

PHARMACOLOGICAL ACTIVITY OF OINTMENT BASED ON *ZINGIBER OFFICINALE* EXTRACT UNDER CONDITIONS OF ALLYL ISOTHIOCYANATE-INDUCED INFLAMMATION

L. Eberle, A. Kobernik, I. Kravchenko

¹Odessa National University named after I.I. Mechnikov, Odessa

²Odessa National Polytechnic University, Odessa

Summary

Antiexudative activity of ointment based on dense extract of ginger rhizome was investigated in rats using allyl isothiocyanate-induced inflammation model. Obtained results indicate a pronounced anti-inflammatory effect of 0.025 % ointment based on ginger extract, which is confirmed by a decrease in the dynamics of the morphological parameters (volume and thickness) of the affected limbs of the experimental animals.

Mechanism of anti-inflammatory action of ointment with ginger extract, according to the literature, is related to the blocking of TRP-ion channels by one of the ginger components (gingerol) due to the covalent modification of the cysteine residues, which makes it impossible to bind a pro-inflammatory agent with these channels.

Obtained results indicated that further research of dense extract of ginger rhizome should be conducted to prove the feasibility of clinical trials using this extract with the prospect of its introduction into medical practice as an alternative anti-inflammatory medicine.

Keywords: antiexudative activity, dense ginger extract, allyl isothiocyanate-induced inflammation.

ФАРМАКОЛОГІЧНА ДІЯ МАЗІ З ЕКСТРАКТУ *ZINGIBER OFFICINALE* ЗА УМОВ АЛІЛІЗОТІОЦИНАТ-ІНДУКОВАНОГО ЗАПАЛЕННЯ

¹Л. В. Еберле, ^{1,2}А. О. Кобернік, ^{1,2}І. А. Кравченко

¹Одеський національний університет імені І.І. Мечникова, м. Одеса

²Одеський національний політехнічний університет, м. Одеса

lidaeberle@gmail.com

Резюме

Досліджено антиексудативну активність густого екстракту кореневища імбиру на моделі алілізотіоционат-індукованого запалення у щурів. Отримані результати свідчать про виражений протизапальний ефект 0,025 % мазі на основі екстракту імбиру, що підтверджується зниженням динаміки морфологічних показників (об'єму та товщини) уражених кінцівок дослідних тварин.

Механізм протизапальної дії мазі з екстрактом імбиру, згідно літературних даних, пов'язаний із блокуванням TRP-іонних каналів одним із компонентів імбиру — гінгеролом за рахунок ковалентної модифікації залишків цистеїну, внаслідок чого унеможлиблюється зв'язування прозапального агенту з даними каналами.

Одержані результати є підставою для проведення подальших досліджень густого екстракту кореневища імбиру з метою обґрунтування доцільності здійснення клінічних досліджень з перспективою його впровадження в медичну практику, як альтернативного протизапального засобу.

Ключові слова: антиексудативна активність, густий екстракт імбиру, алілізотіоционат-індуковане запалення.

ФАРМАКОЛОГИЧЕСКОЕ ДЕЙСТВИЕ МАЗИ С ЭКСТРАКТОМ *ZINGIBER OFFICINALE* В УСЛОВИЯХ АЛИЛИЗОТИОЦИНАТ-ИНДУЦИРОВАННОГО ВОСПАЛЕНИЯ

¹Л. В. Эберле, ^{1,2}А. А. Коберник, ^{1,2}И. А. Кравченко

¹Одесский национальный университет имени И.И. Мечникова, г. Одесса

²Одесский национальный политехнический университет, г. Одесса

Резюме

Исследована антиэкссудативная активность густого экстракта корневища имбиря на модели алилизотиоционат-индуцированного воспаления у крыс. Полученные результаты свидетельствуют о выраженном противовоспалительном эффекте 0,025 % мази на основе экстракта имбиря, что подтверждается снижением динамики морфологических показателей (объема и толщины) пораженных конечностей опытных животных.

Механизм противовоспалительного действия мази с экстрактом имбиря, согласно литературным данным, связан с блокированием TRP-ионных каналов одним из компонентов имбиря — гингерола за счет ковалентной модификации остатков цистеина, в результате чего исключается связывания провоспалительных агентов с данными каналами.

Полученные результаты являются основанием для проведения дальнейших исследований густого экстракта корневища имбиря с целью обоснования целесообразности осуществления клинических исследований с перспективой его внедрения в медицинскую практику, как альтернативного противовоспалительного средства.

Ключевые слова: антиэкссудативное активность, густой экстракт имбиря, алилизотиоционат-индуцированное воспаление.

Актуальність теми

Імбир (*Zingiber officinale*) є однією з лікарських рослин, яка вже протягом декількох століть використовується в народній медицині всього світу для терапії різних захворювань [1, 2, 3].

Згідно літературних даних *Zingiber officinale* містить цілий ряд фармакологічно активних компонентів, серед них гінгерол, бета-каротин, капсаїцин, кофеїнова кислота, куркумін. Крім цього, корінь імбиру містить всі незамінні амінокислоти, включаючи триптофан, треонін, лейцин, метіонін, фенілаланін, валін та ін. Також *Zingiber officinale* багатий на солі магнію, кальцію і фосфору, а також містить вітаміни С, В₁, В₂ і А [3, 4, 5].

В народній медицині кореневище імбиру застосовують, як лікувальний засіб при болях в суглобах, артритах, набряках, а також при розтягненні м'язів, також його використання допомагає відновити сили після хвороб та операцій [6, 7, 8].

Лікарські препарати рослинного походження вже протягом багатьох років широко використовуються як ефективні фармацевтичні препарати. Дослідження в області хімії природних сполук в останній час набуває особливого значення та актуальності у зв'язку із відкриттям для них нових фармакологічних мішеней — іонних каналів перехідного рецепторного потенціалу (transient receptor potential — TRP) [9, 10].

Відкриття та дослідження TRP рецепторів, відкриває нові можливості для пояснення протизапальної активності цілого ряду сполук, а також дає підстави для перегляду існуючих механізмів виникнення та розвитку запального процесу. Активація більшості TRP каналів пов'язана із вивільненням медіаторів запалення, які утворюються в плазмі у відповідь на пошкодження тканин при запаленні. Медіатори стимулюють В₂ кініновий рецептор, що призводить до активації фосфоліпази С, яка, в свою чергу, гідролізує фосфатидилінозитол (PIP₂) на два вторинних месенджера — інозитолтрифосфат (IP₃) та диацилгліцерол (DAG). Інозитолтрифосфат згодом вивільняє кальцій із внутрішньоклітинного депо, в той час як DAG активує протеїнкіназу С. Іони Ca²⁺, які вивільнились із внутрішньоклітинного депо, сенсibiliзують канали TRPV₁, що призводить до відкриття каналів TRPA₁ [11, 12, 13, 14]. Таким чином, TRPA₁ іонні канали здатні реагувати на

вивільнення запальних медіаторів чи активуватись прямою дією подразників, що приводить до виникнення запального процесу.

Метою дослідження було визначення концентраційнозалежного протизапального ефекту мазі з екстрактом імбиру на моделі алілізотіоціонат-індукованого запалення.

Матеріали та методи

Дослідження протизапальної активності мазі з екстрактом імбиру проводили на 50 самцях білих нелінійних щурів (масою 200-220 г) на моделі алілізотіоціонатного (АІТЦ) запалення.

Для даного дослідження було підбрано ряд мазей на основі густого екстракту імбиру з різною його концентрацією в перерахунку на суму поліфенольних сполук, а саме 0,0125 %; 0,025 %; 0,05 % та 0,1 %. Мазева основа складалася з поліетиленгліколю-1500, поліетиленоксиду-400 і 1,2-пропіленгліколю в співвідношенні 3:4:2, відповідно. Мазі наносились трансдермально через 1 годину після ін'єкції флотогену.

Під час досліду тварини утримувалися на стандартному раціоні віварію з вільним доступом до їжі і воді. Тварини були розділені на 6 груп по 10 — в кожній:

- 1 група — контрольна (не піддавались лікуванню);
- 2 група — тварин отримувала аплікації мазевої основи;
- 3 група — тварин отримувала лікування 0,1 % маззю з екстрактом імбиру;
- 4 група — отримувала аплікації 0,05 % мазі з екстрактом імбиру;
- 5 групу — тварин лікували 0,025 % маззю з екстрактом імбиру;
- 6 група — отримувала аплікації 0,0125 % мазі з екстрактом імбиру.

Запалення викликали шляхом субплантарного введення (під плантарний апоневроз задньої кінцівки щурів) 30 мкл розчину АІТЦ (100

мкг/кінцівку) у 1,2-пропіленгліколі. Динаміку зміни запального процесу оцінювали перед введенням індуктора запалення та через 1, 2, 3, 4, 6 та 24 години після його введення шляхом вимірювання об'єму уражених кінцівок (за допомогою цифрового плетизмометра 37140 Ugo Basile, Китай) та товщини кінцівок (з використанням електронного штангенциркуля УТ-7201 фірми УАТО, Польща). Мазі з екстрактом *Zingiber officinale* наносили на уражену кінцівку після кожного проведеного заміру.

Для всіх груп тварин була розрахована антиексудативна активність, яка, по суті, являє собою якісний показник пригнічення розвитку запалення в дослідних групах в порівнянні з контрольною.

$$AA = 100 - \left(\frac{O - II}{II (д)} : \frac{O - II}{II (к)} \right) * 100$$

де: AA — антиексудативна активність;

д — дослідна група;

к — контрольна група.

Дослідження були проведені згідно з нормами і принципами Директиви Ради ЄС з питань захисту хребетних тварин, що використовуються для експериментальних та інших наукових цілей [15].

Статистичний аналіз отриманих результатів здійснювали з використанням критерію Стьюдента з метою встановлення наявності статистично значимих відмінностей між показниками дослідних та контрольної групи тварин.

Результати та їх обговорення

Моделювання алілізотіюціонат-індукованого запалення, стимулювало швидке збільшення об'єму та товщини осередку запалення в усіх експериментальних групах тварин. На першу годину експерименту приріст об'єму та товщини кінцівок у всіх групах тварин був майже однаковий і складав в середньому 52 % та 41 %, відповідно, вихідних показників (табл. 1, рис. 1, 2).

Розвиток запального процесу при ін'єкції алізіотіонату, згідно літературних даних, відбувається за рахунок активації TRP каналів, а саме TRPA1, TRPV1 іонних каналів, які зв'язуються з лігандом, при ковалентній модифікації амінокислотних залишків, в наслідок чого відбуваються зміни в різниці потенціалів на клітинних мембранах. Відкриття каналів викликає деполяризацію клітинної мембрани і активацію різних потенціал-залежних іонних каналів, що призводить до зміни внутрішньоклітинної концентрації іонів та стимулює збудження субпопуляції дисоційованих сенсорних нейронів трійчастого вузла [11, 13].

У ході експерименту встановлено, що в контрольній групі тварин та в групі тварин, яким наносили мазеву основу, запальна реакція досягла свого піку на 3-тю годину після введення флогогенного агента і зберігалася на досить високому рівні протягом 24 годин дослідження, у той час як у груп тварин, які піддавалися лікувальним процедурам маззю на основі екстракту імбиру ступінь запальної реакції почав поступово знижуватися вже після першого застосування (через 1 годину після введення флогогену). А подальші аплікації мазей проявляли помірний протизапальний ефект, пригнічуючи розвиток запальної реакції та знижуючи обсяг ураженої кінцівки, гіперемію і болючість суглоба, покращуючи його рухливість в порівнянні з контролем. Про це свідчить динаміка зміни ширини та об'єму уражених кінцівок щурів (табл. 1).

Особливу увагу звертають на себе результати отримані при вимірюванні об'єму ураженої кінцівки за умов трансдермального введення 0,1 % та 0,025 % мазь на основі густого екстракту імбиру на 3 годину дослідження, де приріст об'єму достовірно зменшувався у порівнянні з контрольною групою на 29,7 % та 25,6 % тоді, як антиексудативна активність зростала до 58,6 % та 60,5 %, відповідно.

У тварин, яких лікували 0,05 % маззю, протизапальна активність була значно меншою ніж в 3-й та 5-й групі та на 3 годину становила 29,2 %. В той час, як аналогічні показники у щурів 6 групи, яку лікували 0,0125 % маззю

продовжували збільшуватися сягнувши свого піку на 3-тю годину експерименту (табл. 1).

На 6 годину дослідження у всіх дослідних групах тварин, яким проводили аплікації з мазі на основі екстракту імбиру відзначалась тенденція до зниження осередку запалення, за винятком 0,1 % мазі, яка після систематичного нанесення проявляла себе в якості прозапального агенту, стимулюючи інтенсивність набряку та викликаючи почервоніння і потріскування верхнього шару епідермісу, що в подальшому призводило до капілярного крововиливу.

Таблиця 1

Об'єм ураженої кінцівки щурів (в см³) та антиексудативна активність (в %) за умов аллілізотіоціонат-індукованого запалення

№ гр.	Концентрація мазі	Об'єм кінцівки, см ³					Антиексудативна активність, %		
		До введення	Після введення				3 год	6 год	24 год
			1 год	3 год	6 год	24 год			
1	Контроль	0,68 ± 0,05	1,03 ± 0,07	1,11 ± 0,09	0,92 ± 0,06	0,84 ± 0,05	-	-	-
2	Мазева основа	0,63 ± 0,03	0,97 ± 0,08	1,08 ± 0,08	0,85 ± 0,05	0,77 ± 0,07	-	1,06	5,56
3	0,1 % мазь	0,65 ± 0,04	1,04 ± 0,08	0,78 ± 0,04*	0,82 ± 0,07	1,16 ± 0,09	58,64	-	-
4	0,05 % мазь	0,67 ± 0,07	1,02 ± 0,08	0,97 ± 0,05	0,87 ± 0,08	0,76 ± 0,04	29,19	15,42	42,91
5	0,025 % мазь	0,64 ± 0,05	0,96 ± 0,08	0,8 ± 0,04*	0,71 ± 0,06*	0,67 ± 0,03*	60,47	69,01	80,08
6	0,0125 % мазь	0,69 ± 0,03	1,03 ± 0,06	1,05 ± 0,09	0,9 ± 0,07	0,81 ± 0,05	17,49	13,77	26,09

Примітка: * — $P \leq 0,05$ у порівнянні з контрольною групою.

Показано, що вже на 24 годну досліджу показники об'єму майже досягли інтактних показників для 4 5 та 6 групи, які піддавалися лікуванню маззю на основі екстракту імбиру, в той час, як показники об'єму в 1, 2 та 3 групах

тварин перевищували вихідні дані на 22,2 %, 23,5 % та 78,5 % відповідно (табл. 1).

Показники зміни товщини ураженої кінцівки були аналогічні динаміці показників об'єму та через 1 годину після індукції запалення та мали тенденцію до збільшення.

На 3 годину експерименту для груп, яких лікували розробленою маззю з екстрактом імбиру товщина уражених кінцівок поступово знижувалась, проте найбільше зменшення фіксувалось у 3 групі (на 16 %) та у 5 групі тварин (на 12 %) порівняно з першою годиною дослідження. Тоді, як у контрольній групі та у тварин 2 групи набряк зберігався на достатньо високому рівні — товщина уражених кінцівок приблизно на 53 % та 46 %, відповідно, перевищувала інтактні показники (рис. 1, 2).

Застосування 0,0125 % мазі на основі екстракту імбиру (6 група) впродовж трьох перших годин експерименту не проявляла суттєвих протизапальних ефектів, а навпаки була еквівалентна параметрам тварин у контрольній групі та товщина лапи на 3 годину експерименту підвищувалась на 42 % у порівнянні з вихідними показниками (рис. 2).

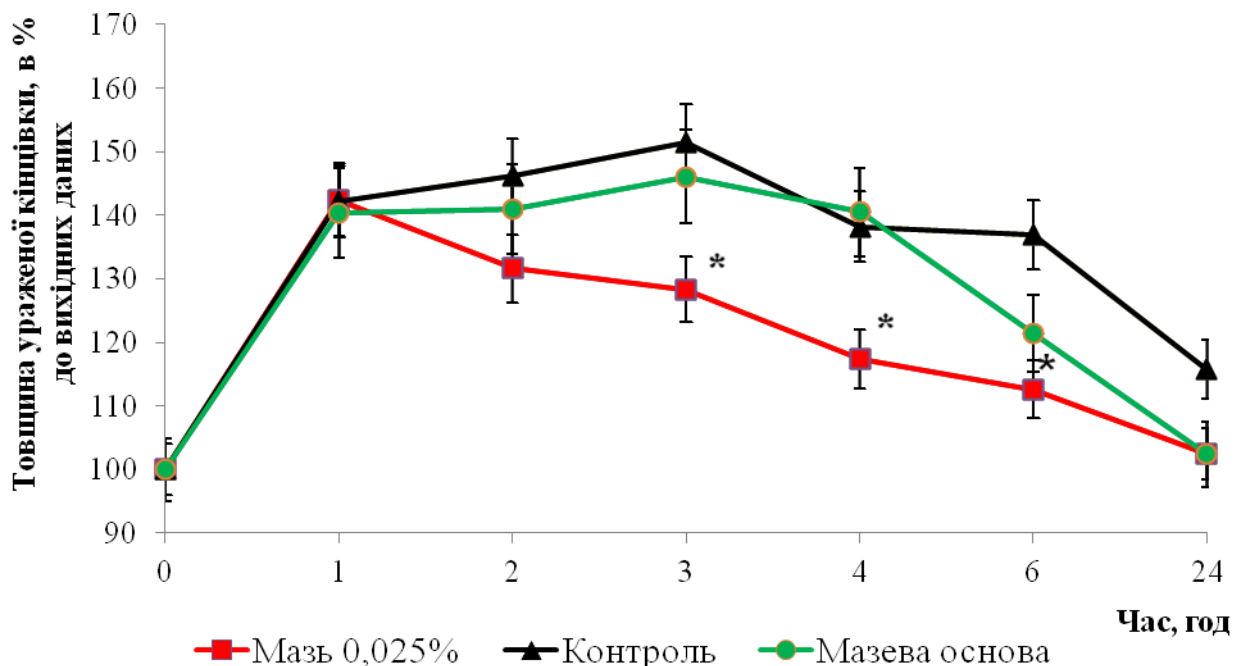


Рис. 1 Протизапальна активність 0,025 % мазі на основі екстракту імбиру (товщина уражених кінцівок).

Примітка. * — $p < 0,05$ порівняно з контрольною групою.

На 6-ту годину дослідження у більшості піддослідних групах тварин відзначалось поступове зменшення товщини уражених кінцівок у порівнянні з показниками перших годин експерименту, за винятком 3-ї групи тварин, яким наносили в якості лікарського агенту 0,1 % мазь на основі екстракту імбиру. Для даної групи тварин починаючи з 4-ї години дослідження була притаманна тенденція до збільшення товщини кінцівки та на шосту годину відзначався приріст середньому на 42 % у порівнянні з вихідними даними, що перевищувало показники контрольної групи на 12 % (рис. 2).

Найефективніше зменшення товщини уражених кінцівок на 6 годину було характерне для груп тварин, яких лікували 0,025 % маззю на основі екстракту імбиру (на 30 %), їх показники достовірно відрізнялись від показників контрольної групи, що свідчить про наявність вираженої протизапальної активності дослідної мазі (рис. 1).

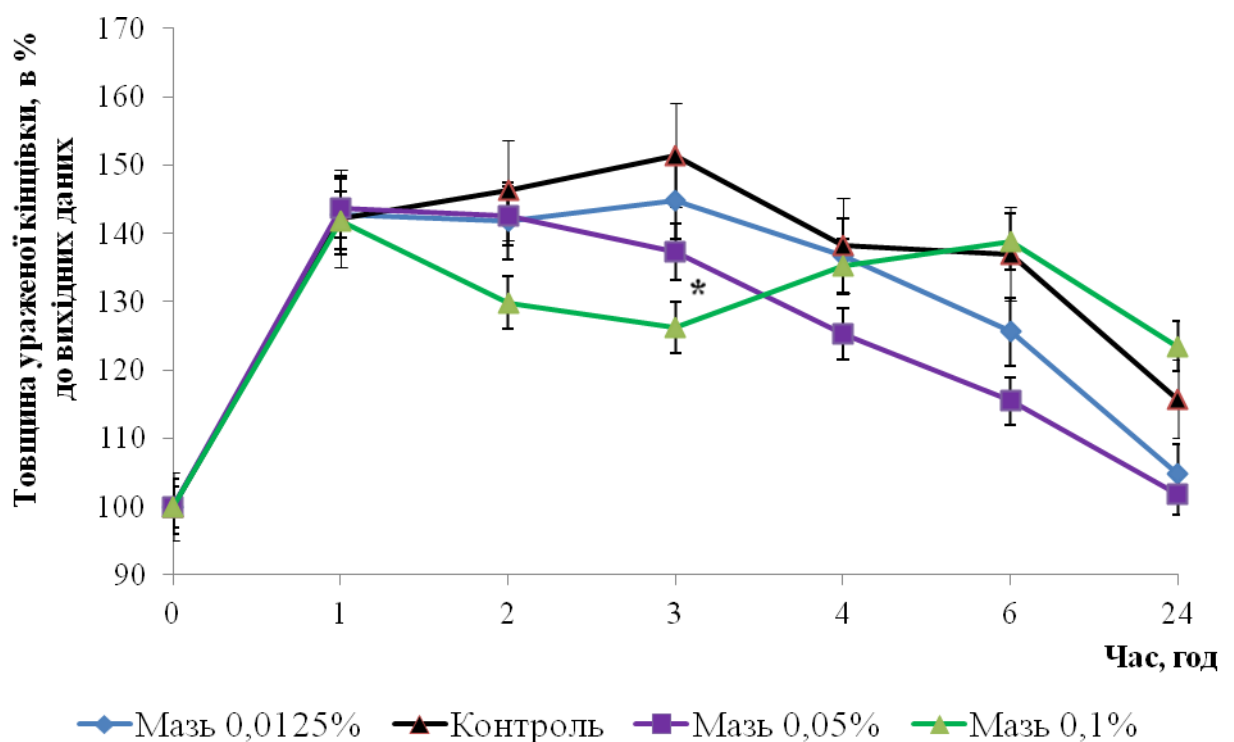


Рис. 2. Протизапальна активність 0,0125 %, 0,05 % та 0,1 % мазі на основі екстракту імбиру (товщина уражених кінцівок).

Примітка. * — $p < 0,05$ порівняно з контрольною групою.

Виходячи з отриманих результатів, встановлено, що аплікації 0,0125 % та 0,05 % мазей сприяли зниженню набряку кінцівки, на 1 добу дослідження,

в середньому на 35 % та проявляли помірну протизапальну активність, але не зважаючи на позитивний вплив дослідних мазей, об'єм уражених кінцівок знаходився за межами вихідних значень. Тоді, як трансдермальне лікування 0,025 % маззю на основі екстракту імбиру стимулювало зменшенню приросту об'єму лап тварин, що майже відповідало початковим показникам до введення флогогену, а антиексудативна активність за умов даної терапії становила в середньому 80 % у порівнянні з контрольною групою (табл. 1, рис. 2).

Результати експерименту, наведених в табл. 1 свідчать, що з підвищенням концентрації мазі від 0,0125 % до 0.025 % протизапальна активність досліджуваних зразків прогресивно зростає, однак подальше збільшення концентрації до 0,1 % в зразках досліджуваної мазі не призводить до істотного підвищення протизапальної активності, що дає змогу вважати концентрацію 0,025 % найбільш ефективною для трансдермальної терапії запального процесу.

Сприятливий вплив 0,025 % мазі на основі екстракту імбиру, найбільш ймовірно, пояснюються впливом гінгеролу, що міститься в екстракті кореневища імбиру, на ванілоїдні рецептори нервових закінчень [6, 10]. Активація даного підтипу рецепторів в лейкоцитарних клітинах сприяє викиду хемокинов, цитокінів, простагландинів, брадикініну; в разі нервових волокон спостерігається викид субстанції P [11, 13]. У нормі дані ефекти супроводжуються класичними ознаками, властивими запалення — почервонінням, локальним збільшенням температури, больовий реакцією. Однак при наявності запальної реакції активація ванілоїдних рецепторів призводить до так званих парадоксальних проявів — зменшення больової чутливості і збільшення швидкості репарації тканин. Це пов'язано з сенситизація нервових закінчень, а також з локальними змінами кровотоку — посиленням капілярної мікроциркуляції, що поряд зі зменшенням судинної проникності сприяє зниженню набряклості тканин [9].

Таким чином, підсумовуючи результати досліджень можна зробити припущення, що механізм протизапальної дії 0,025 % мазі з екстрактом імбиру пов'язаний із блокуванням TRP-іонних каналів одним із компонентів імбиру, а саме гінгеролом, внаслідок чого унеможливується зв'язування алілізотіонату з даними каналами.

Висновки

1. В результаті проведених фармакологічних досліджень показано, що найбільш виражений протизапальний ефект на моделі АІТЦ-індукованого запалення проявляла 0,025 % мазь на основі густого екстракту імбиру.

2. Трансдермальні аплікації 0,025 % мазі призводили до блокування розвитку запалення та стимулювали поверненню морфологічних показників до вихідних значень на 24 годину експерименту, на відмінну від інших дослідних груп.

Література

1. Bager S. Assessment report on *Zingiber officinale* Roscoe, rhizoma. / S. Bager, L. Ovesen. — London: European Medicines Agency. — 2012. — 49 p.
2. Wattanathorn J. *Zingiber officinale* mitigates brain damage and improves memory impairment in focal cerebral ischemic rat. /J.Wattanathorn, T. Jittiwat, S. Tongun, K. Muchimapura // Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine. — 2011. — P. 114 — 125.
3. Вальчихина О.Ю. Корневище имбиря как перспективное растительное сырье для создания лекарственных средств / О.Ю. Вальчихина, Н.Б Демина, А. Надер // Вестник Смоленской государственной медицинской академии. — 2015. — Т. 16, № 2. — С. 170 — 180.
4. Kravchenko I., Kobernik A., Eberle L. Optimization of extraction methods for total polyphenolic compounds obtained from rhizomes of *Zingiber officinale* // Trends in Phytochem. Res. 2018. — 2 (1). С. 37-42
5. Гематологические механизмы хронизации воспаления / Клименко Н.А., Шевченко А.Н. // Харьков: ХНМУ. — 2010. — 88 с.

6. Клименко Н.А. Роль воспаления в патологии / Н.А. Клименко // Харківський національний медичний університет — 2010. — Т. 5, № 2. — С. 20.
7. Лабораторные методы исследования в клинике / Под ред. В.В. Меньшикова. — М: Медицина 1987. — 108 с.
8. Щепочкина О.Ю. Определение биологически активных веществ в сухом экстракте имбиря лекарственного (*Zingiber officinale*) / О.Ю.Щепочкина, Н.Б. Демина, А.А. Жогова, М.Н. Анурова, О.Ю. Вальчихина, А.М. Надер // Разработка и регистрация лекарственных веществ. — 2015. — № 2. — С. 160 — 166.
9. Calixto B. Contribution of natural products to the discovery of the transient receptor potential (TRP) channels family and their functions / B. Calixto, A. Candida, E. André, J. Ferreira // Pharmacology and Therapeutics. — 2005. — V. 106. — P. 178–208.
10. Premkumar L. S. Transient receptor potential channels as targets for phytochemicals / L. S. Premkumar // ACS Chem. Neurosci. — 2014. — V. 5, № 11. — P. 1117–1130.
11. Fernandes ES, Fernandes MA, Keeble JE. The functions of TRPA1 and TRPV1: moving away from sensory nerves. Br J Pharmacol. — 2012 — May; 166 (2). — P. 510-21.
12. Brederson JD, Kym PR, Szallasi A. Targeting TRP channels for pain relief. Eur J Pharmacol. — 2013 — Sep 15 (1-3). — P. 61-76.
13. Salas MM, Hargreaves KM, Akopian AN. TRPA1 mediated responses in trigeminal sensory neurons: interaction between TRPA1 and TRPV1. Eur J Neurosci. — 2009. — Apr 29 (8). — P. 1568-78.
14. Story G. M. The emerging role of TRP channels in mechanisms of temperature and pain sensation / G. M. Story // Curr. Neuropharmacol. — 2006. — V. 4, № 3. — P. 183–196.

15. European Convention for the Protection of Vertebrate Animals Used for Experimental and Other Specific Purposes, Strasbourg, Council of Europe. — 1986. — № 123 — P. 51.

References

1. Bager S. Assessment report on *Zingiber officinale* Roscoe, rhizoma. / S. Bager, L. Ovesen. – London: European Medicines Agency. – 2012. – 49 p.
2. Wattanathorn J. *Zingiber officinale* mitigates brain damage and improves memory impairment in focal cerebral ischemic rat. /J. Wattanathorn, T. Jittiwat, S. Tongun, K. Muchimapura // Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine. – 2011. –P. 114 - 125.
3. Valchikhina O.Yu. Ginger rhizome as a perspective herbal drugs for creation of medicines / O.Yu. Valchikhina, N.B. Diomina, A. Nader // Bulletin of the Smolensk State Medical Academy. - 2015. - V. 16, № 2. - P. 170 – 180 [Rus].
4. Kravchenko I., Kobernik A., Eberle L. Optimization of extraction methods for total polyphenolic compounds obtained from rhizomes of *Zingiber officinale* // Trends in Phytochem. Res. 2018. – 2(1). C. 37-42
5. Hematological mechanisms of chronic inflammation / Klimenko N.A., Shevchenko A.N. // Kharkov: KhNMU. - 2010. - 88 pp [Rus].
6. Klimenko N.A. The role of inflammation in pathology / N.A. Klimenko // Kharkiv national medical university – 2010. - T. 5, No. 2. - P. 20 [Rus].
7. Laboratory methods of research in the clinic / Ed. V.V. Menshikov. – M: Medicine 1987. – 108 pp [Rus].
8. Shchepochkina O.Yu. Determination of biologically active substances, in dry extract of ginger medicinal (*Zingiber officinale*) / O.Yu. Shchepochkina, N.B. Diomina, A.A. Zhogova, M.N. Anurova, O.Yu. Valchikhina, A. Nader // Development and registration of medicinal substances. – 2015. – № 2. – P. 160 – 166 [Rus].
9. Calixto B. Contribution of natural products to the discovery of the transient receptor potential (TRP) channels family and their functions / B. Calixto,

A. Candida, E. André, J. Ferreira // *Pharmacology and Therapeutics*. – 2005. – V. 106. – P. 178–208.

10. Premkumar L. S. Transient receptor potential channels as targets for phytochemicals / L. S. Premkumar // *ACS Chem. Neurosci.* – 2014. – V. 5, № 11. – P. 1117–1130.

11. Fernandes ES, Fernandes MA, Keeble JE. The functions of TRPA1 and TRPV1: moving away from sensory nerves. *Br J Pharmacol.* – 2012 – May; 166 (2). – P. 510-21.

12. Brederson JD, Kym PR, Szallasi A. Targeting TRP channels for pain relief. *Eur J Pharmacol.* – 2013 – Sep 15 (1-3). – P. 61-76.

13. Salas MM, Hargreaves KM, Akopian AN. TRPA1 mediated responses in trigeminal sensory neurons: interaction between TRPA1 and TRPV1. *Eur J Neurosci.* – 2009. – Apr 29 (8). – P. 1568-78.

14. Story G. M. The emerging role of TRP channels in mechanisms of temperature and pain sensation / G. M. Story // *Curr. Neuropharmacol.* – 2006. – V. 4, № 3. – P. 183–196.

15. European Convention for the Protection of Vertebrate Animals Used for Experimental and Other Specific Purposes, Strasbourg, Council of Europe. – 1986. – № 123 – P. 51.