гречко О.Ю., Елисеева Н.В., **Чикун (Штарёва) Д.М.**, Анисимова В.А.//Сборник материалов конгресса XIX Российский национальный конгресс «Человек и лекарство», Москва, 2012 г. – С. 520-521.
5. Изучение анальгетической активности нового производного бензимидазола при различных путях введения / Гречко О.Ю., Елисеева Н.В., **Чикун (Штарёва) Д.М.**, Спасов А.А., Анисимова В.А. // Волгоградский научно-медицинский журнал 2/2012 (апрель-июнь). – С. 17-19.
6. Производные бензимидазола-новый класс к-агонистов / Гречко О.Ю., Елисеева Н.В., **Чикун (Штарёва) Д.М.**, Ращенко А.И., Анисимова В.А. // Материалы IV съезда фармакологов России «Инновации в современной фармакологии», Москва, 2012 г. – С. 50-51.
7. Компьютерная оценка различных классов азотсодержащих гетероциклических соединений как источников веществ с каппа-опиоидной парциальной агонистической активностью/Брилькова М.Е., **Чикун (Штарёва) Д.М.**, Елисеева Н.В., Ращенко А.И.//Вестник ВолгГМУ. Прил. - 2012, Волгоград, – С.11-12.
8. Анальгетическая активность нового производного бензимидазола/**Чикун (Штарёва) Д.М.**, Елисеева Н.В.//Вестник ВолгГМУ. Прил. – 2012. – С. 138-139.
9. Поиск методом докинга производных бензимидазола с каппа-опиоидной агонистической активностью / Кругликов М.Е., **Чикун (Штарёва) Д.М.** //Вестник ВолгГМУ. Прил. - 2012, Волгоград – С. 110-111.
10. Экспериментальное изучение анальгетической активности и механизма действия нового производного морфолиноэтилимидазобензимидазола / **Штарёва Д.М.** //I Всероссийская научно-практическая конференция молодых ученых «Проблемы разработки новых лекарственных средств», НИИ им. Закусова, г. Москва, 2013 г. – С.134.
11. Сравнительное исследование анальгетической активности конденсированного производного бензимидазола и буторфанола / **Штарёва Д.М.** // XVII региональная конференция молодых исследователей Волгоградской области. Тезисы докладов.-2012.-С.74-75.
12. Анальгетическая активность нового производного морфолиноэтилимидазобензимидазола/**Штарёва Д.М.**, Ращенко А.И./Вестник ВолгГМУ. Прил. - 2013. – С. 152-153.
13. Фармакологические и фармакодинамические свойства соединения РУ-1205 /Ращенко А.И., **Штарёва Д.М.**, Сучков Е.А.//Вестник ВолгГМУ. Прил. -2013. – С. 108-109.
14. Изучение обезболивающей активности и развития толерантности к анальгетическому эффекту каппа-опиоидных агонистов соединения РУ-1205 и препарата буторфанола / Литвинов Р.А., **Штарёва Д.М.** // Вестник ВолгГМУ. Прил. -2013. – С.70-71.

15. Производное бензимидазола – агонист каппа-опиоидных рецепторов /Гречко О.Ю., Спасов А.А., Смирнова Л.А., **Штарёва Д.М.**, Рашенко А.И., Анисимова В.А. //Академическая наука-проблемы и достижения.-2014. - С.44-47.
16. Анальгетическая активность нового производного морфолиноэтилимидазобензимидазола – соединения РУ-1205/**Штарёва Д.М.**/Сборник материалов IV Всероссийской научной конференции студентов и аспирантов с международным участием «Молодая фармация–потенциал будущего». – 2014. – С.607.

СПИСОК УСЛОВНЫХ СОКРАЩЕНИЙ И ОБОЗНАЧЕНИЙ

ГАМК	гамма-аминомасляная кислота
ЛФ	лекарственная форма
МАО	моноаминооксидаза
ЦНС	центральная нервная система
5-ГТФ	5-гидрокситриптофан
in silico	общее название компьютерных методов поиска лекарственных веществ
L-ДОФА	предшественник дофамина
nor-BNI	норбиналторфимин
μ , μ , MOR	мю-опиоидные рецепторы
δ , delta, DOR	дельта-опиоидные рецепторы
κ , kappa, KOR	каппа-опиоидные рецепторы
СПК	семявыносящий проток кролика
ПКК	подвздошная кишка крысы