

Оценка общетоксических свойств препарата ДОН-1 в рамках доклинической безопасности для теплокровных животных

М. П. Семенов[✉], доктор ветеринарных наук, доцент, заведующая отделом фармакологии

А. В. Басанкин, кандидат ветеринарных наук, докторант

К. А. Семенов, кандидат экономических наук, старший научный сотрудник отдела фармакологии

ФГБНУ «Краснодарский научный центр по зоотехнии и ветеринарии»

350004, г. Краснодар, ул. Первомайская, д. 4

[✉]sever291@mail.ru

Резюме. В статье представлены результаты исследований по изучению острой токсичности препарата ДОН-1 на половозрелых нелинейных белых крысах с массой тела 210...218 г при его однократном внутрижелудочном введении. Целью изучения острой токсичности явилось определение переносимых, токсических и летальных доз препарата ДОН-1 для теплокровных животных. Токсикометрия предусматривала введение подопытным крысам изучаемого препарата с помощью атравматичного пищеводного зонда с затупленным концом. Введение осуществлялось в следующем диапазоне доз: 5,0...4,5...4,0...3,5...3,0...2,5...2,0...1,5 мл/кг массы тела. Объем вводимого препарата во всех случаях (кроме контрольной группы) доводился физиологическим раствором до 5 мл. Аналогам контрольной группы внутрижелудочно вводился физраствор, также в максимальной дозе, составившей 5,0 мл/кг. В ходе эксперимента осуществляли регистрацию клинических признаков интоксикации подопытных крыс, учитывали сроки гибели животных, скорость нарастания симптомов, характер поведенческих и физиологических изменений. При регистрации падежа в опытных группах проводили патологоанатомическое вскрытие павших особей с оценкой макроскопической картины органов и тканей. На основании проведенных исследований для препарата ДОН-1 при внутрижелудочном введении была установлена следующая шкала токсичных доз: LD₀ – доза, составляющая 2150 мл/кг массы тела, LD₅₀ – 2300 мл/кг массы тела и LD₁₀₀ – 3500 мл/кг массы тела. По степени токсичности согласно «Методов испытания по воздействию химической продукции на организм человека. Острая пероральная токсичность – метод определения класса острой токсичности», препарат ДОН-1 отнесен к 5 классу опасности; согласно стандарта «Вредные вещества. Классификация и общие требования безопасности» – к 3 классу опасности (вещества умеренно опасные).

Ключевые слова: препарат ДОН-1, острая токсичность, белые крысы, внутрижелудочное введение, класс опасности.

Для цитирования: Семенов М. П., Басанкин А. В., Семенов К. А. Оценка общетоксических свойств препарата ДОН-1 в рамках доклинической безопасности для теплокровных животных // Вестник Ульяновской государственной сельскохозяйственной академии. 2024. №2 (66). С. 111-116. doi:10.18286/1816-4501-2024-2-111-116

Assessment of the general toxic properties of the drug DON-1 within the framework of preclinical safety for warm-blooded animals

M. P. Semenenko[✉], A. V. Basankin, K. A. Semenenko

FSBI "Krasnodar Scientific Center for Animal Husbandry and Veterinary Medicine"

350004, Krasnodar, Pervomaiskaya st., 4

[✉]sever291@mail.ru

Abstract. The article presents the results of studies of the acute toxicity of the drug DON-1 in mature non-linear white rats weighing 210...218 g with its single intragastric administration. The aim of the study of acute toxicity was to determine the tolerable, toxic and lethal doses of the drug DON-1 for warm-blooded animals. Toxicometry involved administering the studied drug to experimental rats using an atraumatic esophageal probe with a blunt end. Administration was carried out in the following dose range: 5.0...4.5...4.0...3.5...3.0...2.5...2.0...1.5 ml/kg body weight. The volume of the administered drug in all cases (except for the control group) was adjusted to 5 ml with saline solution. During the experiment, clinical signs of intoxication in experimental rats were recorded, the timing of death of the animals, the rate of increase in symptoms, and the nature of behavioral and physiological changes were taken into account. When registering deaths in experimental groups, a pathological autopsy of dead individuals was carried out with an assessment of the macroscopic picture of organs and tissues. Based on the studies conducted for the drug DON-1 when administered intragastrically, the following scale of toxic doses was determined: LD₀ – a dose of 2150 ml/kg body weight, LD₅₀ – 2300 ml/kg body weight and LD₁₀₀ – 3500 ml/kg body weight. According to the degree of toxicity according to "Test methods

for the effects of chemical products on the human body. Acute oral toxicity – a method for determining the acute toxicity class,” the drug DON-1 is classified as hazard class 5; according standard “Harmful substances. Classification and general safety requirements” – to hazard class 3 (moderately hazardous substances).

Key words: drug DON-1, acute toxicity, white rats, intragastric administration, hazard class.

For citation: Semenenko M. P., Basankin A. V., Semenenko K. A. Assessment of the general toxic properties of the drug DON-1 within the framework of preclinical safety for warm-blooded animals // *Vestnik of Ulyanovsk state agricultural academy*. 2024;2(66): 111-116 doi:10.18286/1816-4501-2024-2-111-116

Введение

В народном хозяйстве используется огромное количество различных химических веществ и соединений, обладающих рядом положительных биологических эффектов на живой организм. Однако зачастую принципы взаимодействия этих веществ не всегда отражают положительную взаимосвязь их физико-химических свойств и признаков с объектами, на которые они могут оказывать влияние. В результате такого воздействия на организм возможны проявления различных неспецифических или специфических функциональных сдвигов, приводящие к негативным последствиям как на клеточном уровне, так и на уровне органов и систем живого организма [1, 2, 3, 4, 5].

Для выявления подробных действий необходимо использование различных методов, позволяющих характеризовать функциональные, метаболические или структурные изменения, ставящие своей целью качественную оценку патологических процессов, вызываемых химическими соединениями [6, 7, 8, 9]. К таким соединениям относится 2-фуранон, представляющий собой гетероциклическое органическое соединение. Другое химическое название 2-фуранона – γ -кратонолактон (GCL), производный от γ -гидроксиизократононовой кислоты.

Кратонолактон (2-оксо-2,5 дегидрофуран) – циклический сложный эфир γ -оксикратононовой кислоты, подходящий по своей природе ближе всего к кумаринам. Кумарины, являясь ненасыщенными системами, могут принимать водород и участвовать в окислительно-восстановительных реакциях, восстанавливаясь до фенольных соединений. В растительных клетках фенольные соединения служат субстратом для окислительно-восстановительных ферментов, в частности оксидаз (моно-, ди- и полифенолоксидазы), что позволяет им стимулировать дыхательный метаболизм, являясь дополнительным источником синтеза макроэргических соединений. Последние используются растениями для биосинтеза основных компонентов своего состава (углеводов, белков, липидов) [10, 11]. Кроме этого, фенольные соединения играют защитную роль при повреждении растительных организмов, т.е. препятствуют вторжению микробов. Кратонолактон, являясь активным соединением при восстановлении, окислении, гидролизе, может быть поставщиком углеродного скелета для биосинтеза любых соединений в клетке. Он может превращаться в янтарную, малеиновую, яблочную кислоты, которые являются естественными компонентами клеток. Таким образом, можно предположить, что кратонолактон,

включаясь в метаболический цикл растений, преобразуется в вещества, свойственные этому виду растений [12, 13].

Благодаря этим свойствам, кратонолактон способен оказывать стимулирующее влияние на растения. Его использование в растениеводстве позволяет получать прибавку урожая в зависимости от культуры и направления их использования от 10 до 80 %.

Кроме того, фурфурол и его производные, в частности, бутенолиды – входят в состав многих природных соединений в качестве структурных фрагментов. Их применяют при производстве лекарственных препаратов, пестицидов, селективных растворителей, душистых веществ, полимеров. Эти соединения вследствие своей полифункциональности являются перспективными полупродуктами органического синтеза, в том числе и для получения высокоэффективных биологически активных веществ [14, 15].

Однако действие производных бутенолидов на живой организм практически не изучено.

Цель исследования – установление границ токсических или летальных доз препарата ДОН-1, позволяющих определить класс и степень его опасности при попадании в желудок теплокровных животных.

Материалы и методы

ДОН-1 – препарат, представляющий собой сиропообразную подвижную жидкость красно-желтого цвета с острым кислым запахом.

Общетоксические свойства препарата ДОН-1 были изучены по его влиянию на организм лабораторных животных в остром токсикологическом эксперименте при внутрижелудочном введении. Экспериментальная часть исследований проведена в виварии отдела фармакологии ФГБНУ КНЦЗВ на половозрелых белых крысах с массой тела 210...218 г.

Испытание выполняли в соответствии с методическими указаниями (*Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ*. Под ред. Р. У. Хабриева. 2 изд. перераб. и доп. М.: ОАО «Издательство «Медицина». 2005. 832 с.), (*Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств / под ред. А. Н. Миронова. Часть первая*. М.: Гриф и К, 2012. 944 с.).

Было сформировано 9 групп животных (8 опытных и одна контрольная, n=6), помещенных в клетки – контейнеры (57×39×28 см). При кормлении использовали обычный лабораторный рацион (зерносмесь собственного производства, состоящая из овса, пшеницы, пшеница, ячменя, подсолнечного

семени и кукурузы, 12...15 г на крысу в сутки, с добавлением в рацион яблок и моркови) с неограниченным количеством питьевой воды (из централизованной системы питьевого водоснабжения).

В течение первых семи дней после формирования групп крысы были подвергнуты карантинизации для оценки их физиологического состояния, выявления возможных клинических признаков заболевания, а также внутригрупповой адаптации.

Основной целью проведения эксперимента по определению острой токсичности было установление среднесмертельной дозы LD₅₀ для препарата ДОН-1. Токсикометрия предусматривала введение

подопытным крысам препарата с помощью атравматичного пищеводного зонда с затупленным концом в следующем диапазоне доз 5,0...4,5...4,0...3,5...3,0...2,5...2,0...1,5 мл/кг массы тела. Аналогом контрольной группы внутрижелудочно вводили физиологический раствор в максимальной дозе, составившей 5,0 мл/кг. Далее, объем вводимого препарата во всех случаях (кроме контрольной группы) доводили физраствором до 5 мл (максимально возможный объем для этого вида животных, масса которых составляет 200...240 г). Дизайн исследования представлен в таблице 1.

Таблица 1. Дизайн исследования острой токсичности препарата ДОН-1 при внутрижелудочном введении лабораторным крысам

Группа	Доза препарата, мл/кг	Доза препарата, мл/жив	Путь введения	Объем введения, мл	Количество животных в группе		Период наблюдения, дней
					самцов	самок	
Контрольная	–	–	в/ж	Sodium chloride 0,9 %, 5,0	3	3	14
1 Опытная	5,0	1,0	в/ж	ad5	3	3	
2 Опытная	4,5	0,9	в/ж	ad5	3	3	
3 Опытная	4,0	0,8	в/ж	ad5	3	3	
4 Опытная	3,5	0,7	в/ж	ad5	3	3	
5 Опытная	3,0	0,6	в/ж	ad5	3	3	
6 Опытная	2,5	0,5	в/ж	ad5	3	3	
7 Опытная	2,0	0,4	в/ж	ad5	3	3	
8 Опытная	1,5	0,3	в/ж	ad5	3	3	

Таблица 2. Выживаемость крыс при внутрижелудочном введении препарата ДОН-1

Группа	Доза, мл/кг	Количество павших животных в группе		Период гибели
		самцов	самок	
контрольная	Sodium chloride	0	0	–
1 опытная	5,0	3	3	через 3...5 ч после интоксикации
2 опытная	4,5	3	3	через 3...5 ч после интоксикации
3 опытная	4,0	3	3	через 4...8 ч после интоксикации
4 опытная	3,5	3	3	через 5...11 ч после интоксикации
5 опытная	3,0	2	3	через 2 суток после интоксикации
6 опытная	2,5	1	2	через 3...5 суток после интоксикации
7 опытная	2,0	0	1	на 8 сутки после интоксикации
8 опытная	1,5	0	0	–

В ходе опыта регистрировали возможные клинические признаки отравления животных, в случаях гибели – сроки погибших животных.

Общая продолжительность наблюдения за животными при исследовании острой токсичности препарата ДОН-1 составила 14 суток. Учет параметров и регистрацию состояния животных проводили ежедневно. Периодичность оценки состояния животных в течение первых суток – непрерывное наблюдение. Далее – регулярная оценка общего состояния грызунов, особенностей их поведения, интенсивности и характера двигательной активности, тонуса скелетных мышц, характера дыхательных движений, состояния шерстного и кожного покрова, окраски слизистых оболочек, потребления корма и воды, консистенции фекальных масс и других показателей, характеризующих токсическое действие.

Все проводимые манипуляции с крысами выполняли в соответствии с общепринятыми нормами обращения с животными (Guide for the Care and Use of Laboratory Animals. National Academies Press (US). Washington (DC). 2011) и на основе стандартных операционных процедур, принятых в ФГБНУ «Краснодарский научный центр зоотехнии и ветеринарии».

Результаты

Данные о выживаемости животных контрольной и опытных групп, собранные в течение 14 дневного периода наблюдений, представлены в таблице 2 и на рис. 1.

В опытных группах 1...5 с диапазоном доз препарата от 5,0 до 3,0 мл/кг массы тела в первые сутки после введения препарата ДОН-1 регистрировали 100 % летальность.

Основными признаками интоксикации были заторможенность, переходящая в быстро нарастающее угнетение (скорость нарастания зависела от величины вводимой дозы), отсутствие взаимодействия между особями в группе, отказ от кормовых

привычек. В последующем состояние животных ухудшалось, возникало резкое диафрагмальное дыхание с дальнейшим учащением дыхательных движений, отсутствие реакции на внешние раздражения.

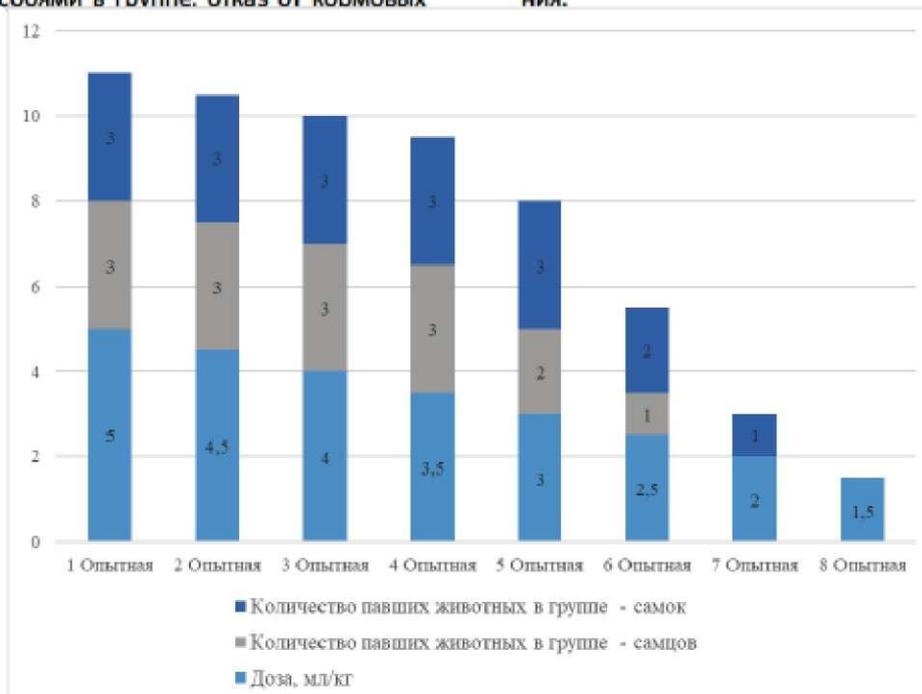


Рис. 1. Выживаемость крыс опытных групп при внутрижелудочном введении препарата ДОН-1

В большинстве случаев гибель крыс наступала при полном угнетении и отсутствии подвижности с постепенным затуханием дыхательных движений вплоть до полной их остановки. У некоторых животных перед смертью фиксировались судороги и агония.

При патоморфологическом вскрытии павших крыс наблюдали следующую макроскопическую картину: в плевральной полости – скопление прозрачной жидкости (транссудат или экссудат), легкие визуально без патологий, у некоторых пропитаны кровью, на сердце – сосудистый рисунок, кровенаполненность, в кишечнике сосуды расширены и кровенаполнены.

Скорость нарастания симптомов интоксикации уменьшалась со снижением вводимой дозы, а промежуток от введения препарата до летального исхода увеличивался с уменьшением исследуемой дозы.

В группе 6 характерная токсикологическая картина развивалась в течение первых двух суток после введения препарата. У грызунов отмечали угнетение, чередующееся с признаками некоторой активности и слабое реагирование на внешние раздражители. Падеж в этой группе регистрировали с 3 по 5 сутки с момента интоксикации. За период наблюдения в группе пало четыре особи. У выживших животных с 6 дня исследований стали отмечаться признаки восстановления физиологических параметров и пищевых привычек. Нарастания признаков

интоксикации в последующие дни эксперимента не выявлено.

В группе 7 за весь период опыта была зарегистрирована гибель одной самки на 8 сутки, тогда как в группе 8 падежа зафиксировано не было. Признаки интоксикации и различия с состоянием контрольных крыс в данной группе не регистрировались.

Для дифференцирования токсических доз и получения более точного результата были проведены дополнительные исследования по методу Deichmann & Le Blanc (1943), основанного на применении ограниченного количества доз, каждая из которых применяется одному животному. Для этого были выбраны дозы в следующем диапазоне: 3,5...3,35...3,2...3,05...2,9...2,75...2,6...2,45...2,3...2,15...2,0...1,85 мл/кг, которые тем же способом вводили подопытным крысам.

В результате установлено, что дозами, вызвавшими гибель грызунов, явились дозы от 3,5 до 2,45 мл/кг массы тела, тогда как дозы 2,3...1,85 мл/кг переносились животными без летального исхода.

При внутрижелудочном введении препарата ДОН-1 были определены следующие токсичные дозы: за LD_{50} принята доза, составляющая 2,3 мл/кг массы тела, за LD_{20} – 2,5 мл/кг массы тела и за LD_{100} – 3,5 мл/кг массы тела.

А поскольку классификация веществ, воздействующих на организм при введении в желудок, по степени токсичности оценивается в мг/кг (г/кг), был проведен перерасчет препарата из мл в граммы с

учетом входящих в его состав компонентов. Плотность препарата ДОН-1 составляет 1,185 г, следовательно, в пересчете на твердое вещество токсические дозы для белых лабораторных крыс составили: LD₀ – 2755 мг/кг; LD₅₀ – 2960 мг/кг и LD₁₀₀ – 3500 мг/кг.

Обсуждение

В результате проведенного исследования установлены токсикологические параметры препарата ДОН-1 для теплокровных животных, позволившие определить степень его опасности при попадании в желудок. Анализ литературы показал, что ранее подобные исследования не проводились, в отечественных и зарубежных источниках информация о токсических свойствах препаратов, содержащих циклические сложные эфиры γ-оксикротоновой кислоты на биообъекты, отсутствует, что еще раз подтверждает важность данного исследования, поскольку позволяет оценить возможность вредного влияния препарата ДОН-1 на здоровье животных и человека.

Основные токсические эффекты, проявляемые при высоких дозах, обусловлены компонентами, входящими в состав препарата – кротонолактона – вещества с узкой зоной токсического действия и

комплекса органических кислот – янтарной, фумаровой и малеиновой. Сами по себе органические кислоты не обладают выраженными токсическими свойствами, но присутствие в препарате циклически сложного эфира γ-оксикротоновой кислоты приводит к угнетению ферментной деятельности в гепатоцитах печени, в частности, протромбина, уменьшая его содержание в крови и снижая способность крови к свертыванию. Подобный токсический эффект приводит к появлению множественных кровоизлияний в органах и тканях, и в первую очередь, в легких, и сердечной мышце, что и наблюдали в ходе острого токсикологического эксперимента [16, 17, 18].

Заключение

Исходя из токсикологических характеристик острого эксперимента препарат ДОН-1 по ГОСТ 32644-2014 «Методы испытания по воздействию химической продукции на организм человека. Острая пероральная токсичность – метод определения класса острой токсичности», отнесен к 5 классу опасности; по ГОСТ 12.1.007-76 «Вредные вещества. Классификация и общие требования безопасности» – к 3 классу опасности (вещества умеренно опасные).

Литература

- Тулина М. А., Пятигорская Н. В. Особенности разработки, доклинических и клинических исследований биомедицинских клеточных продуктов // РМЖ. Медицинское обозрение. 2017. № 25 (11). С. 830–835.
- Агрохимические средства оптимизации минерального питания растений и экономическая оценка эффективности их применения / А. Х. Шеуджен, А. И. Трубилин, С. В. Кизинек и др. Майкоп: «Полиграф-ЮГ». 2017. 130 с.
- Юркова А. А. Химическое загрязнение окружающей среды // Colloquium-journal. 2021. №18 (105). С.9–12.
- Гуськова Т. А. Лекарственная токсикология и безопасность лекарственных средств // Токсикологический вестник. 2014. № 2 (125). С. 2.
- Guengerich F. P. Mechanisms of drug toxicity and relevance to pharmaceutical development // Drug Metab Pharmacokinet. 2011. Vol. 26. No. 1. P. 3-14. doi: 10.2133/dmpk.dmpk-10-rv-062.
- Кузьминова Е. В. Изучение токсических свойств препаратов бета-каротина / Е. В. Кузьминова, В. А. Антипов, М. П. Семененко // Свободные радикалы, антиоксиданты и здоровье животных: Материалы международной научно-практической конференции, Воронеж, 21–23 сентября 2004 года. Воронеж: Воронежский государственный университет, 2004. С. 207–210.
- Токсикологические показатели и эффективность кормовых подкислителей / А. З. Равилов, В. С. Угрюмова, А. П. Савельчев и др. // Ветеринария. 2011. № 9. С. 55–58.
- Семененко М. П. Токсикологическая оценка препарата моренит // Ветеринарная патология. 2006. № 3 (18). С. 161–164.
- Матюшевский Л. А. Результаты исследований биологической эффективности бентонитов / Л. А. Матюшевский, М. П. Семененко // Новые фармакологические средства для животноводства и ветеринарии: Материалы научно-практической конференции, посвященной 55-летию ГУ Краснодарской НИВС: в 2-х томах, Краснодар, 13–15 июня 2001 года. Том II. Краснодар: Издательство Истоки, 2001. С. 14–15.
- Безуглова, О. С. Удобрения и стимуляторы роста // Ростов-на-Дону: Феникс, 2000. 320 с.
- SharNatural Coumarins: Exploring the Pharmacological Complexity and Underlying Molecular Mechanisms / J. Sharifi-Rad, N. Cruz-Martins, P. López-Jornet, et al. // Oxid Med Cell Longev. 2021. Vol. 23. P. 6492346. doi: 10.1155/2021/6492346.
- Костин В. И., Исайчев В. А., Костин О. В. Элементы минерального питания и росторегуляторы в онтогенезе сельскохозяйственных культур. М.: Колос, 2006. 290 с
- Sharapov A. D. Plant Coumarins with Anti-HIV Activity: Isolation and Mechanisms of Action / A. D. Sharapov, R. F. Fatykhov, I. A. Khalymbadzha, et al. // Int. J. Mol. Sci. 2023. Vol. 24. P. 2839. doi:10.3390/ijms24032839.
- Потенциальные ингибиторы ангиогенеза. Часть II. 3-(Азолилметил)-2,3-дигидробензоб.фуран-2-оны / Э. Брауд, М. Дюфлос, Г. Ле Бо и др. // J. of Enzyme Inhibition and Med. 2003. Том 18. № 3. С. 253–257.

4.2.1. Патология животных, морфология, физиология, фармакология и токсикология (ветеринарные науки)

15. Камнева И. Е., Егорова А. Ю., Штыкова Л. С. Эффекты ЗП-этилиден-ЗН-пиррол-2-онов // Известия АН. Серия химическая. 2006. №4. С. 693–696.
16. Хроническая токсичность, специфическая активность и возможные побочные эффекты спиронолактона / Г. В. Голдобина, Н. В. Болоцкая, М. В. Василиук и др. // Фундаментальные исследования. 2021. Т. 22. С. 262–270.
17. Подзолков В. И., Драгомирецкая Н. А. Антагонисты альдостерона. Современные представления о механизмах действия и эффектах спиронолактона // Рациональная Фармакотерапия в Кардиологии. 2017. № 13 (2). С. 263–269.
18. Чельцов В. В., Мартынов А. И. Эффективность блокаторов минералокортикоидных рецепторов (спиронолактон, эплеренон) при хронической сердечной недостаточности // Терапия. 2016. № 1 (5). С. 67–74.

References

1. Tulina M. A., Pyatigorskaya N. V. Features of the development, preclinical and clinical studies of biomedical cell products // RMJ. Medical Review. 2017. №25(11). P. 830–835.
2. Agrochemical means for optimizing mineral nutrition of plants and economic assessment of the effectiveness of their use / A. Kh. Sheudzhen, A. I. Trubilin, S. V. Kizinek, et al. Maykop: «Polygraph-YUG», 2017. 130 p.
3. Yurkova A. A. Chemical pollution of the environment // Colloquium-journal. 2021. No. 18 (105). P.9–12.
4. Guskova T. A. Medicinal toxicology and safety of drugs // Toxicological Bulletin. 2014. №2 (125). P. 2.
5. Guengerich F. P. Mechanisms of drug toxicity and relevance to pharmaceutical development // Drug Metab Pharmacokinet. 2011. Vol. 26. No. 1. P. 3-14. doi: 10.2133/dmpk.dmpk-10-rv-062.
6. Kuzminova E. V., Antipov V. A., Semenenko M. P. Study of the toxic properties of beta-carotene preparations // In the collection: Free radicals, antioxidants and animal health. Materials of the international scientific and practical conference. Voronezh. 2004. P. 207–210.
7. Toxicological indicators and effectiveness of feed acidifiers / A. Z. Ravilov, V. S. Ugryumova, A. P. Savelchev, et al. // Veterinary Science. 2011. No. 9. P. 55–58.
8. Semenenko M.P. Toxicological assessment of the drug morenit // Veterinary pathology. 2006. No. 3 (18). P. 161–164.
9. Matyushevsky L. A., Semenenko M. P. Results of studies of the biological effectiveness of bentonites // In the collection: New pharmacological agents for animal husbandry and veterinary medicine. Materials of the scientific and practical conference dedicated to the 55th anniversary of the State Institution of the Krasnodar NIVS: in 2 volumes. Krasnodar, 2001. P. 14–15.
10. Bezuglova O. S. Fertilizers and growth stimulants // Rostov-on-Don: Phoenix, 2000. 320 p.
11. Natural Coumarins: Exploring the Pharmacological Complexity and Underlying Molecular Mechanisms / J. Sharifi-Rad, N. Cruz-Martins, P. López-Jornet, et al. // Oxid Med Cell Longev. 2021. Vol. 2021. P. 6492346. doi: 10.1155/2021/6492346.
12. Kostin V. I, Isaichev V. A., Kostin O. V. Elements of mineral nutrition and growth regulators in the ontogenesis of agricultural crops. M.: Kolos, 2006. 290 p.
13. Plant Coumarins with Anti-HIV Activity: Isolation and Mechanisms of Action / A. D. Sharapov, R. F. Fatykhov, I. A. Khalymbadzha, et al. // Int. J. Mol. Sci. 2023. Vol. 24. P. 2839. doi:10.3390/ijms24032839.
14. Potential inhibitors of angiogenesis. Part II. 3-(Azolylmethylene)-2,3-dihydrobenzob.furan-2-ones / E. Braud, M. Duflos, G. Le Beau, et al. // J. of Enzyme Inhibition and Med. 2003. Vol. 18. No. 3. P. 253–257.
15. Kamneva I. E., Egorova A. Yu., Shtykova L. S. Effects of ZP-ethylidene-ZN-pyrrol-2-ones // News of AN. Chemical series. 2006. No. 4. P. 693–696.
16. Chronic toxicity, specific activity and possible side effects of spironolactone / G. V. Goldobina, N. V. Bolotskaya, M. V. Vasilyuk, et al. // Fundamental Research. 2021. Vol. 22. P. 262–270.
17. Podzolkov V. I., Dragomiretskaya N. A. Aldosterone antagonists. Modern ideas about the mechanisms of action and effects of spironolactone // Rational Pharmacotherapy in Cardiology. 2017. No. 13(2). P. 263–269.
18. Cheltsov V. V., Martynov A. I. Efficiency of mineralocorticoid receptor blockers (spironolactone, eplerenone) in chronic heart failure // Therapy. 2016. No. 1(5). P. 67–74.