

УДК: 612.172.1:615.2

DOI: 10.18413/2313-8971-2015-1-4-25-31

Скачилова С.Я.
Кесарев О.Г.
Даниленко Л.М

**ФАРМАКОЛОГИЧЕСКАЯ ЗАЩИТА ИШЕМИЗИРОВАННОГО
МИОКАРДА ПРОИЗВОДНЫМИ 3-(2,2,2-ТРИМЕТИЛГИДРАЗИНИЯ)
ПРОПИОНАТА И ОЦЕНКА ИХ АНТИОКСИДАНТНОЙ АКТИВНОСТИ**

- 1) доктор химических наук, заведующая отделом лаборатория химии и технологии синтетических лекарственных средств "Всероссийский научный центр по безопасности биологически активных веществ" (ОАО "ВНЦ БАВ") ул. Кирова, 23, Московская обл., Ногинский р-н, Старая Купавна г., РФ, 142450. e-mail: skachilova@mail.ru
- 2) кандидат химических наук, зав. сектором технологии синтеза субстанций "Всероссийский научный центр по безопасности биологически активных веществ" (ОАО "ВНЦ БАВ"). ул. Кирова, 23, Московская обл., Ногинский р-н, Старая Купавна г., РФ, 142450.
- 3) кандидат фармацевтических наук, доцент кафедры фармакологии Медицинского института НИУ «БелГУ» ул. Победы, 85, г. Белгород, РФ, 308005. e-mail: Danilenko_L@bsu.edu.ru

Аннотация. В работе приведены результаты исследования антиоксидантной (в условиях *in vitro*) и противоишемической эффективности в ряду производных 3-(2,2,2-триметилгидразиния) пропионата. Было выявлено соединение, обладающее наиболее выраженной антиоксидантной активностью - это 5-гидроксиникотинат 3-(2,2,2-триметилгидразиния) пропионат. Влияние 3-(2,2,2-триметилгидразиния) пропионата и его производных, на площадь некротизированного миокарда левого желудочка при моделировании коронароокклюзионного инфаркта миокарда у кроликов, показано, что фармакологическое прекондиционирование 3-(2,2,2-триметилгидразиния) пропионатом и его производные могут рассматриваться как превенция синдрома ишемии/реперфузионного повреждения при инфаркте миокарда. Так показано, что и 3-(2,2,2-триметилгидразиния) пропионат (40 мг/кг) и его производные – никотинат (84,1 мг/кг), 5-бромникотинат (105,5 мг/кг), 5-гидроксиникотинат (88,5 мг/кг) и глицина (71,0 мг/кг) обладают противоишемической активностью, выражающейся в эффективном уменьшении площади некротизированного миокарда и снижении уровня Тп I в плазме крови, относительно препарата сравнения – Милдронат®.

Ключевые слова: 3-(2,2,2-триметилгидразиния) пропионат, ишемия/реперфузия, антиоксидантная активность, прекондиционирование.

Skacelova S.Y.
Caesarean O.G.
Danilenko L.M.

**PHARMACOLOGICAL PROTECTION OF THE ISCHEMIC
MYOCARDIUM DERIVED 3-(2,2,2-TRIMETHYLHYDRAZINE)
PROPIONATE AND EVALUATION OF THEIR ANTIOXIDANT ACTIVITY**

- 1) Doctor of Chemical Sciences, head of laboratory of chemistry and technology of synthetic drugs "Russian scientific center for security biologically active substances" (JSC "all-Russian scientific centre BAS"). Moscow region., Noginsk district, Staraya Kupavna, Kirov str., 23, Russian Federation, 142450. e-mail: skachilova@mail.ru
- 2) Candidate of Chemical Sciences, head. the sector of technology of synthesis substances "Russian scientific center for security biologically active substances" (JSC "all-Russian scientific centre BAS"). Moscow region., Noginsk district, Staraya Kupavna, Kirov str., 23, Russian Federation, 142450.
- 3) PhD in Pharmaceutical Sciences, Associate Professor. Department of Pharmacology Belgorod State National Research University. 85 Pobedy St., Belgorod, 308015, Russia. e-mail: Danilenko_L@bsu.edu.ru

Abstract. The paper presents the results of a study of the antioxidant (*in vitro*) and anti-ischemic efficacy in a number derivatives of 3-(2,2,2-trimethylhydrazine) propionate. It was revealed that the compounds with the most pronounced antioxidant activity is 5-hydroxynicotinate 3-(2,2,2-trimethylhydrazine) propionate. The effect of 3-(2,2,2-trimethylhydrazine) propionate and its derivatives, on the necrotised area of the myocardium of the left ventricle in the simulation koronarolitikov myocardial infarction in rabbits, it was shown that pharmacological preconditioning of 3-(2,2,2-trimethylhydrazine) propionate and its derivatives can be considered as prevention of a syndrome of ischemia/reperfusion injury in myocardial infarction. So it is

shown that 3-(2,2,2-trimethylhydrazine) propionate (40 mg/kg) and its derivatives – nicotinate (84,1 mg/kg), 5-bromonicotinate (105,5 mg/kg), 5-hydroxynicotinate (88,5 mg/kg) and glycine (71,0 mg/kg) have anti-ischaemic activity, expressed in effective decrease in the area of necrotised infarction and reducing the level of Tn I in the blood plasma, relative to the drug comparison – Mildronate®.

Keywords: 3-(2,2,2-trimethylhydrazine) propionate, ischemia/reperfusion, antioxidative activity, preconditioning.

Введение. Согласно современным представлениям, устойчивость сердца к ишемии может повышаться в результате preconditionирования вызванного короткими эпизодами ишемии/реперфузии или гипоксии, кратковременной гипотермией и другими умеренными стрессовыми воздействиями способными активировать эндогенные защитные механизмы [6].

При этом помимо ишемического preconditionирования существует фармакологическое, которое с клинической точки зрения, выглядит предпочтительнее, так как технологически проще и лишено потенциальной опасности ишемических эпизодов для измененного миокарда. В связи с феноменом фармакологической тренировки упоминается хорошо известный миокардиальный цитопротектор – милдронат (3-(2,2,2-триметилгидразиния) пропионат), являющийся ведущим представителем вышеупомянутого класса [2, 8, 10]. При блокировании эндотелиальной, индуцибельной NO- синтазы, АТФ-зависимых калиевых каналов противоишемические эффекты милдроната нивелируются [3].

Препарат эффективен в лечении ишемических состояний: он вызывает в клетках эффект preconditionирования, оказывая выраженный защитный эффект при ишемическом и реперфузионном повреждении миокарда, способствуя повышению эффективности утилизации кислорода миокардиальной тканью [3]. Его антиоксидантный эффект, позволяет уменьшить образование в крови и тканях активных форм кислорода и перекисных радикалов, предотвращая повреждение клеточных структур [1, 7]. Общеизвестно, что введение в молекулу лекарственного вещества дополнительных функциональных групп приводит к расширению спектра его фармакологической активности. При этом важно, чтобы дополнительные свойства не приводили к снижению эффективности препарата, а наоборот способствовали усилению его основного эффекта.

В связи с этим **целью нашего исследования явилось** изучение антиоксидантной и

противоишемической активности 3-(2,2,2-триметилгидразиния) пропионата Милдронат® и его производных (никотинат, 5-бромникотинат, 5-гидроксиникотинат, глицинат) 3-(2,2,2-триметилгидразиния) пропионата).

Материалы и методы. Исследовано 4 химических производных (синтезированных Всероссийским научным центром по безопасности биологически активных веществ (ВНЦ БАВ), г. Купавна) 3-(2,2,2-триметилгидразиния) пропионата (никотинат, 5-бромникотинат, 5-гидроксиникотина, глицинат) 3-(2,2,2-триметилгидразиний) пропионат) и препарат сравнения Милдронат® (пр-ва АО «Гриндекс»).

Для определения антиоксидантной активности (АОА) Милдроната® и его производных, отбирались навески этих образцов в количестве 0,05г, 0,049г, 0,051г, 0,05г и 0,053г соответственно. Навески переносили в мерные колбы на 25мл и доводили до метки водой. Для обеспечения лучшего растворения и гомогенизации препаратов использовали ультразвуковую баню УЗВ 1/100-ТН-РЭЛТЕК. Полученные экстракты исследовали на суммарную антиоксидантную активность.

Измерение АОА производили на приборе Цвет Яуза 01-АА с вольт-амперметрическим детектором при постоянстве напряжения 1,3В в постоянно-токовом режиме (АД п.т.). В качестве элюента использовали раствор ортофосфорной кислоты с молярной концентрацией 0,0022 моль/л. Скорость подачи элюента 1,2 см³/мин. Обработку данных проводили при помощи ПО «АДКД». Амперметрический метод измерения суммарной массовой концентрации антиоксидантов основан на изменении силы тока, в ячейке, возникающей на поверхности электрода в результате реакций окисления молекул антиоксиданта при определенном потенциале, который после усиления преобразуется в цифровой сигнал.

Изучение выживаемости ишемизированного миокарда было проведено на 36-и лабораторных кроликах массой 2-2,5 кг. Исследуемые соединения: 3-(2,2,2-триметилгидразиния) пропионата Милдронат® и его производные

(никотинат, 5-бромникотинат, 5-гидрокси-никотинат, глицинат) 3-(2,2,2-триметилгидразиний) пропионат, в дозе, с учетом молярной массы 3-(2,2,2-триметилгидразиния) пропионата, исходя из количества вещества 0,274 моль/кг, что составило 40 мг/кг для 3-(2,2,2-триметилгидразиний) пропионата, а дозы производных соответственно СТК 733 – 84,1 мг/кг, СТК 734 – 105,5 мг/кг, СТК 735 – 88,5 мг/кг, СТК 61К – 71,0 мг/кг, предварительно растворяли в стерильном физиологическом растворе и вводили наркотизированным (хлоралгидратат 300 мг/кг) животным в маргинальную вену уха кролика, находящегося на управляемом дыхании, за 30 минут до перевязки левой нисходящей коронарной артерии. После 60 минут коронарной окклюзии осуществляли снятие лигатуры и осуществляли реперфузию миокарда в течение 90 мин. После чего проводили забор крови из правого желудочка в одноразовую вакуумную пробирку с антикоагулянтом, для определения специфического маркера сердечной мышцы Troponin I (TnI). Уровень тропонина определяли

на иммунофлуоресцентном приборе Triage MeterPro (Biosite, США). Размеры зоны некроза миокарда определяли через 2 ч. Поперечные срезы миокарда производили через каждые 0,8 см, начиная с уровня 0,8 см ниже места наложенной лигатуры. Срезы миокарда помещали в емкость содержащую фосфатный буфер (pH 7,4) и 1 мг/мл трифенилтетразолия хлорид. Соотношение масс участков ткани и буфера составляло 1:9. Бюксы помещали в термостат и инкубировали при 37⁰С в течение 15 минут до образования красного формазана. Подсчет площадей интактного и некротизированного миокарда левого желудочка производили на каждом из четырех срезов с помощью попиксельного анализа в программе Adobe Photoshop 9.0.

Результаты исследования и их обсуждение.

Результаты исследования антиоксидантной активности

Препарат Милдронат® и все его производные кроме, 5-гидроксиникотинат 3-(2,2,2-триметилгидразиния) пропионат не обладают АОА in vitro.

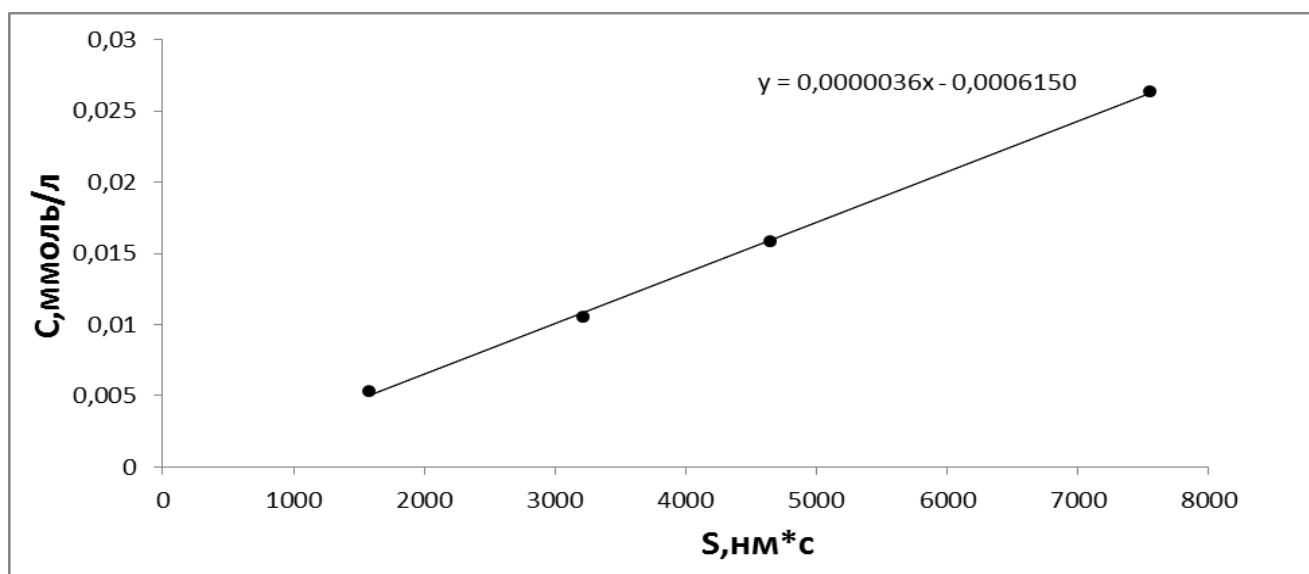


Рисунок 1. Калибровочный график зависимости выходного сигнала от концентрации аскорбиновой кислоты

Figure 1. Calibration plot of the output signal of the concentration of ascorbic acid

Антиоксидантная активность, 5-гидроксиникотинат 3-(2,2,2-триметилгидразиния) пропионата наиболее ярко выраженная. В пересчете на аскорбиновую кислоту составляет 9,2 мг (А.К.)/л. В качестве стандартного вещества, для построения калибровочного графика, была использована аскорбиновая

кислота исходной концентрации 1г/л. По полученным данным строили график зависимости выходного сигнала (площадь пика) от концентрации (рис. 1). Далее по этому графику определяли массовую концентрацию антиоксиданта.

В результате окисления производного 3-(2,2,2-триметилгидразиния) пропионата – 5-гидроксинокотинат 3-(2,2,2-триметилгидразиний) пропионат калия на поверхности электрода происходит усиление электрического тока. Возникающие электрические токи очень малы, в пределах

10^{-6} - 10^{-9} А. Эти аналоговые сигналы усиливаются, а затем с помощью аналого-цифрового преобразователя преобразуются в цифровой сигнал, который регистрируется на дисплее компьютера (рис. 2). Среднее квадратичное отклонения составляет менее 1%.

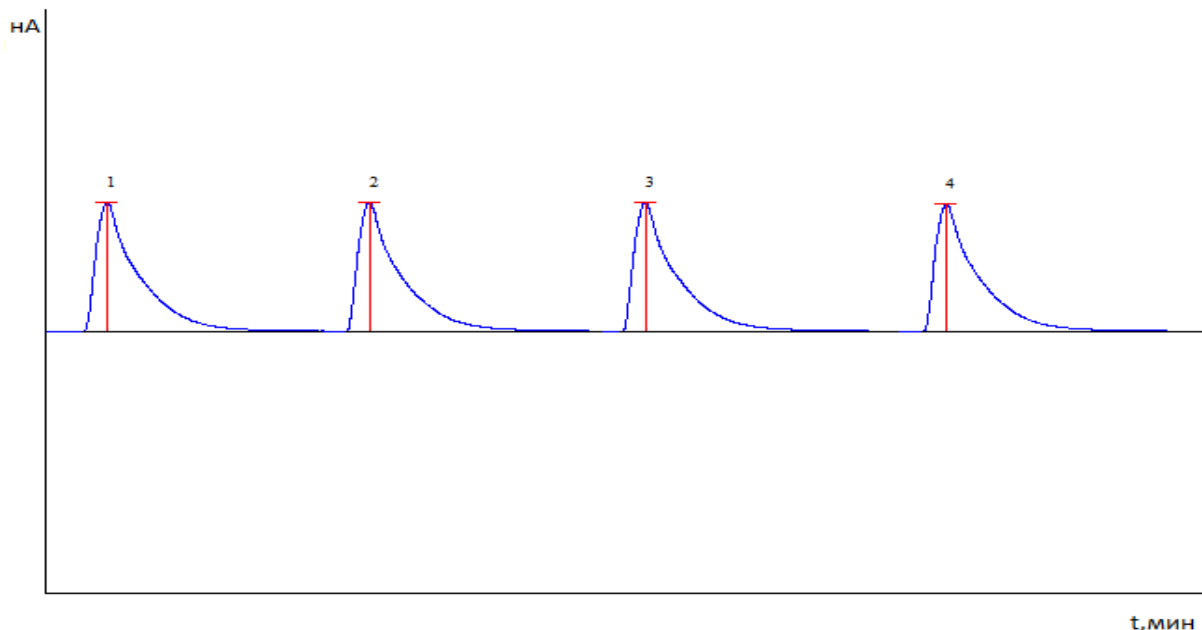


Рисунок 2. Сигналы зарегистрированные при четырех последовательных введения раствора 5-гидроксинокотинат 3-(2,2,2-триметилгидразиний) пропионата (199 мг/кг) на приборе Цвет Яуза-01-АА
Figure 2. The signals recorded at four successive administration of a 5-gidroksinikotinat 3-(2,2,2-trimethylhydrazinium) propionate (199 mg / kg) on the device color Jauza-01-AA

Результаты исследования противоишемического действия

Наложение лигатуры на нисходящую ветвь левой коронарной артерии у кроликов в контрольной группе животных приводило к развитию некроза миокарда, размер которого составил $27,3 \pm 1,2$ % от общей площади миокарда. Соответственно, размер интактного миокарда составлял $72,7 \pm 1,2$ %. Введение перед моделированием коронароокклюзии эталонного препарата Милдроната® в дозе 40 мг/кг, приводило к уменьшению площади некротизированного миокарда до $20,2 \pm 1,0$ %. Наибольшая протективная активность обнаружена у соединения 5-гидроксинокотинат

3-(2,2,2-триметилгидразиний) пропионат (88,5 мг/кг), введение которого привело к достоверному уменьшению площади некротизированного миокарда в 2 раза до $13,1 \pm 1,4$ %. Все остальные производные также привели к достоверному снижению размера зоны некроза, но в меньшей степени (таблица). Являясь специфическим маркером инфаркта миокарда тропонин I (TnI), обнаруживается в сыворотке крови спустя несколько минут после инфаркта миокарда и коррелирует с его размером. При определении концентрации TnI в нашем эксперименте, наименьшая концентрация обнаружена у соединения 5-гидроксинокотинат 3-(2,2,2-триметилгидразиний) пропионат – $6,04 \pm 1,6$ нг/мл.

Влияние Милдроната® (40 мг/кг) в/в и его производных на размер зоны некроза и уровень Тропонина I при острой коронароокклюзии (60 мин) с последующей реперфузией (90 мин) у наркотизированных кроликов (M± m; в % от массы левого желудочка; n=6)

Таблица 1

The effect of Mildronate® (40 mg/kg) and its derivatives on the size of necrosis and Troponin I level in acute koronarolitiki (60 min) with further reperfusion (90 min) in anesthetized rabbits (M± M; in % of the mass of the left ventricle; n=6)

Table 1

Группа	% некроза	% интактного миокарда	уровень тропонина I (нг/мл)
Контроль (инфаркта миокарда)	27,3±1,2	72,7±1,2	16,26±1,9
КО/реперфузия + милдронат (40 мг/ кг)	20,2±1,0*	79,8 ± 0,5	12,2±1,1*
КО/реперфузия + Никотинат 3-(2,2,2-триметилгидразиний) пропионат (84,1 мг/ кг)	17,9±1,3*	82,1±0,7	10,95±1,8*
КО/реперфузия + 5-бромникотинат 3-(2,2,2-триметилгидразиний) пропионат (105,5 мг/кг)	16,0±0,8*	84,0±1,2	7,7±1,5*
КО/реперфузия + 5-гидроксиникотинат 3-(2,2,2-триметилгидразиний) пропионат (88,5 мг/ кг)	13,1±1,4*	86,9±1,3	6,04±1,6*
КО/реперфузия + глицинат 3-(2,2,2-триметилгидразиний) пропионат (71,0 мг/ кг)	17,2±1,4*	82,8±1,1	10,15±1,1*

Примечание: КО/реперфузия – коронароокклюзия нисходящей ветви левой коронарной артерии на уровне ушка (60 мин) с последующей реперфузией (90 мин);* - $p \leq 0,05$ при сравнении с контрольной группой

У всех остальных она сопоставима с размером инфаркта данной группы (см. табл. 1).

Установлено, что профилактическое введение соединений производных 3-(2,2,2-триметилгидразиния) пропионата (никотинат, 5-бромникотинат, 5-гидроксиникотина, глицинат) 3-(2,2,2-триметилгидразиний) пропионата, в соответствующих дозах приводит к уменьшению зоны некроза. Результаты экспериментов с введением исследуемых соединений указывают на их выраженную противоишемическую активность, большую, чем у препарата сравнения Милдроната®.

В течение последних активно разрабатываются и изучаются методы защиты миокарда от ишемического и реперфузионного повреждения. Эти методы дают возможность ограничить зону некроза, сохранить функции миокарда, предотвратить развитие сердечной недостаточности и улучшить клинические результаты у пациентов с ишемической болезнью сердца и другими заболеваниями, опосредованными эндотелиальной дисфункцией.

Общеизвестно, что введение в молекулу лекарственного препарата новых функциональных групп приводит к изменению его фармакологического эффекта, который может проявляться расширением спектра терапевтического действия, его усилением или ослаблением, появлением новых свойств, аддией, либо потенцированием эффектов, привносимых входящими в него компонентами. С целью анализа возможности усиления противоишемического, эндотелио- и кардиопротекторного эффектов выявленных у милдроната, в молекулу 3-(2,2,2-триметилгидразиния) пропионата были введены принципиально иные функциональные группы, по отношению к химической структуре базовой молекулы, а именно остаток замещенной и незамещенной никотиновой кислоты, а также аминокислота глицин.

Введение в молекулу 3-(2,2,2-триметилгидразиний) пропионата новой функциональной группы предполагает

выявление новых свойств, и усиление противоишемического эффекта, однако закономерно, что в зависимости от вводимой компоненты диапазон активности полученных субстанций может варьировать. Введение группы 5-гидроксинокотината в молекулу 3-(2,2,2-триметилгидразиний) пропионата приводит к усилению антиоксидантной активности исследуемой субстанции и повышению противоишемической активности по сравнению с другими субстанциями.

Несмотря на многочисленные эксперименты и клинические исследования, фармакотерапия ишемической болезни сердца нуждается в изыскании и внедрении в практику новых препаратов [4, 5].

Данные полученные в наших экспериментах подтверждают перспективность дальнейшего углубленного изучения производных 3-(2,2,2-триметилгидразиний) пропионата (никотинат, 5-бромникотинат, 5-гидроксинокотинат, глицинат) 3-(2,2,2-триметилгидразиний) пропионат) как потенциальных кардиофармакологических препаратов.

Выводы:

1. 5-гидроксинокотинат 3-(2,2,2-триметилгидразиний) пропионат, проявляет умеренную антиоксидантную активность при амперометрическом методе исследования на приборе Цвет Яуза 01-АА.

2. Производные 3-(2,2,2-триметилгидразиния) пропионата: (никотинат, 5-бромникотинат, 5-гидроксинокотинат, глицинат) 3-(2,2,2-триметилгидразиний) пропионат) калия - обладают противоишемическим эффектом на модели коронаро-окклюзионного инфаркта миокарда, наиболее ярко выраженным, чем препарата сравнения милдронат. Данный показатель варьируют в зависимости от введенной в структуру молекулы функциональной группы, максимально проявляясь у 5-гидроксинокотинат 3-(2,2,2-триметилгидразиний) пропионат в дозе 88,5мг/кг.

Литература

1. Акимов, А.Г. Перспективы применения миокардиальных цитопротекторов в кардиологической практике [Электронный ресурс] / А.Г. Акимов, В.Ю. Полумисков // Terra medica. Кардиология. 2005. № 4. С. 21-23.

URL: http://www.terramedica.spb.ru/4_2005/akimov.htm (дата обращения 10.12.2015 г.)

2. Даниленко, Л.М. Эндотелиопротекторное действие милдроната и его производных при моделировании L-NAME индуцированного оксида азота / Л.М. Даниленко, О.В. Харитоновна, М.В. Покровский // Научные ведомости БелГУ. Сер. Медицина. Фармация. – 2011. – № 16, вып. 22/2. – С. 58-62.

3. Даниленко, Л.М. Влияние индуцибельной, эндотелиальной NO-синтазы /и АТФ-зависимых калиевых каналов на эффекты 3-(2,2,2-триметилгидразиния) пропионата и дистантного преколондиционирования при моделировании коронароокклюзионного инфаркта миокарда / Л.М. Даниленко, М.В. Покровский О.В. Харитоновна // Вестник ВолгГМУ. Материалы III Всерос. науч.-практ. семинара для мол. ученых «Методол. аспекты эксперим. и клинич. фармакологии». – Волгоград, 20-21 сент. 2011 г. – С. 24-25.

4. Корокин, М.В. Изучение эндотелиопротекторного и коронарного действия производных 3-оксипиридина / М.В.Корокин, Е.Н. Пашин, М.В. Покровский // Кубанский Научный медицинский вестник. – 2009. – №4. – С. 104-108.

5. Лукьянова, Л.Д. Новые подходы к созданию антигипоксантов метаболического действия /

6. Л.Д. Лукьянова // Вестник Российской Академии медицинских наук. – 1999. – № 3. – С. 18-25.

7. Манухина, Е.Б. Роль свободного и депонированного оксида азота в адаптации к гипоксии сердечно-сосудистой системы / Е.Б. Манухина,

8. И.Ю. Малышев, Д.А. Покидьшев // Регионарное кровообращение и микроциркуляция. – 2004. – № 3. – С. 3-11.

9. Hjalmarson, A. Cardioprotection with beta-adrenoceptor blockers. Does lipophilicity matter? / A. Hjalmarson // Basic Res Cardiol. – 2000. – Vol. 95, suppl. 1. – P. L41-L45.

10. Sesti, C. Mildronate, a novel fatty acid oxidation inhibitor and antianginal agent, reduces myocardial infarct size without affecting hemodynamics / C. Sesti, B.Z. Simkhovich, I. Kalvinsh // J. Cardiovasc. Pharmacol. – 2006. – Vol. 47, № 3. – P. 493-499.

11. Schofield, R.S. Role of metabolically active drugs in the management of ischemic heart disease / R.S. Schofield., J.A. Hill // Am. J. Cardiovasc. Drugs. – 2001. – Vol. 1, № 1. – P. 23-35.

12. Sjakste, N. Endothelium- and nitric oxide-dependent vasorelaxing activities of gamma-butyrobetaine esters: possible link to the antiischemic activities of mildronate / N. Sjakste, A.L. Kleschyov, J.L. Boucher // Eur. J. Pharmacol. – 2004. – Vol. 495, № 1. – P. 67-73.

References

1. G. A. Akimov, V. Yu Polumiskova. Prospects of application of myocardial cytoprotectors in cardiology practice [Electronic resource]. Terra medica. Cardiology. No. 4. (2005): P 21-23. URL: http://www.terramedica.spb.ru/4_2005/akimov.htm.

2. L. M. Danilenko, O. V. Kharitonova, M. V. Pokrovsky. Endotheliazation Mildronate and its derivatives in modeling L-NAME induced nitrogen oxide. Scientific statement BSU. Ser. Medicine. Pharmacy. № 16, vol. 22/2 (2011): P. 58-62.

3. L. M. Danilenko, M. V. Pokrovsky O. V. Kharitonova Effects of inducible, endothelial NO synthase ATP-dependent potassium channels in effects of 3-(2,2,2-trimethylhydrazine) propionate and distant preconditioning in the simulation koronarolitikov myocardial infarction. Bulletin

of the Volgograd state medical University. Proceedings of the III all-Russian. scientific.-practical. seminar for mol. scientists "Methodol. aspects of experimental. and the clinical. pharmacology", Volgograd, 20-21 Sept. (2011): P. 24-25.

4. M. V. Korokhin, E. N. Pashin, V. M. Pokrovskii. Study endotelialnogo and coronary action of derivatives of 3-oksipiridina // Kuban Scientific medical Bulletin. №4 (2009): P. 104-108.

5. Lukyanova L. D. New approaches to the creation of antihypoxants of metabolic action. Bulletin of the Russian Academy of medical Sciences. №3 (1999): P. 18-25.

6. E. B. Manukhina, I. Y. Malyshev, D. A. Pokidishev. Role of free and deposited of nitric oxide in adaptation to hypoxia cardiovascular system. Regional circulation and microcirculation. №3 (2004): P. 3-11.

7. Hjalmarson. Cardioprotection with beta-

adrenoceptor blockers. Does lipophilicity matter?. Basic Res Cardiol. Vol. 95 (2000): P. L41-L45.

8. Sesti, B.Z. Simkhovich, I. Kalvinsh. Mildronate, a novel fatty acid oxidation inhibitor and antianginal agent, reduces myocardial infarct size without affecting hemodynamics. J. Cardiovasc. Pharmacol. № 3. Vol. 47 (2006): P. 493-499.

9. R.S. Schofield., J.A. Hill Schofield. Role of metabolically active drugs in the management of ischemic heart disease. Am. J. Cardiovasc. Drugs. Vol. 1, № 1. (2001): P. 23-35.

10. N. Sjakste, A.L. Kleschyov, J.L. Boucher. Endothelium- and nitric oxide-dependent vasorelaxing activities of gamma-butyrobetaine esters: possible link to the antiischemic activities of mildronate. Eur. J. Pharmacol. Vol. 495, № 1 (2004). P. 67-73.