

1 – ОАО ФНТЦ «Инверсия»,
107031, Россия, г. Москва,
ул. Рождественка, 27

2 – ФГУП
«Государственный завод
медицинских препаратов»
(ФГУП «ГосЗМП»), 111024,
Россия, г. Москва,
шоссе Энтузиастов, 23

3 – ГБУЗ
«НИИ Скорой помощи
им. Н.В. Склифосовского»,
129010, Россия, г. Москва,
Большая Сухареvская
площадь, 3

1 – Federal S&T
Center «Inversiya», 27,
Rozdestvenskaya str.,
Moscow, 107031, Russia

2 – The Federal State
Unitary Enterprise State
Pharmaceutical Plant
(FSUE «GosZMP»), 23,
Enthusiasts highway,
Moscow, 111024, Russia

3 – N.V. Sklifosovsky
Research Institute of
Emergency Medicine, 3,
Bolshaya Sukharevskaya
Square, Moscow, 129010,
Russia

* адресат для переписки:
E-mail: andrey.sosnov@gmail.com

СИЛЬНОДЕЙСТВУЮЩИЕ НЕНАРКОТИЧЕСКИЕ АНАЛЬГЕТИКИ КАК НАПРАВЛЕНИЕ РАЗВИТИЯ ФАРМАЦЕВТИКИ

А.В. Соснов^{1,2*}, С.В. Садовников¹, Ф.М. Семченко², К.А. Руфанов²,
В.Н. Тохмахчи², А.А. Соснова², И.А. Тюрин³

Резюме. В статье описаны подходы к выбору наиболее актуальных сильнодействующих ненаркотических анальгетиков среди веществ, находящихся на различных стадиях исследований и разработок. Препараты ненаркотических анальгетиков для купирования сильной и средней боли являются относительно новым направлением фармацевтики. Их внедрение в качестве альтернативы опиатам весьма актуально. Однако число реальных кандидатов крайне ограничено. В результате проведенного авторами анализа один из наиболее сильнодействующих ненаркотических анальгетиков – блокатор натриевых каналов нейронов ПНС тетродотоксин (ТТХ) был признан наиболее актуальным. В настоящее время ФГУП «ГосЗМП» проводит доклинические исследования инъекционного препарата на основе ТТХ.

Ключевые слова: болевой синдром, сильнодействующий ненаркотический анальгетик, соединения-лидеры, биомишени нервной системы, блокатор ионных каналов, тетродотоксин.

POTENT NON-NARCOTIC ANALGESICS AS A DIRECTION IN DEVELOPMENT OF PHARMACEUTICALS

A.V. Sosnov^{1,2*}, S.V. Sadovnikov¹, F.M. Semchenko², K.A. Rufanov², V.N. Tohmahchi², A.A. Sosnova², I.A. Tyurin³

Abstract. The article describes some approaches to choice of the most potent non-narcotic analgesics among agents investigated in various R&D stages. Preparations non-narcotic analgesics for relief of severe and moderate pain are relatively new area of pharmaceuticals. Their application is very important as an alternative to opiates. However, the actual number of drug candidates is very limited. As a result of the authors analysis one of the most potent non-narcotic analgesics (PNS neurons sodium channel blocker) – Tetrodotoxin (TTX) was recognized as the most promising. Currently FSUE «GosZMP» conducting preclinical studies of injectable preparation of TTX.

Keywords: severe and moderate pain, potent non-narcotic analgesic, lead compounds, biotargets of nervous system, ion channel blocker, tetrodotoxin.

ВВЕДЕНИЕ

Актуальной задачей промышленности РФ является импортозамещение наиболее востребованной населением и государственными структурами промышленной продукции. При этом важно наладить выпуск именно высокотехнологичной продукции, отвечающей современному уровню, а также (для экономии времени и ресурсов) использовать имеющийся производственный потенциал. Применительно к фармацевтической промышленности, и в частности к проблеме выбора и внедрения анальгетиков, задача импортозамещения может быть частично решена путем выпуска фармпрепаратов на основе сильнодействующих ненаркотических субстанций. Препараты на основе сильнодействующих ненаркотических анальгетиков наиболее актуальны для лечения потенциально трудоспособных пациентов.

В качестве уже имеющегося производственного потенциала для получения субстанций сильнодействующих анальгетиков (как наркотических, так и ненаркотических) в том числе рассматривается и пе-

репрофилирование бывших объектов по уничтожению химического оружия, имеющих необходимую инфраструктуру и персонал для производства контролируемых веществ первого класса опасности.

ПРИМЕНЕНИЕ СИЛЬНОДЕЙСТВУЮЩИХ НЕНАРКОТИЧЕСКИХ АНАЛЬГЕТИКОВ

Существенную роль в снижении трудоспособности лиц старшего возраста играют заболевания, сопровождающиеся выраженным болевым синдромом [1]. По данным Министерства обороны США, примерно половина военнослужащих, выводимых из зон вооруженных конфликтов, требует кратковременной медикаментозной поддержки в связи с болевым синдромом. Около 10% ветеранов испытывают хронический болевой синдром, требующий использования фармпрепаратов в течение длительного времени, часто в течение всей жизни [2]. Специалисты США отмечают, что использование для данных задач препара-

тов на основе сильных наркотических анальгетиков не всегда оправданно, но имеющийся выбор ненаркотических анальгетиков по ряду причин не позволяет решить проблему анальгезии. Тем не менее в экономически развитых странах декларируется тенденция к минимизации использования и усилению контроля за использованием наркотических анальгетиков в случае перспективных для реабилитации пациентов [3].

Номенклатура используемых в РФ анальгетиков (по показаниям, биологическим механизмам действия, количеству разрешенных для анальгезии веществ и т.д.) в несколько раз меньше по сравнению с США и странами ЕС. Потребность пациентов РФ в разрешенных для использования сильнодействующих анальгетиках обеспечивается менее чем на 20% [4, 5], что резко снижает возможность оказания необходимой помощи пациентам в целом, а также делает невозможным подбор рациональной схемы терапии для конкретного пациента. Текущая ситуация исключает развитие персонализированной анальгезии для хронических пациентов в РФ.

Решение начальных задач импортозамещения направлено на устранение дефицита наиболее необходимых традиционных препаратов изделиями отечественного производства, что является скорее экономической и организационной, чем научно-технической задачей. Тогда как развитые страны акцентируют усилия на исследованиях и разработках в области персонализированной медицины, в том числе и в рамках стратегии продления трудовой и экономической активности все более стареющего населения [6] с высоким процентом заболеваний, сопровождающихся болевым синдромом.

Одним из путей инновационного развития фармацевтики в РФ является разработка и интенсивное внедрение в практику улучшенных препаратов на основе веществ, уже разработанных и внедренных фармацевтической индустрией в клиническую практику развитых стран или находящихся на 2–3 стадиях клинических исследований. Разработка новых соединений-кандидатов в лекарства, а также новых пролекарств и супрамолекулярных соединений на основе известных фармакологически актуальных веществ также крайне актуальна, но требует существенно больших финансовых затрат и более продолжительна.

В процессе выбора наиболее актуальных соединений для разработки и производства в РФ препаратов-анальгетиков наибольший практический интерес представляют сильнодействующие ненаркотические анальгетики, действующие на центральную и периферическую системы передачи нервного импульса у человека (ЦНС и ПНС соответственно). Данные вещества обладают рядом преимуществ:

- не входят в списки особо контролируемых лекарств, что не создает немедицинские проблемы для врачей и пациентов в РФ;

- низкие терапевтические дозы не ограничивают разнообразие возможных лекарственных форм;

- минимальные побочные эффекты не оказывают принципиального воздействия на работоспособность, т.е. наиболее пригодны для экономически активной и трудоспособной части населения;

- как правило, не вызывают эйфории;

- не вызывают физиологической и, как правило, психологической зависимости.

Все перечисленные выше преимущества в наибольшей степени относятся к сильнодействующим ненаркотическим анальгетикам, действующим на ПНС, что проиллюстрировано ниже на примере исследования тетродотоксина в качестве анальгетика.

Для выбора веществ-кандидатов в целях разработки новых для РФ препаратов-анальгетиков проведен анализ баз данных и первичных источников информации. Выбор актуальных соединений включает использование на начальном этапе интерактивной сетевой базы данных по медицинской и фармацевтической химии Thomson Reuters Integrity (TRI) [7]. В процессе выбора учтены ключевые научно-технические, технологические, экономические и юридические критерии, в том числе тип биомишени, локализация биомишени (ЦНС и/или ПНС), терапевтическая доза, быстрое действие, продолжительность действия, разнообразие возможных лекформ, дополнительные полезные свойства, побочные эффекты, доступность субстанции и др.

В результате один из наиболее сильнодействующих ненаркотических анальгетиков – блокатор натриевых каналов нейронов ПНС тетродотоксин (ТТХ) был признан наиболее актуальным [8]. В настоящее время ФГУП «ГосЗМП» проводит доклинические исследования инъекционного препарата на основе ТТХ.

АНАЛИЗ ДАННЫХ И ПЕРВИЧНЫЙ ОТБОР ВЕЩЕСТВ-КАНДИДАТОВ

В настоящее время в развитых странах для терапии выраженной ноцицептивной боли у населения в стационарных и амбулаторных условиях используются в основном два типа анальгетиков: на основе опиатов с различной анальгетической активностью и на основе нестероидных противовоспалительных веществ (НПВС/NSAID), а также различные их комбинации в схемах мультимодальной терапии [9]. Для купирования острой и сильной боли при экстренной помощи населению, а также обезболивания военнослужащих стран НАТО в полевых условиях используются главным образом опиаты и кетамин (NMDA-антагонист) [10, 11]. Для менее интенсивной боли могут использоваться комбинации с добавлением агонистов альфа-2-адренорецепторов (клонидин или дексмедетомидин) или NSAIDs [10, 11].

Основным недостатком NSAID является слабый анальгетический эффект в случае сильной и средней боли. Лимитирующими недостатками опиатов являются выраженные дозозависимые побочные эффекты и высокая вероятность развития физиологической и психической зависимости, приводящие к инвалидизации трудоспособного населения. Аналогичные побочные эффекты в меньшей степени характерны и для анальгетиков из класса каннабиоидов. Кетамин/(S)-кетамин обладает выраженными свойствами анестетика и имеет ограничения для анальгезии, поскольку вероятно развитие психической зависимости.

Расширение использования наркотических анальгетиков для трудоспособного населения находится в противоречии со стратегической политикой Евросоюза в области фармацевтики, акцентированной на продлении трудоспособности и экономической активности стареющего населения [6]. Попытка ограничения использования наркотических анальгетиков для купирования хронической боли у потенциально трудоспособных пациентов проводится в США, например, в отношении ветеранов боевых действий [3]. Однако реально в США наблюдается тенденция к увеличению медицинского потребления наркотических анальгетиков [12–15], что может быть объяснено рядом факторов [12], включая отсутствие в клинической практике мощных ненаркотических анальгетиков.

Использование сильнодействующих ненаркотических анальгетиков вместо наркотических позволит продлить период трудоспособности населения. Причем некоторые типы ненаркотических анальгетиков, например блокаторы натриевых каналов, включая ТТХ [16, 17], демонстрируют способность купировать зависимость от наркотических и других психоактивных веществ, клинически исследуются с целью лечения алкогольной зависимости.

Мировая фармацевтическая индустрия (производящая в настоящее время, по данным TRI, около 100 различных веществ и их комбинаций в качестве анальгетиков) последовательно развивает направления, основанные на нескольких десятках механизмов биологического действия анальгетиков. Приведенный ниже статистический анализ текущей ситуации выполнен и частично визуализирован средствами интерактивной сетевой базы данных по фармацевтике и медицинской химии Thomson Reuters Integrity (TRI) [7].

На рисунке 1 представлены статистические данные по основным биологическим мишеням для анальгезии и соответствующим им количествам веществ, прошедшим как минимум частичные доклинические исследования. Следует отметить, что не для всех веществ выявлен ключевой молекулярный биологический механизм, ответственный за анальгетический эффект, поэтому далее при обсуждении будут рассматриваться только вещества с доказанным механизмом

биологического действия. Т.е. вещества, для которых установлена количественная корреляция между экспериментальными данными в тестах *in vitro* на изолированных биомишенях и анальгетической активностью *in vivo*.

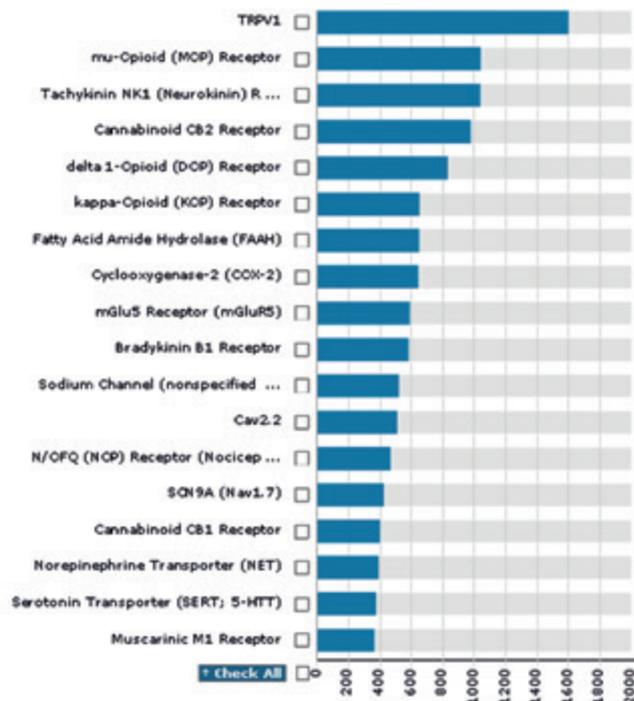


Рисунок 1. Основные биомишени исследованных веществ с анальгетической активностью

Данные рисунка 1 отражают уровень интереса разработчиков (а также, косвенно, сравнительный общий уровень затрат на НИОКР) к веществам-анальгетикам с различными молекулярными механизмами действия. На рисунке 2 представлены данные по основным молекулярным механизмам действия соединений-лидеров (прошедших как минимум доклинические исследования) среди анальгетиков, для которых доказан механизм действия. Это в несколько раз сужает выборку актуальной для анализа информации. Анализ текущей ситуации средствами TRI в области анальгетиков показывает:

- в клинических фазах исследований (КИ) находятся около 230 различных препаратов;
- в доклинических фазах исследований (ДКИ) находятся около 2360 препаратов-анальгетиков на основе индивидуальных веществ и комбинаций фиксированного состава;
- в стадиях биологического тестирования (БТ) находятся около 21 тыс. химических и биологических соединений, проявляющих анальгетическую активность;
- всего имеется около 6600 соединений-лидеров (Lead Compounds), из них наиболее активно исследуются 102 вещества.

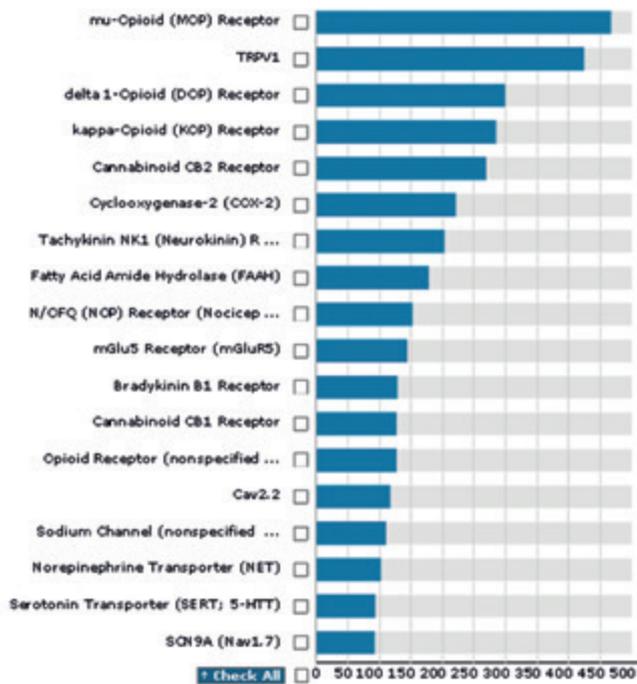


Рисунок 2. Основные биомишени известных соединений-лидеров

Данные выборки были использованы при выборе кандидатов для внедрения в практику наиболее актуальных для медицины РФ анальгетиков для купирования сильной и средней боли. С одной стороны, при выборе кандидатов в лекарства (с точки зрения терапии средней и сильной боли) наиболее актуальны вещества – модуляторы передачи и генерации нервных импульсов. Именно вещества, действующие

на центральную (ЦНС) и периферическую (ПНС) нервную систему человека, обладают наивысшей анальгетической активностью и, соответственно, действуют на организм человека в минимально возможных дозах. Низкие терапевтические дозы позволяют использовать данные вещества в самых различных лекарственных формах, а также создавать на их основе самые разнообразные пролекарства и нековалентные супрамолекулярные конъюгаты. С другой стороны, имеется обоснованная потребность перехода на ненаркотические анальгетики, не влияющие на сознание, слабо влияющие на работоспособность, не вызывающие привыкание и зависимость, что весьма актуально для использования трудоспособными пациентами. Данным требованиям отвечают ненаркотические анальгетики центрального и периферического действия. На рисунке 3 представлена статистика распределения фармацевтических исследований по молекулярным механизмам действия (в порядке убывания количества исследованных веществ и композиций) ненаркотических анальгетиков.

Из данных рисунка 3 следует, что к фармакологически наиболее актуальным биомишеням нервной системы человека (ЦНС и ПНС) относятся: блокаторы (антагонисты) ионных натриевых каналов; агонисты ванилоидных рецепторов, блокаторы ионных кальциевых каналов; активаторы (агонисты) ионных калиевых каналов; агонисты n- и m- холинорецепторов (nAChR и mAChR соответственно); агонисты альфа-2-адренорецепторов; NMDA-антагонисты; антагонисты mGluR5-рецепторов и др. Агонисты каннабиноидных рецепторов не относятся к опиатам, но могут продемонстрировать специфические центральные эффекты. Некоторые вещества одновременно действуют на

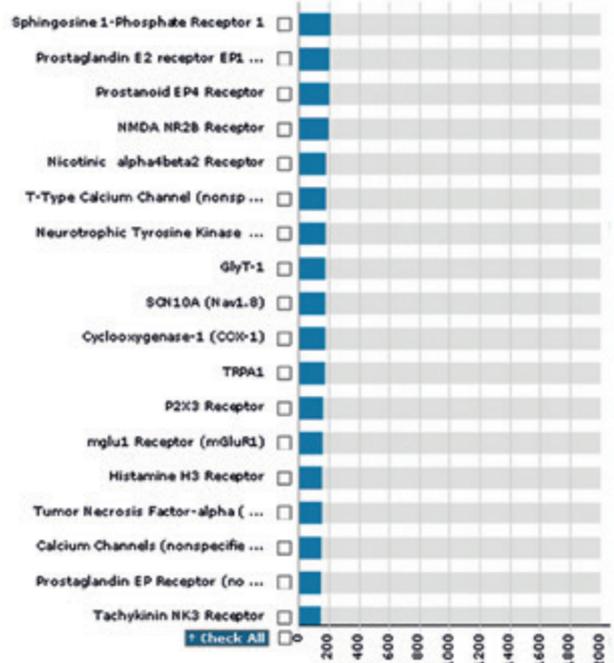
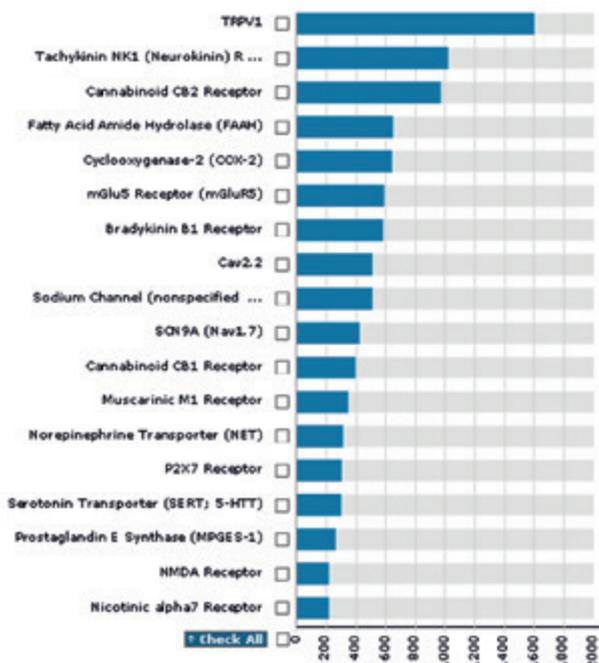


Рисунок 3. Распределение подробно исследованных веществ по типам биомишени среди ненаркотических анальгетиков

несколько биомшеней, связанных с анальгетическим эффектом, а также на другие фармакологически актуальные мишени. Такие вещества рассматриваются в концепции создания мультитаргетных лекарств (MTDD) в рамках более общего и относительно нового направления – полифармакологии.

В качестве примера на основе анализа данных TRI приведена статистика по соединениям (действующим на ЦНС и/или ПНС) для 6 наиболее актуальных молекулярных механизмов терапевтического действия ненаркотических анальгетиков.

1. Блокаторы фармакологически актуальных натриевых каналов (VGSC) ЦНС и ПНС:

- a. 8 веществ и несколько их комбинаций с другими анальгетиками уже используются: бупивакаин, амитриптилин, фенитоин, ропивакаин, карбамазепин, эликарбазепина ацетат, кварцетин и руфинамид (имеют широкий спектр терапевтического использования);
- b. 2 вещества и несколько комбинаций находятся в 3-й фазе клинических исследований; тетродотоксин (TTX), приралфинамид;
- c. 11 веществ находятся во 2-й фазе клинических исследований: RSD-921, BW-4030W92, LTA, карисбамаат, кробенетин, CNV-1014802, PF-05089771, фунапид, элпетригин и резвератрол демонстрируют широкий спектр возможного терапевтического использования, соединение GIC-1001 одновременно проявляет свойства блокатора терапевтически значимых натриевых каналов и агониста опиатных рецепторов;
- d. 16 веществ находятся в 1-й фазе клинических исследований: неосакситоксин, GTX 2 и 3, E-2070, NKTR-171, AZD-3161, DSP-2230, PF-05241328, GDC-0276, НТХ-011 (является блокатором натриевых каналов и NSAID);
- e. 197 веществ находятся на стадиях доклинических исследований.

2. Агонисты ванилоидных рецепторов (TRPV1, «рецепторы капсаицина», входящие в состав катионных каналов ПНС):

- a. 4 вещества уже используются: капсаицин (транс-капсаицин), (Z)-капсаицин, этодолак и пропофол (анестетик с анальгетической активностью);
- b. 2 комбинации на основе веществ п. 2а находятся в 3-й фазе клинических исследований;
- c. 11 веществ находятся во 2-й фазе клинических исследований: капсаванил, (+)-резинифератоксин, DE-096, N-(2-бромфенил)-N'-[1-[5-(трифторметил)пиридин-2-ил]пирролидин-3(R)-ил] мочевины (в качестве анальгетика и антимигренозного средства), NGD-8243, GRC-6211, DWP-05195, XEN-D0501, SYL-1001, PAC-14028, V-116517;

- d. 14 веществ находятся в 1-й фазе клинических исследований: нуванил, пиперин, AMG-517, ABT-102, AZ-11760788, AZ-12048189, AZ-12099548, SAR-115740, маватреп, DD-04107, каннабидиварин, TR-1, NEO-6860;
- e. 159 веществ находятся на стадиях доклинических исследований.

3. Блокаторы различных кальциевых каналов (N-, T-, L-подтипы, ЦНС и ПНС):

- a. 7 веществ используются как анальгетики: зиконотид, флюнаризин, зонисамид, ломеризин, прегабалин, (S)-(-)-тетрагидропалматин, леветирацетам;
- b. 2 вещества находятся в 3-й фазе клинических исследований: дотаризин, мирогабалин;
- c. 4 вещества находятся во 2-й фазе клинических исследований: PD-217014, CNV-2197944/ GSK-2197944, RNS-60 и сипатригин (основное использование – терапия инсульта);
- d. 4 вещества находятся в 1-й фазе клинических исследований: леколотид, PF-293765, нортриптилин-ГАМК, Z-944;
- e. 92 вещества находятся на стадиях доклинических исследований.

4. Активаторы ионных калиевых каналов ЦНС и ПНС:

- a. 1 вещество используется как анальгетик: флупертин, проявляющий также свойства NMDA-антагониста;
- b. в 3-й фазе клинических исследований веществ нет;
- c. 1 вещество находится во 2-й фазе клинических исследований: ICA-105665;
- d. в 1-й фазе клинических исследований веществ нет;
- e. 3 вещества находятся на стадиях доклинических исследований.

5. Эффекторы никотиновых (nAChR) рецепторов ЦНС

- a. 2 вещества используются как анальгетики: кобротоксин и (S)-(-)-тетрагидропальматин;
- b. в 3-й фазе клинических исследований веществ нет;
- c. 2 вещества находятся во 2-й фазе клинических исследований: софиниклин / софиниклина бесилат и TC-6499;
- d. 3 вещества находятся в 1-й фазе клинических исследований: радафксин, A-366833 и комбинация Келоки;

- е. 65 веществ находятся на стадиях доклинических исследований.

Следует отметить, что данная группа содержит высокий процент анальгетиков – агонистов и антагонистов никотиновых рецепторов, отклоненных по результатам клинических исследований, в отношении которых существовали ожидания принципиально прорыва в области ненаркотических анальгетиков, действующих на ЦНС, например: АВТ-594 и А-98593 (S-изомер), АВТ-202, альфа-конотоксин, ТС-2696.

6. **Агонисты каннабиноидных рецепторов (Cannabinoid CB2 и CB1, преимущественно локализованных в ЦНС):**
- 4 вещества уже используются: дронабинол, набихимолс, а также пальмидрол и цезамет/набилон преимущественно не в целях анальгезии;
 - 1 вещество находится в 3-й фазе клинических исследований: каннабидиол;
 - 3 вещества находятся во 2-й фазе клинических исследований: 842166X, LY-2828360, KN-38-7271;
 - 9 веществ находятся в 1-й фазе клинических исследований: SAD-448, Org-26828, 2-[N-[2-[7-хлор-1-(тетрагидропиран-4-илметил)-1H-индол-3-ил]тиазол-4-илметил]-N-изопропиламино]этанол, каннабидиварин, LBP-1, MP-10X, GRC-10693, APD-371, NEO-1940;
 - 183 вещества находятся на стадиях доклинических исследований.

ТЕТРОДОТОКСИН КАК РЕЗУЛЬТАТ ОТБОРА ВЕЩЕСТВА ДЛЯ СОЗДАНИЯ ПРЕПАРАТОВ СИЛЬНОДЕЙСТВУЮЩИХ НЕНАРКОТИЧЕСКИХ АНАЛЬГЕТИКОВ

Наиболее остро в РФ стоит проблема выпуска отечественных сильнодействующих ненаркотических анальгетиков, что и явилось основным критерием вы-

бора вещества для разработки инъекционного препарата. В результате проведенного анализа данных для создания препарата было выбрано одно из наиболее активных низкомолекулярных веществ природного происхождения – тетродотоксин (ТТХ) – сильнодействующий блокатор натриевых каналов нейронов ПНС, содержащий гуанидиновый структурный фрагмент (рисунок 4А).

ТТХ является токсином, характерным для рыб семейства иглобрюхих, обнаружен у некоторых видов тритонов, осьминогов, лягушек и др. Тетродотоксин и его аналоги могут синтезировать некоторые бактерии; предполагается, что животные получают его от бактерий-симбионтов, обитающих в их кишечниках. ТТХ для различных целей промышленно выделяется из рыбы фугу.

Выбор ТТХ для купирования острой сильной и средней боли обусловлен мощным анальгетическим действием на фоне крайне незначительных побочных эффектов в терапевтических дозах, что подтверждено данными 2-й и 3-й фазы клинических исследований [8, 18, 19]. В случае лечения хронического болевого синдрома у онкологических пациентов выбор ТТХ подкрепляется его способностью подавлять метастазирование раковых клеток, а также купировать зависимость от психоактивных веществ. Это принципиально отличает ТТХ от анальгетиков-опиатов, активирующих рост сосудистой ткани опухоли, демонстрирующих мощное побочное действие на ЦНС и вызывающих физическую и психологическую зависимости [20].

Среди веществ данного типа в несколько раз меньшую терапевтическую активность демонстрирует неосакситоксин (NeoSTX, NSTX, рисунок 4Б), представляющий меньший интерес для терапевтического использования. Наиболее известный природный токсин данного типа – сакситоксин (STX, рисунок 4В). Свое название сакситоксин получил от съедобных моллюсков рода *Saxidomus*, накапливающих сакситоксин и его производные при питании динофлагеллятами и цианобактериями в периоды их бурного размножения («красные приливы»), что делает морские организмы непригодными для коммерческого использования. В настоящее время STX не рассматривается в качестве

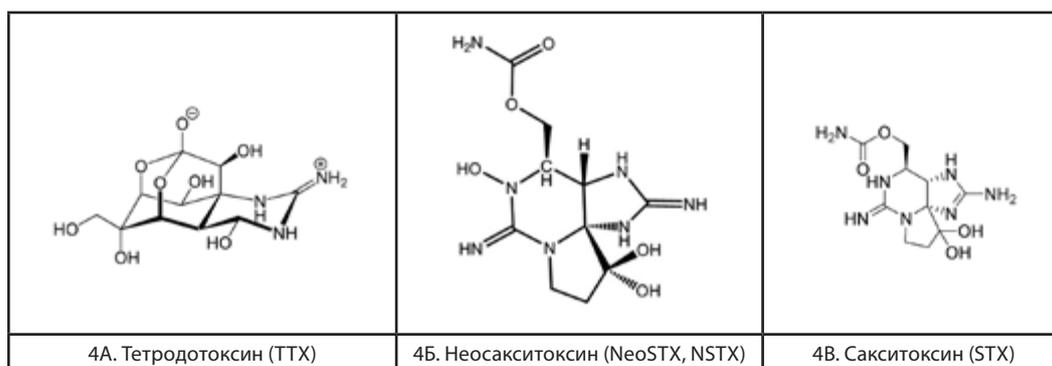
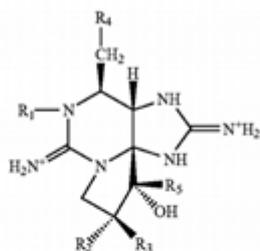


Рисунок 4. Наиболее известные агонисты VGSC из исследованных в качестве потенциальных анальгетиков

потенциального анальгетика, однако ¹⁸F-производное сакситоксина проходит клинические исследования в качестве диагностического средства [21, 22].

Среди аналогов STX также исследованы гониаутоксины (gonyautoxins, GTX 1-5), изомеры decarbamyloxySTX (dcSTX), deoxydecarbamoyleSTX (doSTX), FDSTX, FDdcSTX, FDdoSTX и др. [23, 24]. Интересной фармакологической особенностью аналогов STX, в первую очередь гониаутоксинов GTX-2 и GTX-3 (рисунок 5), является возможность их использования в трансдермальных лекарственных формах [25].



Compound	R ₁	R ₂	R ₃	R ₄	R ₅
Gonyautoxin 1	—OH	—H	—OSO ₃	—COONH ₂	—OH
Gonyautoxin 2	—H	—H	—OSO ₃	—COONH ₂	—OH
Gonyautoxin 3	—H	—OSO ₃	—H	—COONH ₂	—OH
Gonyautoxin 4	—OH	—OSO ₃	—H	—COONH ₂	—OH
Gonyautoxin 5	—H	—H	—H	—COONHSO ₃	—OH
Saxitoxin	—H	—H	—H	—COONH ₂	—OH
Neosaxitoxin	—OH	—H	—H	—COONH ₂	—OH
Decarbamoylestx	—OH	—H	—H	—OH	—OH

Рисунок 5. Структурные аналоги STX: гониаутоксины (1-5) и дескарбамоилсакситоксин – агонисты VGSC, исследованные в составе трансдермальных композиций [25]

По данным клинических исследований, доза ТТХ для пациента составляет 10–30 мкг/сутки [8, 18, 19], не вызывает развития привыкания и зависимости. Сравнение с другими типами сильнодействующих анальгетиков показывает, что эквивалентные дозы ТТХ:

- более чем в 3 тысячи раз ниже доз бупивакаина (терапевтическая доза 25–150 мг и выше), его хиральной формы – левобупивакаина и его хирального аналога – ропивакаина, наиболее сильных из широко используемых в клинической практике анальгетиков – эффекторов ионных каналов [26, 27];

- в 2–3 тысячи раз ниже доз наиболее распространенного сильнодействующего наркотического анальгетика морфина;

- почти на порядок ниже доз фентанила и бупренорфина, традиционно наиболее востребованных из числа наиболее мощных наркотических анальгетиков для терапии сильной боли;

- в 3–5 раз ниже по сравнению с дозами наиболее близкого экспериментального аналога – NeoSTX, находящегося в первой фазе клинических исследований [28, 29] и представляющего существенно меньший интерес для фармацевтики.

Данные таблицы 1 показывают, что ТТХ блокирует 6 изоформ натриевых ионных каналов в наномолярных концентрациях, два из которых (локализованные в ПНС) отвечают за блокирование болевого сигнала тетродотоксином [30–32].

Таблица 1.

Терапевтически актуальные биомишени и эффективные концентрации ТТХ

Подтип ионного канала (биомишень)	ТТХ-чувствительность (EC ₅₀)	Локализация биомишени (локализация нейронов в ПНС/ЦНС)
Na _v 1.9	40 мкмоль	анальгетически актуальная биомишень ПНС
Na _v 1.8	60 мкмоль	анальгетически актуальная биомишень ПНС
Na _v 1.7	24,5 нмоль	ТТХ-анальгетически актуальная биомишень ПНС
Na _v 1.6	6 нмоль	ТТХ-анальгетически актуальная биомишень (ПНС/ЦНС)
Na _v 1.5	5,7 мкмоль	биомишень в сердечной мышце, ассоциированная с острой токсичностью ТТХ
Na _v 1.4	25 нмоль	скелетная мускулатура
Na _v 1.3	4 нмоль	ЦНС
Na _v 1.2	18 нмоль	ЦНС
Na _v 1.1	6 нмоль	ЦНС

Прогноз терапевтического индекса (ТИ) блокаторов ионных каналов данного типа, по данным тестов *in vitro*, пропорционален величине соотношения EC₅₀(Na_v1.5)/EC₅₀(Na_v1.x), где X=7 и, возможно, X=6 (для биомишени, локализованной в ПНС) [33–36]. Сочетание высокой аффинности и высокой специфичности ТТХ к терапевтически значимым мишеням ПНС с неспособностью ТТХ преодолевать гемато-энцефалический барьер (ГЭБ) уникально. Поэтому ТТХ демонстрирует сочетание крайне низких терапевтических доз с приемлемым терапевтическим индексом (около 100) при отсутствии воздействия на ЦНС, а также отсутствие развития толерантности и различных зависимостей [37]. Место препаратов на основе ТТХ среди анальгетиков (по оценке WEX Pharmaceuticals Inc.) представлено на рисунке 6. Необходимо отметить, что использование комбинаций фиксированного состава на основе ТТХ способно еще более расширить

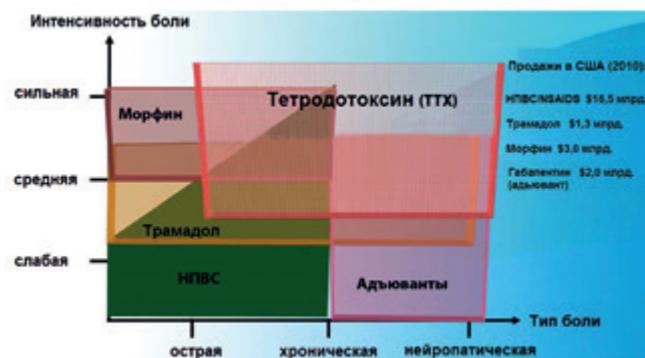


Рисунок 6. Место тетродотоксина (ТТХ) среди препаратов-анальгетиков (Tetradotoxin: a new class of non-opioid analgesic, WEX Pharmaceuticals Inc., 2013) [54]

представленную на рисунке 6 область использования данного типа ненаркотических анальгетиков.

Актуальность выбора ТТХ в качестве анальгетика для онкологических пациентов также обусловлена его потенциальной способностью подавлять метастазирование некоторых видов опухолей, поскольку натриевые каналы играют важную роль в регуляции клеточной миграции, инвазии и пролиферации. В обзоре [38] показано, что VGSC активированы в различных типах метастатических раковых клеток. Отмечено, что VGSC представляют интерес в качестве диагностической и терапевтической мишени для онкологии. В таблице 2 суммированы результаты исследований активации VGSCs в опухолевых тканях.

Одними из наиболее актуальных для исследования действия ТТХ являются опухоли, состоящие из клеток рака предстательной железы (РПЖ) PC-3 и LNCaP, в которых резко активирована экспрессия мРНК подтипов каналов $Na_v1.6$ и $Na_v1.7$. Предполагается, что эти подтипы могут быть потенциальными диагностическими маркерами, а также мишенями для подавления метастазирования некоторых видов РПЖ [52].

Еще одним полезным свойством ТТХ является способность купировать опиатную зависимость в дозах ниже анальгетических (5–10 мкг) [12, 13, 53], что расширяет возможности использования препаратов на основе ТТХ в различных схемах комплексной терапии. Исследование ТТХ целесообразно проводить в рамках концепции разработки мультитаргетных лекарств.

Развиваются несколько направлений разработки препаратов на основе ТТХ как на основе индивидуального вещества, так и на основе комбинаций фиксированного состава, дополнительно включающих известные лекарства, в основном агонисты VGSCs. Данные препараты тестируются с целью использования при купировании онкологической боли (3-я фаза клинических исследований), нейропатической боли (2-я фаза клинических исследований), послеоперационной боли (2-я фаза клинических исследований), а также синдрома отмены опиатов (2-я фаза клинических исследова-

ний) [54]. Все проведенные клинические и доклинические исследования демонстрируют, что препараты на основе ТТХ не проявляют наркотических свойств и не вызывают привыкания [55].

Children’s Medical Center Corp. (СМС) (Бостон, шт. Массачусетс, США) совместно с Massachusetts Institute of Technology (MIT) (Кембридж, шт. Массачусетс, США) разрабатывают различные формы препаратов как на основе индивидуального ТТХ, так и его комбинаций. Изучена эффективная комбинация ТТХ (Tectin) – бупивакаин – адреналин [56]. На доклинических стадиях исследований находятся несколько близких аналогов и производных ТТХ, например 11-Gal-TTX [57].

Таблица 2.

Увеличение метастатической активности злокачественных клеток различных опухолей, коррелируемое с экспрессией подтипов VGSCs [38]

Подтип ионного канала	ТТХ-чувствительность, +/- [24]	Тип опухолевых клеток	Ссылки
$Na_v1.9$	-	Лимфома, мелкоклеточный рак легкого	39, 40
$Na_v1.8$	-	-	
$Na_v1.7$	+	Рак груди, рак шейки матки, лимфомы, мезотелиомы, немелкоклеточный рак легкого, рак яичников, рак предстательной железы	40–46
$Na_v1.6$	+	Рак груди, рак толстой кишки, лимфома, нейробластома, немелкоклеточный рак легкого, рак яичников, мелкоклеточный рак легкого, рак предстательной железы	39–44, 46–48, 52
$Na_v1.5$	-	Рак груди, рак толстой кишки, лимфома, нейробластома, немелкоклеточный рак легкого, рак яичников, мелкоклеточный рак легких	39–41, 44, 45, 49, 50
$Na_v1.4$	+	Рак шейки матки, рак яичников, рак предстательной железы	42, 45, 51
$Na_v1.3$	+	Рак яичников, рак предстательной железы, мелкоклеточный рак легкого	39, 45, 46
$Na_v1.2$	+	Рак шейки матки, злокачественные мезотелиомы, рак яичников, рак предстательной железы	42, 43, 45, 46
$Na_v1.1$	+	Рак яичников	45

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

По сочетанию ключевых для анальгетика факторов ТТХ является уникальным веществом с высоким терапевтическим и инновационным потенциалом. Данное вещество не было внедрено в качестве лекарственного средства ранее вследствие недостаточного объема фармакологических данных, недостаточного развития фармтехнологий и методов анализа вещества в биологических средах, позволяющих создавать лекарственные средства на основе веществ с такой высокой активностью. Сдерживающим психологическим фактором также была высокая токсичность ТТХ. При этом ТТХ обладает высоким терапевтическим индексом, побочные эффекты в терапевтическом интервале доз минимальны, кумулятивный эффект и развитие зависимости не наблюдается. Обнаруженная недавно способность ТТХ в дозах ниже анальгетических подавлять метастазирование некоторых типов злокачественных опухолей является дополнительным аргументом в пользу его использования в онкологии.

Данные свойства тетродотоксина позволяют разработать на его основе уникальные препараты, предназначенные для терапии сильной и средней боли различной природы. Данные препараты в первую очередь актуальны для использования трудоспособными пациентами. Высокое быстрое действие позволяет использовать препараты на основе ТТХ в качестве мощного анальгетика для купирования болевого синдрома в условиях чрезвычайных ситуаций.

ТТХ – токсин изначально бактериального происхождения [37, 58] – посредством пищевых цепей и жизнедеятельности паразитирующих организмов накапливается в организмах некоторых морских существ. Очищенный ТТХ является побочным продуктом промысла рыб семейства иглобрюхих. Вылов одного вида рыбы из данного семейства – рыбы фугу – составляет более 10 тыс. тонн в год только в Японии. Выход чистого ТТХ (при выделении из отходов) составляет около 1 г с 1 т рыбы фугу. Что обеспечивает избыточное количество исходного ТТХ для фармацевтического использования в мировом масштабе.

Вышесказанное позволяет рассматривать ТТХ как наиболее перспективный новый анальгетик для купирования сильной и средней боли в целом. Препараты на основе ТТХ (моно- и многокомпонентные, в зависимости от фармацевтической задачи) являются уникальной инновацией на фоне всех имеющихся и перспективных ненаркотических анальгетиков.

ЛИТЕРАТУРА

1. R.J. Gatchel, I.Z. Schultz. Handbook of Musculoskeletal Pain and Disability Disorders in the Workplace. – NY: Springer Science & Business Media, 2014. 509 p.
2. Report to the Ranking Member, Committee on Veterans' Affairs, House of Representatives. DOD AND VA HEALTH CARE Medication Needs during Transitions May Not Be Managed for All Servicemembers. GAO-13-26. 2012.
3. E. Wax-Thibodeaux. New rules on narcotic painkillers cause grief for veterans and VA // The Washington Post. 18.02.2015.
4. А.Д. Каприн, Г.Р. Абузарова. Фармакотерапия онкологической боли в России. Реальность и перспективы // Материалы Международного медицинского конгресса «Паллиативная медицина в здравоохранении Российской Федерации и стран СНГ», 2014.
5. О.И. Усиенко. Проблемы доступности наркотических анальгетиков для лечения хронического болевого синдрома у инкурабельных онкологических больных. 2010. URL: <http://www.pallcare.ru/ru/?p=news&id=1265443043> (дата обращения 12.01.2016).
6. HORIZON 2020 WORK PROGRAMME 2014–2015. Health, demographic change and wellbeing. European Commission. European Union. 2014.
7. Thomson Reuters Integrity. URL: http://ip-science.thomsonreuters.com/pharma/integrity_whatsnew/ (дата обращения 10.10.2015).
8. Comparison Study of Liquid and Lyophilized Formulations of Subcutaneous Tetrodotoxin (TTX) in Healthy Volunteers. Wex Pharmaceuticals Inc. ClinicalTrials.gov Identifier: NCT01527734. 2012.
9. G. Varrassi. Severe chronic pain – the reality of treatment in Europe // Curr Med Res Opin. 2011. № 27(10). P. 2063–2064.
10. C. Buckenmaier, L. Bleckner. Military advanced regional anesthesia and analgesia handbook. – N.Y.: Borden Institute Government Printing Office, 2009. 316 p.
11. R. Thomas. Pain Management Task Force: Final Report. – NY: DIANE Publishing, 2011. 160 p.
12. L. Manchikanti, S. Helm 2nd, B. Fellows, J.W. Janata, V. Pampati, J.S. Grider, M.V. Boswell. Opioid epidemic in the United States // Pain Physician. 2012. №. 15(3). P. 9–38.
13. M. Mazer-Amirshahi, K. Dewey, P.M. Mullins. Trends in opioid analgesic use for headaches in US emergency departments // Am J Emerg Med. 2014. № 32(9). P. 1068–1073.
14. M. Mazer-Amirshahi, P.M. Mullins, I. Rasooly, J. van den Anker, J.M. Pines. Rising opioid prescribing in adult U.S. emergency department visits: 2001–2010 // Acad Emerg Med. 2014. № 21(3). P. 236–243.

15. M. Mazer-Amirshahi, Mullins, I.R. Rasooly, J. van den Anker, J.M. Pines. Trends in prescription opioid use in pediatric emergency department patients // *Pediatr Emerg Care*. 2014. № 30(4). P. 230–235.
16. H. Song, J. Li, C.L. Lu, L. Kang, L. Xie, Y.Y. Zhang, X.B. Zhou, S. Zhong. Tetrodotoxin alleviates acute heroin withdrawal syndrome: a multicentre, randomized, double-blind, placebo-controlled study // *Clin Exp Pharmacol Physiol*. 2011. № 38(8). P. 510–514.
17. J. Shi, T.T. Liu, X. Wang, D.H. Epstein, L.Y. Zhao, X.L. Zhang, L. Lu. Tetrodotoxin reduces cue-induced drug craving and anxiety in abstinent heroin addicts // *Pharmacol Biochem Behav*. 2009. № 92(4). P. 603–607.
18. (A) N. Hagen, K. Fisher, P. Du Souich, S. Chary, D. Moulin, E. Sellers. A multi-centre open-label, dose-escalation study of intramuscular tetrodotoxin for severe cancer pain // 23rd Annu Sci Meet Am Pain Soc. Vancouver. May 6-9, 2004. Abst 304. (B) An open-label, multi-dose efficacy and safety study of intramuscular tetrodotoxin in patients with severe cancer-related pain // *J Pain Symptom Manage*. 2007. № 34(2). P. 171–182.
19. Tetrodotoxin is safe and effective for severe, refractory cancer pain // *J Support Oncol*. 2004. № 2(1). P. 18.
20. M.-O. Parat. Morphine and Metastasis. – Springer Science & Business Media, 2012. P. 151.
21. A. Hoehne, D. Behera, W.H. Parsons. A 18F-labeled saxitoxin derivative for in vivo PET-MR imaging of voltage-gated sodium channel expression following nerve injury // *J Am Chem Soc*. 2013. № 135(48). P. 18012–18015.
22. Патент WO 2010129864 A2. Methods and compositions for studying, imaging, and treating pain. 2010.
23. R. Sakai, G.T. Swanson. Recent Progress in Neuroactive Marine Natural Products // *Nat Prod Rep*. 2014. № 31(2). P. 273–309.
24. F. Zhang, X. Xu, T. Li, Zh. Liu. Shellfish Toxins Targeting Voltage-Gated Sodium Channels // *Mar. Drugs*. 2013. V. 11. P. 4698–4723.
25. Патент US 8377951. N.A. Wilson. Transdermal administration of phycotoxins. 2013.
26. G. Kuthiala, G. Chaudhary. Ropivacaine: A review of its pharmacology and clinical use // *Indian J Anaesth*. 2011. № 55(2). P. 104–110.
27. S.J. Bajwa, J. Kaur. Clinical profile of levobupivacaine in regional anesthesia: A systematic review // *J Anaesthesiol Clin Pharmacol*. 2013. № 29(4). P. 530–539.
28. A.J. Rodríguez-Navarro, Ch.B. Berde, G. Wiedmaier. Comparison of Neosaxitoxin Versus Bupivacaine via Port Infiltration for Postoperative Analgesia Following Laparoscopic Cholecystectomy // *Regional Anesthesia and Pain Medicine*. 2011. № 2. V. 36.
29. A.J. Rodriguez-Navarro, N. Lagos, M. Lagos, I. Braghetto, A. Csendes. Neosaxitoxin as a local anesthetic: preliminary observations from a first human trial // *Anesthesiology*. 2007. № 106(2). P. 339–345.
30. F.R. Nieto, E.J. Cobos, M.Á. Tejada, C. Sánchez-Fernández, R. González-Cano, C.M. Cendán. Tetrodotoxin (TTX) as a Therapeutic Agent for Pain // *Mar Drugs*. 2012. № 10(2). P. 281–305.
31. E.G. Moczydlowski. The molecular mystique of tetrodotoxin // *Toxicon*. 2013. № 63. P. 165–183.
32. A. Nardi, N. Damann, T. Hertrampf, A. Kless. Advances in Targeting Voltage-Gated Sodium Channels with Small Molecules // *ChemMedChem*. Special Issue: Ion Channel Drug Discovery. 2012. V. 7. Is. 10. P. 1712–1740.
33. A.R. Harmer, J.-P. Valentin, C.E. Pollard. On the relationship between block of the cardiac Na⁺ channel and drug-induced prolongation of the QRS complex // *British Journal of Pharmacology*. 2011. V. 164. Is. 2.
34. H. Zhang. Validation of IonWorks Quattro Assays for Screening of State-Dependent Nav1.7 Blockers // *Neuroscience Discovery*. 2008. URL: <http://www.aurorabiomed.com/download/presentations/HowardZhang.pdf> (дата обращения 12.01.2016).
35. Sh.-W. Yang, G.D. Ho, D. Tulshian. Bioavailable pyrrolo-benzo-1,4-diazines as Nav1.7 sodium channel blockers for the treatment of pain // *Bioorg. Med. Chem. Lett*. 2014. № 24. P. 4958–4962.
36. S.K.G. Maier, R.E. Westenbroek, K.A. Schenkman. An unexpected role for brain-type sodium channels in coupling of cell surface depolarization to contraction in the heart // *PNAS*. 2002. № 6. V. 99. P. 4073–4078.
37. (A) G.P. Rossini. Toxins and Biologically Active Compounds from Microalgae: Biological Effects and Risk Management, т. 1. – NY: CRC Press, 2014. 542 p. (B) Gian Paolo Rossini. Toxins and Biologically Active Compounds from Microalgae: Biological Effects and Risk Management, т. 2. – NY: CRC Press, 2014. 700 p.
38. W.J. Brackenbury. Voltage-gated sodium channels and metastatic disease. Channels 6:5. – Austin, US: Landes Bioscience, 2012. P. 352–361.
39. P.U. Onganer, M.B. Djamgoz. Small-cell lung cancer (human): potentiation of endocytic membrane activity by voltage-gated Na⁽⁺⁾ channel expression

- in vitro* // J. Membr. Biol. 2005. № 204. P. 67–75. URL: <http://dx.doi.org/10.1007/s00232-005-0747-6> (дата обращения 12.01.2016).
40. S.P. Fraser, J.K. Diss, L.J. Lloyd, F. Pani, A.M. Chioni, A.J. George et al. T-lymphocyte invasiveness: control by voltage-gated Na⁺ channel activity // FEBS Lett. 2004. № 569. P. 191–194. URL: <http://dx.doi.org/10.1016/j.febslet.2004.05.063> (дата обращения 12.01.2016).
41. S.P. Fraser, J.K. Diss, A.M. Chioni, M.E. Mycielska, H. Pan, R.F. Yamaci et al. Voltage-gated sodium channel expression and potentiation of human breast cancer metastasi // Clin Cancer Res. 2005. № 11. P. 5381–5389. URL: <http://dx.doi.org/10.1158/1078-0432.CCR-05-0327> (дата обращения 12.01.2016).
42. D. Diaz, D.M. Delgadillo, E. Hernández-Gallegos, M.E. Ramírez-Domínguez, L.M. Hinojosa, C.S. Ortiz et al. Functional expression of voltage-gated sodium channels in primary cultures of human cervical cancer // J Cell Physiol. 2007. № 210. P. 469–478. URL: <http://dx.doi.org/10.1002/jcp.20871> (дата обращения 12.01.2016).
43. G. Fulgenzi, L. Graciotti, M. Faronato, M.V. Soldovieri, F. Miceli, S. Amoroso et al. Human neoplastic mesothelial cells express voltage-gated sodium channels involved in cell motility // Int J Biochem Cell Biol. 2006. № 38. P. 1146–1159. URL: <http://dx.doi.org/10.1016/j.biocel.2005.12.003> (дата обращения 12.01.2016).
44. S. Roger, J. Rollin, A. Barascu, P. Besson, P.I. Raynal, S. Iochmann et al. Voltage-gated sodium channels potentiate the invasive capacities of human non-smallcell lung cancer cell lines // Int J Biochem Cell Biol. 2007. № 39. P. 774–786. URL: <http://dx.doi.org/10.1016/j.biocel.2006.12.007> (дата обращения 12.01.2016).
45. R. Gao, Y. Shen, J. Cai, M. Lei, Z. Wang. Expression of voltage-gated sodium channel alpha subunit in human ovarian cancer // Oncol Rep. 2010. № 23. P. 1293–1299.
46. J.K. Diss, S.N. Archer, J. Hirano, S.P. Fraser, M.B. Djamgoz. Expression profiles of voltage-gated Na⁽⁺⁾ channel alpha-subunit genes in rat and human prostate cancer cell lines // Prostate. 2001. № 48. P. 165–78. URL: <http://dx.doi.org/10.1002/pros.1095> (дата обращения 12.01.2016).
47. E. Hernandez-Plata, C.S. Ortiz, B. Marquina-Castillo, I. Medina-Martinez, A. Alfaro, J. Berumen et al. Overexpression of NaV 1.6 channels is associated with the invasion capacity of human cervical cancer // Int J Cancer. 2012. № 130. P. 2013–2023. URL: <http://dx.doi.org/10.1002/ijc.26210> (дата обращения 12.01.2016).
48. M.D. Carrithers, G. Chatterjee, L.M. Carrithers, R. Offoha, U. Iheagwara, C. Rahner et al. Regulation of podosome formation in macrophages by a splice variant of the sodium channel SCN8A // J Biol Chem. 2009. № 284. P. 8114–8126. URL: <http://dx.doi.org/10.1074/jbc.M801892200> (дата обращения 12.01.2016).
49. C.D. House, C.J. Vaske, A.M. Schwartz, V. Obias, B. Frank, T. Luu et al. Voltage-gated Na⁺ channel SCN5A is a key regulator of a gene transcriptional network that controls colon cancer invasion // Cancer Res. 2010. № 70. P. 6957–6967. URL: <http://dx.doi.org/10.1158/0008-5472.CAN-10-1169> (дата обращения 12.01.2016).
50. S.W. Ou, A. Kameyama, L.Y. Hao, M. Horiuchi, E. Minobe, W.Y. Wang et al. Tetrodotoxin-resistant Na⁺ channels in human neuroblastoma cells are encoded by new variants of Nav1.5/SCN5A // Eur J Neurosci. 2005. № 22. P. 793–801. URL: <http://dx.doi.org/10.1111/j.1460-9568.2005.04280.x> (дата обращения 12.01.2016).
51. J.K. Diss, D. Stewart, S.P. Fraser, J.A. Black, S. Dib-Hajj, S.G. Waxman et al. Expression of skeletal muscle type voltage-gated Na⁺ channel in rat and human prostate cancer cell lines // FEBS Lett. 1998. № 427. P. 5–10. URL: [http://dx.doi.org/10.1016/S0014-5793\(98\)00378-0](http://dx.doi.org/10.1016/S0014-5793(98)00378-0) (дата обращения 12.01.2016).
52. B. Shan, M. Dong, H. Tang, N. Wang et al. Voltage-gated sodium channels were differentially expressed in human normal prostate, benign prostatic hyperplasia and prostate cancer cells // Oncology Letters. 2014. № 8. P. 345–350.
53. H. Smith, S. Passik. Pain and Chemical Dependency. – Oxford: Oxford University Press, 2008. 448 с.
54. Сайт WEX Pharmaceuticals Inc. URL: www.wexpharma.com (дата обращения 15.10.2014).
55. J. Lago, L.P. Rodríguez, L. Blanco, J.M. Vieites, A.G. Cabado. Review Tetrodotoxin, an Extremely Potent Marine Neurotoxin: Distribution, Toxicity, Origin and Therapeutical Uses // Mar. Drugs. 2015. № 13. P. 6384–6406.
56. Ch.B. Berde, U. Athiraman, B. Yahalom, D. Zurakowski, G. Corfas, C. Bognet. Tetrodotoxin-Bupivacaine-Epinephrine Combinations for Prolonged Local Anesthesia // Mar. Drugs. 2011. № 9. P. 2717–2728.
57. Патент US 8486901. Sodium channel blocking compounds tetrodotoxin galactopyranosides. Заявитель Wex Medical Limited. – Заявл. 26.06.12; опубл. 10.09.13.
58. V. Bane, M. Lehane, M. Dikshit et al. Tetrodotoxin: Chemistry, Toxicity, Source, Distribution and Detection // Toxins. 2014. № 6. P. 693–755.