

УДК 615.22

ЭМБИНИН – ПЕРСПЕКТИВНОЕ КАРДИОТОНИЧЕСКОЕ СРЕДСТВО ПРИРОДНОГО ПРОИСХОЖДЕНИЯ

Д. Ю. Ивкин^{1*}, В. Г. Лужанин¹, А. А. Карпов^{2,3}, С. М. Минасян^{2,3},
Я. И. Полеценко², А. Э. Мамедов², М. Н. Пovyдыш¹, В. В. Поройков⁴,
И. А. Наркевич¹

Резюме. Эмбинин – флавоновый С-гликозид надземной части касатика молочного-белого (*Iris lactea*). Учитывая установленное ранее для экстракта *Iris lactea* кардиотоническое действие, выявление действующего вещества, отвечающего за данный вид биологической активности, представляется актуальной задачей. Целью настоящего исследования стала оценка кардиотропного действия и токсикологического профиля эмбинина. Острую токсичность эмбинина определяли по ГОСТ 32644-2014, оценку инотропного действия эмбинина проводили в сравнении с дигоксином на модели перфузии изолированного сердца крысы по Лангендорфу, а также *in vivo* эхокардиографическим исследованием с расчётом фракции укорочения левого желудочка (ФУ) и анализом электрокардиограмм. Эмбинин в дозе 2000 мг/кг не вызывал гибели самок крыс. Вещество обладает выраженным инотропным действием. Установление выраженного кардиотонического эффекта в эксперименте и низкая токсичность, а также высокая вероятность наличия кардиопротекторного действия эмбинина, предсказанная с использованием программы PASS, позволяют рассматривать эмбинин как перспективную молекулу для дальнейших исследований при сердечно-сосудистой патологии.

Ключевые слова: касатик молочного-белый, эмбинин, инотропный эффект, ЭХО-КГ.

EMBININ IS A PERSPECTIVE CARDIOTONIC MEAN FOR NATURAL ORIGIN

D. Yu. Ivkin^{1*}, V. G. Luzhanin¹, A. A. Karpov^{2,3}, S. M. Minasyan^{2,3}, Ya. I. Poleshenko², A. E. Mamedov²,
M. N. Povydysh¹, V. V. Poroykov⁴, I. A. Narkevich¹

Abstract. Embinin is a flavone C-glycoside from the aerial part of the milky white tangent (*Iris lactea*). Cardiotonic action was established earlier for the extract of *Iris lactea*. Identification of the active substance responsible for this type of biological activity seems to be an urgent task. The purpose of this study was to evaluate the cardiotropic effect and the toxicological profile of embinin. The acute toxicity of embinin was determined in accordance with GOST 32644-2014, the inotropic effect of embinin was evaluated in comparison with digoxin in the model of perfusion of the isolated rat heart by Langendorf, and also *in vivo* by echocardiographic study with calculation of the left ventricular shortening fraction and electrocardiogram analysis. The embinin in a dose of 2000 mg/kg didn't cause the death of female rats. The substance has a pronounced inotropic effect. Establishment of a pronounced cardiotonic effect in the experiment and low toxicity, as well as a high probability of the presence of cardioprotective action of embinin, predicted using the PASS program, allow us to consider embinin as a promising molecule for further studies in cardiovascular disease.

Keywords: *Iris lactea*, embinin, inotropic effect, echocardiography.

1 – ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный химико-фармацевтический университет» Минздрава России, Россия, 197376, г. Санкт-Петербург, ул. Проф. Попова, д. 14, лит. А

2 – ФГБОУ ВПО «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. академика И. П. Павлова» Минздрава России, Россия, 197022, г. Санкт-Петербург, ул. Льва Толстого, д. 6–8

3 – ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр им. В. А. Алмазова» Минздрава России, Россия, 197341, г. Санкт-Петербург, ул. Аккуратова, д. 2

4 – ФБГНУ «Научно-исследовательский институт биомедицинской химии имени В. Н. Ореховича», Россия, 119121, г. Москва, Погодинская ул., д. 10, стр. 8

1 – Saint-Petersburg State Chemical and Pharmaceutical University, 14A, Prof. Popova str., Saint-Petersburg, 197376, Russia

2 – Academician I. P. Pavlov First St. Petersburg State Medical University, 6–8, Leo Tolstoy str., Saint-Petersburg, 197022, Russia

3 – National Medical Research Center, 2, Akkuratov str., Saint-Petersburg, 197341, Russia

4 – Institute of Biomedical Chemistry, 10/8, Pogodinskaya str., Moscow, 119121, Russia

* адресат для переписки:

E-mail: dmitry.ivkin@pharminnotech.com

ВВЕДЕНИЕ

Касатик молочного-белый (*Iris lactea* Pall.) – многолетнее травянистое растение из семейства ирисовые (Iridaceae Juss.), применяется в народной медицине как антигипоксическое, иммуномодулирующее и противовоспалительное средство. Лекарственным сырьем является трава, собранная во время цветения. Основными химическими компонентами травы являются ксантон мангиферин, флавоновые С-гликозиды группы эмбинина и его ацетильные производные, сверцияпонин, ориентин, гомоориентин, фенольные кислоты [1].

Ранее для экстрактов *Iris lactea* были установлены низкая токсичность (максимально удавалось вводить животным 7000 мг/кг, при этом гибели не наблюдали), антигипоксическая активность в широком диапазоне доз (0,1–700 мг/кг), антиоксидантное действие в условиях токсического гепатита, дозозависимые иммуномодулирующие свойства, в том числе интерферогенная активность. Также была установлена кардиотропная активность при профилактическом введении экстракта в дозах 70 и 350 мг/кг на модели ишемии миокарда у крыс [2]. Имеются сведения о наличии у экстракта свойств

модулятора активности печёночных ферментов [3]. Была разработана технология получения и стандартизации настойки из травы *Iris lactea* [4], на основе экстракта создан «Лактир» – противовоспалительный комплекс с иммуномодулирующей активностью, а также биологически активная добавка к пище «Витонк» для повышения иммунитета и профилактики онкологических заболеваний [5].

Эмбинин (6-(2-O-(-альфа-L-рамнопиранозил)-бета-D-глюкопиранозил)-5-гидрокси-7-метокси-2-(4-метоксифенил)-4Н-1-бензопиран-4-он) (рисунок 1) – флавоновый гликозид, впервые выделенный из надземной части *Iris lactea* в 80-х годах XX века на кафедре фармакогнозии Ленинградского химико-фармацевтического института (ныне СПХФУ) [6], однако несовершенство методологии не позволило получить исследуемое вещество достаточной степени чистоты и в количестве, необходимом для фармакологических исследований.

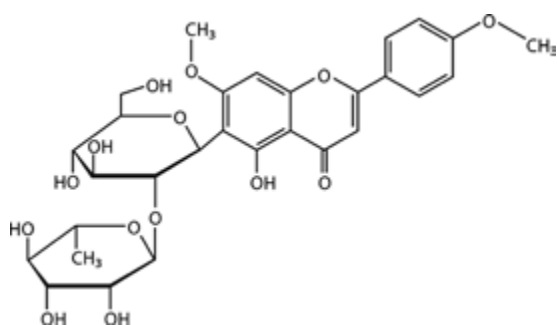


Рисунок 1. Структурная формула эмбинина

В 2016 году методом препаративной высокоэффективной жидкостной хроматографии сотрудниками СПХФУ и Университета им. Генриха Гейне (г. Дюссельдорф, Германия) был получен химически чистый эмбинин и несколько новых природных соединений – ацетилированных производных эмбинина [7, 8].

С целью определения наиболее перспективных направлений исследования биологической активности эмбинина *in vivo* использовали компьютерную программу PASS (Prediction of Activity Spectra for Substances). PASS позволяет по структурной формуле органического соединения оценить вероятный спектр его биологической активности, включающий фармако-терапевтические эффекты, молекулярные механизмы действия, метаболизм, влияние на генную экспрессию и транспортеры, побочные и токсические эффекты. Оценка основана на анализе взаимосвязей «структура – активность» для обширной обучающей выборки, содержащей субстанции лекарственных препаратов; «кандидаты в препараты», находящиеся на различных стадиях клинических и доклинических исследований; фармакологические вещества и биохимические реагенты; вещества, для которых имеется информация о специфической токсичности [9].

Средняя точность прогноза, рассчитанная по скользящему контролю с исключением по одному для

всех веществ обучающей выборки и всех видов биологической активности, составляет около 95%. Результаты прогноза, помимо названий активности, включают в себя оценки вероятностей наличия (Pa) и отсутствия каждой активности (Pi), имеющие значения от 0 до 1 [9]. При сопоставлении качества предсказания этой программы и ряда других методов прогноза профилей биологической активности показано наличие определенных преимуществ у PASS [10, 11].

Наиболее вероятным среди прогнозируемых для эмбинина видов биологической активности является кардиопротекторное действие (Pa=0,961, Pi=0,002) (таблица 1). Полученный результат указывает на перспективность дальнейшего тестирования данного соединения в экспериментах *in vivo* в отношении кардиотропных эффектов.

Таблица 1.

Прогнозируемый спектр активности для (6-(2-O-(-альфа-L-рамнопиранозил)-бета-D-глюкопиранозил)-5-гидрокси-7-метокси-2-(4-метоксифенил)-4Н-1-бензопиран-4-она) (эмбинина). Pa>0,9

Активность	Pa	Pi
Cardioprotectant	0,961	0,002
Chemopreventive	0,954	0,002
Membrane integrity agonist	0,947	0,004
TP53 expression enhancer	0,940	0,004
Free radical scavenger	0,923	0,002
Hepatoprotectant	0,922	0,002
CDP-glycerol glycerophosphotransferase inhibitor	0,918	0,007
Anticarcinogenic	0,907	0,002
Vasoprotector	0,905	0,003
Anaphylatoxin receptor antagonist	0,905	0,004
Membrane permeability inhibitor	0,904	0,004
Cytostatic	0,900	0,004

В связи с распространенностью различных форм сердечной недостаточности, тяжелыми исходами этой патологии и недостатками существующих кардиотонических средств актуален поиск новых кардиотонических препаратов. Применение сердечных гликозидов, несмотря на их высокую эффективность, ограничивается малой широтой терапевтического действия, значительным количеством побочных явлений и противопоказаний [12]. Поиск новых негликозидных и неадренергических кардиотоников направлен на получение препаратов с большой широтой терапевтического действия и наличием дополнительных полезных при этой патологии фармакологических свойств [13].

Учитывая результаты предсказания биологической активности эмбинина с помощью компьютерной программы PASS, а также установленное ранее для экстракта *Iris lactea* кардиотоническое действие, экспериментальное исследование кардиотропной активности эмбинина представляется актуальной задачей. Таким образом, целью настоящего исследования стала оценка кардиотонического действия эмбинина и его токсикологического профиля.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Исследование острой токсичности при пероральном введении эмбинина проводили по методу определения класса острой токсичности согласно ГОСТ 32644-2014 на белых беспородных самках крыс массой 180–200 г, полученных из ФГУП «Питомник лабораторных животных «Рапполово» [14]. Животных, сгруппированных по дозам (300 и 2000 мг/кг эмбинина перорально), содержали в искусственно вентилируемых клетках при температуре 22 ± 3 °С и влажности 50–60% при искусственном освещении с 12-часовой сменой цикла «день – ночь» на полнорационном лабораторном корме с неограниченным доступом к питьевой воде. Испытание предельной дозы в 2000 мг/кг массы тела проводили на 6 животных (по 3 животных на каждый из 2 этапов). Испытуемое вещество вводили в виде суспензии в объёме до 3 мл на животное.

Оценку инотропного действия эмбинина проводили в сравнении с дигоксином на модели перфузии изолированного сердца крысы по Лангендорфу [15]. В процессе перфузии регистрировали конечное систолическое давление (КСД) в левом желудочке по стандартной методике. Модифицированный аппарат Лангендорфа состоял из двух перфузионных колонок, в одной из которых находился буферный раствор Кребса – Хенселейта, в другой – тот же раствор с растворённой в нём субстанцией эмбинина (или препаратом сравнения дигоксином). В обеих колонках осуществлялась оксигенация и термостатирование растворов при $+37$ °С.

После завершения периода стабилизации (10 мин) осуществлялось попеременное подключение перфузируемого сердца к колонкам с растворённой субстанцией эмбинина (или дигоксина) и к колонке с раствором без эмбинина (или дигоксина). Время перфузии сердца из каждой колонки составляло 1 минуту. На 30-й секунде каждого эпизода перфузии анализировалась величина КСД. На каждом сердце было выполнено 10 измерений, всего в данной экспериментальной группе было 5 сердец. Контрольная группа была аналогична опытной, в ней вместо эмбинина использовался дигоксин в эквивалентной концентрации.

Оценочным критерием инотропного эффекта субстанции эмбинина и референсного дигоксина являлся прирост величины КСД, который выражался в процентном отношении данной величины на 30-й секунде перфузии испытуемым веществом к таковой величине во время предыдущего эпизода перфузии раствором Кребса – Хенселейта без испытуемого вещества.

После исследований на изолированном сердце (органный уровень) было принято решение провести эксперимент *in vivo* для более детального изучения инотропного, хронотропного эффектов и исключения острых нежелательных лекарственных реакций на сердце. В эксперименте использовались крысы-самцы стока Wistar (n=9) массой 250 ± 50 г. Крыс наркотизировали с помощью внутрибрюшинного введения хлоралгидрата в дозе 425 мг/кг (Acros Organics, США). Живот-

ные располагались на термостатируемом столике. В ходе эксперимента выполнялась запись электрокардиограммы с помощью стационарного компьютерного кардиографа высокого разрешения «Кардиотехника-8» (ЗАО «Инкарт», Россия) в стандартных отведениях с целью оценки нарушений ритма и мониторингирования частоты сердечных сокращений (ЧСС). Для оценки систолической функции сердца проводилось эхокардиографическое исследование (ЭХО-КГ) с расчётом фракции укорочения левого желудочка (ФУ). Использовалась эхокардиографическая ультразвуковая установка высокого разрешения MyLabTouchSL 3116 (Essaot, Италия) с сосудистым линейным датчиком (частота – 13 МГц, глубина сканирования – 2 см) [16].

На первом этапе производилась катетеризация бедренной вены и установка сосудистого катетера. Выполнялось эхокардиографическое исследование (ЭХО-КГ) с регистрацией основных гемодинамических показателей: ФУ и ЧСС. Расчет ФУ производился по формуле $[(\text{КДР} - \text{КСР}) / \text{КДР}] \times 100$, где КДР – конечный диастолический размер левого желудочка, КСР – конечный систолический размер левого желудочка.

В дальнейшем в бедренную вену вводилось 0,2 мл насыщенного раствора эмбинина с последующей регистрацией гемодинамических показателей непосредственно после введения, через 5 и 10 мин (рисунок 2).



Рисунок 2. Протокол эксперимента по оценке влияния эмбинина на гемодинамику *in vivo*

Результаты экспериментов обработаны статистически с использованием непараметрического критерия Манна – Уитни.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Прогноз острой токсичности для крыс при пероральном способе введения, выполненный с использованием программы GUSAR [17], дает значение 527 мг/кг. Однако в результате экспериментального исследования острой токсичности было установлено, что введение эмбинина в предельной дозе 2000 мг/кг самкам крыс не вызывает гибели или каких-либо проявлений токсического действия (таблица 2), что позволяет отнести данное вещество к 5-му классу токсичности.

В то же время, по литературным данным, ЛД₅₀ препарата сравнения дигоксина для взрослых крыс составляет $30,0 \pm 1,9$ мг/кг [18], что свидетельствует о существенно большей терапевтической широте эмбинина.

Таблица 2.

Исследование по методу определения класса острой токсичности

Шаг, доза	Шаг А3, доза 300 мг/кг	Шаг А4, доза 2000 мг/кг	Шаг А4*, доза 2000 мг/кг
Исход	3 из 3 живы	3 из 3 живы	3 из 3 живы

Примечание: *повторение эксперимента.

При перфузии миокарда по методу Лангендорфа прирост систолического внутрижелудочкового давления в группе эмбинана оказался равным 19%, в группе дигоксина – 47%, различие достоверно ($p < 0,05$) (таблица 3).

Таблица 3.

Сравнительная инотропная активность эмбинана и дигоксина на выделенном миокарде

Перфузируемый раствор	Давление в левом желудочке, мм рт. ст.	
	M±m (среднее ± среднеквадратичное отклонение)	%
Кребс – Хензелейт (Контроль 1)	119±2*	100
Кребс – Хензелейт + эмбинин	142±6*	119*
Кребс – Хензелейт (Контроль 2)	112±4*	100
Кребс – Хензелейт + дигоксин	165±10*	147*

Примечание: *различия достоверны при $p < 0,05$.

Таким образом, положительный инотропный эффект эмбинана в сравнении с дигоксином в эквивалентной концентрации оказался менее выраженным.

В экспериментах *in vivo* сразу после введения раствора эмбинана отмечалось значимое увеличение ФУ по сравнению с исходными значениями ($p < 0,05$) (ФУ исходная – 43,4±3,9%; ФУ сразу после введения – 57,6±7,7%). Через 5 мин после введения отмечалась нормализация уровня ФУ (34,1±5,3%) с тенденцией ($p = 0,09$) к снижению отно-

сительно исходных показателей. Значимых различий между ФУ через 10 мин (39,6±8,1%) и исходными значениями выявлено не было ($p = 1,0$) (рисунки 3, 4).

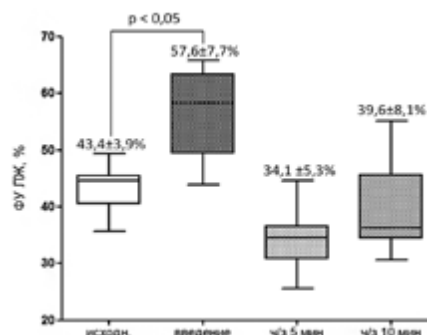


Рисунок 3. Динамика изменения фракции укорочения левого желудочка после введения эмбинана

Значимых различий по ЧСС между всеми точками наблюдения выявлено не было (исходная ЧСС – 369±7/мин, ЧСС сразу после введения – 361±14/мин, через 5 мин – 358±9/мин, через 10 мин – 359±21/мин).

На фоне введения 0,2 мл насыщенного раствора эмбинана отмечалось появление незначительного числа одиночных желудочковых экстрасистол, которые исчезали на 5–7-й минуте наблюдения.

Таким образом, в результате оценки кардиотропического действия был обнаружен положительный инотропный эффект, а также на фоне введения 0,2 мл насыщенного раствора эмбинана отмечалось появление незначительного числа одиночных желудочковых экстрасистол, которые исчезали на 5–7-й минуте наблюдения, в отличие от сердечных гликозидов, вызывающих в эксперименте аллоритмию по типу бигеминии и тригеминии [12]. Эти данные позволяют рассматривать эмбинин как перспективную молекулу для дальнейших исследований эффективности при сердечно-сосудистой патологии.

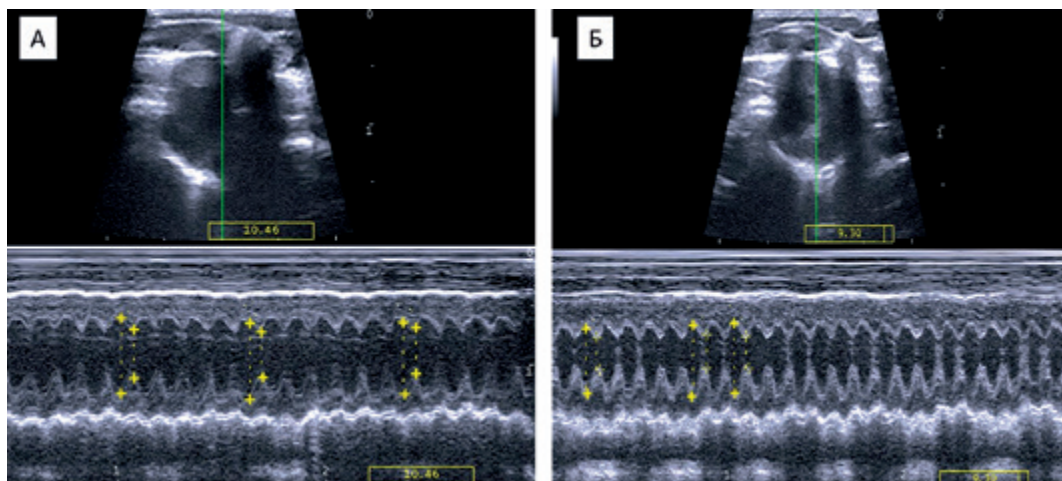


Рисунок 4. А, Б – эхокардиографическое исследование, М-режим, короткая парастернальная позиция. А – до введения эмбинана, Б – сразу после введения эмбинана

В настоящее время сердечные гликозиды в клинической медицине используют в подавляющем большинстве случаев не с целью усиления сократимости миокарда, а с целью контроля ритма и нейромодуляторных эффектов (снижение катехоламинергического влияния и уровня ренина) у больных с хронической сердечной недостаточностью. В этом плане менее выраженный прирост сократимости миокарда под действием эмбинина в сравнении с дигоксином недостатком эмбинина не является. В дальнейшем планируется выполнить более детальное экспериментальное исследование механизмов инотропного действия, возможных плейотропных эффектов, оценить побочные эффекты, а также осуществить подбор эффективных доз эмбинина при сердечной недостаточности и изучить влияние его на твёрдые конечные точки при длительной терапии с целью определения возможных перспектив его клинического использования.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

1. Эмбинин, флавоновый гликозид, выделенный из травы *Iris lactea*, относится к веществам 5-го класса токсичности.
2. Предсказание спектра биологической активности эмбинина с использованием программы PASS показало, что наиболее вероятным является кардиопротекторное действие.
3. В результате эксперимента на органном и организменном уровнях был обнаружен положительный инотропный эффект, что на фоне низкой токсичности позволяет рассматривать эмбинин как перспективную молекулу для дальнейших исследований при сердечно-сосудистой патологии.

Благодарности

Компьютерное прогнозирование спектров биологической активности (ВВП) выполнено в рамках Программы фундаментальных научных исследований государственных академий наук на 2013–2020 годы.

ЛИТЕРАТУРА

1. Яковлев Г. П. Большой энциклопедический словарь лекарственных растений. 3-е изд. – СПб.: Спецлит, 2015. 759 с. [Yakovlev G. P. Bol'shoy enciklopedicheskiy slovar' lekarstvennykh rasteniy. 3-e izd. [The encyclopedic dictionary of medicinal plants.] 3rd ed. – SPb., Spetslit, 2015. 759 p.]
2. Мельникова Т. И. Фармакологическое изучение суммарного экстракта касатика молочного-белого: дисс. ... к.биол.н. СПб., 1994. 162 с. [Melnikova T. I. Farmakologicheskoe izuchenie summarnogo ekstrakta kasatika molochno-belogo: diss. ... k.biol.n. [The pharmacological research of the summary extract of *Iris lactea*. Dissertation of the PhD at biological sciences.] – Spb., 1994. 162 p.]
3. Friedman F. K., West D., Sugimura T., Gelboin H. V. Flavone modulators of rat hepatic aryl hydrocarbon hydroxylase // *Pharmacology*. 1985. № 31. Is. 4. P. 203–2076.
4. Ланина Н. Е. Разработка технологии настойки из травы касатика молочного-белого и её стандартизация: автореф. дисс. ... к.фарм.н. – СПб., 2003. 23 с. [Lanina N. E. Razrabotka tehnologii nastoiki iz travi kasatika mo-lochno-belogo: avtoref. diss. ... k. biol. n. [The creation of tincture technology from the grass of *Iris lactea*: the author's abstract of the dissertation of the PhD at biological sciences.] – Spb., 2003. 23 p.]
5. Тихомирова Л. И., Базарнова Н. Г., Микушина И. В., Долганова З. В. Фармаколого-биохимическое обоснование практического использования некоторых представителей рода *Iris* L. (обзор) // *Химия растительного сырья*. 2015. № 3. С. 25–34. [Tikhomirova L. I., Bazarnova N. G., Mikushina I. V., Dolganova Z. V. Farmakologo-biochimicheskoe obosnovanie prakticheskogo ispol'zovaniya nekotorykh predstavitelei roda *Iris* L. (obzor) // *Khimiya rastitel'nogo syr'ya*. [Pharmacological and biochemical basis for the use of some species from the genus *Iris* L. (review) // *Chemistry of plant raw materials*.] 2015. № 3. P. 25–34.]
6. Пряхина Н. И. Фитохимическое изучение касатика молочного-белого: дисс. ... к.фарм.н. – СПб., 1984. 193 с. [Pryakhina N. I. Fitochimicheskoe izuchenie kasatika molochno-belogo: diss. ... k.farm.n. [Phytochemical analysis of *Iris lactea*. Dissertation of the PhD at pharmaceutical sciences.] – Spb., 1984. 193 p.]
7. Luzhanin V. G., Whaley A. K. Development of embinin isolation technology from *Iris lactea* and the research of its pharmacological activity // *Reviews of clinical pharmacology and drug therapy*. 2016. № 14. P. 42.
8. Whaley A. K., Ebrahim W., El-Neketi M., Ancheeva E. U., Ferhat Can Özkaya, Pryakhina N. I., Sipkina N. U., Luzhanin V.G., Liu Zhen, Peter Proksh. New acetylated flavone C-glycosides from *Iris lactea* // *Tetrahedron Letters*. 2017. V 58. Is. 22(31). P. 2171–2173.
9. Filimonov D. A., Lagunin A. A., Glorizova T. A., Rudik A. V., Druzhilovskiy D. S., Pogodin P. V., Poroikov V. V. Prediction of the biological activity spectra of organic compounds using the PASS online web resource // *Chemistry of Heterocyclic Compounds*. 2014. № 50(3). P. 444–457.
10. Druzhilovskiy D. S., Rudik A. V., Filimonov D. A., Lagunin A. A., Glorizova T. A., Poroikov V.V. Online resources for the prediction of biological activity of organic compounds // *Russian Chemical Bulletin, International Edition*. 2016. № 65(2). P. 384–393.
11. Murtazaliev K. A., Druzhilovskiy D. S., Goel R. K., Sastry G. N., Poroikov V. V. How good are publicly available web services that predict bioactivity profiles for drug repurposing? // *SAR and QSAR in Environmental Research*. 2017. № 28(10). P. 843–862.
12. Опи Л. Х. Лекарства в практике кардиолога. – М.: Рид Элсивер, 2010. С. 255–312. [Opi L.C. Lekarstva v praktike kardiologa [Medicines in the practice of a cardiologist.] – М.: Rid Elsilver, 2010. P. 255–312.]
13. Машковский М. Д. Лекарственные средства. 15-е изд. – М.: Новая Волна, 2005. 1200 с. [Mashkovski M.D. Lekarstvennie sredstva. 15-e izd. [Medicines. 15th ed.] – М.: Novaya Volna, 2005. 1200 p.]
14. ГОСТ 32644-2014. Методы испытания по воздействию химической продукции на организм человека. Острая пероральная токсичность – метод определения класса острой токсичности. [ГОСТ 32644-2014. Metodi ispitaniya po vozdeistviyu khimicheskoy produktsii na organism cheloveka. Ostraya peroral'naya toksichnost' – metod opredeleniya klassa ostroi toksichnosti. [Methods for the testing of chemical products on the human organism. Acute oral toxicity – methods of class discription.]
15. Минасян С. М., Галагудза М. М., Сонин Д. Л., Боброва Е. А., Зверев Д. А., Королев Д. В., Дмитриев Ю. В., Васильева М. С., Григорова Ю. Н., Власов Т. Д. Методика перфузии изолированного сердца крысы // *Регионарное кровообращение и микроциркуляция*. 2009. Т. 8. № 4(32). С. 54–59. [Minasyan S. M., Galagudza M. M., Sinin D. L., Bobrova E. A., Zverev D. A., Korolev D. V., Dmitriev U. V., Vasil'eva M. C., Grigorova U. N., Vlasov T. D. Metodika perfuzii izolirovannogo serdca krisi // *Regionalnoe krovoobrashchenie i mikrotsirkulyatsiya*. [Methodology of isolated rat heart perfusion // *Regional blood circulation and microcirculation*.] 2009. T. 8. № 4(32). P. 54–59.]
16. Карпов А. А., Ивкин Д. Ю., Драчева А. В., Питухина Н. Н. и др. Моделирование постинфарктной сердечной недостаточности путем окклюзии левой коронарной артерии у крыс: техника и методы морфофункциональной оценки // *Биомедицина*. 2014. № 3. С. 32–48. [Karpov A. A., Ivkin D. U., Dracheva A. V., Pituchina N. N. i dr. Modelirovanie postinfarktnoi serdechnoi nedostatocnosti putem okkluzii levoi koronarnoi arterii u kris: tehnika i metodi morfofunkcional'noi ocenki // *Biomeditsina*. [Modeling of postinfarct heart deficiency using left coronary artery occlusion // *Biomedicine*.] 2014. № 3. P. 32–48.]
17. Lagunin A., Zakharov A., Filimonov D., Poroikov V. QSAR modelling of rat acute toxicity on the basis of PASS Prediction // *Molecular Informatics*. 2011. № 30(2-3). P. 241–250.
18. Weinhouse E, Kaplanski J, Warszawski D, Danon A, Gorodischer R. Cardiac toxicity of digoxin in newborn and adult rats // *Pediatr Pharmacol (New York)*. 1980. № 1(2). P. 97–103.