

Syntéza alkylesterů kyseliny 2-{3-[4-(4-fluorfenyl)-piperazin-1-yl]-2-hydroxy-propoxy}-fenyلكarbamové a *in vitro* hodnocení jejich β -antiadrenergní a vazodilatační aktivity

GONĚC T.¹, RAČANSKÁ E.², CSÖLLEI J.¹

¹Veterinární a farmaceutická univerzita Brno, Farmaceutická fakulta, Ústav chemických léčiv

²Univerzita Komenského v Bratislave, Farmaceutická fakulta, Katedra farmakologie a toxikologie

Došlo 18. dubna 2008 / Přijato 30. dubna 2008

SOUHRN

Syntéza alkylesterů kyseliny 2-{3-[4-(4-fluorfenyl)-piperazin-1-yl]-2-hydroxy-propoxy}-fenyلكarbamové a *in vitro* hodnocení jejich β -antiadrenergní a vazodilatační aktivity

Ve snaze získat látky příznivě ovlivňující patologicky změněné kardiovaskulární funkce, jako je hypertenze a ischemická choroba srdeční, byla připravena nová série látek ze skupiny aryloxyaminopropanolů. Čtyři z těchto látek lišící se substitucí fenylkarbamátu (methyl, ethyl, propyl, butyl) byly vybrány pro základní farmakologické hodnocení *in vitro*. Všechny látky snižovaly v pokusech na izolovaných spontánně tepajících předsíních morčete v konc. $1,0 \cdot 10^{-6}$ základní tepovou frekvenci (7,6–13,6 %) a inhibovaly pozitivně chronotropní efekt isoprenalinu ($pA_2 = 6,28-6,81$). Látky vykazovaly pouze mírnou relaxaci KCl prekontrahovaných potkaních aortálních preparátů (až při koncentraci $1,0 \cdot 10^{-5}$). Sloučeniny s propyl- a butyl- substitucí se jeví být účinnější než methyl- a ethyl- deriváty.

Klíčová slova: aryloxyaminopropanoly – β -antiadrenergní aktivita – izolovaná předsíň – izolovaná aorta

Čes. slov. Farm., 2008; 57, 115–118

SUMMARY

Synthesis of 2-{3-[4-(4-fluorophenyl)-1-piperazinyl]-2-hydroxy-propoxy}-phenylcarbamic acid alkylesters and *in vitro* evaluation of their β -antiadrenergic and vasodilative activities

In effort to obtain effective compounds able to favourably influence pathologically changed cardiovascular functions, such as hypertension and ischemic cardiac disease, a new series of aryloxyaminopropanols were synthesized. Four of the compounds, which differ in the alkyl substitution of phenylcarbamate (methyl, ethyl, propyl, butyl), were chosen for basic *in vitro* pharmacological analyses. In experiments on the isolated spontaneously beating guinea pig atria all compounds at conc. of $1.0 \cdot 10^{-6}$ mol.l⁻¹ decreased the basic heart rate (7.6–13.6%) and inhibited the positive chronotropic effect of isoprenaline ($pA_2 = 6.28-6.81$). The compounds manifest only a slight relaxation effect on KCl pre-contracted aortal strips of rats (not until conc. of $1.0 \cdot 10^{-5}$ mol.l⁻¹). The compounds with propyl and butyl substitution appear more effective than the methyl and ethyl derivatives.

Key words: aryloxyaminopropanols – β -antiadrenergic – isolated atria – isolated aorta

Čes. slov. Farm., 2008; 57, 115–118

Má

Adresa pro korespondenci:

Mgr. Tomáš Goněc
Ústav chemických léčiv VFU FaF
Palackého 1–3, 612 42 Brno
e-mail: tgonec@vfu.cz

Úvod

Arteriální hypertenze je nejčastějším onemocněním kardiovaskulárního systému s 25% prevalencí v populaci dospělých. Neléčená hypertenze mnohonásobně zvyšuje riziko ischemické choroby srdeční, infarktu myokardu a zejména mozkové ischemie, onemocnění s nejvyšší mortalitou vůbec. Esenciální hypertenze je způsobena patologickým zvýšením tonu sympatické složky vegetativního nervového systému, a proto se k její terapii používají především látky antagonizující adrenergní receptory tohoto systému. Základní strukturou antagonizující β -adrenergní receptory je aryloxyaminopropanol, případně arylaminoethanol. Látky obsahující ve své struktuře substituovaný fenylpiperazin (urapidil, naftipidil) pak výrazně antagonizují α -adrenergní receptory. Klinicky využívané sloučeniny s kombinovaným účinkem na α i β adrenergní receptory jsou v současnosti labetalol, karvedilol a celiprolol¹⁻³⁾.

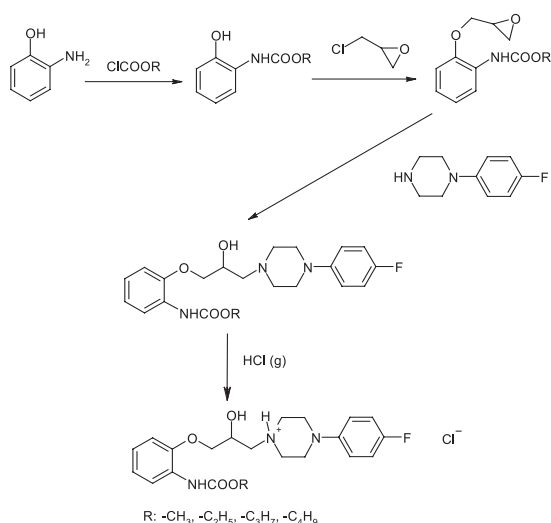
Snaha o nalezení látky s kombinovaným antihypertenzním účinkem vyústila v přípravu sérií látek ze skupiny jak arylaminoethanolu, tak aryloxyaminopropanolu, obsahujících ve své struktuře substituované fenylpiperaziny. 4-fluoro substituce fenylpiperazinu navíc vykazovala výrazné vazodilatační účinky (na rozdíl od 2-methoxy- substituce)⁴⁻⁶⁾. Cílem práce byla proto příprava čtyř dalších sloučenin s 4-fluorfenylpiperazinem v bazické části molekuly a alkylkarbamátovou skupinou v poloze 2 fenylového jádra a *in vitro* zhodnocení jejich β -antiadrenergní a vazodilatační aktivity.

POKUSNÁ ČÁST

Syntetická část

Rozpouštědla a chemikálie byly dodány od koncernu Sigma-Aldrich (GE) a firmy Lachner (CZ) a byly použity bez dalšího přečištění.

Látky UCHL 11-UCHL 14 byly připraveny třístupňovou syntézou (obr. 1). Alkylestery kyseliny 2-hydroxyfenylkarbamové byly připraveny reakcí 2-aminofenolu (0,2 mol) s odpovídajícími



Obr. 1. Schéma syntézy látek

alkylestery kyseliny chlormravenčí (0,1 mol) v prostředí diethyletheru. Alkylestery kyseliny 2-[(2,3-epoxy)-propoxy]-fenylkarbamové byly připraveny reakcí alkylesteru kyseliny 2-hydroxyfenylkarbamové (0,1 mol) s 1-chlor-2,3-epoxypropanem (0,3 mol) v zásaditém prostředí hydroxidu draselného. Metody byly již dříve popsány⁷⁾. Konečné látky byly připraveny reakcí příslušné epoxysloučeniny (0,01 mol) s 1-(4-fluorfenyl)-piperazinem (0,01 mol) v prostředí 2-propanolu. Směs byla zahřívána 6 hodin při teplotě varu rozpouštědla. Rozpouštědlo bylo vakuově oddestilováno, surový produkt rozpuštěn v diethyletheru a přidáním nasyceného etherického roztoku chlorovodíku byly získány amorfní sraženiny příslušných hydrochloridů, jež byly následně rekrystalizovány z ethanolu.

Teploty tání byly stanoveny na Kofflerově bloku po vysušení nad P₂O₅ za sníženého tlaku. Nejsou korigovány.

NMR spektra byla změřena na přístroji Varian Gemini 200 (¹H 200 MHz, ¹³C 50,3 MHz). Chemické posuny jsou uvedeny v ppm (δ) v poměru k tetramethylsilanu jako vnitřnímu standardu.

Infračervená spektra byla změřena na IČ spektrofotometru NICOLET Model Impact 410, v rozsahu vlnových délek 4000–400 cm⁻¹. Vzorky byly měřeny v pevné formě, připravené lisováním do tablety s KBr v koncentraci 1,0–1,5 mg látky na 400 mg KBr.

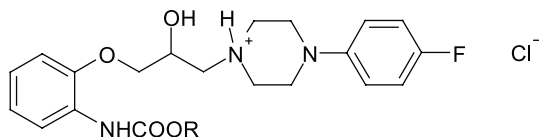
Biologická část

Antagonistický účinek nově syntetizovaných látek na pozitivně chronotropní efekt β -adrenergního agonisty isoprenalinu byl sledován na izolovaných, spontánně tepajících předsiních mořčat. Pravá předší srdce z mořčete byla napojena na izometrický snímač v Tyrodově roztoku (složení v mmol.l⁻¹: NaCl 137,0; KCl 2,7; NaHCO₃ 25,0; MgCl₂ 1,0; NaH₂PO₄ 0,42; CaCl₂ 1,9 a glukosa 11,0) při teplotě 30 °C pod stálým napětím 1 g a provzdušňována pneumoxidem (O₂ + 5% CO₂). Po 30 minutách stabilizace preparátu byl kumulativně přidáván isoprenalin ve formě hydrochloridu (Sigma-Aldrich, GE) v koncentracích 10⁻¹² až 10⁻⁶ mol.l⁻¹ a po každém přidání byly zaznamenány změny tepové frekvence. Po propláchnutí a ustálení preparátu byla do lázně podána testovaná látka v koncentraci 10⁻⁶ mol.l⁻¹ a po 20 min znovu kumulativně aplikován isoprenalin. Afinita k isoprenalinu byla vyjádřena jako jeho střední efektivní koncentrace (EC₅₀). Míra antagonistického působení testovaných látek byla vypočítána z posunu křivek závislosti účinku na koncentraci jako disociační konstanta pA₂⁸⁾. Relativní změny tepové frekvence předsiní byly hodnoceny vzhledem k počátečním hodnotám v pětiminutových intervalech po aplikaci testované látky. Pro porovnání účinku byl použit jako standard β -adrenergní antagonist a celiprolol ve formě hydrochloridu (Rhône-Poulenc Rorer, FR) v koncentraci 10⁻⁷ mol.l⁻¹.

Vazodilatační účinek nově syntetizovaných látek byl sledován na izolovaných a KCl prekontrahovaných aortách potkanů. Dospělí potkaní kmene Wistar o hmotnosti 240–300 g byli anestetizováni *i.p.* aplikací pentobarbitalu (50 mg.kg⁻¹) a následně byla izolována aorta. Nařezané kroužky (4 mm) byly upevněny k snímači pro izometrické měření v orgánové lázni naplněné Krebs-Henseleitovým roztokem (složení v mmol.l⁻¹: NaCl 118,0; KCl 4,7; NaHCO₃ 25,0; MgSO₄ 1,6; KH₂PO₄ 1,2; CaCl₂ 2,5 a glukosa 11,0) při teplotě 37 °C pod stálým napětím 1 g a provzdušňovány pneumoxidem. Po 2 hodinách stabilizace preparátu byl přidán vodný roztok KCl (50 mmol.l⁻¹), který navodil depolarizaci buněčné membrány doprovázenou otevřením pomalých napěťově řízených vápníkových kanálů a vniknutím Ca²⁺ do buňky. Po ustálení napětí preparátu byly kumulativně přidávány testované látky v koncentracích 10⁻⁷ až 10⁻⁵ mol.l⁻¹ a zaznamenány změny napětí aorty na lineárním zapisovači (Laboratorní přístroje, Praha). Při maximální relaxaci byl k preparátu aplikován roztok CaCl₂ o koncentraci 8.10⁻³ mol.l⁻¹ a zaznamenaná následovná kontrakce. Pro porovnání účinku byla použita vazodilatační působící prostřednictvím inhibice účinku Ca²⁺ v buňce hladkého svalstva, tj. verapa-

Tab. 1. Připravené látky a jejich charakteristika

| Pracovní název | R: | sumární vzorec | Mr | t.t. (°C) | výtěžek (%) |
|----------------|--------------------------------|--|--------|-----------|-------------|
| UCHL 11 | -CH ₃ | C ₂₁ H ₂₇ FCIN ₃ O ₄ | 439,96 | 189–193 | 79 |
| UCHL 12 | -C ₂ H ₅ | C ₂₂ H ₂₉ FCIN ₃ O ₄ | 453,99 | 189–195 | 76 |
| UCHL 13 | -C ₃ H ₇ | C ₂₃ H ₃₁ FCIN ₃ O ₄ | 468,02 | 155–159 | 70 |
| UCHL 14 | -C ₄ H ₉ | C ₂₄ H ₃₃ FCIN ₃ O ₄ | 482,05 | 165–169 | 68 |



Tab. 2. ¹H NMR charakteristika připravených látek

| ¹ H NMR (200 MHz, DMSO D ₆) δ(ppm): | |
|--|---|
| UCHL 11 | 3,08–3,52 (m; 6H; -CHOH-CH ₂ N, 2,6- piperazin); 3,52–3,80 (m; 7H; -COOCH ₃ , 3,5 piperazin); 3,82–4,04 (m; 2H; -OCH ₂ CHOH-); 4,42–4,60 (m; 1H; -CHOH-); 6,16 (s; 1H; -CHOH-); 6,85–7,20 (m; 7H; arom.H); 7,80 (d; 1H; J = 7,3 Hz; 6'arom.H Ar-NHCOOR); 8,73 (s; 1H; -NHCO-); 10,89 (s; 1H; NH ⁺) |
| UCHL 12 | 1,26 (t; 3H; J = 7,0 Hz; -CH ₂ CH ₃); 3,12–3,50 (m; 6H; -CHOH-CH ₂ N, 2,6- piperazin); 3,50–3,80 (m; 4H; 3,5 piperazin); 3,80–4,04 (m; 2H; -OCH ₂ CHOH-); 4,15 (q; 2H; J = 7,0 Hz; -CH ₂ CH ₃); 4,45–4,64 (m; 1H; -CHOH-); 6,16 (s; 1H; -CHOH-); 6,85–7,20 (m; 7H; arom.H); 7,82 (d; 1H; J = 7,3 Hz; 6'arom.H Ar-NHCOOR); 8,67 (s; 1H; -NHCO-); 10,91 (s; 1H; NH ⁺) |
| UCHL 13 | 0,92 (t; 3H; J = 7,3 Hz; -CH ₂ CH ₂ CH ₃); 1,55–1,75 (m; 2H; -CH ₂ CH ₂ CH ₃); 3,10–3,50 (m; 6H; -CHOH-CH ₂ N, 2,6- piperazin); 3,50–3,85 (m; 4H; 3,5 piperazin); 3,85–4,12 (m; 4H; -OCH ₂ CHOH-, -CH ₂ CH ₂ CH ₃); 4,45–4,61 (m; 1H; -CHOH-); 6,18 (s; 1H; -CHOH-); 6,85–7,20 (m; 7H; arom.H); 7,80 (d; 1H; J = 7,3 Hz; 6'arom.H Ar-NHCOOR); 8,68 (s; 1H; -NHCO-); 10,85 (s; 1H; NH ⁺) |
| UCHL 14 | 0,91 (t; 3H; J = 7,1 Hz; -CH ₂ CH ₂ CH ₂ CH ₃); 1,28–1,44 (m; 2H; -CH ₂ CH ₂ CH ₂ CH ₃); 1,53–1,70 (m; 2H; -CH ₂ CH ₂ CH ₂ CH ₃); 3,15–3,50 (m; 6H; -CHOH-CH ₂ N, 2,6- piperazin); 3,50–3,84 (m; 4H; 3,5 piperazin); 3,84–4,05 (m; 2H; -OCH ₂ CHOH-); 4,10 (t; 2H; J = 6,6 Hz; -CH ₂ CH ₂ CH ₂ CH ₃); 4,43–4,61 (m; 1H; -CHOH-); 6,18 (s; 1H; -CHOH-); 6,85–7,20 (m; 7H; arom.H); 7,81 (d; 1H; J = 7,3 Hz; 6'arom.H Ar-NHCOOR); 8,68 (s; 1H; -NHCO-); 10,90 (s; 1H; NH ⁺) |

Tab. 3. ¹³C NMR charakteristika připravených látek

| ¹³ C NMR (50,3 MHz, DMSO D ₆) δ (ppm): | |
|---|---|
| UCHL 11 | 158,82; 154,09; 154,03; 148,08; 146,39; 127,41; 123,50; 120,72; 120,49; 117,72; 117,57; 115,56; 115,12; 112,07; 70,76; 63,99; 57,84; 51,99; 51,61; 51,09; 45,81 |
| UCHL 12 | 158,79; 154,07; 153,57; 148,00; 146,39; 127,49; 123,36; 120,68; 120,39; 117,69; 117,54; 115,53; 115,09; 112,00; 70,77; 64,02; 60,21; 57,83; 51,97; 51,14; 45,83; 14,37 |
| UCHL 13 | 158,79; 154,09; 153,69; 148,03; 146,30; 127,44; 123,41; 120,68; 120,51; 117,69; 117,54; 115,53; 115,11; 112,03; 70,73; 65,78; 63,94; 57,81; 52,03; 51,09; 45,80; 21,76; 10,05 |
| UCHL 14 | 158,81; 154,10; 153,71; 148,03; 146,38; 127,47; 123,42; 120,69; 120,51; 117,70; 117,55; 115,56; 115,12; 112,04; 70,76; 64,01; 57,84; 52,03; 51,12; 45,78; 30,49; 18,42; 13,42 |

mil hydrochlorid (Sigma-Aldrich, GE) a flunarizin dihydrochlorid (VÚL, Modra, SR).

VÝSLEDKY A DISKUZE

Syntetická část

Byly připraveny čtyři nové látky, alkylestery kyseliny 2-{3-[4-(4-fluorfenyl)-piperazin-1-yl]-2-hydroxy-propoxy}-fenykarbamové lišící se navzájem délkou alifatického řetězce. Základní charakteristiku nově syntetizovaných látek uvádí tabulka 1. Struktura látek byla potvrzena ¹H NMR (tab. 2) a ¹³C NMR (tab. 3) spektroskopii.

V infračervené oblasti spektra látky vykazují charakteristické vibrační pásy (tab. 4).

Tab. 4. Absorpční pásy IČ spektra v (cm⁻¹)

| látka | N-H | C = O | HN-CO | C _{AR} -O | C _{ALIF} -O |
|---------|------|-------|-------|--------------------|----------------------|
| UCHL 11 | 3264 | 1722 | 1524 | 1234 | 1064 |
| UCHL 12 | 3270 | 1714 | 1525 | 1233 | 1063 |
| UCHL 13 | 3268 | 1709 | 1523 | 1236 | 1065 |
| UCHL 14 | 3275 | 1722 | 1523 | 1238 | 1071 |

Biologická část

Hodnoty EC₅₀, pA₂ a hodnoty relativních změn tepové frekvence uvádějí tabulky 5 a 6. Jak ukazují hodnoty pA₂, všechny testované látky vykazují β-antiadrenergní aktivitu, která je přibližně 16- až 57násobně nižší než aktivita celi-prololu, přičemž se mírně zvyšuje s velikostí alkyly karbamátu. Rozdíly mezi jednotlivými deriváty však nebyly statisticky významné. Podobnou aktivitu vykazují i strukturálně příbuzné látky hodnocené dříve^{5, 6}.

Tab. 5. Antiisoprenalinové působení testovaných látek. Hodnoty EC_{50} a pA_2 . Výsledky jsou průměrem ze 6 měření \pm S.E.M.

| Látka | koncentrace (mol.l ⁻¹) | EC_{50} kontroly (mol.l ⁻¹) | EC_{50} testované látky (mol.l ⁻¹) | pA_2 |
|------------|------------------------------------|---|--|-----------------|
| UCHL 11 | 1,0.10 ⁻⁶ | 6,46 \pm 3,05.10 ⁻¹⁰ | 1,87 \pm 1,05.10 ⁻⁹ | 6,28 \pm 0,31 |
| UCHL 12 | 1,0.10 ⁻⁶ | 6,07 \pm 1,88.10 ⁻¹⁰ | 3,22 \pm 1,87.10 ⁻⁹ | 6,61 \pm 0,15 |
| UCHL 13 | 1,0.10 ⁻⁶ | 4,58 \pm 2,51.10 ⁻¹⁰ | 3,45 \pm 1,30.10 ⁻⁹ | 6,81 \pm 0,24 |
| UCHL 14 | 1,0.10 ⁻⁶ | 2,40 \pm 1,04.10 ⁻⁹ | 1,62 \pm 0,46.10 ⁻⁸ | 6,76 \pm 0,08 |
| celiprolol | 1,0.10 ⁻⁷ | 1,14 \pm 0,49.10 ⁻⁹ | 1,35 \pm 0,39.10 ⁻⁸ | 8,03 \pm 0,20 |

Tab. 6. Hodnoty relativních změn tepové frekvence po aplikaci látek. Výsledky jsou průměrem ze 6 měření \pm S.E.M.

| Látka | koncentrace (mol.l ⁻¹) | tepová frekvence (%) | | | |
|------------|------------------------------------|----------------------|----------------|----------------|----------------|
| | | 5 min | 10 min | 15 min | 20 min |
| UCHL 11 | 1,0.10 ⁻⁶ | 103,4 \pm 3,6 | 99,4 \pm 3,6 | 96,4 \pm 3,4 | 92,4 \pm 3,9 |
| UCHL 12 | 1,0.10 ⁻⁶ | 100,2 \pm 1,8 | 93,8 \pm 3,2 | 92,7 \pm 3,7 | 90,0 \pm 2,1 |
| UCHL 13 | 1,0.10 ⁻⁶ | 93,2 \pm 2,1 | 88,4 \pm 2,2 | 91,6 \pm 5,2 | 88,2 \pm 1,8 |
| UCHL 14 | 1,0.10 ⁻⁶ | 102,2 \pm 5,2 | 96,4 \pm 4,6 | 91,1 \pm 4,4 | 86,4 \pm 3,9 |
| Celiprolol | 1,0.10 ⁻⁷ | 98,5 \pm 1,0 | 95,4 \pm 1,1 | 90,6 \pm 1,3 | 86,6 \pm 0,9 |

Tab. 7. Relaxační efekt testovaných látek na KCl depolarizované izolované aorty potkanů. Výsledky jsou průměrem ze 7 měření \pm S.E.M.

| koncentrace (mol.l ⁻¹) | Relaxace testovanou látkou (%) | | | kontrakce CaCl ₂ (%) |
|------------------------------------|--------------------------------|----------------------|----------------------|---------------------------------|
| | 1,0.10 ⁻⁷ | 1,0.10 ⁻⁶ | 1,0.10 ⁻⁵ | 8,0.10 ⁻³ |
| UCHL 11 | 1,2 \pm 1,2 | 4,1 \pm 2,9 | 31,1 \pm 6,9 | 47,3 \pm 10,8 |
| UCHL 12 | 1,2 \pm 1,2 | 2,5 \pm 2,5 | 61,7 \pm 7,2 | 79,0 \pm 14,4 |
| UCHL 13 | 1,5 \pm 1,0 | 5,0 \pm 2,9 | 85,3 \pm 10,5 | 63,1 \pm 12,6 |
| UCHL 14 | 1,7 \pm 1,2 | 5,6 \pm 4,1 | 87,7 \pm 8,1 | 54,5 \pm 14,3 |
| flunarizin | 20,7 \pm 4,3 | 38,9 \pm 4,9 | 74,3 \pm 9,9 | 61,6 \pm 10,2 |
| verapamil | 6,7 \pm 1,9 | 33,4 \pm 3,8 | 69,0 \pm 4,7 | 42,8 \pm 14,3 |

Všechny látky přidané k izolovanému myokardiálnímu preparátu v koncentraci 10⁻⁶ mol.l⁻¹ snižovaly tepovou frekvenci v průměru o 7,6–13,6 %. Tento pokles byl pozvolný, rozvíjející se v průběhu sledovaných 20 min. Intenzita negativní chronotropie se prohlubovala se zvětšujícím se substituentem od metylu po butyl. Účinek látek na TF je u látek s větším substituentem (UCHL 13 a 14) porovnatelný s celiprololem, který byl však podán v desetinásobně nižší koncentraci (10⁻⁷ mol.l⁻¹) (tab. 6).

Míru relaxace izolované aorty potkanů prekontrahované KCl uvádí tabulka 7. Všechny látky podávané kumulativně vykazovaly výraznou relaxaci až v koncentraci 10⁻⁵ mol.l⁻¹, na rozdíl od verapamilu a flunarizinu, u kterých se relaxace projevila už v 100násobně nižších koncentracích. Ve srovnání s 4-alkylkarbamátovým polohovým izomerem⁵⁾ se jeví 2-substituce fenyly jako méně výhodná a oproti benzofuranovým analogům⁶⁾ vykazují látky výrazně nižší vazodilatační efekt. Vzhledem ke skutečnosti, že po přidání roztoku CaCl₂ došlo opět ke kontrakci aorty, je pravděpodobné, že sledované látky působí přímo inhibičně na účinky Ca²⁺ v hladké svalovině aorty.

Ze získaných výsledků vyplývá, že látky s většími substituenty na jádře, tj. s propyl (UCHL 13) a butylkarbamátovou substitucí (UCHL 14), mají vyšší schopnost ovlivňovat základní kardiovaskulární funkce. Obě látky potvrdily schopnost specificky inhibovat pozitivně chronotropní

účinky izoprenalinu na srdci i působit vazodilatačně. Proto se v našich dalších experimentech budeme věnovat studiu jejich účinků v podmínkách *in vivo* u intaktních zvířat a sledovat jejich potenciální antihypertenzní aktivitu.

LITERATURA

1. **Fölsch, U. R., Kochisek, K., Schmidt, R. F.:** Patologická fyziologie. Praha, Grada Publishing, 2003, 138–143.
2. **Lülmann, H., Mohr, K., Wehling, M.:** Farmakologie a toxikologie. Praha, Grada Publishing, 2004, 97–121.
3. **Marek, J. et al.:** Farmakoterapie vnitřních nemocí. Praha, Grada Publishing, 2005, 87–110.
4. **Čelková, H., Csöllei, J., Čížmarík, J. et al.:** Čes. slov. Farm., 1996; 45, 255–259.
5. **Mlynárová, J., Čelková, H., Račanská, E.:** Čes. slov. Farm., 1996; 45, 260–264.
6. **Ráčanská, E., Kurfürst, P., Csöllei, J., Švec, P.:** Acta Facult. Pharm. Univ. Comenianae, 2004; 51, 182–191.
7. **Csöllei, J., Borovanský, A., Beneš, L. et al.:** Čes. slov. Farm., 1982; 31, 229–235.
8. **Van Rosum, J. N.:** Arch. Int. Pharmacol. Ther., 1963; 143, 299–330.