

МІНІСТЕРСТВО ОХОРОНИ ЗДОРОВ'Я УКРАЇНИ
ОДЕСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ

На правах рукопису

ТИМЧИШИН ОЛЕГ ЛЬВОВИЧ

УДК 615:547.419.5

ФАРМАКОЛОГІЧНА АКТИВНІСТЬ НОВОЇ
БІОЛОГІЧНО АКТИВНОЇ РЕЧОВИНИ –
КУПРУМ-ОКСІЕТИЛІДЕНДИФОСФОНАТОГЕРМАНАТУ

14.03.05 – фармакологія

Дисертація на здобуття наукового ступеня
кандидата медичних наук

Науковий керівник:
доктор медичних наук, професор
Годован Владлена Володимирівна

Одеса – 2015

ЗМІСТ

	стор.
Перелік умовних позначень, символів, одиниць, скорочень і термінів	5
ВСТУП	6
РОЗДІЛ 1. ДОЦІЛЬНІСТЬ СТВОРЕННЯ НОВИХ БІОЛОГІЧНО АКТИВНИХ РЕЧОВИН НА ОСНОВІ ОКСІЕТИЛІДЕНДИФОСФОНАТОГЕРМАНАТІВ (огляд літератури)	12
1.1. Комплексні сполуки як перспективний підхід у створенні лікарських засобів	12
1.2. Фармакологічні властивості дифосфонових кислоти та їх похідних	15
1.3. Фармакологія сполук германію	21
1.4. Біологічна роль купруму та перспективи використання його сполук у медицині	30
РОЗДІЛ 2. МАТЕРІАЛИ І МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ	39
2.1. Методика синтезу і вивчення фізико-хімічних властивостей нової БАР	39
2.2. Вивчення токсикологічних властивостей нової БАР	40
2.2.1. Гостра токсичність	40
2.2.2. Токсичність при повторних введеннях сполуки	41
2.3. Вивчення загальних фармакологічних властивостей БАР ...	43
2.3.1. Вплив БАР на поведінкові реакції тварин у тесті «відкрите поле»	43
2.3.2. Вплив медгерму на підвищену рухову активність тварин	44
2.3.3. Вплив медгерму на тривалість "тіопенталового сну"	44
2.3.4. Вплив БАР на серотонінергічну передачу	45
2.3.5 Вплив БАР на координацію рухів і м'язовий тонус	46
2.3.6. Вивчення знеболювальної та протизапальної активності БАР	46

2.4. Вивчення впливу БАР на морфофункціональний стан інтактних тварин	47
2.5. Вивчення гепатопротекторної активності БАР	48
2.6. Біохімічні методи дослідження	49
2.7. Біофізичні методи дослідження	52
2.8. Морфологічні методи дослідження	56
2.9. Статистичні методи дослідження	57
РОЗДІЛ 3. СИНТЕЗ, ФІЗИКО-ХІМІЧНА, ТОКСИКОЛОГІЧНА І ЗАГАЛЬНОФАРМАКОЛОГІЧНА ХАРАКТЕРИСТИКА НОВОГО ПОХІДНОГО ОКСІЕТИЛІДЕНДИФОСФОНАТО-ГЕРМАНАТІВ	58
3.1. Синтез і фізико-хімічні властивості нової БАР класу оксіетилідендифосфонатогерманатів	58
3.2. Вивчення токсикологічних властивостей медгерму	61
3.2.1. Гостра токсичність нової БАР	61
3.2.2. Токсичність при повторних введеннях БАР	69
3.3. Загальні фармакологічні властивості медгерму	71
3.3.1. Вплив медгерму на поведінкові реакції тварин у тесті «відкрите поле».....	71
3.3.2. Вплив медгерму на підвищену рухову активність тварин	75
3.3.3. Вплив введення медгерму на тривалість "тіопенталового сну"	79
3.3.4. Вплив медгерму на феномен «струшування голови»	80
3.3.5. Вплив медгерму на координацію рухів і м'язовий тонус тварин	81
3.3.6. Вивчення знеболювальної та протизапальної активності медгерму	81
РОЗДІЛ 4. ВПЛИВ МЕДГЕРМУ НА БІОХІМІЧНІ ПОКАЗНИКИ І МОРФОЛОГІЧНИЙ СТАН ІНТАКТНИХ ТВАРИН	85
4.1. Активність маркерних ферментів печінки інтактних тварин на фоні курсового введення медгерму	85

	4
4.2. Вплив медгерму на інтегральні біохімічні показники інтактних щурів	90
4.3. Вплив медгерму на показники обміну купруму інтактних тварин	94
4.4. Морфологічна характеристика паренхіматозних органів інтактних тварин при курсовому введенні медгерму	97
4.5. Лазерна кореляційна спектроскопія сироватки крові та гомогенату печінки інтактних щурів на фоні курсового введення медгерму	105
РОЗДІЛ 5. ЕФЕКТИВНІСТЬ МЕДГЕРМУ НА ФОНІ ГОСТРОГО ТОКСИЧНОГО ГЕПАТИТУ	113
5.1. Вплив медгерму на активність маркерних ферментів печінки на фоні галактозамінового гепатиту	113
5.2. Корекція медгермом інтегральних показників функції печінки при токсичному гепатиті	119
5.3. Вплив нової БАР на показники обміну купруму тварин при експериментальному гепатиті	125
5.4. Морфологічна картина печінки щурів при введенні медгерму на фоні галактозамінового гепатиту	129
5.5. Зміни ЛК-спектрів сироватки крові та гомогенату печінки тварин при галактозаміновому гепатиті та його корекції медгермом	138
5.6. Вплив медгерму на процесів ПОЛ і систему антиоксидантного захисту при гострому галактозаміновому гепатиту	142
РОЗДІЛ 6. АНАЛІЗ ТА УЗАГАЛЬНЕННЯ ОТРИМАНИХ РЕЗУЛЬТАТІВ	151
ВИСНОВКИ	173
СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ	176

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ, СИМВОЛІВ, ОДИНИЦЬ,
СКОРОЧЕНЬ І ТЕРМІНІВ

АлАТ – аланінамінотрансфераза

АОС – антиоксидантна система

АсАТ – аспартатамінотрансфераза

БАР – біологічно активна речовина

ДЗ – диференціально-значимі зони

ГГТ – γ -глутамілтрансфераза

ЛЗ – лікарський засіб

ЛФ – лужна фосфатаза

ОЕДФ – оксіетилідендифосфонова кислота

ПОЛ – перекисне окиснення ліпідів

СК – сироватка крові

СОД – супероксиддисмутаза

ТП – тканина печінки

ІЧ-спектр – інфрачервоний спектр

ЦНС – центральна нервова система

ВСТУП

Актуальність теми. Пошук нових високоефективних і безпечних біологічно активних речовин (БАР) та їх фармакологічне вивчення – важлива задача сучасної фармакології. Одним з перспективних підходів цього напрямку є створення БАР на основі комплексних сполук з біологічно активними лігандами. Це, по-перше, обумовлено тим, що організм людини є складно діючою поліметалевою і полілігандною системою [1-3]. По-друге, такий підхід дозволяє поєднувати в одній сполуці різні види активності і тим самим цілеспрямовано змінювати спектр фармакологічної дії, зменшувати токсичність БАР [4-6]. Особливий інтерес викликають сполуки біометалів з мікроелементами, оскільки ці складові приймають активну участь в багатьох регуляторних та адаптаційних процесах організму [7, 8].

Доцільність і перспективність такого підходу до створення нових лікарських засобів, зокрема, підтверджується дослідженнями в галузі фармакології комплексних сполук германію. Вони мають достатньо низьку токсичність і широкий спектр фармакологічних властивостей (нейротропні, антигіпоксичні, антиоксидантні, кардіо-, гепатопротекторні, протизапальні, антимікробні, противірусні та ін.) [9-15]. Тому цілеспрямованим синтезом була створена нова БАР в ряду координаційних сполук германію з оксіетилідендифосфонової кислоти (ОЕДФ) і есенціальним мікроелементом купрумом – купрум-оксіетилідендифосфонатогерманат (за робочою назвою медгерм). Вибір складових даної сполуки обумовлений наступним. ОЕДФ є унікальною кислотою, яка, з одного боку, пригнічує активність фосфоліпаз, ферментів, що гідролізують мембранні фосфоліпіди й ліпопротеїди, а з іншого, замінює ушкоджені структурні компоненти біологічних мембран, чим сприяє відновленню їх функцій і забезпеченню стійкості до шкідливих впливів [16-20]. Препарати на її основі використовуються як регулятори мінерального обміну, протипухлинні та противірусні засоби, антитокси при отруєнні токсичними і радіоактивними елементами тощо [21-24]. Купрум грає важливу роль у метаболічних процесах,

впливаючи на активність понад 30 ензимів, і міститься зазвичай в організмі у вигляді комплексних сполук з білками (церулоплазмін, гемокупреїн, плацентокупреїн, гепатокупреїн та ін.) [7, 25, 26]. Головний купрумвмісний білок плазми крові церулоплазмін виконує ряд важливих в організмі біологічних функцій: активує окиснення аскорбінової кислоти, біогенних амінів (норадреналіну, серотоніну) і сульфгідрильних сполук, інактивує активні форми кисню, запобігаючи перекисному окисненню ліпідів (ПОЛ), підвищує стабільність клітинних мембран, бере участь в імунологічних реакціях, іонному обміні [27-29]. Він стимулює гемопоез, здійснює взаємозв'язок між купрумом і ферумом, транспорт купруму до інших купрумвмісних білків, ферментів (цитохромоксидази, тирозинази, аскорбінази та ін.) тощо. Будучи кофактором супероксиддисмутази, купрум сприяє антиоксидантному захисту організму [8, 30, 31]. Він прискорює процеси окиснення глюкози, гальмування розпаду глікогену в печінці, підвищує активність інсуліну, бере участь в процесах тканинного дихання тощо. Купрум має велике значення для підтримки морфо-функціонального стану кістково-хрящової системи (колаген), кровоносних судин, легневих альвеол, шкіри (еластин); входить до складу мієлінових оболонок нервів [32-34]. Цей мікроелемент має виразну протизапальну активність, підвищує стійкість організму до деяких інфекцій [35-36]. Враховуючи вищевикладене, доцільним було б встановити фармакологічну активність медгерму, чому і присвячена ця робота.

Зв'язок роботи з науковими програмами, планами й темами. Дисертаційна робота є фрагментом комплексної науково-дослідної роботи кафедри загальної та клінічної фармакології Одеського національного медичного університету (ОНМедУ) МОЗ України за темою «Пошук і комплексне вивчення фармакологічного профілю нових біологічно активних речовин метаболічного походження і ксенобіотиків» (№ держреєстрації 0110U006658). Дисертант є співвиконавцем зазначеної теми.

Мета і задачі дослідження. Метою дослідження є оцінка токсикофармакологічного профілю нової біологічно активної речовини – купрум-

оксіетилідендифосфонатогерманату (медгерму), виявлення її специфічної активності та основних механізмів дії.

Для досягнення зазначеної мети пропонується вирішити такі *задачі*:

1. Оцінити токсикологічні властивості цілеспрямовано синтезованої сполуки купрум-оксіетилідендифосфонатогерманату.
2. Встановити загальнофармакологічний профіль медгерму.
3. За допомогою біохімічних і морфологічних методів визначити вплив нової БАР на морфофункціональний стан інтактних тварин.
4. Оцінити ефективність медгерму в динаміці розвитку гострого токсичного ураження печінки порівняно з референс-препаратом.
5. За допомогою лазерної кореляційної спектроскопії встановити біофізичні зміни складу сироватки крові і гомогенату тканини печінки під впливом медгерму у інтактних тварин і на фоні галактозамінового гепатиту.
6. Виявити основні механізми гепатозахисної дії медгерму.

Об'єкт дослідження: Пошук, створення і доклінічне вивчення нових вітчизняних високоефективних і безпечних лікарських препаратів.

Предмет дослідження: встановлення безпеки і фармакологічної активності нової оригінальної БАР – купрум-оксіетилідендифосфонатогерманату.

Методи дослідження: фармакологічні, токсикологічні, біохімічні, біофізичні, морфологічні, статистичні.

Наукова новизна одержаних результатів. Вперше у гострому експерименті на двох видах тварин встановлено, що нова комплексна сполука – купрум-оксіетилідендифосфонатогерманат (медгерм) належить до малотоксичних сполук при пероральному застосуванні і помірно токсичних при внутрішньоочеревинному і підшкірному введенні. За результатами вивчення підгострої, субхронічної і хронічної токсичності, кумулятивних, місцевоподразнювальних та антигенних властивостей також виявлена нешкідливість медгерму. Вперше встановлено його депримуєчий вплив на ЦНС, анксиолітична активність, відсутність гіпнотичної і міорелаксантаної дії, а також анагетичний, протизапальний ефекти, підсилення детоксикуєчої функції печінки. Вперше показано

вплив медгерму на моноаміноергічну центральну передачу, що виявлялось антагоністичною взаємодією з амфетаміном, синергізмом з 5-окситриптофаном.

Вперше виявлено, що курсове внутрішньоочеревинне введення медгерму інтактним тваринам не викликало суттєвих змін інтегральних біохімічних показників, активності маркерних ферментів печінки, вмісту купруму і церулоплазміну у сироватці крові та печінці, не призводило до грубих незворотних морфологічних порушень паренхіматозних органів. Усі вищевказані ефекти та зміни в організмі тварин під впливом БАР мали дозозалежний характер і, в основному, виявлялись в достатньо високих дозах ($1/40 > 1/80$ ЛД₅₀).

Вперше встановлено гепатозахисний ефект профілактично-лікувального введення медгерму ($1/160$ ЛД₅₀) при гострому галактозаміновому гепатиті. Це підтверджено 100 % виживаністю тварин, суттєвим зменшенням виразності змін вже на 1-у добу і у 2-5 разів швидшим відновленням у крові та тканині печінки активності ферментів цитолізу і холестази, інтегральних показників функціонального стану печінки, вмісту купруму і церулоплазміну, а також патоморфологічних проявів у печінці порівняно з нелікованим гепатитом. Гепатопротекторна дія медгерму реалізувалась переважно за рахунок активації ферментативної і неферментативної частин антиоксидантної системи, а також внаслідок пригнічення ПОЛ, зменшення вмісту загального холестерину в крові та печінці. Вперше запропоновано спосіб оцінки тяжкості перебігу гострого токсичного гепатиту за допомогою лазерної кореляційної спектроскопії гомогенату тканини печінки. Даним методом також підтверджена протекторна ефективність медгерму при галактозаміновому гепатиті, який перевищував дію референс-препарату в 1,5-2 рази.

Новизна досліджень підтверджена 2 патентами України на корисну модель.

Практичне значення одержаних результатів. Проведене дослідження дозволило отримати нові дані про фармакологічний профіль цілеспрямовано синтезованої комплексної сполуки в ряду оксіетилідендифосфонатогерманатів. Експериментальне обґрунтовано доцільність застосування медгерму як потен-

ційного високоефективного і безпечного гепатопротекторного лікарського засобу. Отримані цікаві дані про його загальнофармакологічний профіль представляють інтерес для подальшого поглибленого дослідження сполуки, а також сприятиме синтезу в цьому ряду нових БАР із заданою дією.

За отриманими даними оформлено 2 нововведення, які внесені у Реєстр галузевих нововведень 2013 року (випуск № 38-39). Результати роботи впроваджено у навчальній процес кафедри фармакології ДЗ «Луганський державний медичний університет», кафедри фармакології Національного фармацевтичного університету, кафедри фармакології, клінічної фармакології та фармакоеконіміки Дніпропетровської державної медичної академії, кафедри експериментальної та клінічної фармакології з клінічною імунологією та алергологією ВНДЗ «Українська медична стоматологічна академія», кафедр фармакології Вінницького національного медичного університету ім. М.І. Пирогова, кафедри фармакології з клінічною фармакологією Тернопільського державного медичного університету ім. І.Я. Горбачевського.

Особистий внесок здобувача. Автором особисто проведено патентно-інформаційний пошук за темою роботи, сформульовано мету і завдання дослідження, виконано експериментальне дослідження; проведена статистична обробка отриманих даних, які оформлено у вигляді таблиць та рисунків; проаналізовано та узагальнено результати досліджень; опубліковано та апробовано основні дані, а також написано та оформлено дисертацію та автореферат.

Апробація результатів дисертації. Основні положення дисертаційної роботи були оприлюднені на міжнародній науково-практичній конференції «Біофізичні стандарти та інформаційні технології в медицині» (Одеса, 2010), VII Національному з'їзді фармацевтів України «Фармація України. Погляд у майбутнє» (Харків, 2010), XIII Конгресі світової федерації Українських лікарських товариств «100 років Українському лікарському товариству» (Львів-Київ-Чікаго, 2010), XV ювілейній міжнародній науково-практичній конференції «Спортивна медицина, лікувальна фізкультура та валеологія – 2010» (Одеса, 2010), VI Всеукраїнській науково-практичній конференції з міжнародною уча-

стю, присвяченій 90-річчю від дня народження професора О. О. Столярчука «Клінічна та експериментальна фармакологія метаболічних коректорів, органопротекція, доказова медицина» (Вінниця, 2010), науково-практичній конференції «Актуальні питання професійної патології» (Одеса, 2011), XI з'їзді Всеукраїнського лікарського товариства «100 років українському лікарському товариству» (Харків, 2011), XXX Всеукраїнській науково-практичній конференції з міжнародною участю «Ліки – людині. Сучасні проблеми фармакотерапії і призначення лікарських засобів» (Харків, 2013), XII з'їзді Всеукраїнського лікарського товариства (Київ, 2013), науково-практичній конференції з міжнародною участю «Актуальні питання біології екології, медицини та фармакології» (Харків, 2013), науково-практичній конференції «Клінічна фармакологія та фармакотерапія захворювань в світлі доказової медицини» (Вінниця, 2013).

Публікації. За матеріалами дисертації опубліковано 19 наукових робіт, з них – 6 статей у профільних періодичних виданнях (5 – у журналах, рекомендованих МОН України, в тому числі 1 – у індексованому, який внесений до міжнародних наукометричних баз, 1 – у зарубіжному наукометричному журналі), 2 патенти України на корисну модель і 11 тез доповідей на міжнародних конференціях, з'їздах та конгресах.

Структура та обсяг дисертації. Дисертація викладено на 212 сторінках комп'ютерного тексту, яка складається з вступу, огляду літератури, матеріалів і методів дослідження, 3-х розділів власних досліджень, аналізу та узагальнення результатів, висновків і списку використаної літератури. Робота ілюстрована 31 таблицею і 50 рисунками. Бібліографічний покажчик включає 344 джерела, з них 179 – кирилицею.

РОЗДІЛ 1

ДОЦІЛЬНІСТЬ СТВОРЕННЯ НОВИХ БІОЛОГІЧНО АКТИВНИХ РЕЧОВИН
НА ОСНОВІ ОКСІЕТИЛІДЕНДИФОСФОНАТОГЕРМАНАТІВ

(огляд літератури)

1.1. Комплексні сполуки як перспективний підхід у створенні
лікарських засобів

Комплексо́ни – це широке коло органічних сполук, здатних утворювати комплекси з катіонами металів і поєднуючих в молекулі основні і кислотні центри, причому розташування донорних атомів у цих сполуках зумовлює замикання з металом 5-, 4-, 6-, а іноді й 8-членних циклів [37]. Комплексо́ни належать до полідентатних лігандів. Їх часто називають хелантами, а комплекси металів з ними – хелатами (від грецького слова "δακίνα"), або комплексона́тами. Застосування комплексонів у медицині почалося з 1950 р. і обмежувалося зв'язуванням і видаленням з організму інкорпорованих металів у випадках хронічного або гострого отруєння.

До найважливіших властивостей комплексонатів металів належать стійкість у водних розчинах, кінетика встановлення рівноваг з їх участю, відношення до термодеструкції і біодегенерації, розчинність і т. п. [37]. Ці властивості залежать від великої кількості найрізноманітніших факторів, серед яких визначальними є склад утворюваної комплексної сполуки, природа катіона і хелату. В основі процесу комплексоутворення лежить так званий «хелатний ефект». Цей термін був запропонований 1952 р. Г. Шварценбахом для означення виграшу енергії Гібса і, відповідно, підвищеної стійкості комплексних сполук при приєднанні до іона металу бідентатного ліганду порівнянно з приєднанням до нього двох монодентатних лігандів з тими ж донорними атомами [38].

Успіхи хімії координаційних сполук відкривають широкі перспективи для пошуку і створення нових, досконаліших лікарських засобів (ЛЗ).

Прикладом такого пошуку є розробка лікарських і діагностичних засобів на основі органічних комплексоутворюючих сполук, серед яких важливе місце належить комплексонам [39]. Вивчення доступної нам літератури щодо застосування комплексонів у медицині свідчить, що цей клас сполук знаходить все більш широке використання завдяки вибірковій здатності зв'язувати катіони металів в комплекси високої міцності і малої токсичності [40].

Відомо, що в організмі людини і тварин містяться елементи всієї таблиці Д. І. Менделєєва [7, 41]. Сумарна кількість кожного з елементів може бути різною, тому розрізняють так звані макро- і мікроелементи.

Мікроелементи відрізняються один від одного за своїми фізико-хімічними властивостями і біологічною дією. Функції біомінералів в організмі є різними і залежать від безлічі чинників: концентрації в біологічних субстратах, властивостей власне біосубстрату, взаємодії між собою та з іншими біологічно активними речовинами в організмі [42, 43].

Серед всіх відомих в організмі мікроелементів (кальцій, фосфор, калій, хлор, натрій, цинк, манган, молібден, йод, сульфур, ферум) купрум і кобальт відносять до життєво необхідних (есенціальних), при «абсолютному дефіциті» яких настає смерть [44, 45]. Фтор, силіцій, титан, ванадій, хром, нікель, меркурій, бром, стронцій і кадмій відносять до умовно-есенціальних мікроелементів.

Відомо, що есенціальні мікроелементи виконують важливі функції регуляції активності метаболічних систем і геномного апарату клітини. Так, багато з них беруть участь у різноманітних біохімічних процесах як кофактори, або як складові частини коферментів [45]. Наприклад, у роботі ферментів першого класу - оксидоредуктаз - важливу роль відіграють такі мікроелементи, як ферум, купрум, магній, цинк та багато інших.

Мікроелементи беруть участь у регуляції функціональної активності системи кровотворення [43], системи імунного захисту [46, 47], травлення [48], нервової та ендокринної регуляції [49], системи структурної організації твердих [50] і м'яких тканини, органів, клітин, клітинних мембран, системи детоксикації [51, 52], молекулярних механізмів адаптації та ін. [45, 53].

Гомеостаз мікроелементів виступає як приватна форма загальної гомеостатичної системи організму, порушення якої відбиваються на здатності організму до адаптації в екстремальних умовах.

В організмі мікроелементи та метали беруть участь у процесах комплексоутворення з багатьма компонентами, зокрема, амінокислотами і білками [54]. Так, кобальт не тільки посилює синтез вітаміну В₁₂, але й сприяє засвоєнню вітамінів А, Е, С. Купрум каталізує окиснення аскорбінової кислоти, а марганець і, особливо, цинк сприяють її депонуванню в тканинах. Здатність активізуватися під дією металів властива більш ніж 200 ферментам. Відмічено участь іонів металів у процесах кровотворення, поділу клітин, а також у регенерації пошкоджених органів і тканин [55]. Багато із захворювань тісно пов'язані з формою хімічного стану металу та зі зміною його концентрації в організмі. Так, при хворобі Ходжкіна вміст купруму в сироватці крові збільшується в 5 разів порівняно з концентрацією в здоровому організмі, при лейкемії у декілька разів знижується концентрація цезію, при анемії порушується рівноважний стан феруму і купруму. Виявлено підвищення вмісту цинку, феруму, кобальту в ДНК і РНК при саркомі М-1 і карциносаркомі Уокер [56].

Комплексоутворюючі сполуки відкривають можливість регулювати концентрацію металів у різних органах, повертати їх до необхідної організму форми, транспортувати ЛЗ до осередків хвороби, підвищувати їхню біологічну дію і видаляти з організму, усувати токсичну або канцерогенну дію [57]. В основі дії ЛЗ, до складу яких входять комплекси, лежать складні, але регульовані процеси комплексоутворення з біолігандами і металами організму. При цьому як іонам металів, так і їхнім комплексам повертаються колишні природні функції, властиві їм у здоровому організмі [1, 58].

Таким чином, важливим завданням спрямованого синтезу ЛЗ із заданою специфічною активністю є визначення кореляційних залежностей в послідовності: склад – будова – специфічна біологічна активність [58, 59]. Найбільш важливими чинниками, які роблять істотний внесок у специфічну

активність біокомплексів, є природа біометалів і біолігандів, тип комплексів, їхні кінетичні і термодинамічні властивості, геометрична ізометрія комплексів, фактори фізіологічного синергізму й антагонізму біометалів і біолігандів [58-60]. Численні дослідження хімії дифосфонатів, їхньої біохімії і фармакології підтверджують вищевикладене [61, 62].

1.2. Фармакологічні властивості дифосфонових кислоти та їх похідних

Пошук ЛЗ, які мають високі комплексоутворюючі властивості і стійкі до руйнування в біологічних системах, привів до створення комплексонів, що містять фосфонові групи [63-65].

На відміну від класичних комплексонів аліфатичного ряду, в ОЕДФ карбоксильні групи замінені на фосфонові шляхом цілеспрямованої модифікації молекул. Оригінальність фрагмента $\text{CH}_2\text{PO}_3\text{H}$ полягає в його своєрідній стереохімії, відмінній від стереохімії карбоксильної групи: фосфонат-іон має форму спотвореного тетраедра з віссю симетрії третього порядку, а карбоксилат-іон, як відомо, – плоску конфігурацію [66, 67]. Кислотний залишок PO_3^{2-} має більшу за COO^- електровід'ємність і потенційно більшу дентатність. Крім того, фосфоновій групі властива більша різноманітність протонованих форм: PO_3^{2-} , PO_3H^- , PO_3H^2 . В цілому, наявність фосфонові групи приводить до підвищення стійкості нормальних комплексонатів з різними металами і обумовлює існування цілком стійких протонованих комплексонатів. Для етилімінодиметиленфосфонові і нітрілтриметиленфосфонові (НТФ) кислот описані стійкі комплексонати MnL , а у разі НТФ – навіть $\text{Mn}_2\text{L Mn}_3\text{L}$ [37].

Дифосфорова кислота, а також її різні алкільні похідні викликають істотну зацікавленість, завдяки яскраво виразній специфічності їх взаємодії з рядом важливих у практичному відношенні катіонів. Найважливішим представником гем-замісних дифосфонових кислот є 1-гідроксietиліден-

дифосфонова, або етидренова кислота (H_4Oedph), яка набула, завдяки великій специфічності дії, широкого застосування [67-69].

ОЕДФ являє собою комплексон, який сьогодні найбільш вивчений як в Україні, так і за кордоном. Молекула ОЕДФ (H_3L), на відміну від ряду інших лігандів, дуже компактна. При одному атомі вуглецю містяться дві сильноокислі фосфонові групи і високоосновний гідроксил. Фосфонові групи практично накладаються одна на одну, ланцюжок O-P-C-P-O має характерну W-подібну, близьку до площинної, структуру [65, 70, 71].

Вивчення комплексоутворюючих властивостей ОЕДФ показало, що поєднання в молекулі фосфонових груп, здатних до комплексоутворення в сильноокислому середовищі, і гідроксильної групи, яка має порівняно високу основність, обумовлює можливість створення міцних протонуваних комплексів з лужноземельними, перехідними і рідкоземельними елементами [65, 70]. Це дозволяє розширити спектр рН комплексів від кислого до лужного [65, 70]. Особливо висока міцність повністю депротонуваних комплексів ОЕДФ з іонами Fe, Al, Th, Ge, для яких, разом з високою координаційною ємністю, на перший план виступає схильність до утворення координаційних зв'язків з киснем гідроксилу. Молекула ОЕДФ потенційно п'ятидентатна, проте, через стеричні утруднення в більшості випадків координаційний зв'язок з іоном металу утворюють лише три донорних атоми кислоти. Решта донорних атомів можуть координаційно зв'язуватися з другим іоном металу тієї ж або іншої природи, з утворенням стійких полігомо- і гетероядерних комплексів як з лужноземельними, так і з перехідними металами [72]. Характер молекулярної конформації дифосфонових кислот відіграє важливу роль в їх біологічній активності [16, 66, 69]. У разі взаємодії з катіонами з великим координаційним числом (Al, Zr, Fe, Th, Ge та ін.) ОЕДФ не здатна «наситити» координаційну ємність іона-комплексоутворювача. Залишені координаційні місця катіонів можуть насичуватися за рахунок іншої молекули кислоти, утворюючи комплекси складу метал:ліганд = 1:2, а за наявності в системі іншого ліганду – змішані комплекси. Ця здатність до змішаного комплексоутворення, що

властива й іншим комплексонам, великою мірою визначає їхню біологічну активність [16, 65, 66, 69].

До теперішнього часу вивчено безліч дифосфонатів (або біфосфонатів). Усі дифосфонати характеризуються наявністю дифосфонової структури і бічного ланцюга, що визначає особливості механізму дії, спектр лікувальних і побічних ефектів. Усі дифосфонати стійкі до ензиматичного гідролізу, мають високу спорідненість до іонів металів, утворюючи як розчинні, так і нерозчинні хелатні комплекси й агрегати залежно від рН розчину [17, 66, 69, 73].

Перші дифосфонати увійшли до клінічної практики близько 30 років тому. Як лікарські препарати на основі дифосфонатів застосовуються ди-, трьохнатрієві, натрій-калієві солі ОЕДФ, які не містять атома азоту (1 покоління): етидронат (ксидифон, Didronel, Diphos, Ostopog та ін.), клодронат (бонефосф, остак, літос та ін.); які містять 1 атом азоту (2 покоління): памідронат (Аminоmax, Agedia, ADP), аледронат (фозамакс, марвіл), ібандронат (Bondronate); гетероциклічний ризедронат або тилудронат (Scelid), а також гетероциклічна похідна, яка містить 2 атоми азоту з імідазольним кільцем в бічному ланцюжку (3 покоління): золендронова кислота (Zoledronate, Opaldronate) [66, 74-76]. Продовжується розробка нових лікарських препаратів і лікарських форм.

Дифосфонати в організмі не метаболізуються; всмоктування їх в кишечнику людини і тварин рідко перевищує 10 % уведеної дози [77-79].

Препарати дифосфонатів малотоксичні [18]. Так, результати токсикологічних досліджень етидронату показали, що він не чинить токсичної дії протягом 181 дня дозою, яка в 5-10 разів перевищує лікувальну дозу [80]. В експерименті на мишах встановлено, що препарат малотоксичний: ЛД₅₀ складає 1,5 г/кг маси тіла, а терапевтична доза – 0,045-0,050 г/кг [81].

У клінічному аспекті ЛЗ на основі ОЕДФ можуть бути класифіковані у такий спосіб.

Регулятори мінерального обміну. Етидронат виявився першим синтетичним аналогом природних пірофосфатів, який був ефективним при

порушеннях обміну кальцію в організмі. Показання до його призначення вже стали класичними при хворобі Педжета, прогресуючому осифікуючому міозиті, остеопорозах, особливо постменопаузних [61, 82, 83].

Дифосфонати запобігають патологічній кальцифікації м'яких тканин, внаслідок чого успішно застосовуються при гетерогенній осифікації (м'язи, тканини мозку, нирки, надниркові залози та ін.) [83, 84-86].

Встановлено антикальцифікуючу активність дифосфонатів з гемінальними фосфоновими групами, що пояснюється, зокрема, особливістю їх комплексоутворення з Ca^{2+} і здатністю інгібувати кристалоутворення фосфатів і оксалатів кальцію [73, 87]. Навіть мінімальні кількості дифосфонатів інгібують осадження цих солей з розчину і ріст їхніх кристалів [83,88]. У зв'язку з тим, що важливу роль у генезі ниркових каменів відіграє порушення кальцієвого обміну, здатність інгібувати кристалізацію фосфатів і оксалатів кальцію Ca^{2+} -хелатуючими агентами *in vitro* зумовило особливий інтерес до дифосфонатів як фармакотерапевтичних засобів для профілактики і лікування сечокам'яної хвороби, уролітіазу [65, 89].

Безперечний інтерес викликають дослідження можливості використання фосфорорганічних комплексонів для терапії хвороб опорно-рухового апарату, регуляції порушень кальцій-фосфатного обміну в стоматології, в умовах гіпокінезії і невагомості, при старінні [21, 56, 90]. У мінімальних дозах дифосфонати збільшують включення Ca^{2+} в кісткову тканину, запобігають патологічному виходу його з кісток [91]. Дифосфонова група забезпечує активне зв'язування дифосфонатів з кістковим матриксом. Проникаючи у кісткову тканину, вони концентруються навколо остеокластів, створюють високу концентрацію в лакунах резорбції, тим самим надзвичайно активно підвищують стійкість кістки до руйнування, пригнічують періодонтальну остеодистрофію, резорбцію кістки, запобігають остеопорозу, включаючи ниркову остеодистрофію, деструкцію пересадженої кістки [92-95]. Обгунтована можливість використання ОЕДФ для профілактики і корекції патологічних порушень при професійних захворюваннях, зокрема при

вібраційній хворобі [96-98]. На підставі одержаних результатів можна зробити висновок про перспективність застосування похідних ОЕДФ для запобігання порушенням метаболізму кальцію і демінералізації кісткової тканини.

Необхідно зазначити, що дифосфонати мають ряд переваг перед існуючими регуляторами кальцій-фосфорного обміну: доступність, можливість тривалого перорального прийому в амбулаторних умовах, відсутність жорсткого впливу на процеси кісткоутворення (не порушують обмін в кістках і процесів мінералізації, не спричиняють остеомаліцію), мають протизапальну активність [18, 99], не призводять до апоптозу епітеліальних клітин [100].

Протипухлинні препарати. З урахуванням того, що процеси канцерогенезу тісно пов'язані з обміном кальцію, дифосфонати сьогодні широко застосовуються для лікування злоякісних захворювань [22-24]. Похідні ОЕДФ є перспективними для лікування гіперкальціємії та інгібування резорбції кістки при пухлинних процесах у кістковій тканині [62, 101,102]. Хоча механізм протипухлинної дії дифосфонатів остаточно не встановлений, завершені дослідження підтверджують гіпотезу, що дифосфонати інгібують резорбцію кістки, в першу чергу, за допомогою селективної дії на остеокласти [17]. Дифосфонати також інгібують лізис кісток, який виникає при пухлинному рості [61, 103]. Відзначається і висока ефективність дифосфонатів для профілактики метастазів [104, 105]. Регулюючи проникність мембран, дифосфонати сприяють транспорту протипухлинних ліків у клітини і використовуються в комплексній терапії різних онкологічних захворювань, що сприяє підвищенню ефективності лікування [101, 103, 106].

Мембраностабілізатори. Включаючись у структуру мембран клітин, дифосфонати забезпечують їх стійкість до токсичних, імунних та інших шкідливих дій [107]. Етидронат активно проникає в мембранні фосфоліпиди і, певно, може так само, як і природні монофосфати, впливати на стабільність клітинних мембран, запобігаючи руйнуванню мембранних фосфоліпідів [16]. Одним із свідчень про мембраностабілізуючу роль дифосфонатів є їх здатність інгібувати фосфоліпази – ферменти, які гідролізують мембранні фосфоліпиди і

ліпопротеїди [108]. Під впливом етидронату в комплексі з вітаміном Е нормалізується фосфоліпідний склад клітинних мембран [109]. Встановлено також, що етидронат захищає зовнішню клітинну мембрану еритроцитів і Т-лімфоцитів від імунного пошкодження, зв'язуючи Ca^{2+} . Цей факт може мати важливе значення для розуміння механізмів розвитку і лікування ряду захворювань, за яких провідною патогенетичною ланкою є порушення цілісності зовнішньої клітинної мембрани [110].

Антидоти при отруєнні токсичними і радіоактивними елементами. Ролі хелатуючих агентів при лікуванні отруєння металами (Be, Pu, Po, Pb, Hg, Mn та ін.) присвячено велику кількість публікацій, зокрема огляди і монографії [65, 70, 111]. Доведено, що дифосфонові кислоти різко знижують кількість ^7Be в м'яких тканинах і скелеті (в останньому до 30 % порівняно з контролем – без уведення комплексу). Показано також, що утворення різнолігандних комплексів на основі оксиетилідендифосфонатів можна використовувати і для виведення з організму токсичних органічних речовин, зокрема пестицидів, які містять функціональні угруповання з донорними атомами, здатними до взаємодії з металом до або після метаболічної активації [112]. Рекомендують дифосфонати як фармакотерапевтичний засіб при раніше практично невиліковному отруєнні етиленгліколем [113, 114]. Висловлюються припущення про можливість застосування хелатів на основі ОЕДФ для переносу органічних хіміотерапевтичних препаратів до уражених органів або для видалення їх надмірних кількостей [115].

Інші галузі застосування в медицині. У дифосфонатів визначено протівірусну активність [116]. У літературі описано антимуутагенну активність дифосфонатів [16]. Дифосфонати широко використовуються для лікування ревматоїдних захворювань [61]. Експериментально встановлено антиаритмічний і антиатеросклеротичний ефекти ОЕДФ [117]. Останніми роками достатньо широко досліджується імуностимулююча дія дифосфонатів. Встановлено, що калієва сіль ОЕДФ захищає Т-лімфоцити від імунного пошкодження, спричиненого антилімфоцитарною сироваткою і комплементом,

що, можливо, обумовлене зв'язуванням іонів Ca^{2+} [61, 65]. Одержані дані про наявність у деяких похідних ОЕДФ антисеротонінових властивостей і про можливість купірування спазму гладеньких м'язів [118].

Таким чином, проведений аналіз дозволяє дійти висновку, що фосфорорганічні комплекси, і в першу чергу ОЕДФ, є малотоксичними сполуками, мають високу і багатогранну біологічну активність та вважаються, безсумнівно, перспективними для створення високоефективних ЛЗ.

1.3. Фармакологія сполук германію

Германій є одним із природних метаболітів, на основі якого створюють комплексні сполуки, яким притаманні широкий спектр фармакологічних ефектів – від нейротропної дії до органотропної, включаючи, в тому числі, панкреато- та гепатотропні ефекти. Германій - перехідний метал між металами і неметалами і використовується в різних галузях електронної промисловості, а саме, в електронній промисловості, детекторах радіоактивності й оптичних приладах. Його було відкрито у 1886 році [119-121].

Германій – це сірувато-біла крихка речовина ($t_{\text{пл}} = 959,2 \text{ }^\circ\text{C}$, $t_{\text{кип}} > 2850 \text{ }^\circ\text{C}$), його щільність дорівнює $5,35 \text{ г/см}^3$ [122]. Германій є розсіяним хімічним елементом, який існує, в основному, у вигляді домішок до інших мінералів [123]. Основна маса земного германію розсіяна в мінералах інших елементів, у вугіллі, природних водах, ґрунті і живих організмах в зв'язаному стані і ніколи – у вільному.

Припущення про те, що германій належить до елементів, важливих для перебігу життєвих процесів, з'явилося, оскільки у періодичній системі він розташований серед елементів з високою біологічною активністю. Германій є мікроелементом, що доводить важливість вивчення його значення для впливу на метаболізм живої природи [124-126].

Германій входить до складу багатьох морських організмів і рослин, у тому числі й водоростей [127]. Крім того, відомо, що відносно багаті на

германій різні цілющі трави - соєві боби, часник, чай, алое, женьшень та інші [128, 129]. Тому правильним було припущення, що існує певний зв'язок між вмістом германію у рослинах та їх корисними фармакодинамічними ефектами [130, 131]. Нині синтезовано органічні сполуки германію – сесквіоксани з піримідиновим фрагментом [132]. Ці сполуки є близькими за структурою до природної сполуки германію, яка міститься в біомасі коріння женьшеню [123, 132]. Крім того, активно розробляються шляхи синтезу нових біологічно активних координаційних сполук германію [9, 133-137].

В організмі атом германію взаємодіє із зарядженими іонами, знижуючи їх електричний потенціал. При цьому відбувається не лише зменшення токсичності металу, але й посилення біоефекту всіх складових комплексної сполуки – як біоліганду, так і металу. Показано, що такі сполуки за силою ефектів можуть перевершувати вихідні компоненти, не проявляючи побічних реакцій та токсичної дії у широкому діапазоні добових доз – від 50 до 3000 мг [138]. Враховуючи те, що германій подібно до інших мінералів, може існувати в чисельних формах, які обумовлюють його біологічні ефекти та безпечність для людини, виявлено його вельми широкий спектр дії [125, 139].

Створення лікарських препаратів на основі сполук органічного германію було ініційовано, в першу чергу, за різкими змінами у харчових пріоритетах в різних країнах, а також численними дослідженнями біологічних властивостей цих сполук. Однак тільки наприкінці минулого сторіччя у Японії був створений перший препарат із вмістом органічного германію «Ge-132», який використовується для корекції імунного статусу [125, 140], а створення першого російського препарату «Гермавіт» стало можливим тільки 2000-го року [75].

Поряд з корисними властивостями германію вчених цікавили і токсикологічні характеристики як неорганічних, так і органічних його форм. Основним поштовхом для розгляду германію та його сполук, як екологічно несприятливого чинника і найважливішої ланки біогеоценозів стало те, що у ХХ столітті стався значний розвиток германійорганічної хімії і широке застосування цього металу у промисловій індустрії [141, 142].

Проте відомо, що германію притаманні також токсичні ефекти, які за вираженістю перевершували його корисну дію. Токсична дія германію та його оксидів на клітини пов'язана з вивільненням цитохрому С, зниженням мембранного потенціалу мітохондрій, транслокацією ділянки гена *Bax* з одночасним зниженням експресії *Bcl-2* [143]. Тривале (понад 24 тижнів) системне використання оксиду германію в експериментальних дослідженнях на тваринах призводить до сенсоріоневральної втрати слуху, спричиненої мітохондріальною дисфункцією [144, 145].

Схожі дані спочатку були отримані низкою авторів і для деяких органічних сполук германію, однак вони мають більш суперечливий характер [146, 147]. Це обумовлено більшою мірою тим, що на той час технології очищення, виділення і визначення біоорганічних сполук германію були невідосконаленими, тому можлива контамінація з неорганічними сполуками германію часто не враховувалася, що призводило до надмірних токсичних ефектів.

Відомо, що у переважній своїй більшості надмірні токсичні ефекти германію вражають нирки, м'язову і нервову тканини, включаючи інтоксикацію германієм з летальним насидком [148, 149]. Германій-індукована токсичність у літературі пов'язана з його неорганічними сполуками, або йдеться про те, що їх наявність не виключається [150, 151].

Отже, при плануванні синтезу нових комплексних сполук з германієм в їх основі не можна повністю ігнорувати токсичні ефекти органічних і комплексних сполук германію, особливо у разі їхнього тривалого застосування, а також в залежності від доз, які використовувалися [152-154]. На сьогодні сучасні високоточні методологічні підходи для спектрофотометричного визначення слідів різних сполук германію, які дозволяють визначати мінімальні кількості германію у харчових продуктах, а також у різних зразках тканин і рідин з більшою точністю і за коротші терміни [155], порівняно з технологіями, які раніше застосовувалися [156, 157].

Багатобічні комплексні експериментальні дослідження дозволили встановити досить широкі та різноспрямовані властивості германій-вмісних

комплексних сполук, серед яких слід відокремити нейротропну, анальгезуючу, детоксикаційну, гіпотензивну, фунгіцидну, бактерицидну, протівірусну, антималярійну, антирадіаційну, імуномодулюючу, протипухлинну та ін. [125, 158, 159]. Доведено, що подібна різнобічна спрямованість біологічних ефектів германію може бути обумовлена наявністю атомів кисню всередині сполуки, які внаслідок взаємодії з позитивно зарядженими радикалами водню, утворення яких відбувається за умов багатьох патологічних процесів, відщеплюють їх від органічних сполук тканин і клітин при дегідратації, спричиняючи таким чином протективну дію [59]. Подібним логічним поясненням можливо обґрунтувати терапевтичний ефект германію, наприклад, при онкологічних захворюваннях, оскільки присутність германію в клітинах при канцерогенезі спричиняє токсичний вплив на них, бо германій діє як «кисневий каталізатор», а самі онкологічно змінені клітини не в змозі застосовувати кисень для внутрішньоклітинного метаболізму [60].

У продовження цього відзначимо, що комплексні сполуки германію впливають на імунну відповідь як імуномодулятори [161, 162], можуть знижувати мутагенність і генотоксичність різних факторів і речовин [163, 164]; мають значну протівірусну [158, 165], антимікробну і протипухлинну активності [166-168], антиоксидантні [169-172], антигіпоксичні [173-176] і гепатопротекторні властивості [169, 170, 177-180], виразний гіпотензивний та кардіопротекторний [125, 181, 182], протизапальний та анальгезуючий ефекти [183-185], впливають на ЦНС [11, 186-193], мають значну протисудомну дію [194-201], стимулюють гемопоєз і запобігають утворенню і відкладенню амілоїдних білків [202, 203].

Сполуки германію мають бактерицидний ефект, а з іншого боку, виявлено численні випадки поглинання і накопичення гідратованого діоксиду германію мікроорганізмами, водоростями і грибами. Так, для дезінфекції питної води, наприклад, запропоновано застосовувати композицію яка містить 0,001-15,0 % металевого германію. За наявності германію і активованого вугілля при інтенсивній аерації в результаті електрообробки питна вода

набуває фунгіцидних, гербіцидних та інсектицидних властивостей. Підвищення стійкості їжі та олії для зберігання досягається шляхом аналогічної обробки, однак без аерації [204]. Водночас діоксид германію не тільки нетоксичний відносно деяких грибів і бактерій, а вони здатні до його накопичення [131]. Тому деякі дослідники запропонували це використовувати для одержання різних біоактивних препаратів та застосовувати їх з медичною метою. Досить цікавим є факти про те, що деякі сполуки германію мають антибактеріальну і фунгіцидну активність [205].

Привітає увагу, те що сполуки германію інгібують поглинання кисню тільки тими бактеріями, які не мають цитохромів. З цього впливає, що сполуки германію інгібують якусь стадію окислювального фосфорилування зв'язану з НАД-Н₂-оксидазою в молочнокислих бактеріях, а не з цитохромами [206]. Крім того, спірогерманій розглядається як антималярійний засіб принципово нової структури [207]. Важливо відмітити, що деякі водорості, вирощені в середовищі, яке містить органічні сполуки германію, мають протигрибкову активність і можуть використовуватись у лікувальному харчуванні. Біомасу, або екстракти рослин, з підвищеним вмістом германію використовують для приготування препаратів, які мають тонізуючу і терапевтичну дію при різних захворювань, що супроводжуються астеничним синдромом.

Фармакологічно активні сполуки германію розділені за хімічною будовою на декілька класів — полімери сесквіоксанового типу, герматрани, спірогерманій, органілгермани та ін. В даний час намітилися перспективні шляхи синтезу органічних і комплексних сполук германію з корисними біологічними властивостями.

Деякі сполуки германію мають противірусні властивості. У дослідях на тваринах і в клініці виявлено противірусні ефекти відносно вірусів грипу типів А і В [208, 209], цитомегаловірусу [210], *vaccinia* [211], ДНК- і РНК-вірусів, вірусів гепатитів А, В, ні А, ні В [212] та ін. При застосуванні германійвмістних сполук виявлено збільшення виживаності тварин, інгібування розмноження вірусу в тканині, підвищення синтезу антитіл [213].

Сполуки германію успішно застосовувалися при лікуванні різних форм СНІДу [125, 129, 149, 214].

Деякі сполуки германію виявилися ефективними при застосуванні їх при артеріальній гіпертензії [125, 215]. Вони ефективно знижують не тільки систолічний, але й діастолічний артеріальний кров'яний тиск. У ряді досліджень переконливо відзначається кардіопротекторна дія сполук германію за гострої ішемії [216, 217]. При стенокардії спостерігався позитивний ефект при лікуванні сполуками германію.

Значна кількість сполук германію запатентовані і застосовуються як протизапальні і як засоби для профілактики інфекційно-запальних захворювань [129, 218]. Встановлено, що германій чинить стимулюючу дію на проліферативно-репаративну функцію сполучної тканини та епітелізацію. Крім того, застосування сполук германію позитивно впливає на лікування катаракти [219], остеопорозу, артритів [125, 220]. Спірогерманій нормалізує рівень прозапального інтерлейкіну-1, виявляє протизапальну дію при хронічних процесах [221], а також відновлює активність Т-супресорів [221, 222].

Органічні сполуки германію, не зважаючи на різноманіття виявлених ефектів, вирізняються більш вираженими позитивними фармакодинамічними ефектами та значно більш низькою токсичністю, ніж неорганічні похідні [129, 223].

При вивченні впливу германійвмістних сполук на активність ЦНС встановлено, що їм притаманні значна нейротропна активність депримуючої дії. В основі таких центральних ефектів лежать процеси інгібування катехоламінергічної і активації серотонінергічної систем [224]. Відомі дані про ефективність похідних германію при лікуванні хворих на різні форми епілепсії, шизофренії. Крім того, вони мають знеболювальну дію. Деяким сполукам германію притаманні ноотропні й адаптогенні властивості. На різних моделях гіпоксії показаний виразний антигіпоксичний ефект [125, 225].

Експериментальні роботи на еритроцитах кролів і мікросомах печінки виявили виразну антиоксидантну активність сполук германію, що є подібною

до токоферолу [214]. Крім того, германій має детоксикаційні властивості при отруєнні важкими металами [125, 129].

В основі механізму антиоксидантної дії германійвмісних сполук лежить значне гальмування мелітин-викликаного вивільнення арахідонової кислоти, гістаміну й утворення простагландину E, що супроводжується виразним альмуванням утворення пероксидів та їхнього внутрішньоклітинного вмісту [185].

Співробітниками кафедри загальної та клінічної фармакології Одеського національного медичного університету тривалий час досліджується фармакокінетика та фармакодинаміка комплексних германійвмісних сполук, які синтезовані на кафедрі загальної хімії та полімерів Одеського національного університету ім. І. І. Мечникова під керівництвом професора І. Й. Сейфулліної. Було встановлено, що досліджувані сполуки МІГУ-1 (германій з нікотиною кислотою), МІГУ-2 (германій з нікотинамідом), а також МІГУ-3 (германій з бурштиною кислотою) спричиняють нейропротективну активність за умов різних екстремальних кисневодефіцитних станів – різні типи гіпоксії, закрита черепно-мозкова травма, гостра церебральна ішемія, закрита черепно-мозкова травма, гострий та хронічний судомний синдром, синдром тривалого роздавлювання, гостра інтоксикація динітрофенолами, токсичний лікарський гепатит, кардіодистрофія та ін. [161, 174, 177, 180, 226, 227]. За експериментальних умов доведена наявність протизапальної, анальгезуючої, кардіовазотропної та детоксуючої активності у цих комплексних сполук [184, 228].

Встановлено також, що для інших сполук - МІГУ-4 (германій з нікотиною кислотою), МІГУ-5 (германій з нікотинамідом) та МІГУ-6 (германій з магнієм) – характерними є протизапальні та гепатопротекторні ефекти.

Враховуючи дані літератури про біологічну дію як самого германію, так і біолігандів, був показаний позитивний вплив МІГУ-1, 2, 3 на метаболічні процеси, виявлена їхня мембранопротекторна дія [229, 230], що узгоджується з даними інших авторів [231]. Результати досліджень вкладаються у відомі уявлення про вплив самого германію і біолігандів на функцію печінки [75, 232-235].

Цілий ряд експериментальних та клінічних робіт присвячено впливу сполук германію на патологію шлунково-кишкової системи. Доведено, що ці сполуки мають позитивний терапевтичний ефект при лікуванні виразки шлунка, гепатитів, цирозу печінки, жирової дистрофії печінки, а також при цукровому діабеті [129, 212, 236-238].

Підтвердженням нешкідливості БАР було вивчення морфології печінки [19]. Вивчення порівняльної ефективності МІГУ-1, 2, 3 і широко застосовуваного препарату есенціале [239-243] показало значно більшу активність синтезованих БАР. При цьому найбільш виразну гепатопротекторну дію мав МІГУ-1 [19].

Вище вказували про вивчення ефективності МІГУ-1 в умовах гіпоксичної гіпоксії з гіперкапнією [244]. Було показано, що дана сполука, перш за все, реалізує свою протекторну активність за рахунок запобігання формуванню поширеної мембранопатії шляхом регуляції прооксидантно-антиоксидантної рівноваги, внаслідок чого знижується кисневий попит клітин і відбувається споживання кисню в енергопродукуючих реакціях фосфорилуючого окиснення. Разом з цим, БАР коригує вміст основних компонентів мітохондріального і мікросомального ланцюгів гепатоцитів, стабілізуючи процеси тканинного дихання і детоксикації. Не менш важливу роль в ефекті антигіпоксії МІГУ-1 відіграє його здатність зберігати рівень АТФ, зокрема шляхом модифікації активності ферментів енергетичного обміну.

У сполуки германію з нікотинамідом (МІГУ-2) встановлено захисну дію при токсичному медикаментозному гепатиті у щурів, який спровокований протитуберкульозними препаратами [179, 245]. Скринінговими дослідженнями також доведено, що МІГУ-2 може використовуватися як антидот при пероральному отруєнні динітроортокрезолом.

У комплексної сполуки германію з магнієм (МІГУ-6) виявлено детоксикуючу активність в умовах синдрому тривалого розчавлювання [246].

Отже, дані комплексні сполуки германію з різними біолігандами мають виразну фармакодинамічну дію і можуть розглядатися як потенційні ЛЗ.

Таким чином, наведені дані літератури свідчать про те, що перевагою класу германій-вмісних органічних сполук, разом з їх широким спектром фармакологічної дії, є незначна токсичність та низька виразність побічних ефектів, що створює перспективи синтезу та пошуку нових речовин на основі германію та всебічне дослідження їх ефектів. А використання таких препаратів у раціональній політерапії неврологічних та психічних захворювань, зокрема, епілепсії, паркінсонічному синдромі та ін., ймовірно, дозволить досягти ефективніших терапевтичних результатів при відносно більш низьких дозуваннях синтетичних протиепілептичних препаратах і, відповідно, меншій виразності побічних ефектів.

Проте, за таких сприяливих модельних та експериментальних даних клітинні і молекулярні механізми германійвмісних сполук залишаються до кінця не з'ясованими. Недостатньо даних у літературі стосовно фармакокінетики германію та його сполук, часто вони є суперечливими [129, 247]. Це пов'язано з кількома причинами, але передусім з різною хімічною структурою, фізико-хімічними властивостями численних представників германійвмісних сполук, що, без сумніву, впливає на їхні фармакокінетичні параметри. Але і на підставі наявних досліджень можна відзначити дані стосовно його повільної абсорбції: при пероральному введенні всмоктування германію відбувається в шлунку, тонкому кишечнику, а максимальна концентрація в крові досягається протягом 1 року [248].

Після одноразового перорального введення сполук германію він неоднорідно розподіляється в органах і системах [130]. При внутрішньовенному (в/в) введенні сполук германію відбувається їхнє швидке проникнення з крові в тканини [249, 250]. При цьому не виявлено якого-небудь органа, в якому концентрація речовини була б значно вищою, ніж в інших; довше германій затримується в печінці і шлунково-кишковому тракті [247].

Показано, що неорганічні сполуки германію швидко всмоктуються і розподіляються в тканинах і рідинах організму після перорального застосування з переважним скупченням у нирках, периферичних нервах і

щитоподібній залозі, а екскреція германію здійснюється переважно з сечею [251, 252].

Результати досліджень фармакокінетичних параметрів комплексних сполук МГУ-1-6 виявили, що дані сполуки належать до речовин, які швидко всмоктуються [253, 254]. Через 15 хв германій виявлявся в усіх органах і тканинах. Ці БАР мають виразні ліпофільні властивості, добре проникають крізь клітинні мембрани і гематоенцефалічний бар'єр, швидко розподіляються в органах і тканинах. Проте, відомі дані стосовно фармакокінетики МГУ-1-6 не дозволяють виявити загальних закономірностей «поведінки» нових БАР в організмі і потребують додаткового вивчення.

Резюмуючи, зазначимо, що дані, викладені вище, мають інтерес стосовно подальших досліджень у наступних моментах. По-перше, безсумнівно, що германій і його сполуки мають унікальні фармакокінетичні і фармакодинамічні властивості. По-друге, германію та германійвмісним сполукам, які вже були раніше досліджені, притаманним є широкий спектр нейротропних ефектів, що робить комплексні сполуки, які утворені на базі германію, перспективними з точки зору виявлення в них нейропротекторних ефектів та відповідного їх застосування в медичній практиці. По-третє, з точки зору фармакології важливим є досягнення нових протекторних ефектів, ймовірно, з боку внутрішніх органів при синтезі нових германій вмісних сполук, зважаючи на виявлені раніше мембраностабілізуючі ефекти та ті, які спричиняють стабілізацію внутрішньоклітинного гомеостазу.

1.4. Біологічна роль купруму та перспективи використання його сполук у медицині

У попередніх підрозділах вказували, що саме мікроелементи або мінеральні речовини мають бути обов'язковими елементами разом з вітамінами, що забезпечують нормальний перебіг процесів життєдіяльності

людини. Серед величезної кількості хімічних елементів особливе значення у функціонуванні організму має мікроелемент купрум.

Купрум - елемент I групи періодичної системи з атомним номером 29. Купрум це ковкий і пластичний метал червонуватого кольору, з високою електро- і теплопровідністю. Купрум стійкий до дії повітря і води. Природним джерелом купруму є мінерали борніт, халькопірит, малахіт, також зустрічається і самородний купрум [7, 27, 41, 255-258].

Купрум - є одним з найважливіших незамінних елементів, необхідних для живих організмів [7, 27, 256, 258]. У рослинах купрум бере активну участь у процесах фотосинтезу, дихання, відновлення та фіксації азоту. В даний час основною проблемою вважається нестача купруму в ґрунтах або її дисбаланс з кобальтом. Основні ознаки дефіциту купруму для рослин - уповільнення, а потім і припинення формування репродуктивних органів.

Біологічній ролі купруму для організму людини в наші дні надається більше значення, ніж вважалося раніше [27, 259, 260]. Купрум є життєво важливим елементом, який входить до складу багатьох вітамінів, гормонів, ферментів, дихальних пігментів, бере участь у процесах обміну речовин, у тканинному диханні і т. д. [7, 27]. Купрум має велике значення для підтримки нормальної структури кісток, хрящів, сухожилів (колаген), еластичності стінок кровоносних судин, легеневих альвеол, шкіри (еластин), входить до складу мієлінових оболонок нервів [7, 26, 261, 262].

Купрум - інтегральний компонент ферментів так званого дихального ланцюга, безпосередньо залучених до засвоєння молекулярного кисню [263, 264]. Купрум необхідний для підтримки активності таких ферментів, як цитохром С-оксидаза («клітинне дихання»), супероксиддисмутаза (антиоксидантний захист), металоредуктаза STEAR (відновлення прооксидантно-тривалентного феруму до двовалентного) і білок гефестин (взаємоперетворення дво- і тривалентного феруму) [263,264]. В експерименті дефіцит купруму безпосередньо призводив до розвитку ферум-дефіцитної анемії внаслідок порушення абсорбції феруму [265].

Відомо, що цитохром С-оксидаза (за активність якого відповідають гени $MTCO_1$ і $MTCO_2$) – купрумзалежний компонент дихального ланцюга - каталізує відновлення молекулярного кисню до води [263, 264]. Упродовж цього процесу перенесення електронів і протонів сприяє синтезу аденозинтрифосфатної кислоти в мітохондріях. При цьому електрони переносяться саме через гем і атом купруму, які є кофакторами цитохрому С-оксидази. Зменшення активності цитохрому С-оксидази (внаслідок генетичних дефектів або глибокого дефіциту феруму і купруму) спричиняє розвиток ідіопатичної сідеробластичної анемії і міоглобінурії [266].

Встановлено, що купрум і цинк супероксиддисмутази (активність яких кодують гени SOD_1 і SOD_2) – це є ферменти антиоксидантного захисту організму [263, 264, 267]. Деградуючи, пероксидний та надпероксидний аніони разом із супероксиддисмутазою поряд з каталазою забезпечують захист організму від високореактивних форм кисню. Активність супероксиддисмутази також знаходиться в опосередкованій залежності від вмісту купруму в організмі та – найголовніше – від активності купрум-вмісних регуляційних систем в організмі, що впливає також на гемоліз, анемію і клітинний гомеостаз феруму.

Показано також, що металоредуктази типу STEAP необхідні для ефектвної абсорбції феруму за допомогою трансферину [25]. Вони відновлюють токсичний тривалентний ферум до двовалентного феруму і регулюють таким чином поглинання феруму і купруму клітинами-попередниками еритроцитів. Недолік активності металоредуктази STEAP4 збільшує рівні прозапальних цитокінів в організмі та пов'язаний з підвищенням ризику розвитку запально-дегенеративних захворювань суглобів.

С цими результатами узгоджуються відомі дані стосовно виражених протизапальних властивостей купруму, пригніченням під його впливом клінічного перебігу автоімунних захворювань (наприклад, ревматоїдного артриту) [26].

Показано, що купрум необхідний для регулювання процесів постачання клітин киснем, утворення гемоглобіну і "дозрівання" еритроцитів [268, 268]. Він також сприяє більш повній утилізації організмом білків, вуглеводів та під-

вищенню активності інсуліну. Купрум не тільки бере участь у процесі засвоєння кисню і багатьох ферментативних реакціях, але і збільшує швидкість кровообігу при інтенсивному фізичному навантаженні [7, 27].

Купрум тісно пов'язаний з обміном феруму [26, 269, 270, 271]. Він є есенціальним синергістом феруму в організмі, що необхідний для підтримки гомеостазу останнього, його фізіологічного розподілу в тканинах і здійснення біологічних впливів [272-274]. Він бере участь у дозріванні і стимуляції ретикулоцитів та інших гемопоетичних клітин шляхом активації цитохромоксидази. Купрум сприяє стійкості клітинних мембран і мобілізації феруму, його транспорту з тканини в кістковий мозок. Купрум вважається основним активатором гемоглобіну. При дефіциті купруму порушуються еритро- і гранулоцитопоез, що призводить до розвитку гіпохромної анемії та нейтропенії.

Вивчення двох купрумвмісних білків, церулоплазміну і гефестину дало змогу виділити молекулярні ланки спільні для метаболізму купруму та феруму [275]. На сьогодні відомо, що з ентероциту ферум переноситься у кров за допомогою мембранного переносника (транспортера) – феропортину, який може транспортувати ферум тільки в окисленому вигляді. Це окиснення двовалентного феруму в тривалентний ферум здійснюється купрумзалежною фероксидазою – гефестином – в ентероцитах кишечника. Якщо через дефіцит купруму гефестин інактивується, то ферум не окислюється, не переноситься і може накопичуватися в ентероцитах. Якщо в умовах нестачі купруму ферум не може ефективно всмоктуватися, то не створюються запаси феруму в депо і знижується рівень феруму в сироватці [276].

У ході дослідження, у якому аналізували вміст окремих мікроелементів залежно від стану обміну феруму, у 94 дітей віком 7-16 років в м. Києві, було виявлено, що у дітей з латентним дефіцитом феруму та ферумдефіцитною анемією вміст купруму у волоссі має тенденцію до зниження порівняно з дітьми без порушення обміну феруму [277, 278]. Зниження кількості купруму в організмі спостерігалось у 42,1-82,4 % дітей із сидеропенією. Такі дані необхідно враховувати для розробки лікувальних заходів для дітей з анеміями.

В організм людини купрум надходить в основному з їжею [7, 27]. У шлунково-кишковому тракті абсорбується до 95 % купруму, який надійшов в організм (причому в шлунку його максимальна кількість), потім у дванадцятипалій кишці, тонкій і клубовій кишці. Найкраще організмом засвоюється двовалентний купрум. У крові купрум зв'язується з сироватковим альбуміном (12-17 %), амінокислотами - гістидином, треоніном, глютаміном (10-15 %), транспортним білком транскупріном (12-14 %) і церулоплазміном (до 60-65 %).

Купрум здатен проникати в усі клітини, тканини і органи [7, 27]. Максимальна концентрація купруму відличена в печінці, нирках, мозку, крові, однак купрум можна виявити і в інших органах і тканинах.

Провідну роль у метаболізмі купруму відіграє печінка, оскільки тут синтезується білок церулоплазмін, що має ферментативну активність і бере участь у регуляції гомеостазу даного мікроелементу [7, 27, 279, 280]. До того ж церулоплазмін бере участь в окисленні двовалентного феруму в тривалентний, адже тільки в цій формі ферум доступний організму.

Відомо, що у гепатоцитах купрум зв'язується з металотіонеїном [7, 27, 28, 281]. порушення регуляції біосинтезу металотіонеїну, що призводить до посилення його синтезу і, як наслідок, до накопичення купруму в клітинах печінки, відбувається, насамперед, при деяких генетичних захворюваннях, а також під дією токсичних речовин, що викликають депресію тіонеїнових генів. До появи надлишку купруму призводять також порушення видільної функції лізосом, які виводять комплекс купрум-тіонеїн з плазми. Слід відзначити, що затримка виділення купруму з клітини призводить до індукції біосинтезу металотіонеїну, утворюючи замкнуте коло. Зв'язаний з металотіонеїном купрум у гепатоцитах включається в Cu-вмісні ферменти, зокрема, церулоплазмін [263, 282, 283].

Церулоплазмін, що виконує в організмі функції фероксидази, аміноксидази і частково супероксиддисмутази, відіграє роль реактанта гострої фази запального процесу, захищає ліпідні мембрани від перекисного окиснення, функціонує і як транспортний білок, який переносить купрум на тканинні фермен-

ти, насамперед на цитохромоксидазу [284-290]. Встановлено, що саме церулоплазмін містить близько 75 % купруму плазми.

Крім того показано, що купрум включається також в компоненти жовчі [7, 27]. У жовчних протоках купрум спочатку перебуває в складі низькомолекулярних сполук – комплексів із амінокислотами, а в процесі подальшого руху жовчними протоками утворюються сполуки з високомолекулярними білками або кон'югатами білірубіну, які не доступні зворотному всмоктуванню. Таким чином, близько 30 % добового надходження купруму засвоюється, а решта купруму в шлунково-кишковому тракті перетворюється на нерозчинні сполуки, що виводяться з калом. Із загальної кількості резорбованого купруму близько 80 % виводиться з жовчю і близько 16% – стінками шлунково-кишкового тракту. Із сечею виділяється близько 4 % купруму. Незначна кількість цього елемента виділяється з потом [29].

Всмоктування купруму з шлунково-кишкового тракту підлягає конкурентному інгібуванню іншими металами, зокрема цинком [7, 27]. Наявність харчових білків і амінокислот, фруктози, аскорбінової кислоти, харчових волокон також може впливати на всмоктування купруму з шлунково-кишкового тракту.

Вміст купруму в плазмі регулюється нейрогуморальними механізмами [7, 27, 291]. У людини відмічається підвищення рівня цього мікроелемента в крові при гіпертиреозі, а зниження – при гіпофункції щитоподібної залози. Більше подразнення, стресові ситуації та інфекційні захворювання, впливаючи на нейрогуморальну систему, викликають підвищення в крові вмісту купруму та церулоплазміну [292, 293].

Пацієнти, які отримують парентеральне харчування, потребують приблизно в 0,3 мг купруму щодня додатково [7, 27]. Потреба збільшується на 0,4-0,5 мг при виражених шлунково-кишкових втратах. Вживання повинне бути зменшене у пацієнтів з холестазом і порушенням екскреції жовчі.

Поріг токсичності купруму для людини дорівнює 200-250 мг/добу [7, 27]. Гостре отруєння купрумом спостерігалось при випадковому вживанні дітьми, спробах самогубства, після зовнішнього застосування, при використанні питної

води із забруднених джерел або споживанні їжі або напоїв, які зберігалися в мідних контейнерах [7, 27]. Симптоми - епігастральний біль, нудота, блювота і діарея. Важкі прояви включають: кому, олігурію, некроз печінки, судинний колапс і смерть. Хронічне отруєння купрумом спостерігалось у робітників виноградників, що використовують сполуки купруму в якості пестицидів.

Про інтенсивність обміну купруму в організмі людини можна судити за допомогою визначення рівня церулоплазміну в сироватці крові, а також за активності купрумвмісних ферментів [7, 27, 263, 264]. Рівні купруму та церулоплазміну в сироватці підвищуються протягом вагітності зазвичай в 2 рази при запальних станах, інфекційних захворюваннях, гематологічних хворобах, діабеті, коронарних і серцево-судинних розладах, уремії і злоякісних захворюваннях. Куріння і деякі ліки також збільшують концентрацію купруму в сироватці [7, 27]. Церулоплазмін - реагент гострої фази і його підвищення, ймовірно, відповідальний за збільшення купруму в сироватці за вищезазначених умов [7, 27].

Причинами дефіциту купруму є недостатнє надходження купруму, тривалий прийом кортикостероїдів, нестероїдних протизапальних препаратів, антибіотиків, антацидів і дуже високих доз цинку, при повному парентеральному харчуванні, мальабсорбції та ін. [7, 27]. Дефіцит вмісту купруму в організмі людини проявляється в гальмуванні всмоктування феруму, порушенні гемоглобіноутворення, пригніченні кровотворення, розвитку мікроцитарної гіпохромної анемії, лейкопенії і нейтропенії. Крім того, погіршується діяльність серцево-судинної системи, збільшується ризик розвитку ішемічної хвороби серця, аневризм стінок кровоносних судин. При дефіциті купруму погіршується стан кісткової і сполучної тканини, порушується мінералізація кісток, розвиваються остеопороз, пригнічується функція імунної системи, розвивається дегенерація мієлінових оболонок нервових клітин, збільшується ризик розвитку розсіяного склерозу, порушується пігментація волосся, формуються гіпотиреоз, затримка статевого розвитку у дівчаток, порушення менструальної функції, безпліддя [7, 27].

Підсумовуючи, зазначимо, що купрум впливає на активність понад 30 ензимів, відповідальних за окиснення і клітинне дихання, стимулює вироблення жіночих статевих гормонів та тироксину, бере участь у синтезі нейромедіаторів (катехоламінів), меланіну і мієліну, важливий для нормальної структури сполучної тканини (хряща, зв'язок). Цей метал містять аскорбіноксидаза, бутирил-коензим-А-дегідратаза, каталаза, тирозиназа, уриказа, дегідратаза мурашиної кислоти і багато інших ферментів.

Основні фізіологічні функції купруму пов'язані з його включенням до складу ферментів цитохромоксидази, супероксиддисмутази, моноамінооксидази (каталізує окисне дезамінування катехоламінів і серотоніну), лізілоксидази (бере участь в утворенні поперечних зшивок у молекулах колагену і еластину), тирозинази (каталізує перетворення амінокислоти тирозину в дегідроксифенілаланін, а потім у пігмент меланін) [263, 264, 271].

Маючи два валентних стани, купрум дає можливість Cu-вмісним білкам охопити широкий діапазон окисно-відновного потенціалу, а також зворотно зв'язувати кисень та оксид вуглецю [28, 260, 263, 264, 271]. Купрум є складовою білка гемоціаніну, який переносить молекулярний кисень. Цей метал підвищує активність інсуліну і тироксину, впливає на біосинтез кератину і фосфоліпідів [260, 263, 264, 271].

Дефіцит купруму в організмі викликає порушення обміну катехоламінів: знижується вміст дофаміну та норадреналіну в головному мозку, що пов'язано з пригніченням ферментів тирозинази і дофамін- β -моноксигенази, які беруть участь у синтезі адреналіну [294, 295]. Купрум необхідний для утворення ненасичених жирних кислот та синтезу простагландинів.

Таким чином, купрум впливає на перебіг більшості регуляторних та адаптаційних процесів в організмі. У зв'язку з цим, його включення до складу нової координаційної сполуки разом із ОЕДФ і германієм, ймовірно, спричинить появу нових видів активності.

Отже, наведені вище дані літературних джерел про унікальні біологічні властивості ОЕДФ та двох есенціальних мікроелементів (германію і купруму) свідчать загалом про перспективність та доцільність проведення низки експериментальних досліджень, присвячених оцінці токсико-фармакологічного профілю нової біологічно активної речовини – купрум-оксіетилідендифосфонатогерманату.

РОЗДІЛ 2

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ

Експериментальні дослідження проводили на 526 щурах-самцях лінії Вістар масою 180-220 г, 317 нелінійних мишах-самцях масою 18-20 г, 12 кролях породи Шиншила та 12 мурчаках гладенькошерстної породи, які утримувалися на стандартному водно-харчовому раціоні при доступі до води та їжі *ad libitum*. Вони були розведені у експериментально-біологічній клініці ОНМедУ МОЗ України. Досліди проводилися згідно вимогам *good laboratory practice (GLP)*, методичних рекомендацій Державного експертного центру МОЗ України [296], загальних принципів Європейської конвенції по захисту хребетних тварин, що використовуються для дослідницьких та інших наукових цілей, ухвалених І національним конгресом з біоетики (Київ, 2001), а також висновків комісії з біоетики ОНМедУ (протокол № 68 від 24 жовтня 2014 р.).

2.1. Методика синтезу і вивчення фізико-хімічних властивостей нової БАР

Цілеспрямований синтез оксіетилідендифосфонатогерманату купруму (II) під робочою назвою «медгерм» здійснювали за методикою, розробленою на кафедрі загальної хімії і полімерів Одеського національного університету ім. І.І. Мечникова МОН України під керівництвом з.д.н.т. України, д.хім.н., проф. І.Й. Сейфулліної [297]. Методика синтезу наведена у підрозділі 3.1. Індивідуальність та кристалічну природу одержаного комплексу доводили рентгенофазовим аналізом, який був проведений на дифрактометрі ДРОН-0,5 на мідному антикатоді з нікелевим фільтром. Вміст германію, купруму і фосфору визначено методом атомно-імісійної спектроскопії з індуктивно зв'язаною плазмою на приладі фірми "Perkin Elmer" "Optima 2000 DV". Вміст карбону і гідрогену визначено з використанням напівавтоматичного C, N, H-аналізатору [298]. Термогравіметричні криві (ДТА, ДТГ, ТГ) було записано на дериватографі Q-

1500Д в атмосфері повітря. Нагрівання зразків (масою ~ 150 мг) проведено зі швидкістю 5 град/хв в інтервалі температур 20-500 °С. Еталон – прожарений оксид алюмінію. ІЧ-спектри поглинання (400-4000 см⁻¹) зразків вихідної комплексної кислоти та різнометальних комплексів, пресованих з KBr, були записані на спектрометрі «Specord IR-75».

2.2. Вивчення токсикологічних властивостей нової БАР

2.2.1. Гостра токсичність

Вивчення гострої токсичності медгерму проведено на 153 нелінійних мишах-самцях масою 18-20 г та на 153 щурах лінії Вістар масою 180-220 г обох статей за загальноприйнятими методами [296], яким вводився водний розчин медгерму такими шляхами: внутрішньоочеревинний (в/о), підшкірний (п/ш) та пероральний (п/о). Як розчинник для БАР використовувалася дистильована вода.

Експеримент проводився у два етапи. На 1-му етапі («пристрілювальна» серія) була визначена доза медгерму при всіх шляхах введення двом видам гризунів, яка викликала летальний наслідок у 100 % випадків та така доза, яка не викликала такого. Це дало можливість виявити інтервали доз, у яких знаходиться ЛД₅₀. На 2-му етапі основною метою було визначення токсикометричних властивостей БАР при одноразовому введенні медгерму. Ці дослідження були виконані з дотриманням правил залежності його об'єму від шляхів введення, маси тіла та виду тварин. Групи дослідних щурів і мишей було розподілено на 3 групи залежно від шляху введення медгерму. В свою чергу, кожену групу тварин було розподілено на 5 підгруп по 6 тварин залежно від дози медгерму, яку отримували тварини. Пероральне введення медгерму проводилося за допомогою спеціальної голки-насадки з оливою. Контрольній групі в адекватних об'ємах вводився 0,9 % розчин натрію хлориду. Картину інтоксикації і динаміку загибелі спостерігали впродовж 14 діб з моменту введення препарату. Динаміку прояву токсичних ефектів оцінювали за інтегральними показниками

(загальний стан, маса тіла, зміна положення тіла, стан шкіри, колір слизових оболонок, температура тіла) та окремими симптомами (міоз, сльозоточивість, салівація, діарея, сонливість, тремор, судоми та ін.), а також за часом появи і виразністю токсичної дії, виживаністю тварин і термінами настання летальних результатів [299]. У 1-у добу вплив медгерму на стан лабораторних тварин оцінювали щогодини, у подальшому 2 рази на добу: вранці (з 9 до 11 год) та ввечері (з 16 до 18 год). Для виключення смерті за рахунок механічного пошкодження при введенні медгерму всі загиблі тварини піддавалися розтину.

Основним критерієм кількісної характеристики токсичності медгерму була LD_{50} , яка визначалася з використанням методу найменших квадратів для пробіт-аналізу кривих летальності за В. В. Прозоровським [300]. Крім того, для токсикометричної оцінки БАР були розраховані такі показники небезпеки: $1/LD_{50}$ — зворотна величина середнє смертельної дози (абсолютна токсичність), LD_{84}/LD_{16} — діапазон смертельних доз (зона гострої токсичної дії), $1/(LD_{50} - S)$ — сумарний показник токсичності, S — функція кута нахилу (варіабельність смертельних доз), яку розраховували за формулою:

$$S = (LD_{84} / LD_{50} + LD_{50} / LD_{16}) / 2 \quad (2.1)$$

Пробіт-аналіз отриманих даних було проведено за допомогою програми «StatPlus 2009» (компанія AnalystSoft, США, 2009), яка дозволяє в автоматизованому режимі отримати графіки й основні токсикометричні показники БАР. Екстраполяцію на людей параметрів гострої токсичності, одержаних на тваринах, було проведено з урахуванням константи біологічної активності за методом [301].

2.2.2. Токсичність при повторних введеннях сполуки

Вивчення *підгострої, субхронічної та хронічної* токсичності виконано на 72 щурах лінії Вістар масою 180-220 г обох статей. Підгостра токсичність медгерму вивчалась на щурах протягом 28 діб, субхронічна токсичність протягом 3 міс, а хронічна токсичність – 6 міс [296].

Усі тварини були розділені на 3 групи (n=18) залежно від строку введення медгерму. Кожна група була розділена на 3 підгрупи (n=6). Тваринам I (контрольної) підгрупи вводився 0,9 % розчин хлориду натрію у об'ємі відповідному масі та шляху введення. Щурам II і III підгруп вводився водний розчин медгерму відповідно субтоксичними дозами 1/10 і 1/20 ЛД₅₀. Для вивчення підгострої токсичності медгерм вводився в/о, субхронічної та хронічної токсичності – п/о 1 раз на добу зранку (з 9 до 11 год).

Під час дослідження токсичності при повторних введеннях нової БАР оцінювалась дія медгерму на різні функції організму тварин: виживаність, поведінку, поїдання кормів, динаміку маси тіла, приплід. Також вивчався її вплив на гематологічні (загальний аналіз крові), біохімічні показники крові (загальний білок, аланінамінотрансфераза (АлАТ), аспартатамінотрансфераза (АсАТ), загальний білірубін, тимолова проба, глюкоза, загальний холестерин, сечовина) та сечі (білок, загальний азот, глюкоза, мікроскопія осаду), які визначалися загальноприйнятими методами [296]. Забір крові, сечі і зважування щурів проводилося на початку експерименту, протягом одного місяця 1 раз на тиждень, а потім 1 раз на міс. Наприкінці експерименту 2/3 тварин забивали і піддавали патологоанатомічному і гістологічному дослідженню, інша частина спотерігалась ще протягом місяця (ефект післядії).

Кумуляційні властивості медгерму оцінювались за коефіцієнтом кумуляції, який розраховувався за методом Ю.С. Кагана і В.В. Станкевича [296].

Місцевоподразнювальна дія на шкіру і слизові оболонки вивчалась на 12 кролях породи Шиншила. Кролів було розподілено на 2 групи по 6 тварини. Тваринам I (контрольної) групи на шкіру і слизову оболонку ока наносили дистильовану воду, а кролям II групи наносили водний розчин медгерму з розрахунку 20 мг/см² поверхні тіла [299]. Спостереження проводили протягом 2-х тижнів 1 раз на добу.

Вивчення *антигенних* властивостей медгерму виконано на 12 мурчаках гладенькошерстної породи. Сенсibiliзацію проводили двократно з тижневим інтервалом вводили 200 мг медгерму у шкіру вухної раковини тварини. Через

12 діб після введення 2-ї дози були виконані провокаційні проби: епікутатна, кон'юнктивальна. Реакцію враховували через 30 хв, 6 год і через добу за універсальною шкалою [302]. Тварини контрольної групи отримували дистильовану воду в еквівалентному об'ємі.

2.3. Вивчення загальних фармакологічних властивостей БАР

2.3.1. Вплив БАР на поведінкові реакції тварин у тесті «відкрите поле»

Тест «відкрите поле», традиційно застосований при аналізі ефектів нових сполук на поведінкові реакції і складнокоординовану рухову активність гризунів, є досить популярний через свою простоту та адекватність [303].

Щури були розподілені на 4 групи (n=6). Тварини завчасно розміщувалися у клітках і після 3 денного карантину всі щури проходили випробування в тесті «відкрите поле». Після цього щурам I (контрольної) групи вводили в/о 0,9% розчин хлориду, а тваринам II, III і IV груп в/о вводили розчин медгерму дозами відповідно 1/40, 1/80 і 1/160 ЛД₅₀. Через 60 хв щурів повторно тестували. Вибір доз ґрунтувався на попередньо проведених дослідженнях гострої і хронічної токсичності.

За кожною твариною спостерігали впродовж 4-х хв та фіксували такі елементи поведінки: обнюхування (Обн), відвідування зовнішнього квадрата (ЗК), відвідування центрального квадрата (ЦК), рух на місці (РнМ), вертикальна стійка на задніх лапах (ВС), стійка з упором (СУ), заглядання у нору (Нр), сидіння на місті (СнМ), грумінг (Гр), фризінг (Фр), дефекація (Деф), уринація (Ур).

Розраховували обсяг елементів поведінки і їх частку серед інших. Усі елементи поведінки систематизували, після чого виділяли такі інтегральні характеристики індивідуальної поведінки [304]:

- переміщення (Пер), тобто горизонтальна локомоція — ЗК + ЦК;
- емоційна реактивність (ЕР) — сума нерухомих елементів СнМ + Фр;
- емоційна тривожність (ЕТ) — сума елементів РнМ + ВС + СУ;

- орієнтовано-дослідницька активність (ОДА) — сума активних елементів Пер + Обн + Нр;
- загальна рухова активність (ЗРА) = ЦК + ЗК + РнМ + ВС + СУ + Обн + Нр + Гр.

Після експерименту тварину повертали в клітку. Враховували число кульок посліду (болюси) та кількість плям сечі.

2.3.2. Вплив медгерму на підвищену рухову активність тварин

Вивчення рухової активності тварин проводилося за загальноприйнятими методиками фармакологічного скринінгу [305]. Як збуджуючий засіб був обраний амфетаміну сульфат (табл. 0,01 г, «Фармсинтез», РФ). Сумісне введення медгерму і амфетаміну оцінювали у тесті «відкрите поле».

Дослідження проведено на 4 групах щурів ($n = 6$). Тварини завчасно розміщувалися в клітках і після 3 денного карантину всі щури проходили тестування методом «відкритого поля». Після цього щурам I (контрольної) групи вводили в/о 0,9 % розчин хлориду натрію, тваринам II і III груп в/о вводили розчин медгерму дозами відповідно 1/40, 1/80 і 1/160 ЛД₅₀. Через 30 хв усім тваринам п/ш вводили амфетамін (10 мг/кг) і ще через 30 хв після його введення щури були тестовані в умовах «відкритого поля». Рухову активність щурів досліджували протягом 4 хв за показниками: обнюхування, відвідування зовнішнього квадрата, відвідування центрального квадрата, рух на місці, вертикальна стійка на задніх лапах, стійка з упором, нірка, грумінг. Динаміка їх суми характеризувала зміни рухової активності тварин до і після введення БАР.

2.3.3. Вплив медгерму на тривалість «тіопенталового сну»

Сумісне введення медгерму і стандартного депримуючого засобу — тіопентал натрію, оцінювали у тесті «тіопенталовий сон» [305]. Це дозволяє оцінити вплив БАР на фармакологічні ефекти тіопенталу натрію. Крім того, відомо, що тривалість дії тіопенталу натрію залежить від багатьох складових, зок-

рема від стану ферментних систем печінки, оскільки його біотрансформація відбувається за участю ферментів мікосомального окиснення [306]. Тому зміни тривалості «тіопенталового сну» при попередньому введенні БАР можуть бути і наслідком впливу медгерму на активність ферментних систем печінки.

Дослідження виконане на 48 білих нелінійних статевозрілих мишах масою 18-22 г 2-ма серіями. У 1-ї серії, метою якої було вивчення безпосереднього впливу медгерму на фармакодинамічні властивості тіопенталу натрію, тварин ділили на 4 групи (по 6 мишей) і розміщували в клітках. Після 3 денного карантину мишам I (контрольної) групи вводили в/о 0,9 % розчин хлориду натрію, тваринам II, III і IV груп в/о вводили розчин медгерму дозами 1/40, 1/80 і 1/160 ЛД₅₀. Через 30 хв після введення БАР мишам в/о вводили тіопентал натрію (ліофілізат для розчину для ін'єкцій по 1,0 г у флаконах, ВАТ "Київмедпрепарат", Україна) дозою 50 мг/кг.

У 2-й серії, метою якої було вивчення впливу медгерму на біотрансформацію тіопенталу натрію, тварин ділили на 4 групи (по 6 мишей) і розміщували в клітках. Після 3 денного карантину мишам I (контрольної) групи вводили в/о 0,9 % розчин хлориду натрію, мишам II, III і IV груп в/о вводили розчин медгерму дозами 1/40, 1/80 і 1/160 ЛД₅₀. Через 24 год після введення БАР мишам в/о вводили тіопентал натрію (50 мг/кг).

В обох серіях за часом втрати і повернення рефлексу перевертання фіксували відповідно момент настання сну і пробудження.

2.3.4. Вплив БАР на серотонінергічну передачу

Попередник серотоніну – 5-окситриптофан викликає стимуляцію центральних серотонінових рецепторів. Це призводить до розвитку у мишей феномену «струшування голови» (кивки) [307]. Дослідження проведено на 4 групах нелінійних мишей масою 18-22 г (n=6). Тварини завчасно розміщувалися в клітках. Після 3 денного карантину мишам I (контрольної) групи вводили в/о 0,9 % розчин хлориду натрію, тваринам II групи в/о вводили розчин медгерму до-

зою $1/80$ ЛД₅₀, яка в процесі попередніх експериментів виявилася найбільш цікавою в плані подальшого вивчення нейротропної дії. Через 30 хв усім тваринам п/ш вводили розчин 5-окситриптофану (Merck KGaA, Німеччина) із розрахунку 300 мг/кг і відразу враховували кількість струшувань голови протягом перших і наступних 10 хв. Це пов'язано з тим, що дія 5-окситриптофану з плином часу може збільшуватись.

2.3.5. Вплив БАР на координацію рухів і м'язовий тонус

Вивчення впливу БАР на координацію рухів і м'язовий тонус тварин здійснювали за допомогою тесту «обертвого стрижня» [308]. Дослідження виконано на 20 білих нелінійних мишах масою 18-22 г. Тварин завчасно розміщували в клітках і після 3 денного карантину привчали стримуватися на обертovому стрижні, який є горизонтальним стрижнем діаметром 2 см зі швидкістю обертання 5 обертів за хв. Одночасно на стрижні знаходилося до 5 тварин, відокремлених один від одного перегородками. В експериментальні та контрольну групи відбирали тварин, які стримувалися на стрижні впродовж 2-х хв. Миші були розподілені на 4 групи (n=5). Тваринам I (контрольної) групи вводили в/о 0,9 % розчин хлориду натрію; II, III та IV груп в/о вводили медгерм відповідно дозами $1/40$, $1/80$ і $1/160$ ЛД₅₀. Через 30, 60 і 90 хв після введення БАР проводили повторне тестування тварин на «обертovому стрижні».

2.3.6. Вивчення знеболювальної та протизапальної активності БАР

Дослідження периферичного компонента анагетичного ефекту проведено на моделі «корчів», що викликали оцтовою кислотою за методом R.L. Wood et al., 1941 [309]. Дослідження виконано на 24 білих нелінійних мишах масою 18-22 г. Тварини були поділені на 4 групи (n=6). Миші I (контрольної) групи п/о отримували 0,9 % розчин хлориду натрію, а тварини II, III та IV груп п/о вводили розчин медгерму відповідно дозами $1/40$, $1/80$ і $1/160$ ЛД₅₀. Через 60 хв

після введення БАР тваринам в/о вводили 3 % розчин оцтової кислоти з розрахунку 0,1 мл/10 г маси тіла.

Протизапальну активність медгерму вивчали на моделі карагенінового і зимозанового набряків [296]. Вибір таких моделей дозволяє провести диференційоване вивчення впливу медгерму на різні шляхи розвитку запальної реакції: циклооксигеназний (карагенінова модель) та ліпоксигеназний (зимозанова модель). Експерименти проведені на 48 білих нелінійних мишах масою 18-22 г. При моделюванні тварини були розподілені на 4 групи ($n = 6$). І групі п/о вводили 0,9 % розчин хлориду натрію, а тварини II, III та IV груп одержували п/о водний розчин медгерму відповідно дозою 1/40, 1/80 та 1/160 ЛД₅₀. Через 60 хв субплантарно вводили флогогенний агент: карагенін по 0,02 мл 1% розчину, зимозан по 0,05 мл 2 % суспензії на мишу.

Протинабрякову дію медгерму оцінювали, використовуючи метод плетизмографії за зміною об'єму кінцівки мишей, яку визначали за допомогою плетизмометра [310]. Вимір об'єму кінцівки миші визначали до та через 30, 60, 120 та 180 хв після введення флогогенного агенту.

2.4. Вивчення впливу БАР на морфофункціональний стан інтактних тварин

Досліди проводилися на 24 щурах-самцях лінії Вістар масою 180-200 г. Тварини було розподілено на 4 групи ($n=6$). Щури I групи (контроль) в/о отримували 0,9 % розчин хлориду натрію. Щурам II-IV груп протягом 14-ти днів в/о вводився водний розчин медгерму дозами 1/40, 1/80 і 1/160 ЛД₅₀ відповідно.

Як біоматеріал для проведення клініко-лабораторних досліджень було вибрано сироватку крові (СК) та супернатант гомогенату тканини печінки (ТП). Підготовку СК та ТП проводили згідно [311]. Значення отриманих результатів клініко-лабораторних показників виражали у одиницях виміру згідно системи СІ. При визначенні клініко-лабораторних показників у ТП враховува-

ли масу шматочка печінки та ступінь розведення. Крім того, оцінювали макро- і мікроморфологічні зміни внутрішніх органів (печінки, серця і нирок).

2.5. Вивчення гепатопротекторної активності БАР

Вивчення можливої гепатопротекторної дії нової БАР проводили на моделі гострого токсичного гепатиту, який відтворювали у щурів-самців лінії Вістар масою 180-200 г одноразовим в/о введенням D-галактозаміну дозою 400 мг/кг у вигляді 20 % водного розчину [312]. Така доза дорівнювала ЛД₅₀ токсиканту. Вибір цієї моделі токсичного гепатиту було здійснено тому, що гострий галактозаміновий гепатит дозволяє одержувати вірогідні та стабільні зміни інтегральних показників функціонального та морфологічного станів організму, які виникають при ураженнях печінки [312]. Більш того, доцільність вказаної моделі підтверджується тим, що ураження печінки виникає в ранні строки з моменту введення токсину в організм, гепатит має, по-перше, «м'якіший» перебіг, по-друге, із залученням практично всіх патогенетичних механізмів, що спостерігаються при гепатитах різної етіології, в тому числі вірусної [313].

Перед виконанням основного дослідження спочатку проведено вибір дозового режиму введення медгерму за показниками виживаності тварин. Для цього щури були розподілені на 4 групи. Тварини I (контрольної) групи (n=6) отримували тільки гепатотоксикант — D-галактозамін; II групи (n=18) — медгерм профілактично, тобто за 7 діб до введення галактозаміну; III групи (n=18) — медгерм лікувально, тобто протягом 7 діб після введення гепатотоксину; IV групи (n=18) — медгерм за 7 діб до і протягом 7 діб після введення галактозаміну, тобто профілактично-лікувальним курсом. Кожну з дослідних груп, в свою чергу, поділяли на 3 підгрупи по 6 щурів, яким БАР вводилася в/о відповідно 3-ма дозами: 0,79, 0,40 та 0,20 мг/кг, тобто 1/80, 1/160 та 1/320 ЛД₅₀.

Для дослідження гепатопротекторної активності медгерму на фоні галактозамінового гепатиту тварини були розподілені також на 4 групи: I група (n=36) — інтактні тварини, яким вводився протягом всього часу спостереження

0,9 % розчин натрію хлориду у відповідному об'ємі (контрольна); II група (n=36) — тварини, які отримували гепатотоксикант; III група (n=36) — щурі, які в/о отримували медгерм на фоні гострого галактозамінового гепатиту протягом 7 діб до і 7 діб після введення галактозаміну дозою 0,40 мг/кг; IV група (n=36) — щурі, які у такому ж режимі в/о отримували препарат порівняння есенціале[®] Н (Авентіс Фарма Дойчланд ГмбХ, Ей. Наттерман енд Сайі ГмбХ, Німеччина) дозою 5 мг/кг.

Дослідження показників морфофункціонального стану печінки за біохімічними, морфологічними та біофізичними методами проводилось на 1, 3, 5, 7, 10 та 12 добу після введення гепатотоксину, що дозволить певною мірою оцінити перебіг гострого токсичного гепатиту і ефективність медгерму.

2.6. Біохімічні методи дослідження

Визначення біохімічних показників проводили у сироватці крові (СК) та у супернатанті гомогенату тканини печінки (ТП) у лабораторному відділенні Університетської клініки ОНМедУ на автоматичному біохімічному аналізаторі Cobas Mira Plus (Roche Diagnostics, Швейцарія). Підготовка СК мала такі етапи. Забір крові у щурів здійснювали вранці шляхом венепункції стегнової вени, яку виділяли під ефірним наркозом [314]. У середньому від 1-го щура отримували 6-8 мл цілісної крові. Після 20 хвилинної експозиції при кімнатній температурі згусток обводили сухою стерильною паличкою і вміщували на 20 хв в побутовий холодильник при температурі 4-8 °С, після чого її центрифугували 30 хв при 3000 об/хв, при температурі 4 °С на рефрижераторній центрифугі ЦЛР-1. Отриману сироватку крові відбирали піпеткою і переносили у пробірки «Епендорф» по 1,5 мл.

Підготовка ТП мала такі етапи. Розтин щурів проводили згідно з загальноприйнятої методикою на льоду [296]. Печінку вилучали з черевної порожнини, зважували, промивали охолодженим до 4 °С 0,9 % розчином хлориду натрію, відбирали шматочок масою 500-1000 мг, зважували його на торсійних

вагах. Тканину печінки гомогенізували на льоду у скляному гомогенізаторі з тефлоновим товкачиком за допомогою мікророзмілювача тканин РТ-2 протягом 2 хв при 5000 об/хв. У якості середовища виділення використовували 0,9 % розчин хлориду натрію кількістю 10 мл. Гомогенат центрифугували 30 хв при 7000 об/хв при температурі 4 °С на рефрижераторній центрифугі ЦЛР-1. У результаті одержували супернатант, у якому визначали біохімічні та біофізичні показники. Отриманий супернатант відбирали піпеткою і переносили у пробірки типу «Епендорф» по 1,5 мл.

Визначення вмісту *загального білка* проводили за біуретовою реакцією [296]. Кількість загального білка у СК виражали в г/л, а у ТП – г/г тканини.

Визначення вмісту *сечовини* проводили за ферментативним уреазним методом за реакцією з саліцилатгіпохлоритом [296]. Кількість сечовини у СК виражали у ммоль/л, а у ТП – в ммоль/г тканини.

Вміст *загального білірубіну* визначали за методом Малоя-Евеліна [315]. Вміст загального білірубіну в СК виражали в мкмоль/л, а в ТП – в мкмоль/г тканини.

Вміст *загального холестерину* визначали за уніфікованим методом визначення загального холестерину за методом Ілька [315]. Кількість загального холестерину у СК виражали у ммоль/л, а у ТП — у ммоль/г тканини.

Вміст *глюкози* визначали глюкозооксидазним методом [316]. Кількість глюкози у СК виражали у ммоль/л, а у ТП — у ммоль/г тканини.

Визначення активності ферментів *цитолізу* – АлАТ та АсАТ – СК і ТП проводили методом S. Reitman, S. Frankel [317]. Суть методу полягає у тому, що таким трансаміназам як АлАТ і АсАТ притаманна здатність каталізувати реакцію між L-аланіном (L-аспартатом) та 2-оксоглутаратом, у результаті якої вони перетворюються у L-глутамат і сіль піровиноградної кислоти відповідно. Визначення ґрунтується на вимірюванні оптичної густини гідрозонів 2-оксоглутарової і піровиноградної кислот у лужному середовищі, при цьому гідрозон піровиноградної кислоти має більш високу оптичну густину. Активність ферментів виражали у СК в мккат/л, а у ТП – в мккат/г тканини.

Визначення активності ферментів *холестази* – γ -глутамілтрансферази (ГГТ) і лужної фосфатази (ЛФ) проводили відповідно за методами [318, 319]. Суть визначення ГГТ полягає в тому, що вона переносить глутаміновий залишок з L- γ -глутаміл-4-нітроаналіду на дипептидний акцептор, котрим є гліцилгліцин, який водночас є також і буфером. Вивільнений у процесі реакції 4-нітроанілін визначається і слугує міркою активності ГГТ. Лужна фосфатаза, активована хлоридом натрію, розщеплює *n*-нітрофеніл-фосфат в *N*-метил-*D*-глюкаміновому буфері з утворенням *n*-нітрофенолу і фосфату. Активність ГГТ і ЛФ виражали у СК в мккат/л, а у ТП – в мккат/г тканини.

Визначення вмісту загального білка, сечовини, загального білірубіну, загального холестерину та глюкози, активності маркерних ферментів (АлАТ, АсАТ, ГГТ та ЛФ) проводили за допомогою наборів «BioSystems» (Іспанія).

Вміст *купруму* визначали за допомогою наборів фірми Pliva-Lachema Diagnostika (Чехія) [316]. Принцип методу полягає у тому, що батокупроїн утворює з іонами одновалентного купруму стійкий комплекс помаранчевого кольору, придатний для фотометричного визначення. Кількість купруму у СК виражали у мкмоль/л, а у ТП — у мкмоль/г тканини.

Вміст *церулоплазміну* визначали за допомогою наборів фірми АТ «Реагент» (Україна) за методом Равіна [316]. Принцип методу полягає у тому, що при додаванні *n*-фенілендіаміну до церулоплазміну (1.16.3.1) відбувається ферментативна реакція окиснення, яка інактивується фторидом натрію. Вміст церулоплазміну визначають за інтенсивністю забарвлення продукту реакції фіолетового кольору. Кількість церулоплазміну у СК виражали у мг/л, а у ТП – мг/г тканини.

Стан процесів ПОЛ у тварин з галактозаміновим гепатитом оцінювали за вмістом у крові та тканині печінки кінцевих продуктів ліпідпероксидації, що реагують з 2-тіобарбітуровою кислотою (ТБК-реактанти) [320]. В основі методу визначення *вмісту ТБК-реактантів* лежить їх здатність взаємодіяти з 2-тіобарбітуровою кислотою в кислому середовищі при температурі кипіння води, у результаті чого утворюється забарвлений триметиновий комплекс з мак-

симумом поглинання при довжині хвилі 540 нм. Розрахунок вмісту даного продукту ліпідпереокиснення здійснювався з використанням коефіцієнту молярної екстинкції $1,56 \cdot 10^5 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$.

Стан основних компонентів АОС організму оцінювали за рівнем одного з основних компонентів її неферментативної ланки — глутатіону відновленого, а також за активністю двох ключових ферментів її ензимної складової — каталази і супероксиддисмутази (СОД). Вміст *глутатіону відновленого* в крові визначали за реакцією SH-груп останнього з 5,5'-дитіобіс-2-нітробензойною кислотою з утворенням забарвленого продукту, який ідентифікується за зміною оптичної щільності при довжині хвилі 400 нм [321]. В основі методу визначення *каталази* лежить її здатність розкладати молекули перекису водню на кисень і воду. Невитрачений перекис водню утворює з солями молібдену стійкий забарвлений комплекс з максимумом поглинання при довжині хвилі 410 нм [322]. Активність *СОД* вивчали в сироватці крові за методом, заснованому на інгібуванні даним ферментом реакції окиснення кверцетину з максимумом поглинання при довжині хвилі 406 нм [323].

2.7. Біофізичні методи дослідження

Інтегральна оцінка сироваткового гомеостазу і змін у ТП виконана методом лазерної кореляційної спектроскопії за допомогою лазерного кореляційного спектрометра «ЛКС-03» (виробництво Інституту ядерної фізики РАН, Санкт-Петербург, Росія) в лабораторії відділення молекулярної і радіаційної біофізики Інституту ядерної фізики РАН. Відомо, що всі біологічні рідини людини є гетерогенним колоїдно-полімерним середовищем, що складається з білків та їх комплексів з іншими сполуками. Багатокомпонентні біологічні системи, як правило, досліджуються цілим набором складних методів хроматографії, електрофорезу, високошвидкісної седиментації та ін. [324]. Такі традиційно використовувані підходи створюють помітні труднощі в інтерпретації результатів з позицій інтегральної оцінки гомеостазу.

Інтегрально оцінювати різні біологічні системи дозволяє метод лазерної кореляційної спектроскопії (ЛКС), розроблений Санкт-Петербурзьким інститутом ядерної фізики РАН спільно з ТОВ «Інтокс» (Санкт-Петербург, РФ), що ґрунтується на зміні спектральних характеристик монохроматичного когерентного випромінювання гелій-неонового лазера в результаті світлорозсіювання при проходженні через дисперсну систему [325, 326]. Взаємодія випромінювання зі світлорозсіювальними частками, які знаходяться в броунівському русі, розширює спектр розсіяного світла, причому зміна його частоти відбувається пропорційно швидкості руху часток, яка у свою чергу залежить від їх розміру (рис. 2.1). Таким чином, ЛКС дозволяє реєструвати гідродинамічні розміри часток будь-яких біологічних рідин.

ЛК-спектрометр призначений для вивчення різних біологічних рідин (сироватка і плазма крові, ліквор, сеча та ін.) і препаратів, дослідження інших біологічних об'єктів (білків, вірусів, клітин та ін.), що знаходяться в рідкому прозорому середовищі. Прилад дозволяє здійснювати аналіз змін в макромолекулярних субфракціях біологічних рідин при різних патологічних станах, а також проводити оцінку значущості таких змін. ЛК-спектрометр, як універсальний дифузометр, придатний для дослідження будь-яких розчинів і суспензій, якщо розміри їх інгредієнтів знаходяться в межах від 2 до 10000 нм.

ЛКС досить давно використовується в біофізичних дослідженнях для визначення гідродинамічних розмірів різних біологічних субстратів [325, 327, 328]. Для аналізу багатокомпонентних біологічних рідин були розроблені спеціальні математичні методи обробки спектрів, які дозволяють аналізувати біорідини без попереднього розділення [329]. Схема ЛК-спектрометра наведена на рис. 2.2.

Підготовка СК і ТП була ідентичною підготовці біоматеріалу для біохімічних досліджень. Безпосередньо перед проведенням ЛКС-дослідження біологічний матеріал центрифугували при 6000 об/хв протягом 30 хв для осадження великих часток. Підготовлений матеріал в об'ємі 0,5 мл обережно заливали в кювету ЛК-спектрометра, яку щільно закривали кришкою.

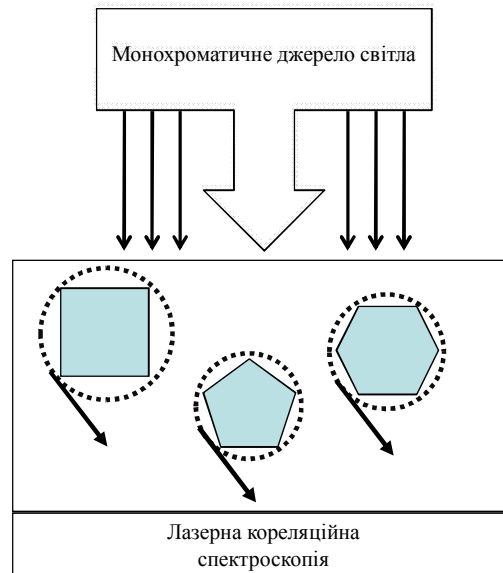


Рис. 2.1. Принцип лазерної кореляційної спектроскопії

Спектральний аналіз проводили в автоматичному режимі, закладеному в програмі спектрометра. Результат вивчення зразка біологічної рідини за допомогою ЛКС представляється у вигляді гістограми, по осі ординат якою відкладена світлорозсіювальна ефективність (%), а по осі абсцис — розмір відповідних інгредієнтів (так званий гідродинамічний радіус світлорозсіювальних часток в нм).

Для об'єктивної характеристики варіантів гомеостатичних зрушень є «семіотична» класифікація, згідно якої по осі абсцис виділені диференціально-значимі зони (ДЗ) за розмірами світлорозсіювальних часток: I ДЗ (наднизькомолекулярна) — 0-11 нм; II ДЗ (низькомолекулярна) — 12-38 нм; III ДЗ (середньомолекулярна) — 39-95 нм; IV ДЗ (високомолекулярна) — 96-264 нм; V ДЗ (надвисокомолекулярна) — більше 264 нм. Таким чином, результат набуває вигляду, наведеного на рис. 2.3. Вибір зон був здійснений емпіричним способом на підставі оцінки характеру багатопараметрових зрушень в системі сироваткового гомеостазу більше 10 нозологічних форм, вивчених у різних медичних установах протягом 10 років апробації методу ЛКС, а також динаміки перебігу змодельованих в експерименті патологічних процесів (токсичного гепатиту, перитоніту та ін.) [326].

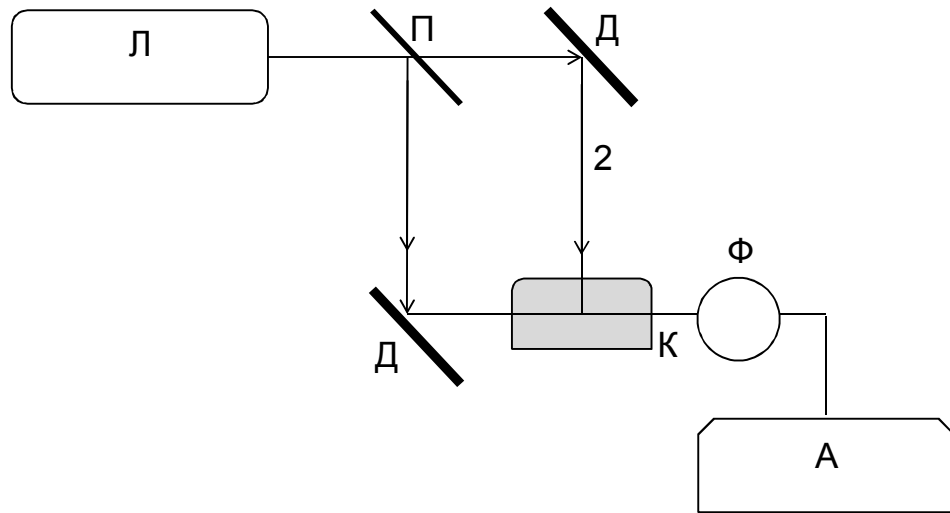


Рис. 2.2. Принципова схема лазеро-кореляційного спектрометра

Л — гелій-неоновий лазер; П — світлоділильна пластинка;
 Д — дзеркало; К — кювета; Ф — фотоелектронний помножувач;
 А — аналізатор

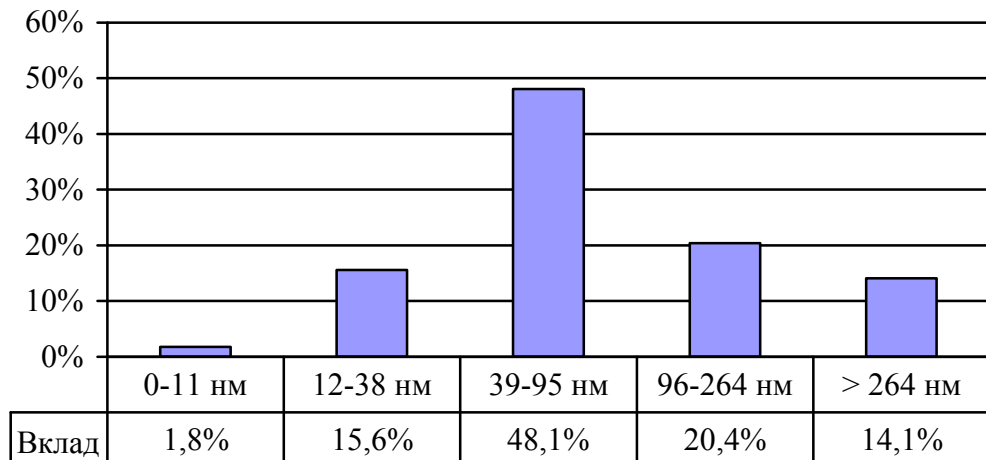


Рис. 2.3. Сумарна гістограма розподілу світлорозсіювальних часток за розмірами, як результат обробки для завдань семіотичної класифікації

Для кожної дискретної зони часток на гістограмі вказаний її відсотковий внесок у загальну інтенсивність світлорозсіювання досліджуваного зразка.

Згідно інформації, отриманої на різних моделях патології в I зону потрапляють переважно низькомолекулярні мономірні альбулярні білки і гліколіпідні вільні комплекси; у II – глобулярні білки і ліпопротеїни високої щільності; у III – ліпопротеїни низької щільності, рибонуклеопроїтеїни, дезоксирибонуклеопроїтеїни і самі низькомолекулярні імунні комплекси; у IV – переважно конституційні імунні комплекси середнього розміру; V зона заповнюється у тому випадку, коли в організмі індукується імунітет з утворенням високомолекулярних комплексів (найчастіше супроводять процеси алергізації й аутоімунної сенсибілізації організму) [326, 330-333]. Така семіотична класифікація ЛК-спектрів сироватки крові дозволяє встановити багатопараметровий симптомокомплекс, що характеризує функцію анаболічних і катаболічних систем, гуморального імунітету й інших зрушень в основних інтегральних системах. Слід підкреслити, що даним способом оцінка стану організму дається не на основі ідентифікації етіологічних чинників захворювання, а шляхом встановлення конкретного характеру семіотики певних зрушень в організмі, властивих тим або іншим захворюванням.

2.8. Морфологічні методи дослідження

Для вивчення морфологічних змін внутрішніх органів забій тварин проводили шляхом декапітації під легким ефірним наркозом у холодній кімнаті на льоду. Для патоморфологічного дослідження відбиралися шматочки тканин розміром близько 2x2 см, які фіксувалися в 10 % розчині нейтрального формаліну впродовж 2-х тижнів. Відібрані зразки тканини досліджуваних органів доставлялися в лабораторію патоморфології ОНМедУ (свідоцтво про атестацію № РО-236/2009 термін дії до 22.11.2013 г). Забарвлення препаратів виконувалося за такими методиками: гематоксиліном і еозином, а також виявлення PAS-позитивних речовин [334]. Мікроскопія препаратів виконувалася залежно від методики при збільшенні від 80x до 600x на світловому мікроскопі Olympus C41 (Японія).

2.9. Статистичні методи дослідження

Всі отримані результати обробляли загальноприйнятими в медико-біологічних дослідженнях методами статистичного аналізу з використанням пакетів комп'ютерних програм "Excel", "Primer Biostatistics", "SigmaStat", оцінюючи вірогідність на рівні значимості не менше 95 % ($p \leq 0,05$) та за допомогою критерію t Ст'юдента, а також непараметричних критеріїв статистики – точного методу Фішера [335].

РОЗДІЛ 3

СИНТЕЗ, ФІЗИКО-ХІМІЧНА, ТОКСИКОЛОГІЧНА І ЗАГАЛЬНО-
ФАРМАКОЛОГІЧНА ХАРАКТЕРИСТИКА НОВОГО ПОХІДНОГО
ОКСІЕТИЛІДЕНДИФОСФОНАТОГЕРМАНАТІВ3.1. Синтез і фізико-хімічні властивості нової БАР
класу оксіетилідендифосфонатогерманатів*

Досліджувана у даній роботі нова БАР класу оксіетилідендифосфонато-германатів під робочою назвою медгерм створена цілеспрямованим синтезом і є продуктом реакції оксіетилідендифосфонатогерманатної кислоти з ацетатом купруму (II), одержаним шляхом виділення з водного середовища.

Методика синтезу. Суміш, що складається з 3,36 г (0,015 моль) 1-оксіетилідендифосфонові кислоти $C_2H_8O_7P_2 \cdot H_2O$ «ч.» (умовне позначення H_4Oedph) і 1,569 г (0,015 моль) GeO_2 «ос. ч.», розчиняли у 200 мл води і упарювали на водяній бані в 10 разів. У розчин, охолоджений до 20-25 °С, додавали при постійному перемішуванні і до повного розчинення 2 г (0,01 моль) ацетату купруму (II) $Cu(CH_3COO)_2 \cdot H_2O$. Через добу до одержаного розчину додавали порціями 50 мл етилового спирту. Осад, що утворювався, через 2-3 год відокремлювали на фільтрі Шотта, промивали етиловим спиртом і сушили при кімнатній температурі.

За даними елементного аналізу отриманого продукту, утворюється комплекс блакитного кольору, якому відповідає брутто-формула з мольним співвідношенням $Cu : Ge : \text{ліганд} = 2 : 3 : 3$ (вміст води визначений термогравіметрично). Це наведено у табл. 3.1.

На термогравіграмі комплексу спостерігається один ендоефект в інтервалі температур 60-220 °С, який супроводжується одночасним видаленням 20 молекул води як гідратних, так і координованих, зв'язаних у систему міцними водневими зв'язками. Характерною особливістю термічного розкладу комплексу є екзотермічний процес в інтервалі температур 260-350 °С [336], у результаті якого відбувається елімінація в газову фазу ще однієї молекули води, що узго-

* Даний підрозділ досліджень виконаний на кафедрі загальної хімії і полімерів Одеського національного університету ім. І.І. Мечникова МОН України під керівництвом з.д.н.т. України, д. хім. н., проф. І.І.Сейфулліної

джується з зменшенням маси:
$$\text{H}_3\text{C}-\text{C}\begin{matrix} \text{P}\dots \\ \text{P}\dots \\ \text{OH} \end{matrix} \xrightarrow{-\text{H}_2\text{O}} \text{H}_2\text{C}=\text{C}\begin{matrix} \text{P}\dots \\ \text{P}\dots \end{matrix}$$
. Процес вигорання органічної частини комплексу супроводжується рядом екзоефектів, що пов'язано з окисною термодеструкцією і утворенням кінцевих продуктів - фосфатів германію (IV) та їх поліморфних перетворень.

Табл. 3.1

Результати хімічного аналізу комплексу купрум-оксіетилідендифосфонатогерманат (медгерм)

Показники	Cu	Ge	P	H ₂ O
Знайдено, %	9.60	16.00	13.60	26.15
Для C ₆ H ₁₄ O ₂₄ P ₆ Ge ₃ Cu ₂ · 20H ₂ O розраховано, %	9.40	16.00	13.66	26.44

За даними літератури, частоти $\nu(\text{P-O})$, $\nu(\text{P=O})$ в спектрах фосфоровмісних комплексонів є досить характеристичними [336]. Смуги поглинання фосфонової групи знаходяться у ділянках 900-1250 cm^{-1} : 1000-1020 і 900-950 cm^{-1} - $\nu_{\text{as}}(\text{P}(\text{OH})_2)$ і $\nu_{\text{s}}(\text{P}(\text{OH})_2)$; 1180-1200 і 1050-1080 cm^{-1} - $\nu_{\text{as}}(\text{PO}_2)$ і $\nu_{\text{s}}(\text{PO}_2)$; 1080-1180 і 950-1050 cm^{-1} - $\nu_{\text{as}}(\text{PO}_3)$ і $\nu_{\text{s}}(\text{PO}_3)$. Вказаним смугам було надано особливої уваги, тому що саме ці групи відповідальні за координацію ліганду. В ІЧ-спектрі комплексу (БАР) присутня інтенсивна смуга у ділянці 970-1000 cm^{-1} , яку можна віднести до симетричних валентних коливань депротонованих фосфонових груп PO_3^{2-} .

Присутність молекул координованої води була підтверджена даними ІЧ-спектроскопії за наявності смуг поглинання, що характеризували валентні ($\nu(\text{OH}) = 3400 \text{ cm}^{-1}$) і деформаційні ($\delta(\text{HOH}) = 1640 \text{ cm}^{-1}$) коливання. У ІЧ-спектрі були зафіксовані смуги, відповідальні за коливання зв'язків германію з гідроксильними і фосфоновими групами: $\delta(\text{Ge-OH}) = 820 \text{ cm}^{-1}$ і $\nu(\text{Ge-O}_{\text{фосф}}) = 610 \text{ cm}^{-1}$.

Для визначення будови комплексу було проведено співставлення його ІЧ-спектрів зі спектром структурно охарактеризованого різнометального оксіетилідендифосфонатогерманату цинку [337]. Встановлено, що значення частот $\nu(\text{H}_2\text{O})$, $\nu(\text{Ge}-\text{O}_{\text{фосф}})$, $\delta(\text{HOH})$, а також частот у ділянці коливань фосфонових груп $\nu_{\text{ас}}(\text{PO}_3)$ в ІЧ-спектрі дослідженої нової БАР та різнометального комплексу з цинком близькі між собою, що свідчить про збереження будови координаційного поліедру германію в германійвмісному аніоні купрумвмісної сполуки такою ж, як у раніше вивченому цинковому комплексі.

На підставі сукупності даних фізико-хімічних методів дослідження був зроблений висновок, що отриманий комплекс являє собою супрамолекулярний полігетерометалічний ансамбль з великою кількістю як координованої, так і гідратної води.

Виходячи з цього, отримана нова гетерометалічна сполука купруму та германію (IV) під робочою назвою медгерм представляє собою гексамер, у якому атоми германію з'єднані за допомогою місткових молекул ліганду оксиду гідроксильних груп; купрум входить до складу комплексу в катіонній формі (рис. 3.1).

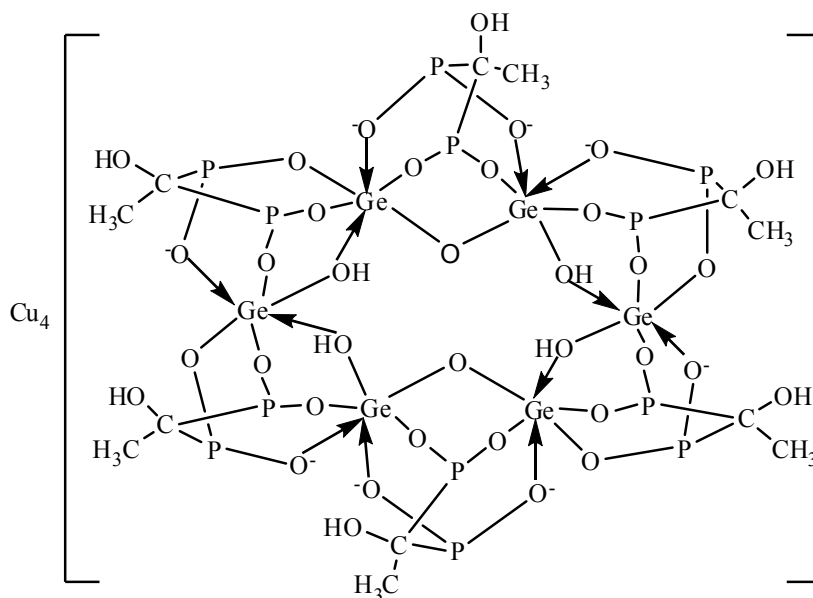


Рис. 3.1. Схема будови медгерму

Встановлена індивідуальність, вивчені фізико-хімічні властивості синтезованої БАР дозволяють дати таку фармакопейну характеристику.

Медгерм – купрум-оксіетилідендифосфонатогерманат за формулою – $\text{Cu}_4[\text{Ge}_6(\mu\text{-OH})_4(\mu\text{-O})_2(\mu\text{-Oedph})_6]\cdot 40\text{H}_2\text{O}$ (молярна маса – 1362 г/моль) є блакитний кристалічний порошок, без специфічного запаху, негігроскопічний, добре розчинний у воді, помірно – в етанолі, практично нерозчинний в ефірі та інших органічних розчинниках. Термостабільний (Т розкладу = 170 °С), стійкий при зберіганні в субстанції, водному розчині і при стерилізації (кип'ятінні).

Такі фізико-хімічні властивості нової БАР дозволяють припустити можливість її застосування як у твердій лікарській формі, так і рідкій, тобто використовувати для перорального і парентерального введення.

Таким чином, здійснена цілеспрямованим синтезом нова БАР – купрум-оксіетилідендифосфонатогерманат – має такі фізико-хімічні властивості (стабільність, водорозчинність та ін.), які передбачають доцільність її всебічного фармакологічного вивчення.

3.2. Вивчення токсикологічних властивостей медгерму

3.2.1. Гостра токсичність нової БАР

Для оцінки можливого застосування нової сполуки як лікарського засобу, на початку необхідно встановити її безпечність. Дослідження гострої токсичності медгерму проведено як наведено у підрозділі 2.2. Лімітуючим показником дози медгерму при визначенні гострої токсичності була максимальна доза IV класу токсичності (малотоксичні речовини) з урахуванням шляху введення [338].

У «пристрілювальній» серії токсичний вплив медгерму, який вводився дослідним щурам і мишам однократно різними дозами та шляхами введення, мав чітку фазність: збудження, пригніблення з явищами парезів, паралічів, судом і летальний результат. Проте клінічна картина отруєння розвивалася в різні терміни залежно від шляху введення. При в/о введенні медгерму збудження

було більш виразним розвивалося у середньому через 3-5 хв. При п/ш та п/о застосуванні медгерму ознаки гострого отруєння (збудження) розвивались тільки через 5-10 хв. Фаза збудження тривала 5-7 хв і характеризувалася тим, що тварини пересувалися більш активніше, метушилися, частіше міняли позу, підстрибували, однак їхні рухи були менш координованими, вони частіше падали на бік. У тварин частішало дихання, з'являлася незначна гіперемія вух і морди.

Для наступної фази були характерні загальмованість, пригнічення дихання, акроціаноз, часті сечовипускання і дефекація. У тварин з'являлися фібрилярні сипання м'язів, тремор і, нарешті, тоніко-клонічні судоми. Чим більшою була доза медгерму, тим більш значним були ознаки пригнічення тварини і швидше наставав летальний стан. Ця фаза тривала при значних дозах медгерму до 30 хв, а при менших дозах до 12-24 год і, як правило, до самої смерті. Тварини гинули від різкого пригнічення дихання і судом.

За результатами «пристрілювальної» серії досліджень був зроблений висновок про нижні (100 % летальності) та верхні (0 % летальності) межі, в яких знаходиться ЛД₅₀ (табл. 3.2).

Таблиця 3.2

Діапазон летальних доз медгерму (мг/кг маси) в «пристрілювальній» серії досліджень залежно від виду тварин і шляху введення

Вид тварин	Шлях введення		
	Внутрішньо-очеревинний	Підшкірний	Пероральний
Миші	70÷150	130÷210	2200÷2600
Щури	20÷100	40÷120	2300÷2700

Після «пристрілювальної» серії дослідів було проведено визначення гострої токсичності медгерму у мишей та щурів при трьох шляхах його введення. Встановлено, що після однократного введення медгерму тварини гинули найчастіше в 1-у і рідше на 2-у добу. Після 2-ої доби жодна тварина не загинула. Дані загибелі тварин наведено у табл. 3.3.

Таблиця 3.3

Залежність загибелі тварин від дози та шляху введення медгерму

Шлях введення БАР	Вид тварин					
	Миші			Щури		
	Доза БАР (мг/кг)	Число тварин	Число загиблих тварин	Доза БАР (мг/кг)	Число тварин	Число загиблих тварин
Внутрішньо-очеревинний	70	6	0	20	6	0
	90	6	1	40	6	1
	110	6	3	60	6	3
	130	6	4	80	6	4
	150	6	6	100	6	6
Підшкірний	130	6	0	40	6	0
	150	6	2	60	6	2
	170	6	4	80	6	4
	190	6	5	100	6	6
	210	6	6	120	6	6
Пероральний	2300	6	0	2200	6	0
	2400	6	2	2300	6	2
	2500	6	4	2400	6	4
	2600	6	5	2500	6	5
	2700	6	6	2600	6	6

За допомогою програми «StatPlus 2009» (компанія AnalystSoft, США, 2009) методом пробіт-аналізу були отримані основні токсикометричні параметри медгерму (рис. 3.2, 3.3 і табл. 3.4, 3.5).

Аналізуючи результати вивчення гострої токсичності медгерму у мишей і щурів відповідно класифікації [296, 338], можна констатувати, що ця БАР при в/о та п/ш шляхах введення належить до III класу токсичності (помірно токсичні сполуки), а при пероральному – до IV класу токсичності (малотоксичні сполуки).

Більш низька токсичність медгерму при п/о введенні може бути обумовлена особливістю його фармакокінетичних параметрів (зниження біодоступності у шлунково-кишковому тракті).

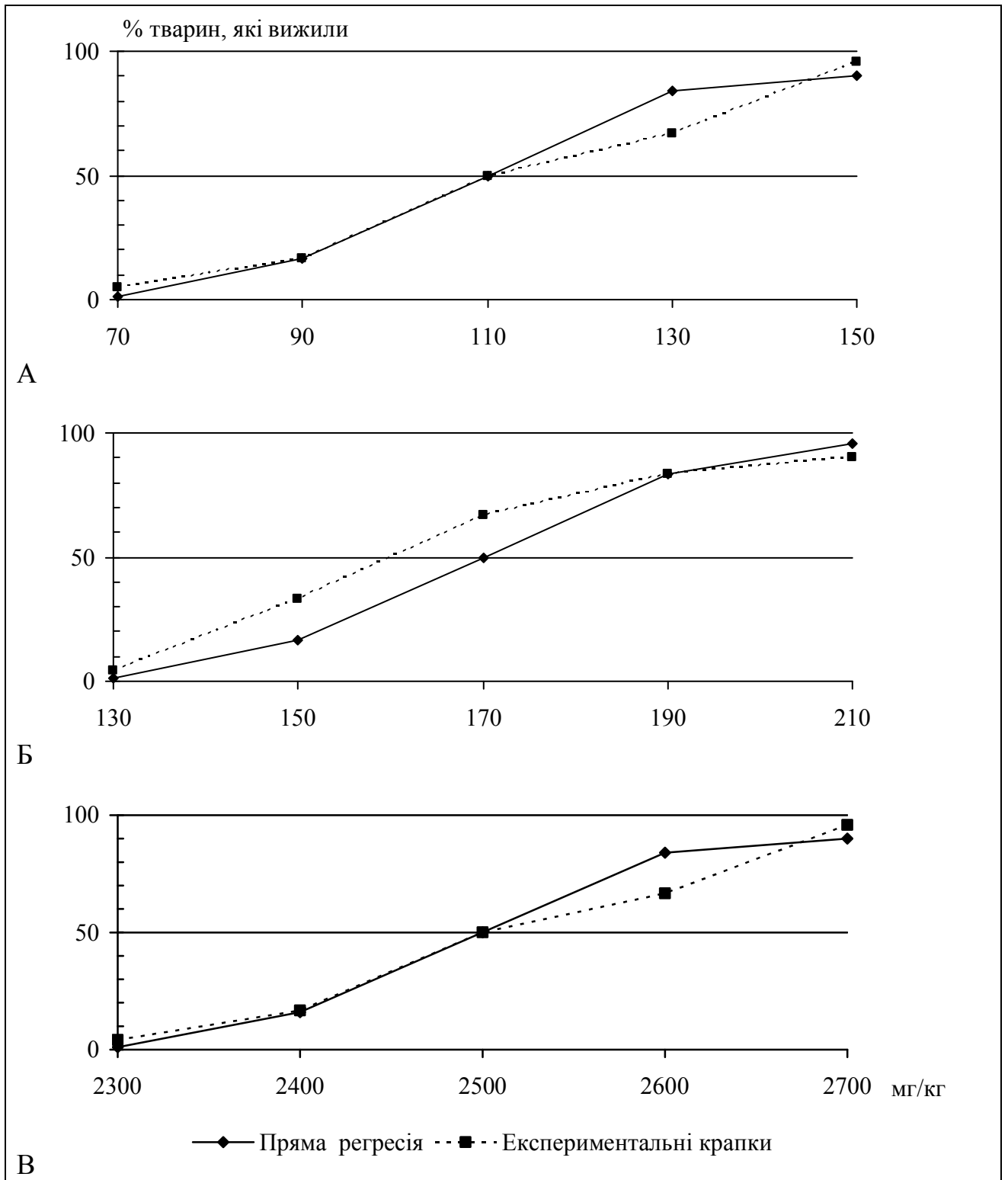


Рис. 3.2. Залежність між випробуваними дозами медгерму і летальним ефектом у мишей при різних шляхах введення
 На рис. 3.2, 3.3: А – пероральне; Б – підшкірне; В – внутрішньо-очеревинне введення

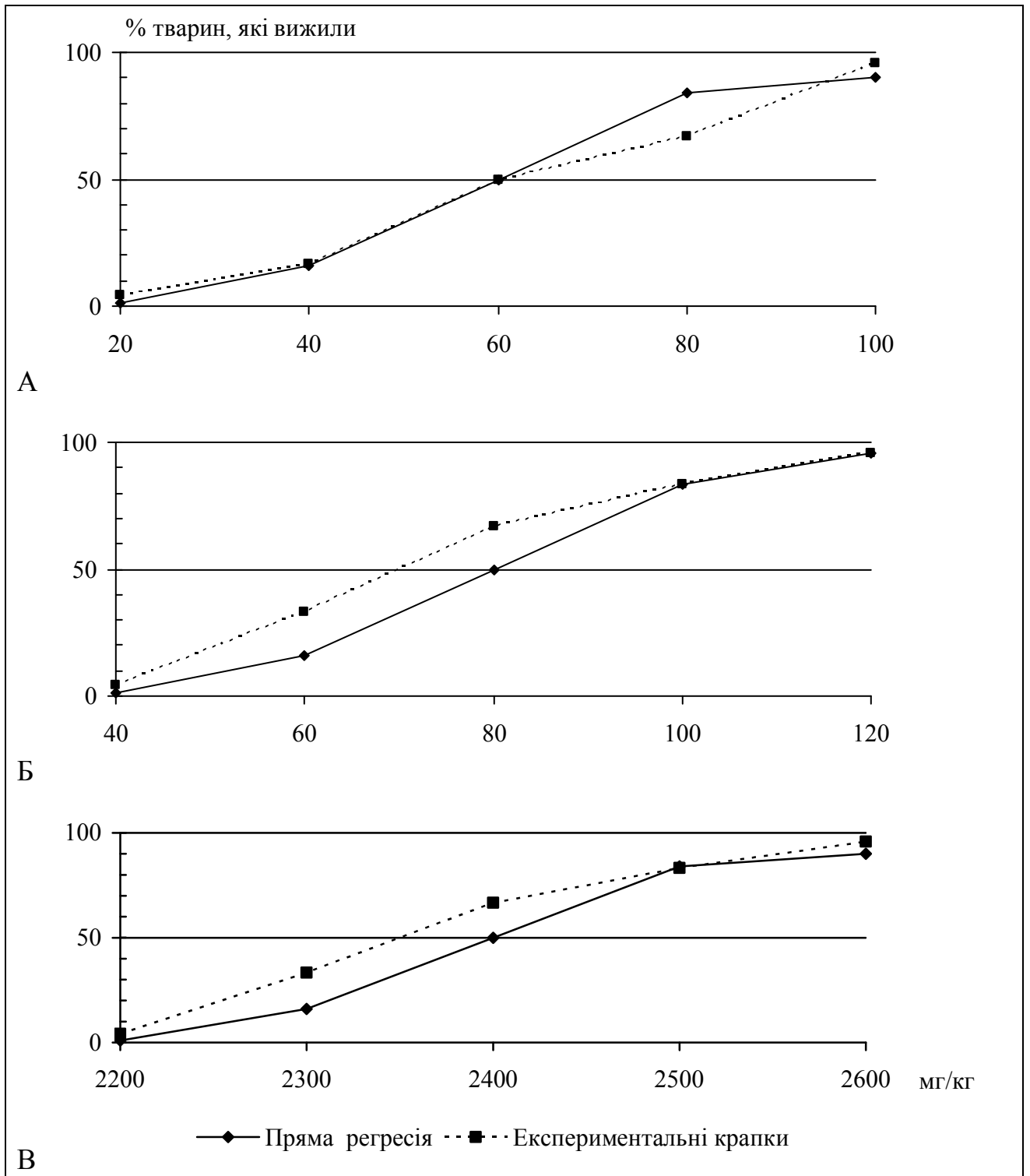


Рис. 3.3. Залежність між випробуваними дозами медгерму і летальним ефектом у щурів при різних шляхах введення

Гостра токсичність медгерму (мг/кг) у мишей залежно
від шляхів його введення (при $p < 0,05$)

Показники	Шлях введення		
	Внутрішньо-очеревинний	Підшкірний	Пероральний
ЛД ₅₀	113,55	163,26	2517,73
Стандартна похибка ЛД ₅₀	8,41	8,34	42,03
Нижня межа ЛД ₅₀	95,81	145,66	2429,06
Верхня межа ЛД ₅₀	131,28	180,85	2606,40
ЛД ₁₀	81,23	131,19	2356,13
ЛД ₁₆	88,33	138,24	2391,65
ЛД ₈₄	138,76	188,27	2643,81
ЛД ₁₀₀	151,37	200,78	2706,86
Абсолютна токсичність (1/ЛД ₅₀)	0,008800	0,006100	0,000397
Зона гострої токсичної дії (ЛД ₈₄ /ЛД ₁₆)	1,57	1,36	1,11
Функція кута нахилу (варіабельність смертельних доз, S)	1,25	1,17	1,05
Сумарний показник токсичності	0,0110	0,0071	0,0004

Порівняльна оцінка параметрів токсичності медгерму при трьох шляхах введення у різних видів гризунів показала деякі відмінності (див. табл. 3.5, 3.6). Так, зона гострої токсичної дії (співвідношення ЛД₈₄/ЛД₁₆) медгерму має велику значну широту. Однак у мишей показник співвідношення ЛД₈₄/ЛД₁₆ медгерму при досліджуваних шляхах введення був меншим, ніж у щурів (відповідно 1,57-1,11, 2,32-1,11). Водночас і у мишей, і у щурів виявлено однакову закономірність зміни меж зони гострої токсичності залежно від шляху введення, а саме: найбільша широта зони гострої токсичності спостерігалась при в/о шляху введення (миші — 1,57, щури — 2,32), а найменша при п/о шляху (1,11 у обох видів тварин). Різні значення співвідношення ЛД₈₄/ЛД₁₆ можна пояснити фармакогенетичними особливостями різних видів гризунів.

Гостра токсичність медгерму (мг/кг) у щурів залежно
від шляхів введення (при $p < 0,05$)

Показники	Шлях введення		
	Внутрішньо-очеревинний	Підшкірний	Пероральний
ЛД ₅₀	63,55	73,26	2366,29
Стандартна похибка ЛД ₅₀	8,41	8,34	41,69
Нижня межа ЛД ₅₀	45,81	55,66	2278,32
Верхня межа ЛД ₅₀	81,28	90,85	2454,26
ЛД ₁₀	31,23	41,19	2205,97
ЛД ₁₆	38,33	48,24	2241,21
ЛД ₈₄	88,76	98,27	2491,37
ЛД ₁₀₀	101,37	110,78	2553,91
Абсолютна токсичність (1/ЛД ₅₀)	0,016	0,014	0,000423
Зона гострої токсичної дії (ЛД ₈₄ /ЛД ₁₆)	2,32	2,04	1,11
Функція кута нахилу (варіабельність смертельних доз, S)	1,53	1,43	1,05
Сумарний показник токсичності	0,0240	0,0195	0,0004

За варіабельністю смертельних доз (функція кута нахилу), яка складає від 1,57 до 1,0, медгерм можна віднести до сполук, які не становлять високої потенційної небезпеки виникнення і розвитку отруєння. З цими даними повною мірою корелюють і величини сумарного показника токсичності.

Результати міжвидової екстраполяції на людей параметрів гострої токсичності, одержаних на тваринах, наведено у табл. 3.6.

Розрахункові показники токсичності і небезпеки медгерму для людини, показують, що він не представляє особливої небезпеки і для людей. Про це свідчать досить низькі значення середньосмертельної дози, абсолютної токсичності, сумарного показника токсичності та достатньо високі значення зони гострої токсичної дії медгерму, особливо при в/о, п/ш шляхах введення.

Параметри гострої токсичності медгерму для людини (мг/кг) (при $p < 0,05$)

Показники	Шлях введення		
	Внутрішньо- венний	Підшкірний	Перораль- ний
LD ₅₀	10,01	11,54	372,59
Стандартна похибка LD ₅₀	1,32	1,31	6,56
Нижня межа LD ₅₀	7,21	8,76	358,74
Верхня межа LD ₅₀	12,80	14,31	386,44
LD ₁₀	4,92	6,49	347,35
LD ₁₆	6,04	7,60	352,90
LD ₈₄	13,98	15,47	392,29
LD ₁₀₀	15,96	17,44	402,14
Абсолютна токсичність (1/LD ₅₀)	0,099	0,086	0,0027
Зона гострої токсичної дії (LD ₈₄ /LD ₁₆)	2,31	2,04	1,11
Функція кута нахилу (варіабельність смертельних доз, S)	1,53	1,43	1,05
Сумарний показник токсичності	0,12	0,09	0,003

Таким чином, нове похідне в ряду оксіетилідендифосфонатогерманатів медгерм належить до малотоксичних сполук (IV клас токсичності) при пероральному шляху введення і помірно токсичних (III клас) при внутрішньоочеревинному і підшкірному застосуванні у мишей і щурів. Він не має високої потенційної небезпеки розвитку отруєння і практично не шкідлива для людини. Все це свідчить про достатньо високу активність БАР і перспективність подальшого дослідження медгерму як потенційного лікарського засобу.

3.2.2. Токсичність при повторних введеннях БАР

Згідно вимогам доклінічного вивчення нового БАР обов'язковим є дослідження нешкідливості його неодноразового введення [296]. Враховуючи те, що, за даними вивчення гострої токсичності, медгерм належить до низько- та малотоксичних речовин (залежно від шляху введення), а передбачувана тривалість його використання в клінічній практиці має бути приблизно 30 діб, то підгостра токсичність медгерму вивчалась на тваринах протягом 28 діб, субхронічна і хронічна – відповідно 3 і 6 міс [296].

Встановлено, що при щоденному одноразовому застосуванні медгерму субтоксичними дозами $1/10$ і $1/20$ ЛД₅₀ протягом 28 діб, 3 та 6 міс не виявляв будь-якого токсичного ефекту. Тварини дослідних груп не мали значних відмінностей від щурів контрольної групи. Усі тварини, незалежно від дози і строку введення медгерму, добре споживали їжу, додавали у вазі. З боку шкіри і слизових оболонок видимих змін не відмічалось. Також не реєструвалось негативного впливу БАР на ріст та розвиток щурів, їх репродукцію. Проте все ж такі поведінкові реакції у щурів, яким вводився медгерм, мали свої особливості. Так, наприкінці 2-го тижня щури частково втрачали колишню рухову активність, були менш активними, частіше збивалися до купи. Це було більш виразним при введенні медгерму дозою $1/10$ ЛД₅₀, менш помітне при введенні БАР дозою $1/20$ ЛД₅₀. Порушень координації та судом не відмічалось. Приблизно наприкінці 3-го тижня (21-23 день) відмічалось посилення даної симптоматики. Потім, незважаючи на продовження введення БАР, відмічалось зменшення вище означених симптомів. До кінця експериментів гризуни були охайні, активні, доброзичливі, не проявляли ознак неспокою. До кінця спостереження як підгострої, так субхронічної і хронічної токсичності усі гризуни вижили.

Показники загальноклінічного та біохімічного аналізів крові, загальноклінічного аналізу сечі у гризунів дослідних груп впродовж всього періоду спостереження були у референтних межах і суттєво не відрізнялися від аналогічних показників у тварин контрольної групи.

Через 28 діб, 3 та 6 міс експерименту 2/3 тварин було забито і піддано патологоанатомічному дослідженню. Внутрішні органи видимих патологічних змін не мали. Для гістологічного дослідження були відібрані тканини печінки, серця, нирок, легень, селезінки, головного мозку, скелетних м'язів тварин.

Дані гістологічного вивчення препаратів головного мозку, легень, селезінки, скелетних м'язів під впливом синтезованої БАР, порівняно з контролем, виявили, що тривале введення великих доз медгерму не викликало ні дистрофічних, ні, тим більш, деструктивних порушень. Після 28-денного введення медгерму у міокарді, тканинах печінки і нирок тварин виявлено помірні гемодинамічні (повнокров'я) і незначні патоморфологічні (ознаки білкової дистрофії) зміни, які були дозозалежними і більш виразними при застосуванні БАР дозою 1/10 ЛД₁₀. Через 3 і 6 міс спостерігалось тільки повнокров'я судин у цих органах. Таким чином, ознаки білкової дистрофії мали зворотний характер. Цей факт потребує подальшого вивчення.

Результати дослідження токсичності медгерму у гострому та хронічному експериментах показали, що він не має кумулятивних властивостей — коефіцієнт кумуляції 6,1.

При аплікуванні розчину медгерму на шкіру кролів місцевоподразнювальних симптомів у вигляді гіперемії, припухлості, порушення цілісності шкірних покривів не спостерігалось. Не виявлено подразнювальних симптомів і при введенні медгерму у кон'юнктивальний мішок кролів. Таким чином, медгерм не здійснює місцевоподразнювального ефекту на шкірні покриви та слизові оболонки.

Проведення кон'юнктивальної та епікутатної проб сенсibilізованим мурчакам показало, що через 30 хв ознак алергічних реакцій не виявлено. Це свідчило про неспроможність медгерму викликати алергічні реакції негайного типу. Спостереження за сенсibilізованими тваринами протягом доби після введення БАР вирішувальною дозою також не виявила ознак алергічних реакцій. Таким чином, у медгерму відсутні антигенні властивості.

Все це дозволило стверджувати, що тривале введення щурам медгерму субтоксичними дозами 1/10 і 1/20 ЛД₅₀ не спричиняло токсичної дії та морфологічних змін. Він не спричиняв деструктивних змін у паренхіматозних органах і головному мозку. Медгерм при повторних введеннях не мав ні кумулятивних, ні місцевоподразнювальних властивостей. Крім того, медгерм не здійснює алергенної дії.

3.3. Загальні фармакологічні властивості медгерму

3.3.1. Вплив медгерму на поведінкові реакції тварин у тесті

«відкрите поле»

Організація досліду була виконана як наведено у підрозділі 2.3.1. Виходячи з результатів вивчення нешкідливості нової БАР, в подальших експериментах використовували такі дози (табл. 3.7).

Таблиця 3.7

Дози медгерму, які використовувались в експериментах (в/о, мг/кг)

Частина від ЛД ₅₀	Види тварин	
	миші	щури
1/40	2,84	1,59
1/80	1,42	0,79
1/160	0,71	0,40
1/320	0,35	0,20

У результаті дослідження встановлено, що у щурів контрольної групи кількість поведінкових реакцій практично не змінювалась відносно вихідних даних (табл. 3.8). Водночас медгерм дозами 1/40 і 1/80 ЛД₅₀ викликав значні зміни більшості поведінкових елементів у тварин відносно як вихідного стану, так і аналогічних показників тварин контрольної групи (див. табл. 3.8, рис. 3.4).

Введення медгерму дозою 1/160 ЛД₅₀ не виявило вірогідних змін кількості поведінкових елементів у щурів, за винятком «сидіння на місці».

Таблиця 3.8

Вплив медгерму на поведінкові елементи щурів (абс, $M \pm m$, $n=6$)

Поведінковий елемент	Вихідні дані	Групи тварин			
		I	II	III	IV
Обн	23,89±1,32	25,67±1,57	8,33±1,4*	5,43±0,41*	26,95±1,65
ЦК	2,11±0,84	2,33±0,52	1,17±0,6*	3,17±0,33*	2,4±0,54
ЗК	65,00±4,11	61,33±3,81	23,17±3,83*	42,33±9,08*	62,25±3,87
РнМ	6,83±0,58	7,17±0,94	2,67±0,65*	4,67±0,65*	7,06±0,93
ВС	2,00±0,57	1,83±0,41	1,17±0,33*	2,17±0,94*	1,92±0,43
СУ	24,11±1,65	24,00±1,43	6,83±0,94*	17,67±0,97*	22,32±1,5
Нр	2,67±0,69	2,83±1,47	1,33±0,07*	3,67±0,65*	2,82±1,48
СнМ	3,11±0,42	3,33±0,41	2,33±0,12*	1,50±0,44*	3,83±0,45
Гр	2,28±0,47	2,33±1,2	3,67±0,18*	4,17±0,21*	2,45±1,26
Фр	3,28±0,65	3,17±1,63	1,33±0,07*	1,83±0,09*	3,21±1,65
Деф	1,96±0,64	2,15±0,51	1,04±0,33*	1,07±0,52*	2,09±0,49
Ур	2,17±0,46	2,12±0,26	1,00±0,51*	1,17±0,25*	2,01±0,25
Інтегральні характеристики індивідуальної поведінки					
ЗРА	128,89±6,44	127,49±6,37	48,34±2,42*	83,28±4,16*	128,17±6,41
Пер	67,11±3,36	63,66±3,18	24,33±1,22*	45,50±2,28*	64,65±3,23
ЕР	6,39±0,32	6,50±0,33	3,66±0,18*	3,33±0,17*	7,04±0,35
ЕТ	32,94±1,65	33,00±1,65	10,67±0,53*	24,51±1,23*	31,30±1,57
ОДА	93,67±4,68	92,16±4,61	34,00±1,70*	54,60±2,73*	94,42±4,72

Примітка у табл. 3.8-3.9: * – порівняно з тваринами до введення БАР ($p < 0,05$)

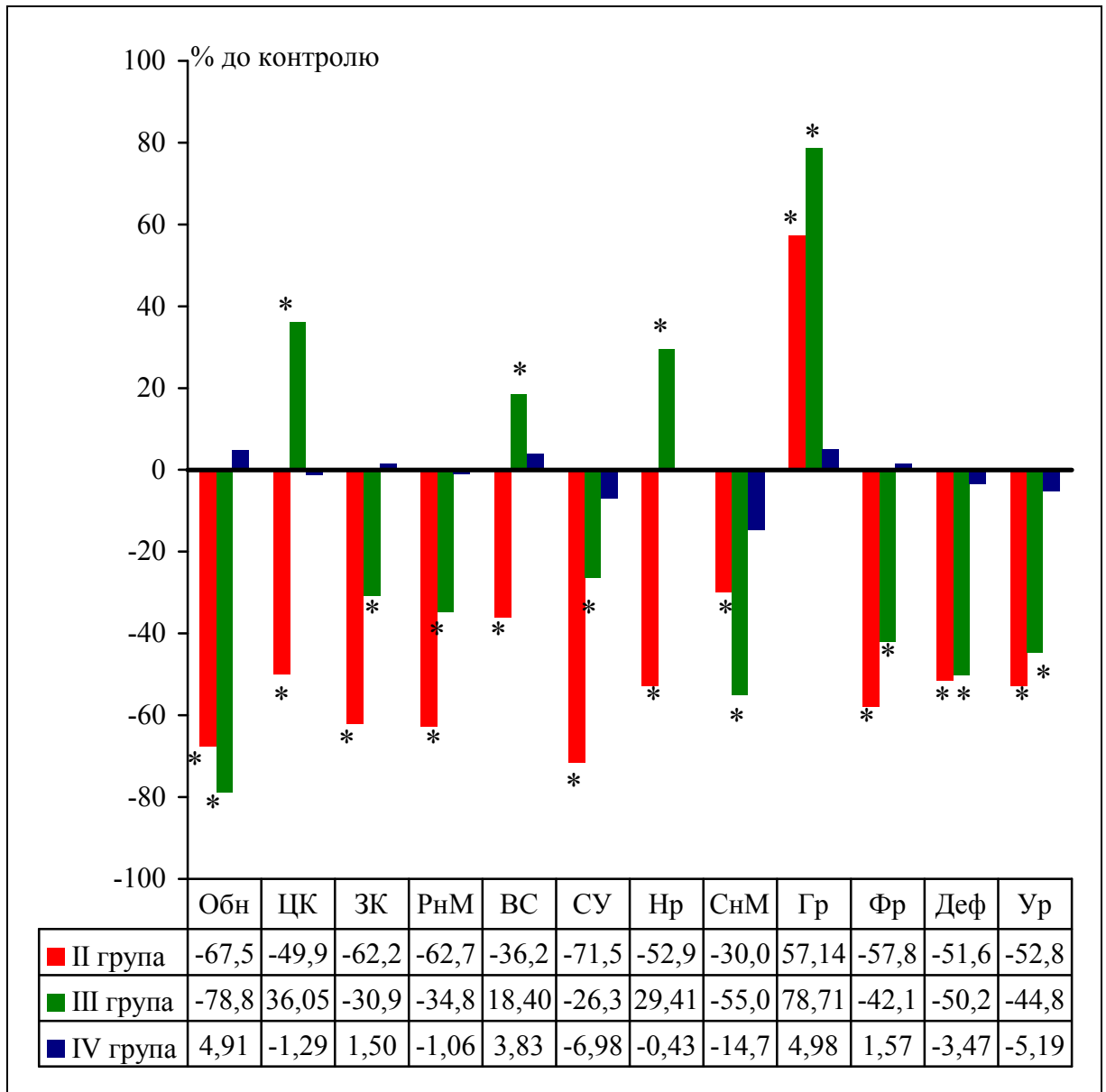


Рис. 3.4. Динаміка зміни кількості елементів поведінкових реакцій при в/о введенні медгерму у щурів дослідних груп відносно контролю
 На рис. 3.4-3.6, табл. 3.10-3.14: * – достовірність порівняно до контролю ($p < 0,05$)

У тварин II і III груп поведінкові елементи змінювались відносно контролю як кількісно, так і за спрямованістю. При введенні медгерму дозою $1/40$ ЛД₅₀ у щурів значно зменшувалась кількість усіх поведінкових елементів, окрім елемента «грумінг», який значно і достовірно збільшувався (на 57,1 %, $p < 0,05$) (див. рис. 3.4).

При введенні медгерму дозою $1/80$ ЛД₅₀ у тварин спостерігалось збільшення кількості таких показників, як «грумінг» (на 78,7 %), «вертикальна стійка» (на 18,4 %), «нора» (на 29,4 %), «центральний квадрат» (на 36,1 %). Однак таке збільшення було достовірним тільки у елемента «грумінг» ($p < 0,05$).

Водночас, порівняно з аналогічними показниками тварин контрольної групи, у щурів, які одержували медгерм дозою $1/80$ ЛД₅₀, спостерігалось достовірне ($p < 0,05$) зменшення таких поведінкових елементів, як «обнюхування» (на 78,8 %), «сидіння на місці» (на 55,0 %), «дефекація» (на 50,2 %), «уринація» (на 44,8 %), «фризінг» (на 42,1 %), «зовнішій квадрат» (на 30,9 %), «стійка з упором» (на 26,3 %). При введенні щурам медгерму дозою $1/160$ ЛД₅₀ поведінкові реакції у тесті «відкрите поле» достовірно не змінювались.

Дані зміни поведінкових реакцій при введенні щурам медгерму зумовили порушення інтегральних характеристик їх індивідуальної поведінки (рис. 3.5). Введення медгерму дозами $1/40$ і $1/80$ ЛД₅₀ призводило до пригнічення всіх показників індивідуальної поведінки щурів відносно вихідного рівня і аналогічних показників контрольної групи. Причому ці зміни були дозозалежними. Так, введення медгерму дозою $1/40$ ЛД₅₀ більшою мірою пригнічувало горизонтальну локомоцію (на 61,8 %), емоційну тривожність (на 67,7%) та орієнтовно-дослідницьку активність (на 63,1 %). Медгерм дозою $1/80$ ЛД₅₀ також пригнічував ці показники, але меншою мірою (відповідно на 28,5, 25,7 і 40,8%).

Вплив медгерму дозами $1/40$ та $1/80$ ЛД₅₀ на емоційну реактивність був приблизно однаковий (див. рис. 3.5). Усі ці зміни у поведінці щурів II, III груп достовірно відрізнялися від аналогічних показників у тварин контрольної групи ($p < 0,05$).

Також встановлено, що медгерм дозою $1/160$ ЛД₅₀ не здійснював значного впливу на ці показники. Таким чином, медгерм при в/о введенні здійснює пряму дозозалежну нейротропну депримуєчу дію. Цей ефект виявляється в пригніченні рухової та орієнтовно-дослідницької активності. Зменшення показників емоційної сфери щурів у тесті «відкрите поле» може бути свідченням його психотропної дії, аналогічної анксиолітикам.

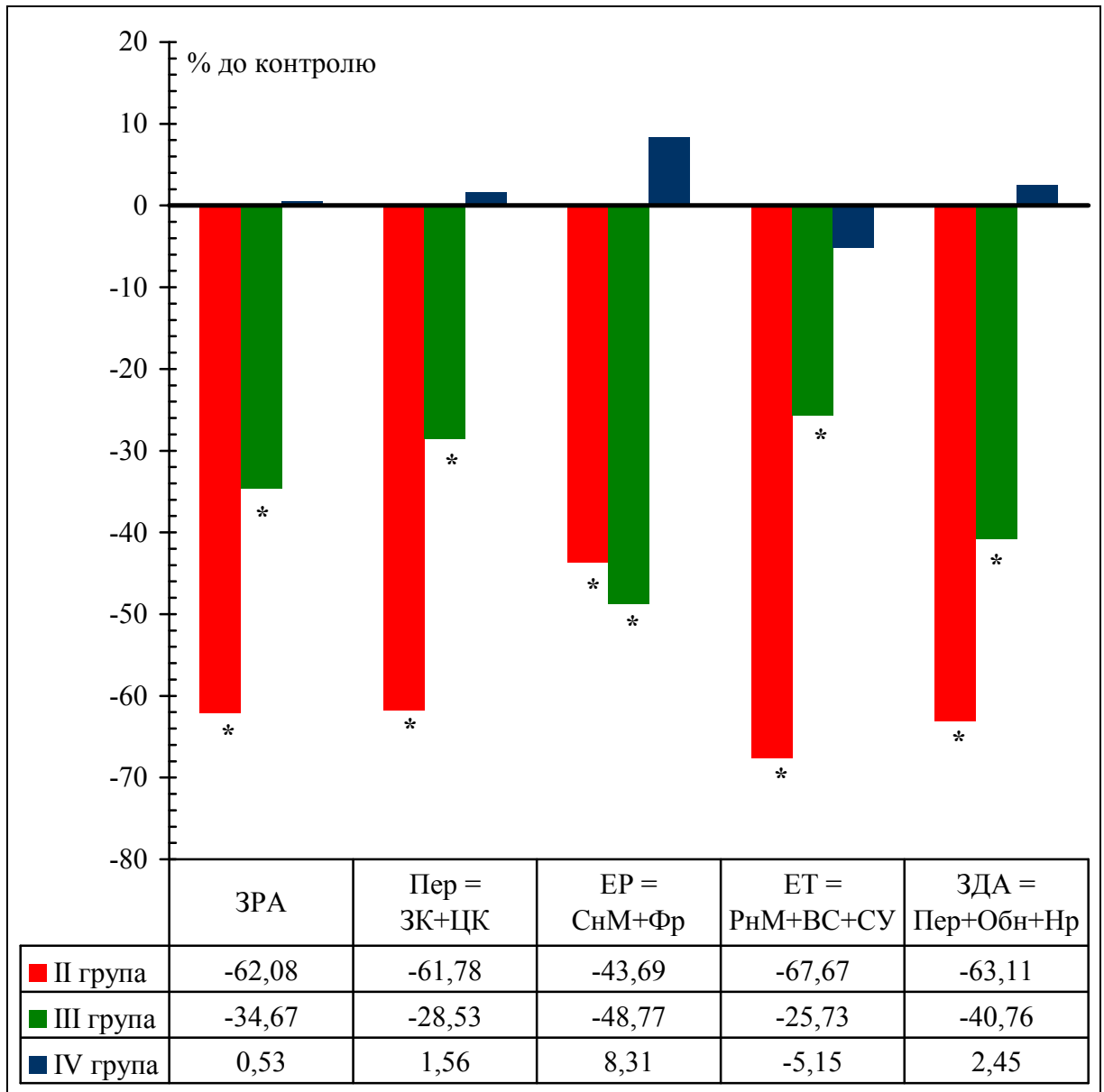


Рис. 3.5. Динаміка зміни інтегральних характеристик індивідуальної поведінки у щурів дослідних груп відносно тварин контрольної групи

3.3.2. Вплив медгерму на підвищену рухову активність тварин

До методик, що застосовуються при фармакологічному скринінгу нових БАР, належить аналіз їх взаємодії з стандартними лікарськими засобами. Для вивчення можливої нейротропної активності медгерму в даній серії дослідження був використаний як збуджуючий фармакологічний аналізатор – «класич-

ний» психостимулятор групи фенілалкіламінів амфетаміну сульфат. Досліди були проведені як наведено у підрозділі 2.3.2.

У результаті експерименту встановлено, що під впливом амфетаміну загальна рухова активність щурів значно підвищувалася (на 75,1 %), що було проявом його основного психостимулюючого ефекту (табл. 3.9, рис. 3.6).

Таблиця 3.9

Вплив медгерму на загальну рухову активність щурів при сумісному введенні з амфетаміном (абс., $M \pm m$, $n=6$)

Поведінковий елемент	Вихідні дані	Групи тварин			
		I (конт- роль)	II	III	IV
Обн	23,89± 1,32	37,97± 4,10*	8,44± 0,91*	31,64± 3,41*	36,07± 2,13*
ЦК	2,11± 0,84	5,32± 0,92	2,13± 0,37 ¹	1,13± 0,19*	5,16± 0,13*
ЗК	65,00± 4,11	116,17± 16,9*	24,20± 3,52*	43,02± 6,27*	119,77± 9,58
РнМ	6,83± 0,58	11,62± 2,18*	10,56± 1,98*	4,65± 0,87*	11,79± 1,18
ВС	2,00± 0,57	4,58± 0,57*	1,31± 0,16	1,28± 0,57	4,46± 0,23*
СУ	24,11± 1,65	38,82± 6,52*	11,76± 1,98*	15,53± 2,61*	44,64± 1,70*
Нр	2,67± 0,69	5,38± 1,81*	1,58± 0,53	2,69± 0,90	5,08± 0,37*
Гр	2,28± 0,47	5,82± 1,03*	3,88± 0,69*	4,12± 0,01*	6,10± 0,34*
ЗРА	128,89± 1,28	225,68± 4,25*	63,86± 1,27*	104,06± 2,10*	233,07± 2,80*

Амфетамін значно і достовірно ($p < 0,05$) підвищував усі поведінкові елементи. Більш ніж на 100% підвищувалися такі поведінкові елементи: «грумінг» (на 155,3 %), «центральный квадрат» (на 152,1 %), «вертикальна стійка» (на 129,0 %) та «нора» (на 101,5 %). Кількість поведінкових елементів, що залишилися («зовнішній квадрат», «рух на місці», «стійка з упором» та «обнюхування») збільшувалась від 59 до 79 % (див. рис. 3.6).

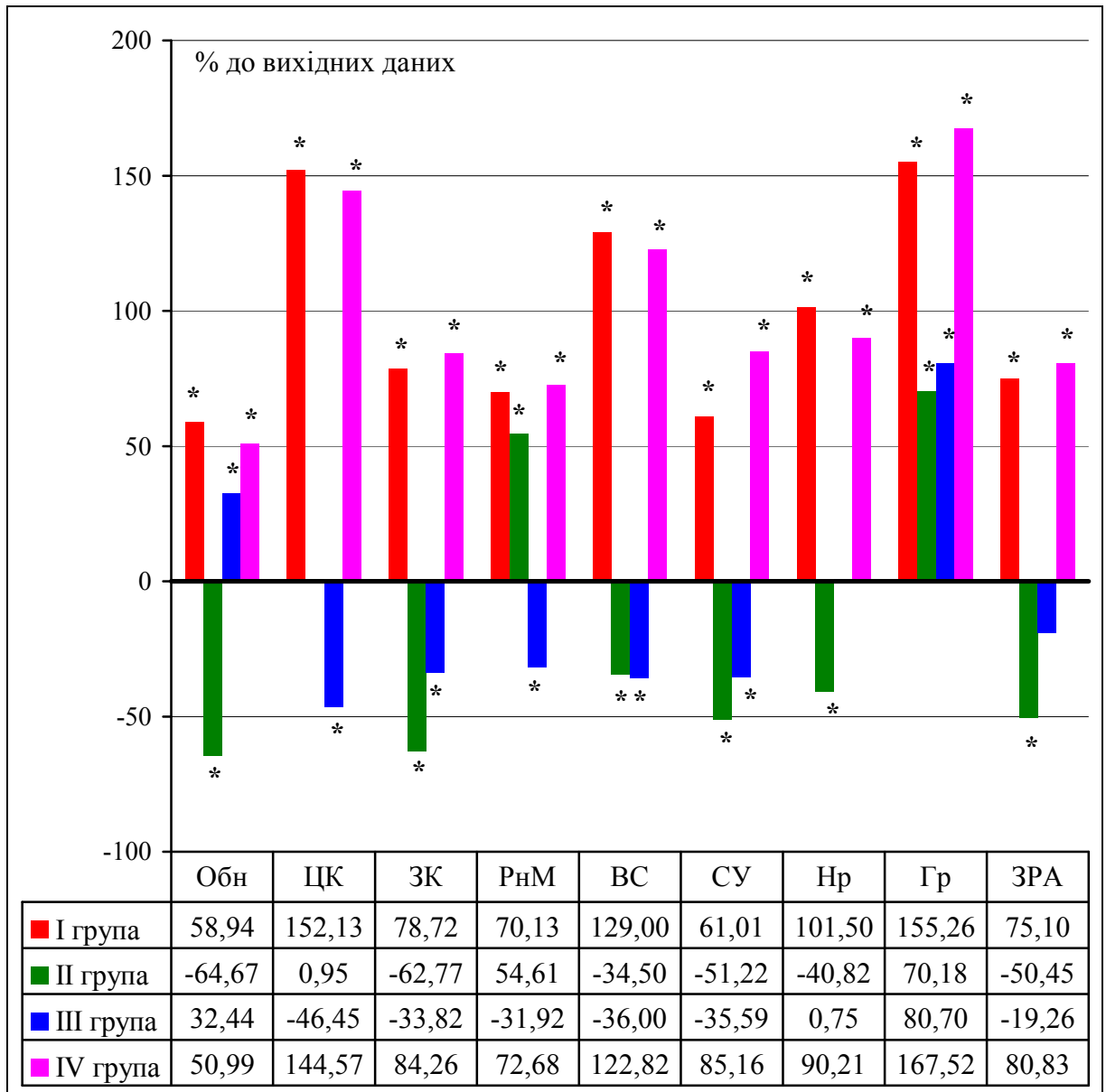


Рис. 3.6. Динаміка зміни кількості елементів поведінкових реакцій при су-
місному введенні амфетаміну та медгерму у щурів

Порівняно з вихідними даними, застосування амфетаміну на фоні введення медгерму дозою 1/40 ЛД₅₀ хоча і викликало підвищення кількості деяких поведінкових елементів («грумінг» та «рух на місці»), однак значно меншою мірою (відповідно на 70,2 та 54,6 %, $p < 0,05$). Кількість інших поведінкових елементів у щурів II групи порівняно з вихідним рівнем суттєво зменшувалась (див. рис. 3.6).

Крім того, попереднє введення медгерму дозою 1/40 ЛД₅₀ також викликало значне зниження кількості усіх поведінкових елементів порівняно з ана-

логічними показниками тварин контрольної групи, які отримували амфетамін на фоні введення фізіологічного розчину (див. рис. 3.6).

Порівняно з вихідним станом сумісне з амфетаміном в/о введення медгерму дозою $1/80$ ЛД₅₀ викликало такі зміни. На відміну від дози $1/40$ ЛД₅₀ спостерігалось достовірне і значне підвищення кількості поведінкових елементів: «грумінг» (на 80,7 %), «обнюхування» (на 32,4%), та зменшення кількості: «центральный квадрат» (на 46,5 %), «вертикальна стійка» (на 36,0 %), «стійка з упором» (на 35,6 %), «зовнішній квадрат» (на 33,8%), а кількість поведінкового елемента «нора» суттєво не змінювалось. Водночас, відносно тварин контрольної групи, сумісне введення амфетаміну та медгерму дозою $1/80$ ЛД₅₀ викликало значне зниження кількості поведінкових елементів (див. рис. 3.6).

Цікавим є той факт, що при взаємодії з амфетаміном медгерм дозою $1/80$ ЛД₅₀ не тільки більш стабільно зберігав протитривожну активність щурів, ніж дозою $1/40$ ЛД₅₀ (зменшення емоційної тривожності відповідно на 103,5 і 31,1%), а навіть збільшував її: без психостимулятора вона зменшувалась тільки на 25,7 % (дозою $1/40$ ЛД₅₀ – на 67,7 %). При цьому введення медгерму дозою $1/80$ ЛД₅₀ з амфетаміном значно знижувало кількість переміщень (на 80,3 проти 61,8 % дозою $1/40$ ЛД₅₀). Проте краще зберігалась орієнтовано-дослідницька активність. При дозі $1/80$ ЛД₅₀ спостерігалось її зниження тільки на 48,7 % (без амфетаміну – на 40,8 %), при $1/40$ ЛД₅₀ – на 167,8 % (без психостимулятора – на 63,1 %).

Порівняно з контролем сумісне з амфетаміном в/о введення медгерму дозою $1/160$ ЛД₅₀ викликало аналогічні за спрямованістю і виразністю зміни рухової активності тварин, як і психостимулятор. При цьому, необхідно врахувати, що в даній дозі самостійно медгерм практично не впливав на загальну рухову активність і поведінкові реакції щурів.

Таким чином, встановлено, що медгерм дозами $1/40$ і $1/80$ ЛД₅₀ має антагоністичну взаємодію з «класичним» психостимулятором амфетаміном, який є потужним дофаміно-, адреноміметиком. Найбільшу цікавість у плані подальшого вивчення нейротропної дії викликає медгерм дозою $1/80$ ЛД₅₀.

3.3.3. Вплив медгерму на тривалість «тіопенталового сну»

Дослідження впливу медгерму на фармакодинамічні ефекти стандартного депримуючого засобу, похідного барбітурової кислоти – тіопенталу натрію, який є ГАМК-міметичним препаратом, дозволяє передбачити деякі особливості дії нової БАР. Досліди проведено 2-ма серіями, як наведено у підрозд. 2.3.3.

За результатами 1-ї серії досліджень, метою якої було вивчення безпосереднього впливу медгерму на снодійний ефект тіопенталу натрію, встановлено, що введення нової БАР трьома дозами (1/40, 1/80 і 1/160 ЛД₅₀) за 30 хв до введення тіопенталу натрію достовірно не впливало на швидкість настання сну у мишей (табл. 3.10).

Таблиця 3.10

Вплив медгерму на тривалість тіопенталового сну у мишей (M±m, n=6)

Група тварин	Час засинання (хв)	Тривалість сну (хв)
1 серія (застосування БАР за 30 хв до введення тіопенталу натрію)		
I (контроль)	2,00±0,11	76,17±3,10
II	1,98±0,13	36,50±2,31 *
III	2,00±0,18	40,40±2,51 *
IV	1,91±0,11	71,02±1,90
2 серія (застосування БАР за 24 год до введення тіопенталу натрію)		
I (контроль)	2,00±0,11	76,17±3,10
II	1,98±0,13	39,58±1,98 *
III	2,00±0,18	55,86±1,68 *
IV	1,91±0,11	72,15±2,13

Проте при введенні медгерму дозами 1/40 і 1/80 ЛД₅₀ спостерігалось значне зниження тривалості сну у мишей відповідно на 52,1 та 47,0 % (p<0,05). Застосування нової БАР дозою 1/160 ЛД₅₀ достовірно не впливало на тривалість «тіопенталового сну» у мишей (див. табл. 3.10).

Метою 2-ї серії даних експериментів було вивчення можливого впливу нової БАР на швидкість біотрансформації тіопенталу натрію. Виявлено, що при введенні медгерму трьома дозами за 24 год до застосування тіопенталу натрію час засинання мишей також достовірно не змінювався. Водночас застосування БАР дозами $1/40$ і $1/80$ ЛД₅₀ приводило до суттєвого і достовірного ($p < 0,05$) зниження тривалості сну у тварин відповідно на 48,1 і 26,7 %. Якщо медгерм вводився дозою $1/160$ ЛД₅₀, тоді тривалість "тіопенталового сну" у дослідних групах не відрізнялась від аналогічного показника контрольних тварин.

Таким чином, отримані результати свідчать про те, що медгерм суттєво не впливав на біодоступність тіопенталу натрію, оскільки швидкість настання «тіопенталового сну» в контрольних і дослідних групах практично не відрізнялась. Достовірне скорочення тривалості «тіопенталового сну» у тварин, які одержували медгерм дозами $1/40$ та $1/80$ ЛД₅₀ за 30 хв до введення тіопенталу натрію у 1-ї серії експериментів, зумовлено його антагонізмом відносно снодійного ефекту тіопенталу натрію. Достовірне зменшення тривалості сну в 2-й серії дослідів у тварин, які одержували медгерм дозами $1/40$ і $1/80$ ЛД₅₀ за 24 год до введення тіопенталу натрію, дозволило зробити висновок про посилення під дією нової БАР детоксикуючої функції печінки. Це прискорювало біотрансформацію тіопенталу натрію і знижувало його снодійну дію.

Таким чином, медгерм дозами $1/40$ і $1/80$ ЛД₅₀ виявив асомногенний ефект. Крім того, медгерму можливо притаманна гепатотропна дія, що є підставою для подальшого вивчення його впливу на печінку.

3.3.4. Вплив медгерму на феномен «струшування голови»

Досліди були проведені, як наведено у підрозділі 2.3.2. Як свідчать дані табл. 3.11, у тварин контрольної групи введення 5-окситриптофану викликало феномен «струшування голови». У перші 10 хв кількість струшувань голови була в 1,7 разів меншою, ніж у наступні 10 хв.

На фоні введення медгерму дозою $1/80$ ЛД₅₀ встановлено, що кількість струшувань голови у мишей збільшувалася. Так, у перші 10 хв кількість струшувань голови у мишей збільшилась у 1,49 рази, а у наступні 10 хв – 2,14 рази.

Таблиця 3.11

Вплив медгерму на феномен «струшування голови», викликаного 5-окситриптофаном ($M \pm m$, $n=6$)

Група тварин	Кількість струшувань голови	
	перші 10 хв	другі 10 хв
Контроль	16,80±1,76	27,25±3,51
Медгерм ($1/80$ ЛД ₅₀)	25,03±0,83*	58,31±3,37*

Таким чином, медгерм дозою $1/80$ ЛД₅₀ здійснював синергічну взаємодію з попередником серотоніну 5-окситриптофаном, що свідчить про міметичний вплив медгерму на центральну серотонінергічну передачу.

3.3.5. Вплив медгерму на координацію рухів і м'язовий тонус тварин

Дослідження впливу медгерму на координацію рухів і м'язовий тонус тварин дало можливість встановити, що миші контрольної та дослідних груп у 100 % випадків на 30, 60 та 90 хв після введення БАР зберігали здатність утримуватися на «обертвовому стрижні» більше 2-х хв. Це свідчить про те, що в/о введення медгерму дозами $1/40$, $1/80$ та $1/160$ ЛД₅₀ не викликало міорелаксантиної дії і не впливало на координацію рухів тварин.

3.3.6. Вивчення знеболювальної та протизапальної активності медгерму

Дослідження периферичного компонента аналгетичного ефекту, яке проведено на моделі «оцтових корчів», виявило, що п/о введення медгерму дозою $1/160$ ЛД₅₀ не інгібувало оцтові корчі у тварин, а дозами $1/40$ і $1/80$ ЛД₅₀ досто-

вірно значно зменшувало їх кількість відповідно на 52,5 і 17,0 % (табл. 3.12). Це свідчить про дозозалежне гальмування даною БАР місцевої активації медіаторів запалення і болю.

Таблиця 3.12

Аналгезуюча активність медгерму у тесті «оцтовокислих корчів» ($M \pm m$, $n=6$)

Доза, мг/кг	Кількість «корчів» у контролі	Кількість «корчів» у досліді
1/40 ЛД ₅₀	23,50±0,84	11,16±0,74*
1/80 ЛД ₅₀	23,50±0,84	20,18±0,44*
1/160 ЛД ₅₀	23,50±0,84	22,83±0,94

Медіатори болю одночасно є і медіаторами запалення, тому логічним було вивчення антиексудативної активності медгерму [339, 340]. У результаті експериментів виявлено, що медгерм дозами 1/40 і 1/80 ЛД₅₀ суттєво зменшував набряк тканини лапки мишей, який викликався 1 % розчином карагеніну, а дозою 1/160 ЛД₅₀ практично не впливав на його виразність (табл. 3.13).

Таблиця 3.13

Коефіцієнт інгібування карагенінового набряку тканин лапки мишей на фоні введення медгерму ($M \pm m$, умовні одиниці, $n=6$)

Групи тварин	Коефіцієнт інгібування набряку (V_2/V_1) через			
	30 хв	60 хв	120 хв	180 хв
I (контроль)	1,20±0,036	1,45±0,058	1,56±0,051	1,60±0,066
II	0,06±0,020*	0,31±0,020*	0,76±0,040*	0,93±0,038*
III	0,80±0,026*	1,04±0,045*	1,24±0,026*	1,39±0,039*
IV	1,10±0,058	1,31±0,068	1,49±0,061	1,53±0,043

Значний відсоток інгібування спостерігався при введенні медгерму дозою 1/40 ЛД₅₀ на 30 та 180 хв (відповідно на 95,0 і 41,3 %). Найбільш рівномірний як за часом, так і виразністю вплив на запалення відмічався при введенні

досліджуваної БАР дозою 1/80 ЛД₅₀ (див. табл. 3.13). Отримані результати свідчать про виразний дозозалежний вплив медгерму на гостре асептичне запалення, яке спричиняється карагеніном. Тим самим зазначається, що медгерм здійснює інгібуючий вплив на циклооксигеназний шлях розвитку запалення.

Таким чином, медгерм виявляв аналгетичну активність на моделі оцтовокислих корчів та антиексудативну активність на моделі карагенінового запалення. Слід відмітити, що ці ефекти мали дозозалежну спрямованість. Найбільшою активністю медгерм мав дозою 1/40 ЛД₅₀, меншою - 1/80 ЛД₅₀. Введення медгерму дозою 1/160 ЛД₅₀ не викликало ні аналгетичного, ні антиексудативного ефекту (на моделі карагенінового запалення).

Результати вивчення протизапальної активності медгерму на моделі зимозанового набряку показали, що медгерм не впливав на ліпооксигеназний шлях перетворення арахідонової кислоти (табл. 3.14).

Таблиця 3.14

Коефіцієнт інгібування зимозанового набряку тканин лапки мишей на фоні введення медгерму ($M \pm m$, умовні одиниці, $n=6$)

Групи тварин	Коефіцієнт інгібування набряку (V_2/V_1) через			
	30 хв	60 хв	120 хв	180 хв
I (контроль)	1,25±0,05	1,51±0,06	1,63±0,06	1,88±0,07
II	1,24±0,05	1,50±0,06	1,61±0,06	1,87±0,06
III	1,23±0,05	1,49±0,06	1,60±0,06	1,86±0,08
IV	1,23±0,04	1,50±0,05	1,62±0,06	1,87±0,04

Враховуючи, що медгерм трьома дозами не змінював ексудативний ефект зимозану, а дозами 1/40 і 1/80 ЛД₅₀ здійснював значний антиексудативний ефект на фоні карагенінового запалення, можна припустити, що медгерм є інгібітором циклооксигенази. Це диктує окремий напрям досліджень цієї БАР.

Результати досліджень даного розділу опубліковано:

1. Тимчишин О. Л. Гостра токсичність медгерму - нового похідного германієвої солі діфосфонової кислоти з міддю / О. Л. Тимчишин, В. В. Годован, І.Й. Сейфулліна // Одеський медичний журнал. — 2010. — № 2. — С. 23-26.

2. Тимчишин О. Л. Токсикологічна характеристика нової біологічно активної речовини медгерму / О. Л. Тимчишин, В. В. Годован // Клінічна та експериментальна фармакологія метаболічних коректорів, органопротекція, доказова медицина : VI Всеукраїнська наук.-практ. конф. з міжнародною участю з клінічної фармакології, присвячена 90-річчю від дня народження професора О.О. Столярчука, 10-11.11.10 р., Вінниця : тези доп., 2010. — С. 385-386.

3. Пат. 66392 Україна, МПК (2011.01.) А61Р 1/16 (2006.01), А61К 31/30 (2006.01), А61К 9/14 (2006.01), G09В 23/28 (2006.01). Медгерм - біологічно активна гепатопротекторна речовина / Тимчишин О. Л., Годован В. В., Кресюн В. Й., Сейфулліна І. Й., Марцинко О. Е. ; заявник та патентовласник Одеський національний медичний університет. - № u201113639 ; заявл. 21.11.2011 р. ; опубл. 26.11.2011 р., Бюл. № 24. — 6 с.

4. Тимчишин О. Л. Вивчення протизапальних та аналгетичних властивостей нового похідного германієвої солі діфосфонової кислоти з купрумом / О. Л. Тимчишин, В. В. Годован // Клінічна фармакологія та фармакотерапія у світі доказової медицини : VII Всеукраїнська наук.-практ. конф. з міжнар. уч. ; Вінниця, 25-26 листопада 2013 р. : матеріали. — Вінниця, 2013. — С. 237-238.

5. Тимчишин О. Л. Оцінка впливу медгерму на фармакологічні ефекти тіопенталу натрію / О. Л. Тимчишин // Актуальні питання біології, екології, медицини та фармакології : наук.-практ. конф. з міжнар. уч., 26-27 вересня 2013 р., Харків : матеріали. — Харків, 2013. — С. 166.

РОЗДІЛ 4
ВПЛИВ МЕДГЕРМУ НА БІОХІМІЧНІ ПОКАЗНИКИ ТА
МОРФОЛОГІЧНИЙ СТАН ІНТАКТНИХ ТВАРИН

Враховуючи результати проведеного у попередньому розділі токсикологічного и загальнофармакологічного дослідження нової сполуки в ряду оксіетилідендифосфонатогерманатів – медгерму, важливим було встановити вплив його курсового введення на біохімічні показники та морфологічний стан паренхіматозних органів інтактних тварин, що стало метою даної серії роботи.

4.1. Активність маркерних ферментів печінки інтактних тварин на фоні курсового введення медгерму

У результаті проведених досліджень виявлена важлива закономірність впливу курсового введення медгерму трьома дозами 1/40, 1/80 і 1/160 ЛД₅₀ на активність ферментів цитолізу (табл. 4.1, рис. 4.1, 4.2). Встановлено, що при курсовому в/о введенні медгерму даними дозами значних змін активності АлАТ як у СК, так і у ТП не відбувалось.

Таблиця 4.1

Активність ферментів цитолізу в сироватці крові та печінки інтактних тварин на фоні курсового введення різних доз медгерму (M±m, n=6)

Група тварин	АлАТ		АсАТ	
	СК (мккат/л)	ТП (мккат/Г _{тк})	СК (мккат/л)	ТП (мккат/Г _{тк})
I (контроль)	1,97±0,14	55,10±3,17	2,40±0,10	161,19±5,64
II	1,89±0,22	61,36±5,14	9,65±1,00*	12,99±1,35*
III	1,99±0,43	56,79±7,57	8,33±1,09*	22,28±2,85*
IV	2,12±0,16	55,45±6,74	3,01±0,20*	140,48±14,13*

Примітка: У табл. 4.1-4.8 * - достовірно порівняно з контролем (p<0,05)

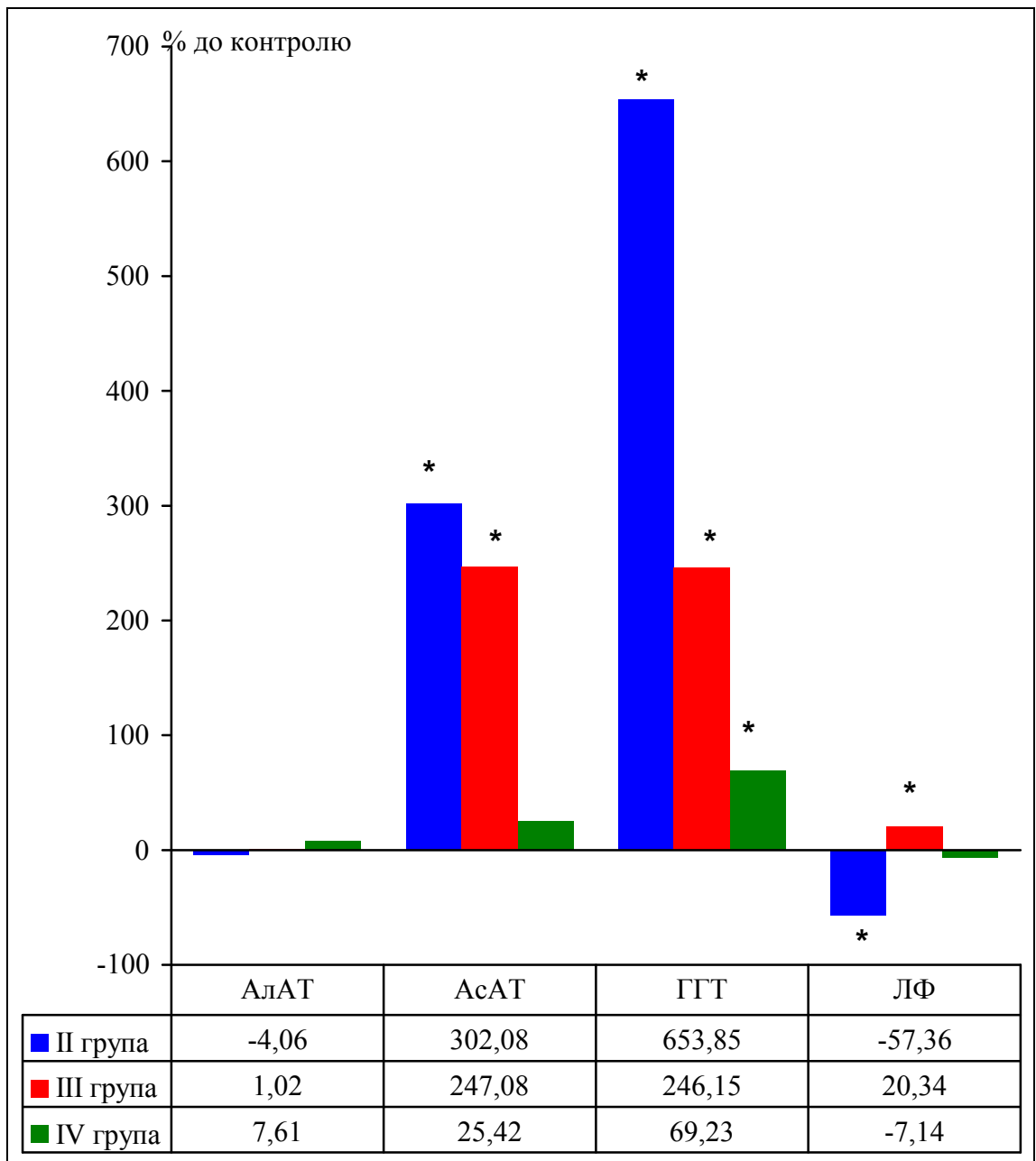


Рис. 4.1. Динаміка зміни активності АлАТ, АсАТ, ГГТ і ЛФ в СК інтактних щурів на фоні курсового введення медгерму різними дозами

На рис. 4.1-4.4: по осі абсцис – групи тварин;

* - достовірність порівняно з контролем ($p < 0,05$)

Активність АсАТ СК на фоні курсового в/о введення медгерму порівняно з тваринами контрольної групи збільшувалася. Виразність змін активності АсАТ СК мала дозозалежний характер: при курсовому введенні медгерму дозою 1/40 ЛД₅₀ збільшення активності АсАТ СК було максимальним (у 4,02 ра-

зи), а на фоні введення медгерму дозою 1/160 ЛД₅₀ - мінімальним (у 1,25 рази) (див. табл. 4.1, рис. 4.1).

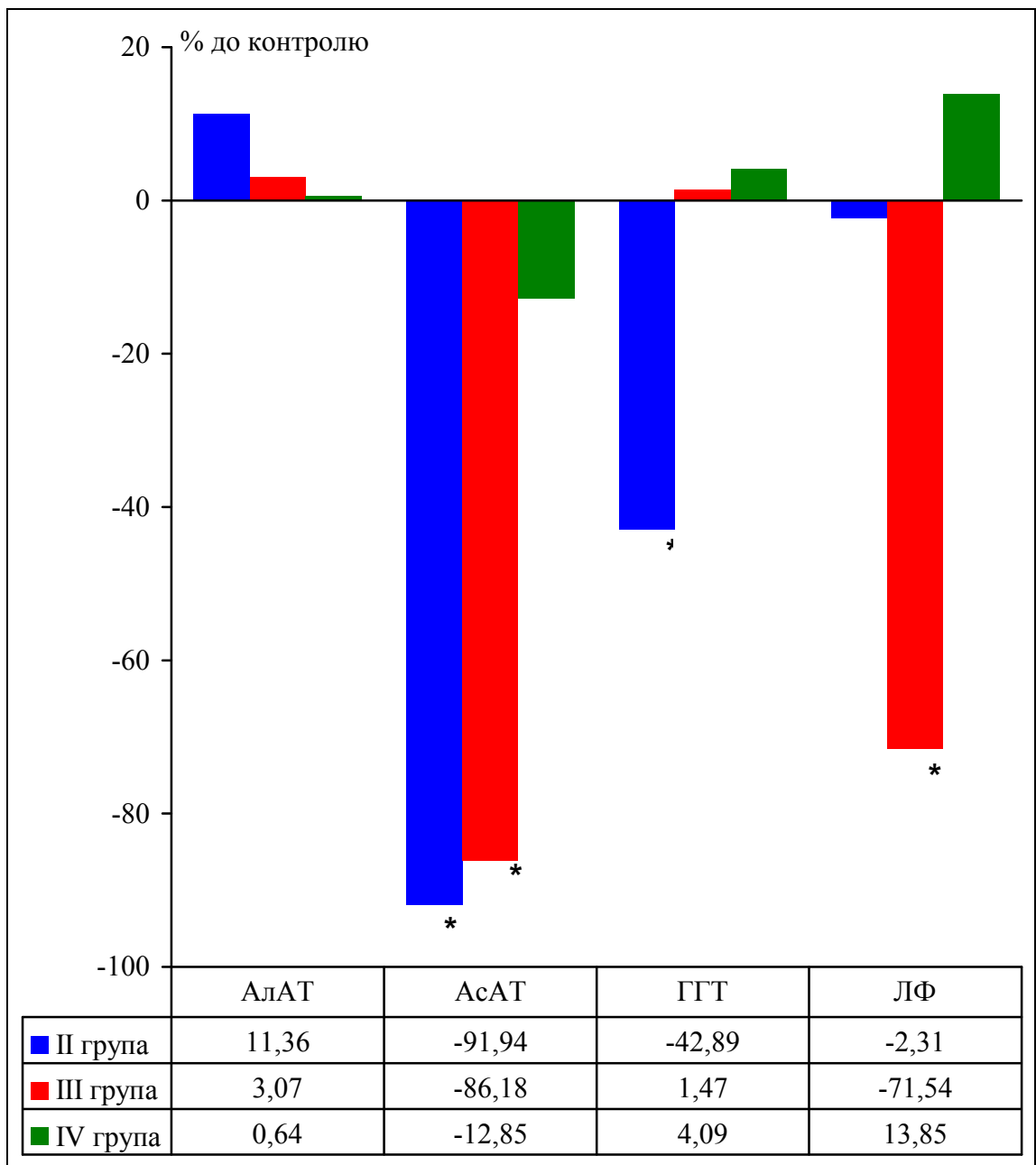


Рис. 4.2. Динаміка зміни активності АлАТ, АсАТ, ГГТ і ЛФ в ТП у інтактних щурів на фоні курсового введення медгерму різними дозами

Зміни активності АсАТ СК на фоні курсового в/о введення усіх доз медгерму були статистично достовірними порівняно з активністю АсАТ СК щурів контрольної групи.

Активність АсАТ ТП на фоні курсового в/о введення медгерму, на відміну від активності у СК, суттєво зменшувалась порівняно з тваринами контрольної групи. Виразність зменшення активності АсАТ ТП також мала дозозалежний характер: при курсовому в/о застосуванні БАР дозою 1/40 ЛД₅₀ зменшення її активності у ТП було максимальним (на 91,9 %), а на фоні введення медгерму дозою 1/160 ЛД₅₀ - мінімальним (на 12,9 %) (див. табл. 4.1, рис. 4.2). Зміни активності АсАТ ТП на фоні курсового в/о введення усіх доз медгерму були статистично достовірними порівняно з її активністю у контролі.

Методом рангової кореляції виявлено високу негативну кореляційну залежність між змінами активності АсАТ СК та ТП ($r = -0,76$).

На фоні курсового в/о введення медгерму активність ГГТ СК збільшувалась. Виразність збільшення активності ГГТ СК мала дозозалежний характер: при курсовому в/о введенні БАР дозою 1/40 ЛД₅₀ збільшення активності ГГТ СК було максимальним (у 7,53 рази), а на фоні застосування дози 1/160 ЛД₅₀ - мінімальним (у 1,69 рази). Зміни активності ГГТ СК на фоні курсового в/о введення усіх доз медгерму були статистично достовірними порівняно з її активністю у щурів контрольної групи (табл. 4.2, рис. 4.1).

Таблиця 4.2

Активність ферментів холестазу в сироватці крові та печінки інтактних тварин на фоні курсового введення різних доз медгерму ($M \pm m$, $n=6$)

Група тварин	ГТ		ЛФ	
	СК (мккат/л)	ТП (мккат/Г _{тк})	СК (мккат/л)	ТП (мккат/Г _{тк})
I (контроль)	0,13±0,01	4,08±0,28	18,20±1,09	1,30±0,12
II	0,98±0,17*	2,33±0,17*	7,76±0,34*	1,27±0,06
III	0,45±0,06*	4,02±0,13	21,90±1,79	0,37±0,05*
IV	0,22±0,03*	4,28±0,34	16,90±1,05	1,48±0,46

Зміна активності ЛФ СК на фоні курсового в/о введення медгерму не мала такого однаково спрямованого характеру. У тварин, які в/о отримували мед-

герм дозою $1/40$ ЛД₅₀, активність ЛФ СК суттєво зменшувалась у 2,35 рази. Водночас на фоні курсового в/о введення БАР дозою $1/80$ ЛД₅₀ активність ЛФ СК збільшувалась у 1,2 рази (див. табл. 4.2, рис. 4.1). Введення медгерму дозою $1/160$ ЛД₅₀ не викликало значних змін активності ЛФ СК.

На фоні курсового в/о введення медгерму дозами $1/40$ ЛД₅₀ активність ГГТ ТП значно зменшувалась (на 42,9 % $p < 0,05$). На фоні курсового в/о введення медгерму дозами $1/80$ і $1/160$ ЛД₅₀ зміни активності ГГТ ТП були незначними (див. табл. 4.2, рис. 4.2).

Активність ЛФ ТП на фоні курсового в/о введення медгерму зменшувалась. Зменшення активності ЛФ ТП у щурів, які отримували БАР дозою $1/80$ ЛД₅₀, було максимальним та статистично достовірним (на 71,6 %, $p < 0,05$). При застосуванні БАР дозами $1/40$ і $1/160$ ЛД₅₀ зменшення активності ЛФ ТП було незначним та статистично недостовірним (див. табл. 4.2, рис. 4.2).

Кореляційний аналіз між змінами активності маркерних ферментів холестеразу у СК та ТП у щурів, які в/о одержували медгерм трьома дозами, показав, що виявлена динаміка змін активності ГГТ у СК та ТП мала високу негативну кореляцію ($r = -0,98$), а ЛФ у СК та ТП – низьку позитивну кореляцію ($r = 0,22$).

Таким чином, на підставі проведених досліджень можливо резюмувати таке. Медгерм здійснював дозозалежний вплив на активність АсАТ, ГГТ та ЛФ, як СК так і ТП інтактних тварин. Найбільший вплив на ці ферменти медгерм здійснював дозою $1/40$ ЛД₅₀. Медгерм дозою $1/160$ ЛД₅₀ практично не змінював активність ферментів.

Меншою мірою медгерм впливав на активність АлАТ як СК, так і ТП. Зміни активності цього ферменту цитолізу під впливом трьох доз медгерму були незначними і уклалися у статистичну помилку.

На фоні курсового в/о введення медгерму у СК спостерігалось підвищення активності АсАТ і ГГТ. Водночас активність ЛФ СК помірно знижувалась. У ТП спостерігалось зменшення АлАТ і ГГТ. Активність ЛФ на фоні введення медгерму великою і малою дозами не змінювалась. При використанні середньої дози медгерму ($1/80$ ЛД₅₀) активність ЛФ значно знижувалась.

4.2. Вплив медгерму на інтегральні біохімічні показники інтактних щурів

У результаті досліджень була виявлена важлива закономірність зміни вмісту загального білка та сечовини у СК та ТП інтактних щурів на фоні курсового введення медгерму різними дозами (табл. 4.3, рис. 4.3, 4.4). Встановлено, що порівняно з контролем вміст загального білка в СК тварин зменшувався. Проте суттєве зменшення цього показника було виявлено тільки на фоні введення медгерму дозами 1/40 і 1/80 ЛД₅₀ (відповідно на 17,7 і 11,8 %). Водночас порівняно зі щурами контрольної групи вміст загального білка у ТП дослідних тварин збільшувався при застосуванні БАР дозою 1/40 і 1/80 ЛД₅₀ (відповідно на 32,3 і 15,5 %). На фоні введення медгерму дозою 1/160 ЛД₅₀ коливання вмісту загального білка не були значними ні в СК, ні в ТП порівняно з вмістом аналогічно показника контрольної групи.

Таблиця 4.3

Вміст загального білка та сечовини в сироватці крові та печінки у інтактних щурів на фоні курсового в/о введення різних доз медгерму ($M \pm m$, $n=6$)

Група тварин	Вміст загального білка		Вміст сечовини	
	СК (г/л)	ТП (г/Г _{тк})	СК (ммоль/л)	ТП (ммоль/Г _{тк})
I (контроль)	67,72±2,48	16,73±0,61	10,50±0,75	0,61±0,09
II	55,77±2,86*	22,14±2,69*	12,50±1,50*	0,86±0,09*
III	59,75±3,52*	19,33±1,54*	11,23±1,35	0,78±0,12
IV	65,88±2,74	17,45±6,84	11,83±2,18	0,68±0,13

Застосування медгерму трьома дозами не викликало значних змін вмісту сечовини в СК. Водночас у ТП виявлено суттєве збільшення вмісту сечовини на 40,02 % ($p < 0,05$) тільки при застосуванні медгерму дозою 1/40 ЛД₅₀ (див. табл. 4.3, рис. 4.3, 4.4).

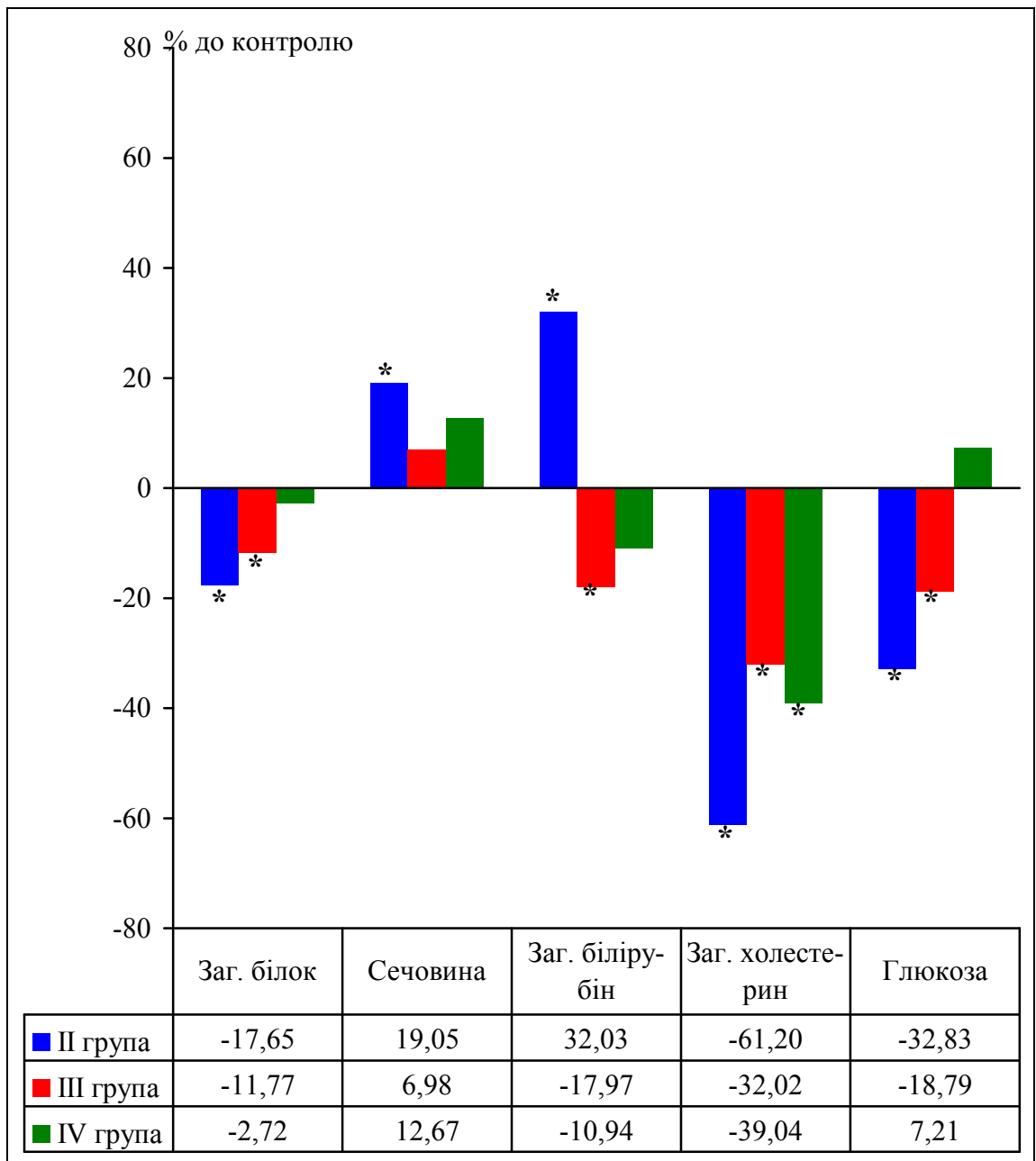


Рис. 4.3. Динаміка зміни вмісту інтегральних показників функціонального стану печінки у СК інтактних щурів на фоні курсового в/о введення медгерму різними дозами

Встановлено, що порівняно зі щурами I (контрольної) групи вміст загального білірубину в СК суттєво збільшувався під впливом медгерму дозою 1/40 ЛД₅₀ (на 32,03 %, $p < 0,05$).

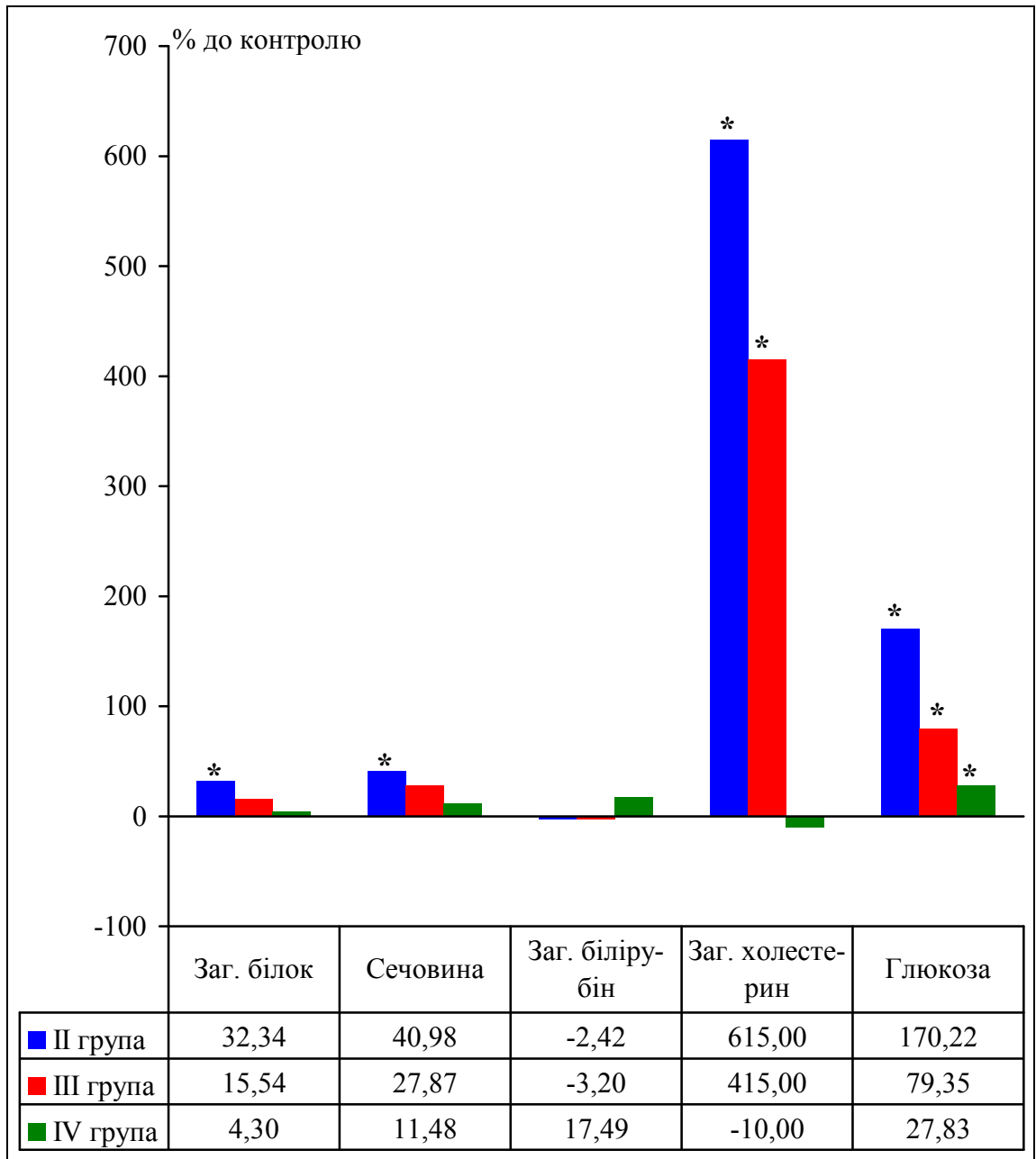


Рис. 4.4. Динаміка зміни вмісту інтегральних показників функціонального стану печінки у ТП інтактних щурів на фоні курсового в/о введення медгерму різними дозами

При введенні медгерму дозою $1/80$ ЛД₅₀ відмічено суттєве зменшення вмісту білірубину в СК відносно контролю (на 17,97 %, $p < 0,05$). При застосуванні медгерму дозою $1/160$ ЛД₅₀ значних змін вмісту загального білірубину в СК не виявлено (див. табл. 4.4, рис. 4.3, 4.4).

Таблиця 4.4

Вміст загального білірубину і загального холестерину в сироватці крові та гомогенаті тканини печінки у інтактних щурів на фоні курсового в/о введення різних доз медгерму ($M \pm m$, $n=6$)

Група тварин	Вміст загального білірубину		Вміст загального холестерину	
	СК (мкмоль/л)	ТП (мкмоль/Г _{ТК})	СК (мкмоль/л)	ТП (мкмоль/Г _{ТК})
I (контроль)	1,28±0,10	15,32±0,77	2,28±0,18	0,20±0,02
II	1,69±0,16*	14,95±4,32	0,88±0,10*	1,43±0,60*
III	1,05±0,06*	14,83±1,39	1,55±0,17*	1,03±0,20*
IV	1,14±0,14	18,00±2,75	1,39±0,41*	0,18±0,06

При введенні медгерму дозами 1/40, 1/80 та 1/160 ЛД₅₀ також не виявлено суттєвих змін вмісту загального білірубину в ТП порівняно з контролем (див. табл. 4.4, рис. 4.4).

Вміст загального холестерину в СК на фоні курсового в/о введення медгерму дозами 1/40, 1/80 та 1/160 ЛД₅₀ суттєво зменшувався (відповідно на 61,20, 32,02 та 39,04 %) (див. табл. 4.4, рис. 4.3). Водночас у ТП виявлено значне збільшення вмісту загального холестерину при застосуванні медгерму дозами 1/40 і 1/80 ЛД₅₀. (відповідно у 7,15 та 5,15 разів) (див. табл. 4.4 та рис. 4.4). На фоні курсового в/о введення медгерму дозою 1/160 ЛД₅₀ значних змін вмісту загального холестерину в СК не виявлено.

Вміст глюкози в СК на фоні курсового в/о введення медгерму дозою 1/40 і 1/80 ЛД₅₀ суттєво зменшувався відповідно на 32,83 і 18,79 %. При застосуванні медгерму дозами 1/160 ЛД₅₀ коливання вмісту глюкози в СК не були суттєвими. У ТП виявлено значне збільшення вмісту глюкози під впливом медгерму дозами 1/40, 1/80 і 1/160 ЛД₅₀ відповідно на 170,22, 79,35 і 27,83 % (табл. 4.5 і рис. 4.3, 4.4).

Таблиця 4.5

Вміст глюкози в сироватці крові та гомогенаті тканини печінки у інтактних щурів на фоні курсового в/о введення різних доз медгерму ($M \pm m$, $n=6$)

Група тварин	Вміст глюкози	
	СК (ммоль/л)	ТП (ммоль/Г _{тк})
I (контроль)	5,27±0,38	4,60±0,40
II	3,54±0,39*	12,43±1,76*
III	4,28±0,26*	8,25±1,51*
IV	5,65±0,64	5,88±0,82*

Таким чином, встановлено, що на фоні курсового в/о введення медгерму відбувалися певні зміни біохімічних показників, які є інтегральними показниками гомеостазу інтактних тварин. Зміни вмісту цих показників частіше мали дозозалежний характер. Найбільш виразні і суттєві зміни вмісту аналітів, що вивчалися, спостерігалися при дослідженні гомогенатів тканини печінки. Коливання вмісту інтегральних показників у сироватці крові були менш виразними.

4.3. Вплив медгерму на показники обміну купруму інтактних тварин

Враховуючи значну роль купруму та церулоплазміну в нормальному функціонуванні організму ссавців, а також те, що медгерм належить до купрумвмісних сполук, доцільним було визначення в сироватці крові і гомогенаті тканини печінки кількісного вмісту купруму і церулоплазміну.

Дані табл. 4.6 і рис. 4.5 свідчать, що медгерм дозами 1/40 і 1/80 ЛД₅₀ викликав підвищення вмісту купруму в СК у 1,37 і 1,15 рази відповідно ($p < 0,05$ порівняно контролем). На фоні введення БАР дозою 1/160 ЛД₅₀ коливання вмісту купруму не були суттєвими порівняно з вмістом аналогічного показника в СК у щурів контрольної групи.

Таблиця 4.6

Вміст купруму та церулоплазміну в сироватці крові та гомогенаті тканини печінки у інтактних щурів на фоні курсового в/о введення різних доз медгерму
($M \pm m$, $n=6$)

Група тварин	Вміст купруму		Вміст церулоплазміну	
	СК (мкмоль/л)	ТП (мкмоль/Г _{тк})	СК (мг/л)	ТП (мг/Г _{тк})
I (контроль)	105,65±7,61	63,78±4,68	1135,75±66,04	198,79±31,67
II	144,67±6,82*	62,55±6,97	1453,96±24,47*	67,05±10,01*
III	121,67±6,95*	57,55±5,63	1436,31±86,83*	119,20±13,87*
IV	109,17±4,73	62,08±7,92	1241,04±90,25	184,00±19,16

В той же час порівняно щурів контрольної групи у дослідних тварин при застосуванні медгерму дозами 1/40, 1/80 і 1/160 ЛД₅₀ не виявлено суттєвих змін вмісту купруму в ТП (див. табл. 4.6, рис. 4.5).

Вміст церулоплазміну в СК на фоні введення медгерму дозами 1/40 і 1/80 ЛД₅₀ суттєво збільшувався (відповідно на 28,02 і 26,46 %), а при застосуванні БАР дозою 1/160 ЛД₅₀ коливання вмісту церулоплазміну не були достовірними. Водночас у ТП виявлено значне зменшення вмісту церулоплазміну на фоні курсового в/о введення медгерму дозами 1/40 і 180 ЛД₅₀. (див. табл. 4.6, рис. 4.5). При застосуванні медгерму дозою 1/160 ЛД₅₀ суттєвих змін вмісту церулоплазміну не виявлено.

Таким чином, при курсовому в/о введенні медгерму різними дозами у інтактних щурів вміст купруму у СК значно підвищувався, а у ТП зміни його вмісту були незначними. Вміст церулоплазміну у СК значно збільшувався, а у ТП зменшувався. Зміни вмісту і у СК і у ТП щурів залежали від дози медгерму, яка вводилась.

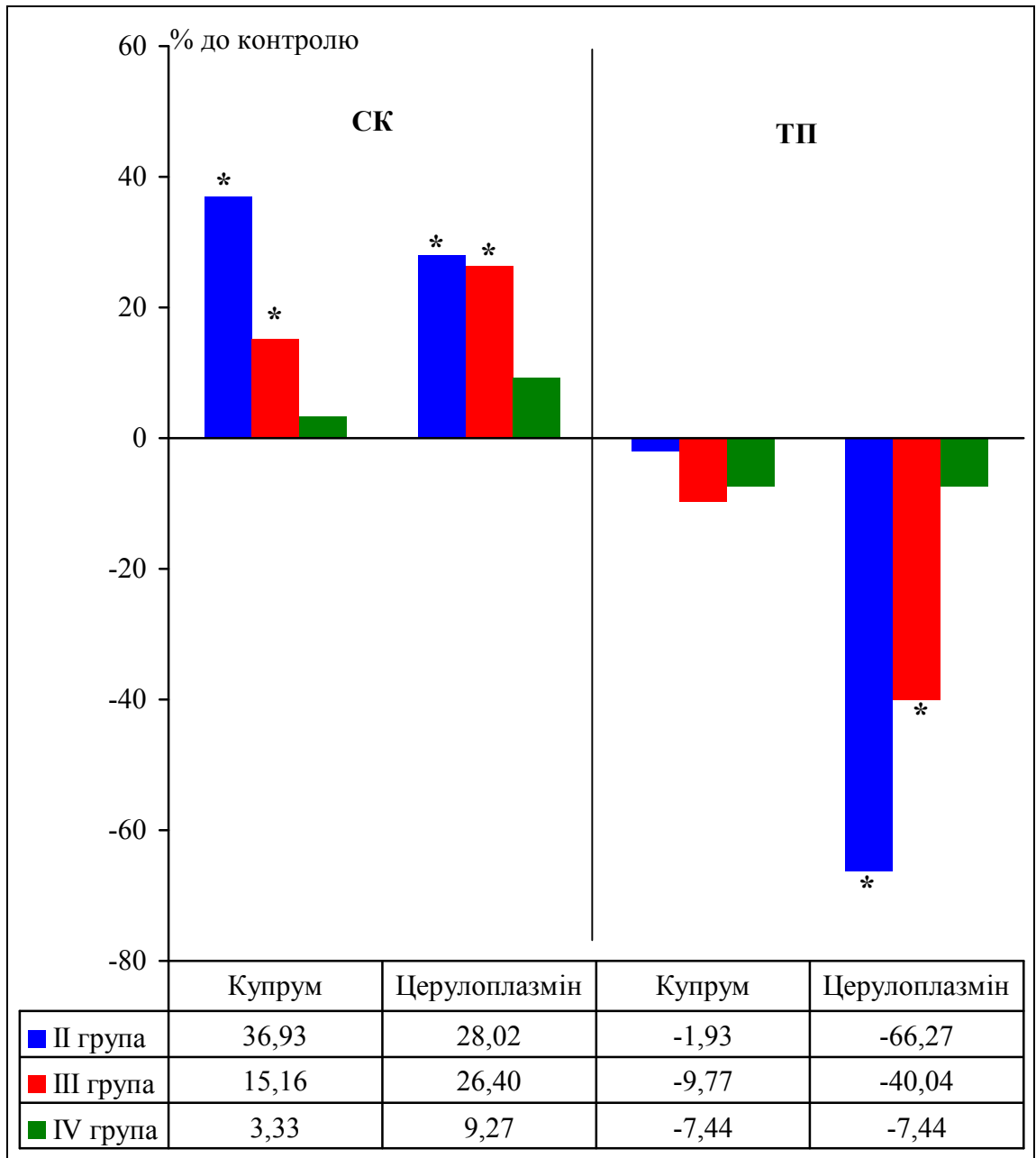


Рис. 4.5. Динаміка зміни вмісту купруму та церулоплазміну у СК і ТП інтактних щурів на фоні курсового в/о введення медгерму різними дозами

4.4. Морфологічна характеристика паренхіматозних органів інтактних тварин при курсовому введенні медгерму¹

При курсовому в/о введенні досліджуваних БАР макроскопічних змін внутрішніх органів у інтактних щурів не виявлено.

У тварин контрольної групи при мікроскопічному дослідженні структури тканин печінки, серця і нирок патоморфологічних змін не виявлено. Морфологічна характеристика тканини печінки за забарвленням гематоксиліном і еозином у інтактних щурів має чітко виражену балкову будову: гепатоцити чітко розташовані радіарно довкола центральних вен; чітко збережене часточкова будова тканини печінки. Цитоплазма гепатоцитів напівпрозора, гомогенна, без будь яких включень; ядро гепатоцитів розташовується центрально, округлої форми, темно-синього кольору. Між печінковими балками розташовані міжбалочні судини з дуже тонкою стінкою, лише в окремих полях зору в просвіті їх невелика кількість крові. Центральні вени нерівномірно повнокровні, довкола них в периваскулярній тканині одиничне у полях зору невелике число мікросередкових інфільтратів. При цьому у цитоплазмі гепатоцитів чітко визначаються рубінові глибки PAS -позитивних речовин.

Морфологічна характеристика міокарда за забарвленням гематоксиліном і еозином у тварин контрольної групи мала таку структуру: міокардіоцити рівномірно розташовуються довкола порожнини шлуночків, цитоплазма їх гомогенна, напівпрозора з ядром, що чітко контурує. Судини міокарда помірно повнокровні.

При забарвленні гематоксиліном і еозином у тканині нирок тварин контрольної групи спостерігалися чітко помітні кірковий і мозковий шари. Судини клубочків помірно повнокровні, довкола них одинично в полях зору невеликий гістоморфоцитарний інфільтрат. Епітелій звитих каналців містив напівпрозору цитоплазму, ядро чітко контурювало, було розташоване базально.

¹ Висловлюю щире подяку професору кафедри патморфології ОНМедУ А. І. Даніленко за консультативну допомогу у виконанні морфологічних досліджень.

На фоні курсового в/о введення медгерму морфологія паренхіматозних органів (печінки, серця і нирок) мала деякі особливості.

При курсовому в/о введенні медгерму дозою $1/40$ ЛД₅₀ структура печінки була збережена. Однак порівняно з контролем виявлено помірно виразне повнокров'я центральних вен і міжчасточкових капілярів. Привертає увагу дифузна гідропічна (балонна) дистрофія гепатоцитів, гіперхроматоз ядер (рис. 4.6). На фоні застосування медгерму дозою $1/80$ ЛД₅₀ у гепатоцитах також було виявлено ознаки білкової дистрофії, однак менш виразно (рис. 4.7). При курсовому в/о введенні медгерму дозою $1/160$ ЛД₅₀ у гепатоцитах ознак білкової дистрофії не встановлено (рис. 4.8).

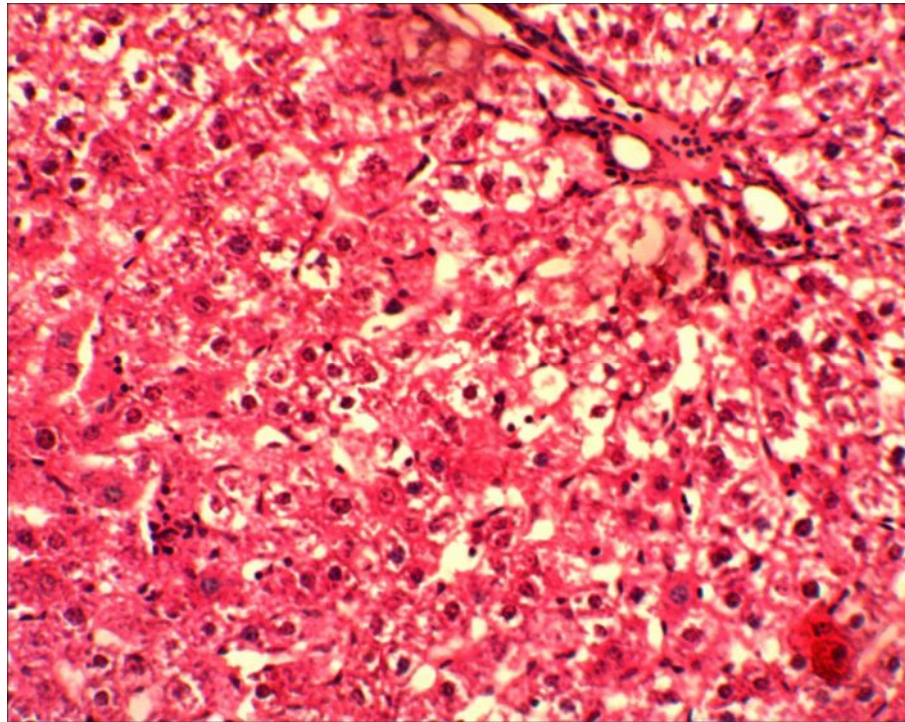


Рис. 4.6. Морфологічні зміни у тканині печінки при введенні медгерму дозою $1/40$ ЛД₅₀ (забарвл. за гематоксилином та еозином, ок. $\times 10$, об. $\times 20$)

На фоні курсового в/о введення медгерму дозою $1/40$ ЛД₅₀ виявлено повне зникнення глибоких PAS-позитивних речовин і значне зниження забарвлення дифузно розташованих PAS-позитивних речовин (рис. 4.9).

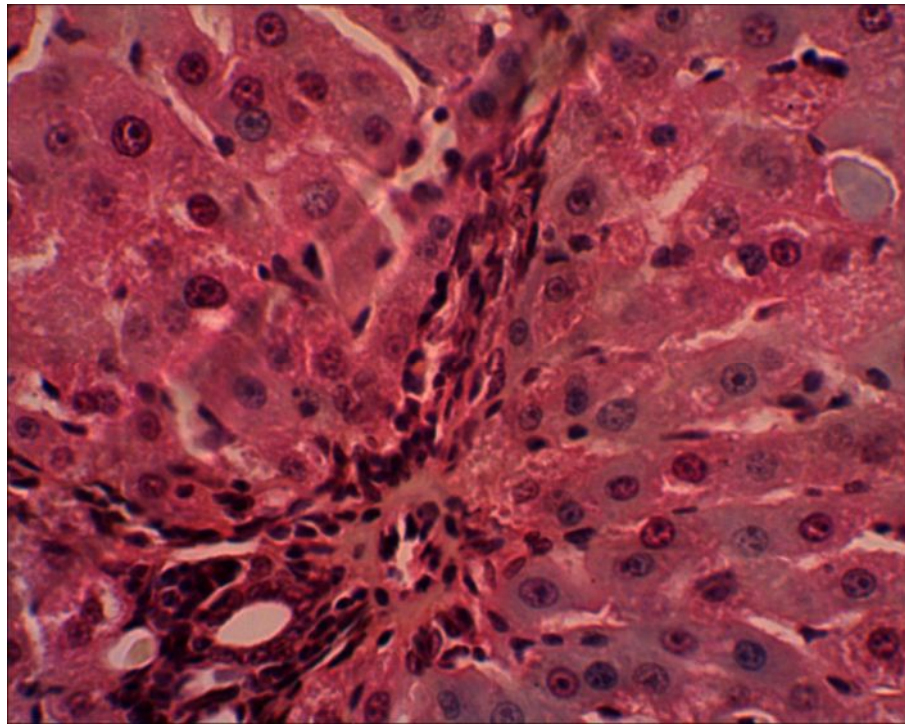


Рис. 4.7. Морфологічні зміни у тканині печінки при введенні медгерму дозою 1/80 ЛД₅₀ (забарвл. за гематоксиліном та еозином, ок. x10, об. 40)

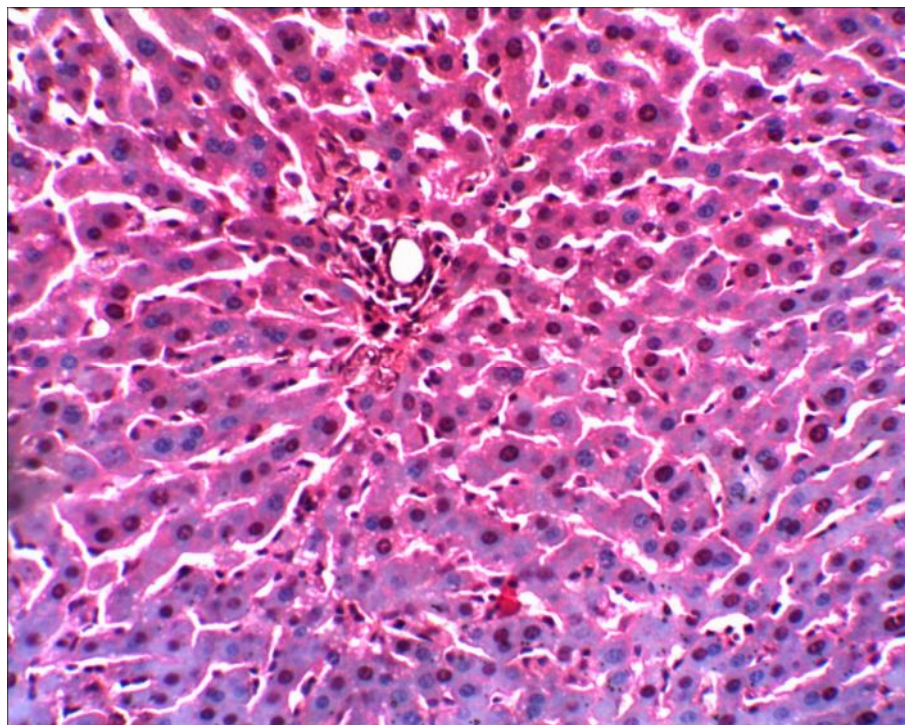


Рис. 4.8. Морфологічні зміни у тканині печінки при введенні медгерму дозою 1/160 ЛД₅₀ (забарвл. за гематоксиліном та еозином, ок. x10, об. x20)

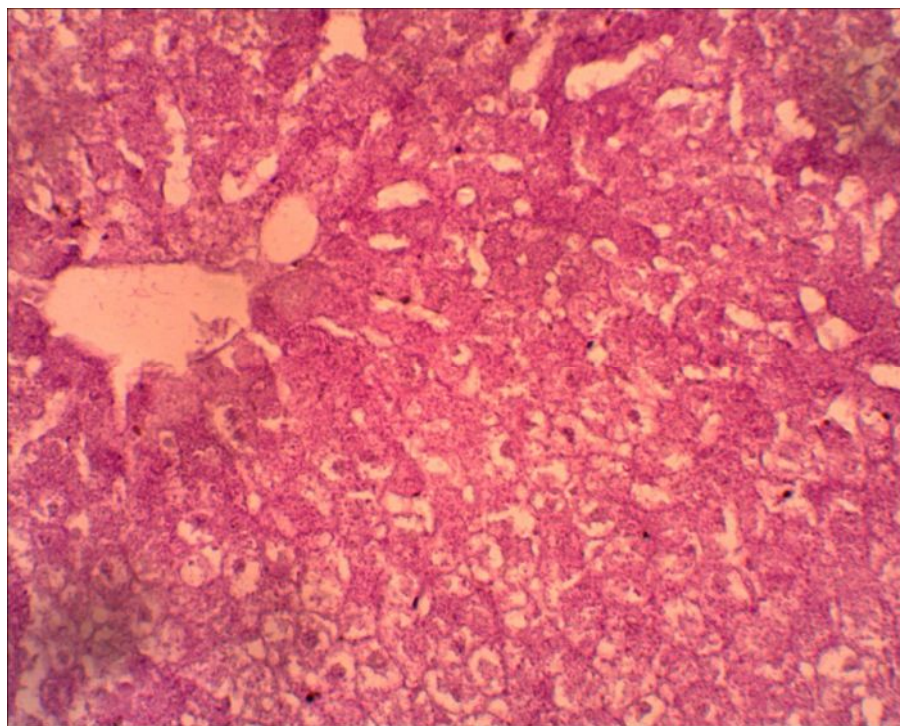


Рис. 4.9. Морфологічні зміни у тканині печінки на фоні введення медгерму дозою $1/40$ ЛД₅₀ (забарвл. за А. Л. Шабадашем, ок. $\times 10$, об. $\times 20$)

При курсовому в/о застосуванні БАР дозою $1/80$ ЛД₅₀ глибокі PAS-позитивні речовини в центральній частині часточок були відсутні. Інтенсивність забарвлення дифузно розташованих в центральній частині часточок PAS-позитивних речовин була знижена. Однак на периферії часточок зберігалися як глибокі, так і дифузно розташовані PAS-позитивні речовини (рис. 4.10). При введенні медгерму дозою $1/160$ ЛД₅₀ PAS-позитивні речовини були розташовані як глибоко, так і дифузно у центральних та периферичних часточках (рис. 4.11), однак вони були менш інтенсивні, ніж у тварин контрольної групи.

У міокарді на фоні введення медгерму дозою $1/40$ ЛД₅₀ встановлено помірно виразне повнокров'я судин і значна осередкова білкова дистрофія кардіоміоцитів (рис. 4.12). При застосуванні БАР дозою $1/80$ ЛД₅₀ на фоні помірного повнокров'я судин спостерігалися незначні ознаки осередкової білкової дистрофії кардіоміоцитів (рис. 4.13). При введенні медгерму дозою $1/160$ ЛД₅₀ у міокарді патологічних змін не виявлено (рис. 4.14).

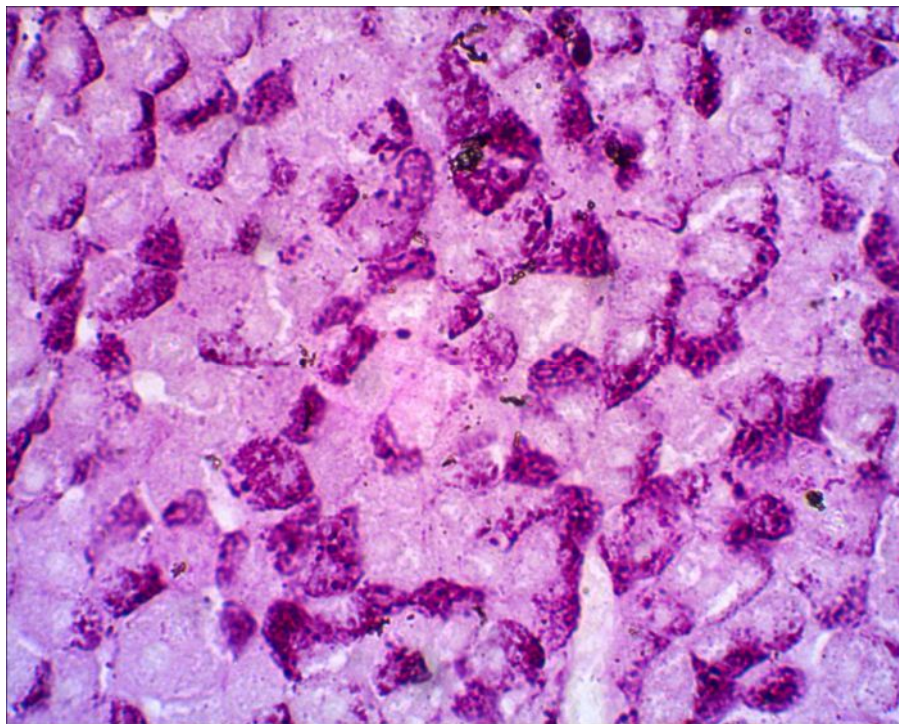


Рис. 4.10. Морфологічні зміни у тканині печінки на фоні введення медгерму дозою 1/80 ЛД₅₀ (забарвл. за А.Л. Шабадашем, ок. x10, об. 40)

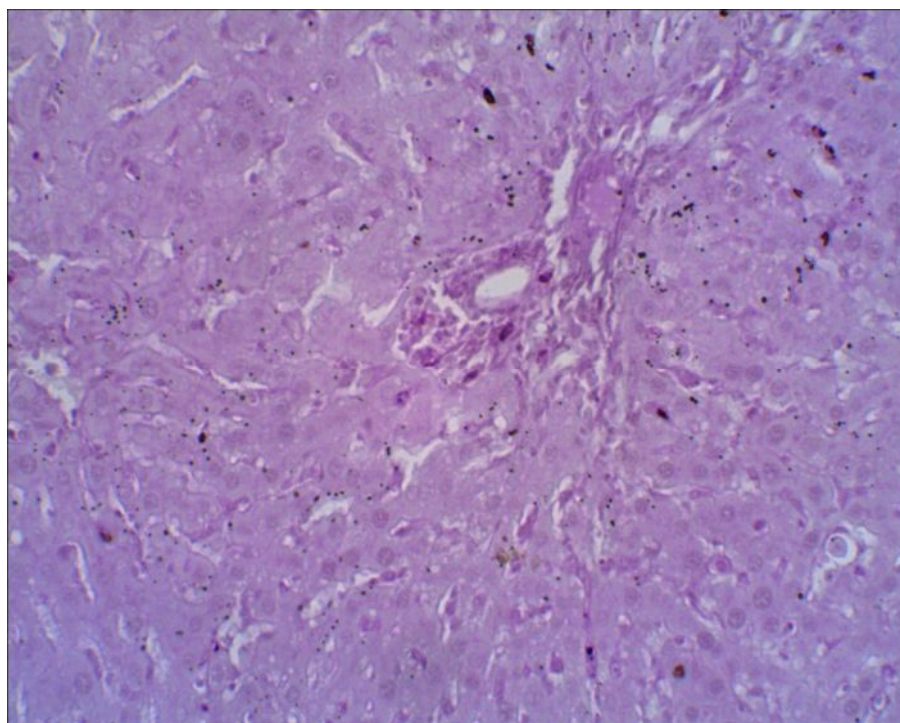


Рис. 4.11. Морфологічні зміни у тканині печінки на фоні введення медгерму дозою 1/160 ЛД₅₀ (забарвл. за А.Л. Шабадашем, ок. x10, об. x20)

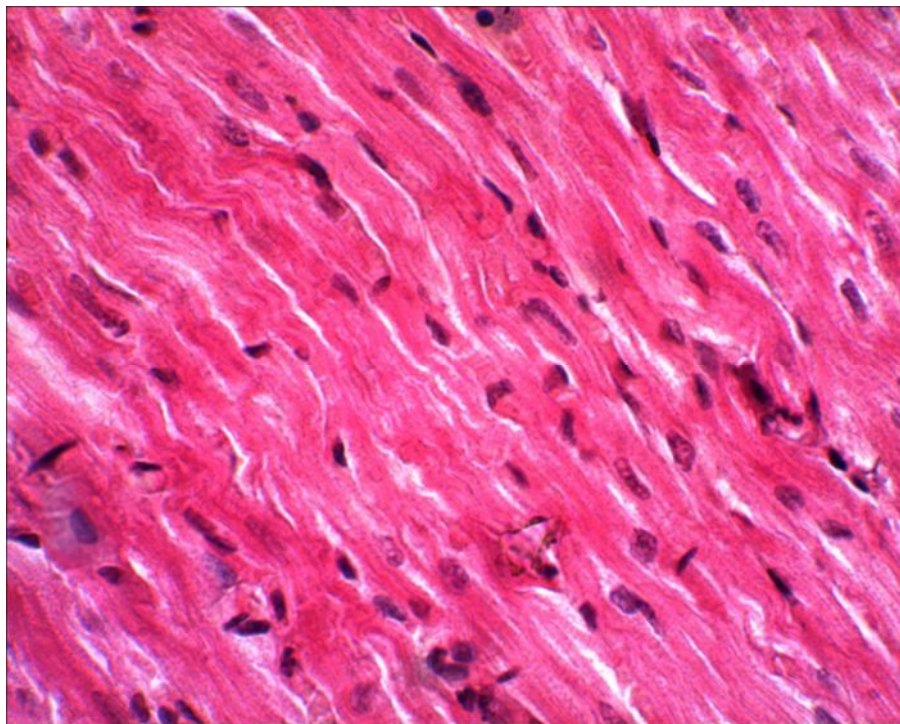


Рис. 4.12. Морфологічні зміни у міокарді на фоні введення медгерму дозою 1/40 ЛД₅₀ (забарвл. за гематоксиліном та еозином, ок. x10, об. x40)

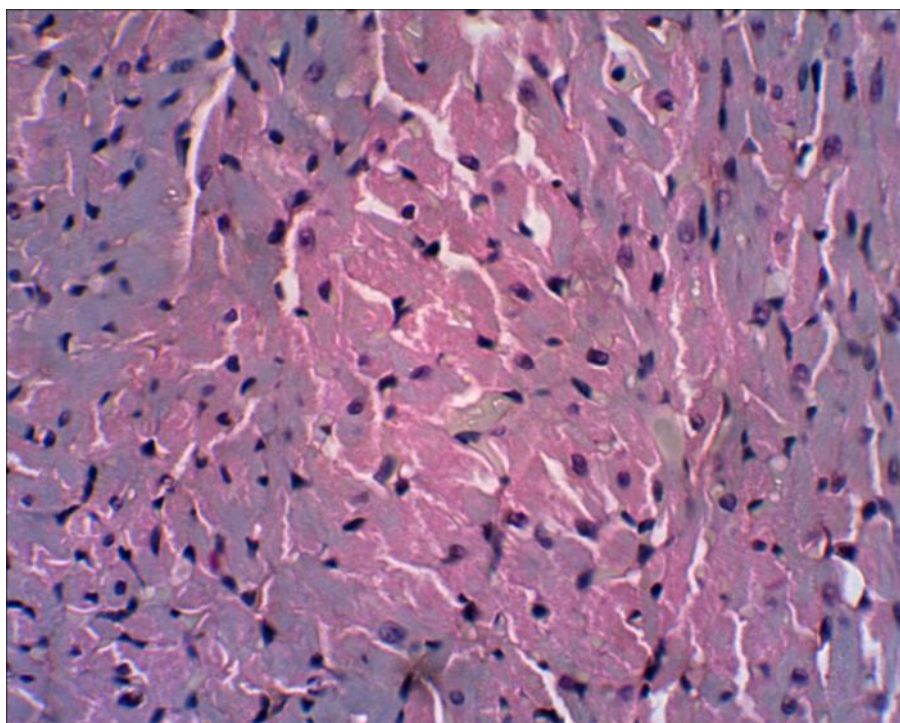


Рис. 4.13. Морфологічні зміни у міокарді на фоні введення медгерму дозою 1/80 ЛД₅₀ (забарвл. за гематоксиліном та еозином, ок. x10, об. x40)

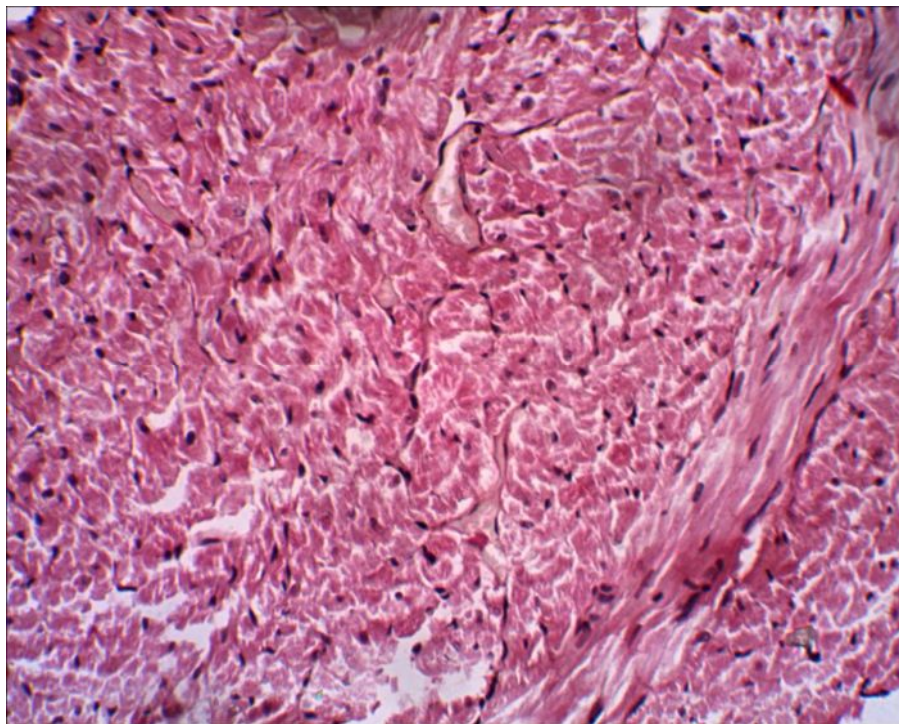


Рис. 4.14. Морфологічні зміни у міокарді на фоні введення медгерму дозою 1/160 ЛД₅₀ (забарвл. за гематоксиліном та еозином, ок. x10, об. x40)

На фоні курсового в/о застосування медгерму дозою 1/40 ЛД₅₀ у нирках встановлено повнокров'я клубочків і осередкова білкова дистрофія нефроцитів (рис. 4.15). При введенні досліджуваних БАР дозою 1/80 ЛД₅₀ у нирках спостерігалось повнокров'я клубочків і білкова дистрофія нефроцитів, однак виразність цих ознак була меншою ніж на фоні застосування медгерму дозою 1/40 ЛД₅₀ (рис. 4.16). Під дією медгерму дозою 1/160 ЛД₅₀ у нирках патоморфологічних змін не виявлено (рис. 4.17).

У цілому, аналізуючи отримані дані, маємо підстави стверджувати, що на фоні курсового в/о введення медгерму в широкому діапазоні доз у інтактних щурів встановлено помірні гемодинамічні і незначні зворотні патоморфологічні зміни паренхіматозних органів. Причому ці зміни були більш виразні на фоні введення медгерму дозою 1/40 ЛД₅₀, а при застосуванні середньоефективної дози (1/160 ЛД₅₀) БАР гістологічна картина тканин серця, печінки і нирок не відрізнялася від контролю.

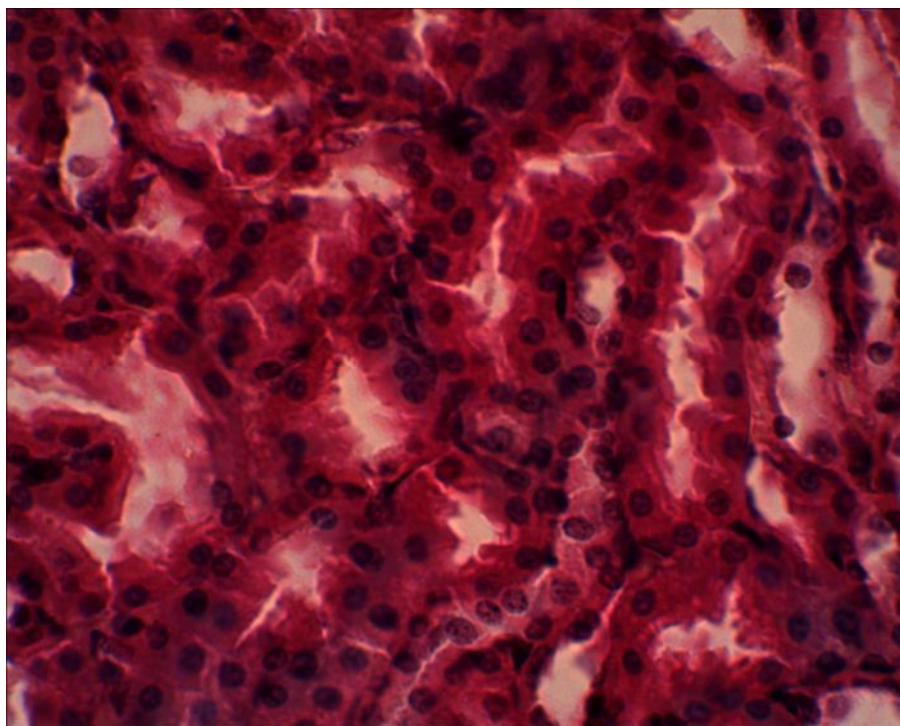


Рис. 4.15. Морфологічні зміни у тканині нирок при введенні медгерму дозою 1/40 ЛД₅₀ (забарвл. за гематоксиліном та еозином, ок. х10, об. х40)

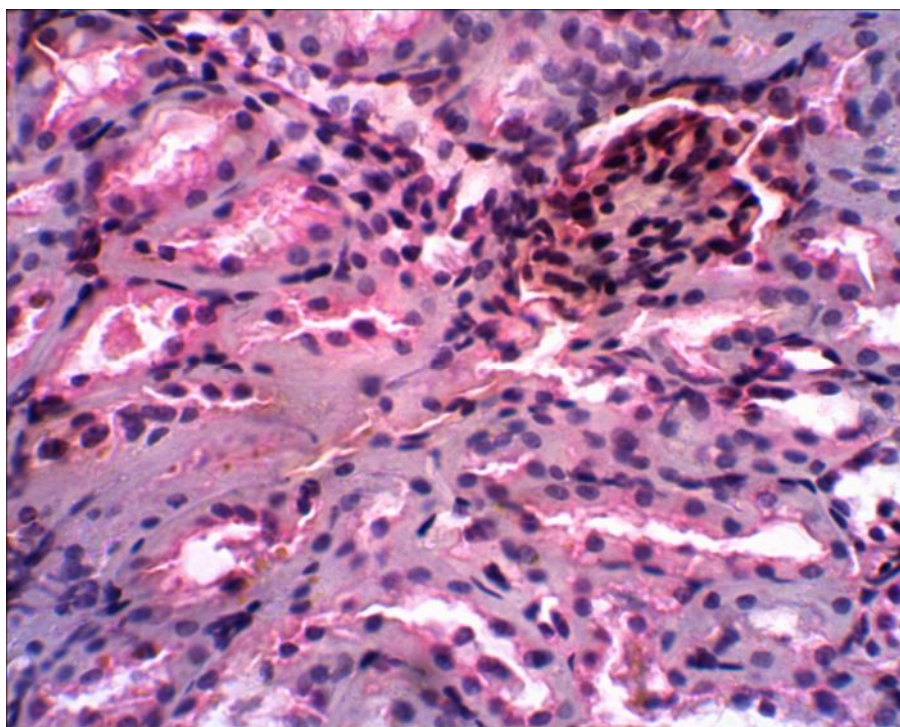


Рис. 4.16. Морфологічні зміни у тканині нирок при введенні медгерму дозою 1/80 ЛД₅₀ (забарвл. за гематоксиліном та еозином, ок. х10, об. х20)

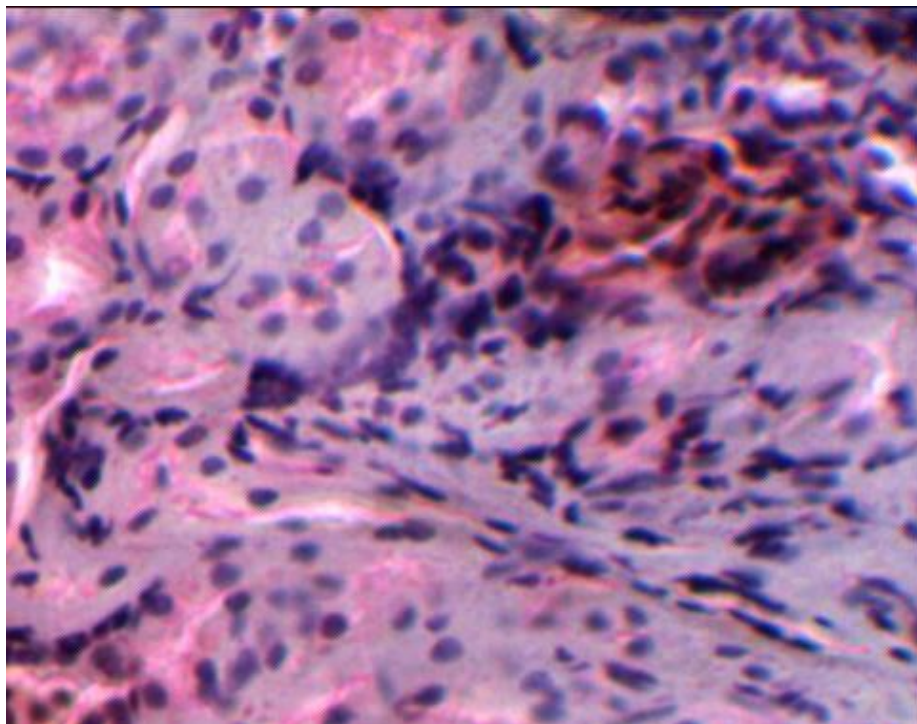


Рис. 4.17. Морфологічні зміни у тканині нирок при введенні медгерму дозою 1/160 ЛД₅₀ (забарвл. за гематоксиліном та еозином, ок. x10, об. x20)

Все це свідчить, що медгерм не здійснює грубих незворотних патоморфологічних змін у тканинах паренхіматозних органів при його курсовому введенні у широкому діапазоні доз. Ці дані та результати раніше проведених досліджень з вивчення його безпечності у гострому і хронічному експериментах, дають можливість зробити висновок про низьку токсичність досліджуваної БАР і перспективність подальшого її вивчення, як потенційного ЛЗ.

4.5. Лазерна кореляційна спектроскопія сироватки крові та гомогенату печінки інтактних щурів на фоні курсового введення медгерму

При аналізі фармакодинамічних властивостей медгерму був застосований метод ЛКС сироватки крові, який дозволив провести одномоментну багатопараметрову детекцію гомеостатичних зрушень у СК і ТП інтактних тварин на підставі визначення макромолекулярного складу ЛК-спектрів зазначених біологічних зразків.

У результаті дослідження СК встановлено, що у щурів контрольної групи основний внесок у світлорозсіювання склали частинки середньо- та високомолекулярної фракції (від 39 до 95 і від 96 до 264 нм відповідно 48,1 і 20,1 %) (рис. 4.18).

При курсовому введенні медгерму дозою $1/40$ ЛД₅₀ спостерігалось зниження внеску в світлорозсіювання часток низько-, середньо- та високомолекулярної фракцій (відповідно до 4,3, 32,0 та 5,0 %) у СК. Водночас у щурів цієї групи відмічалось суттєве і достовірне збільшення внеску в світлорозсіювання часток надвисокомолекулярної фракції (до 58,5 %) (рис. 4.19). Подібні спектральні зміни у СК було виявлено і при курсовому введенні інтактним щурам медгерму дозою $1/80$ ЛД₅₀ (рис. 4.20). Зменшення внеску в світлорозсіювання часток СК, особливо середньомолекулярної фракції, і підвищення надвисокомолекулярної фракції мало місце, проте було менш виразним. При курсовому в/о введенні медгерму дозою $1/160$ ЛД₅₀ суттєвих змін у ЛК-спектрах порівняно з контролем не було (рис. 4.21).

Дослідження гомогенату ТП методом ЛКС-метрії проводилося вперше. Тому, по перше, було визначено референтні межі величин у інтактних щурах. Встановлено, що у щурів контрольної групи основний внесок у світлорозсіювання склали частинки низько- та середньомолекулярної фракцій (відповідно 48,4 і 48,6 %) (рис. 4.22).

На фоні курсового в/о введення медгерму достатньо високими дозами у ЛК-спектрах ТП спостерігалися значні зміни. Більш суттєвими вони були у низько- та середньомолекулярній фракціях часток (відповідно від 12 до 38 і від 39 до 95 нм). При введенні медгерму дозою $1/40$ ЛД₅₀ відмічалось достовірне зниження внеску в світлорозсіювання часток низкомолекулярної (до 21,8 %) і збільшення часток середньомолекулярної (до 62,8 %) фракцій (рис. 4.23). На фоні застосування БАР дозою $1/80$ ЛД₅₀ у ЛК-спектрах ТП було виявлено подальше зменшення внеску в світлорозсіювання часток розміром від 12 до 38 нм (до 16,3 %) і збільшення внеску часток розміром від 39 до 95 нм (до 73,2 %) (рис. 4.24). Динаміка змін ЛК-спектрів ТП щурів, які отримували медгерм дозою $1/160$ ЛД₅₀, відмічалось достовірне збільшення внеску в світлорозсіювання

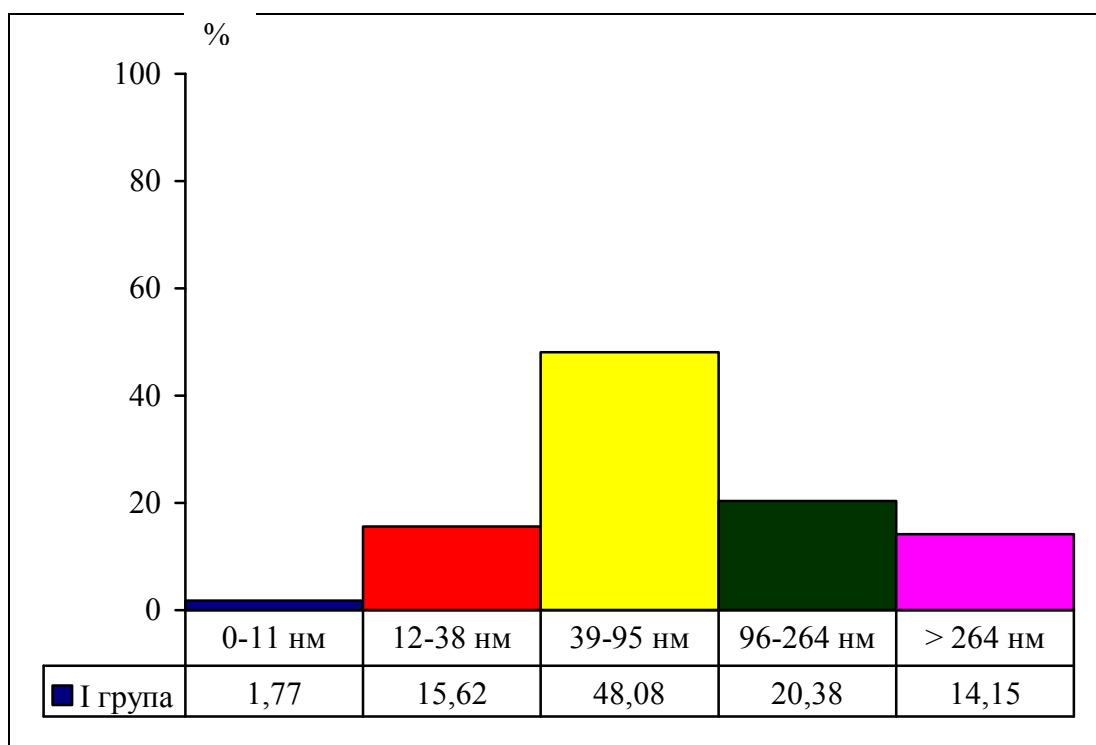


Рис. 4.18. Усереднена гістограма ЛК-спектрів СК щурів контрольної групи
 На рис. 4.18-4.25: по осі абсцис - діапазони розмірів часток;
 по осі ординат - % внеску в ЛК-спектри часток різних розмірів

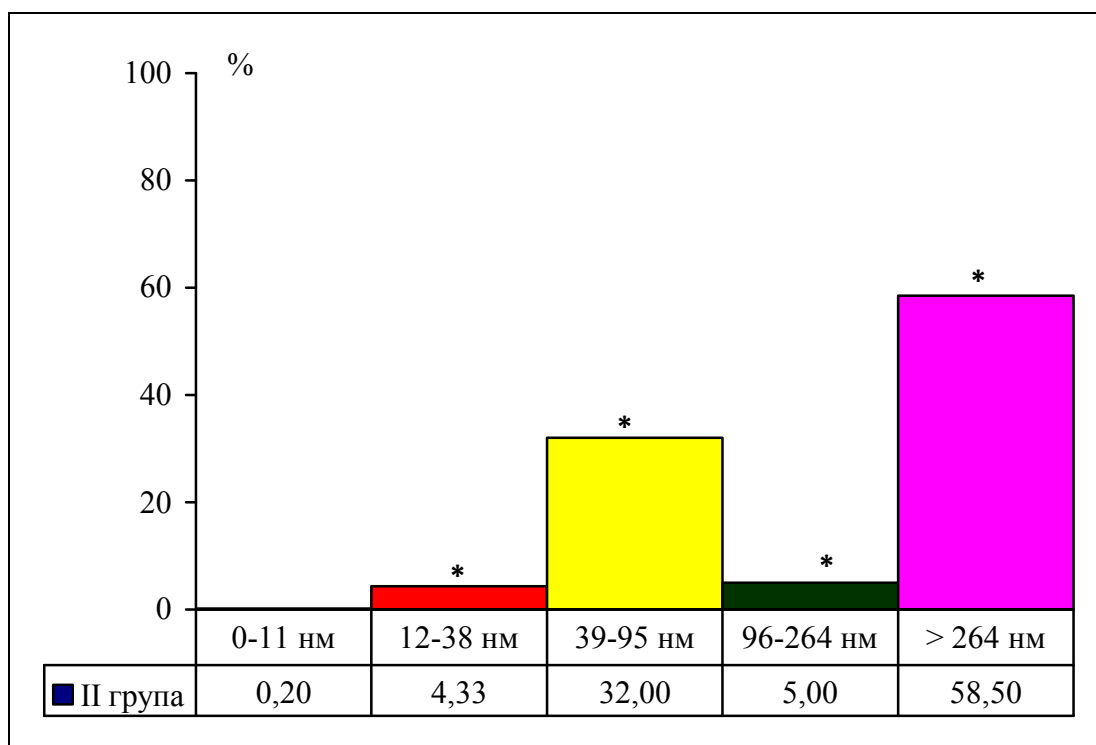


Рис. 4.19. Усереднена гістограма ЛК-спектрів СК щурів II групи, яким
 здійснювалось курсове в/о введення медгерму дозою 1/40 ЛД₅₀
 На рис. 4.19-4.25: * - достовірність порівняно з контролем (p<0,05)

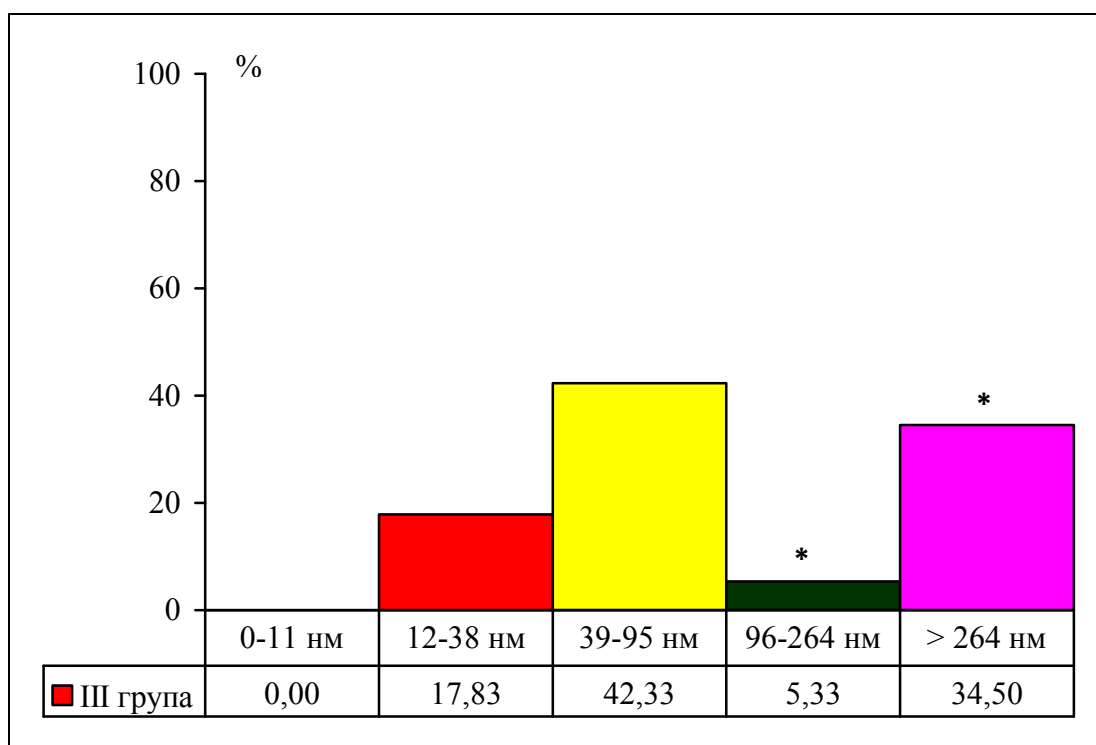


Рис. 4.20. Усереднена гістограма ЛК-спектрів СК щурів III групи, яким здійснювалось курсове в/о введення медгерму дозою 1/80 ЛД₅₀

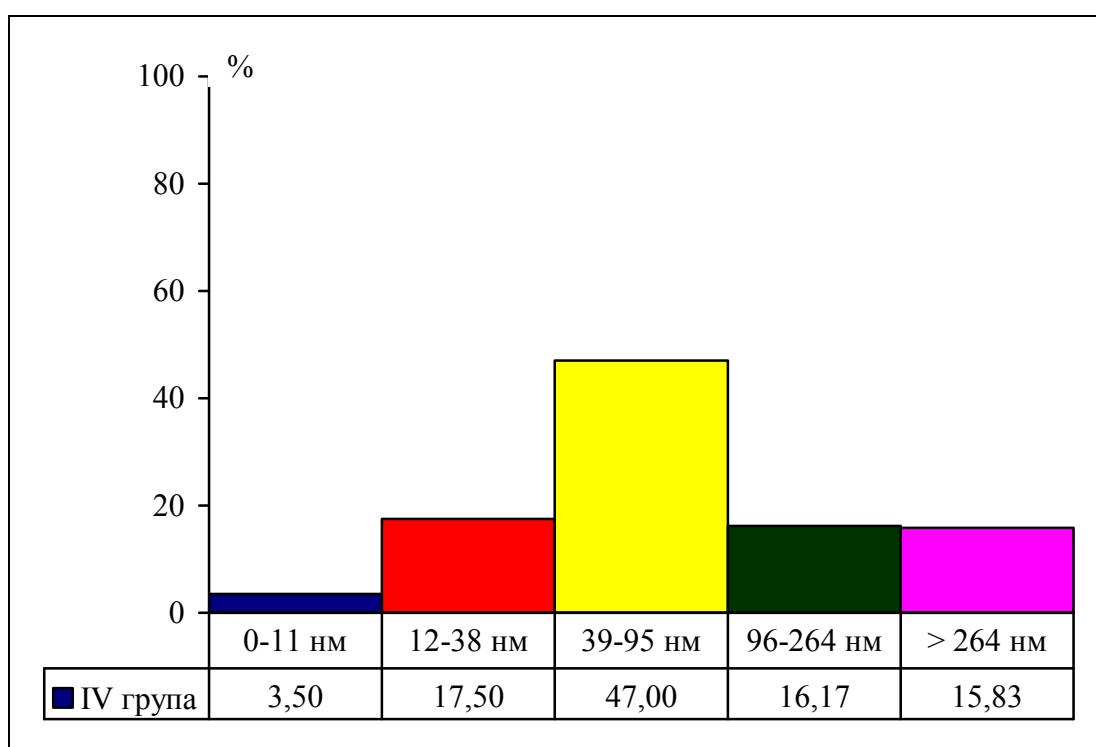


Рис. 4.21. Усереднена гістограма ЛК-спектрів СК щурів IV групи, яким здійснювалось курсове в/о введення медгерму дозою 1/160 ЛД₅₀

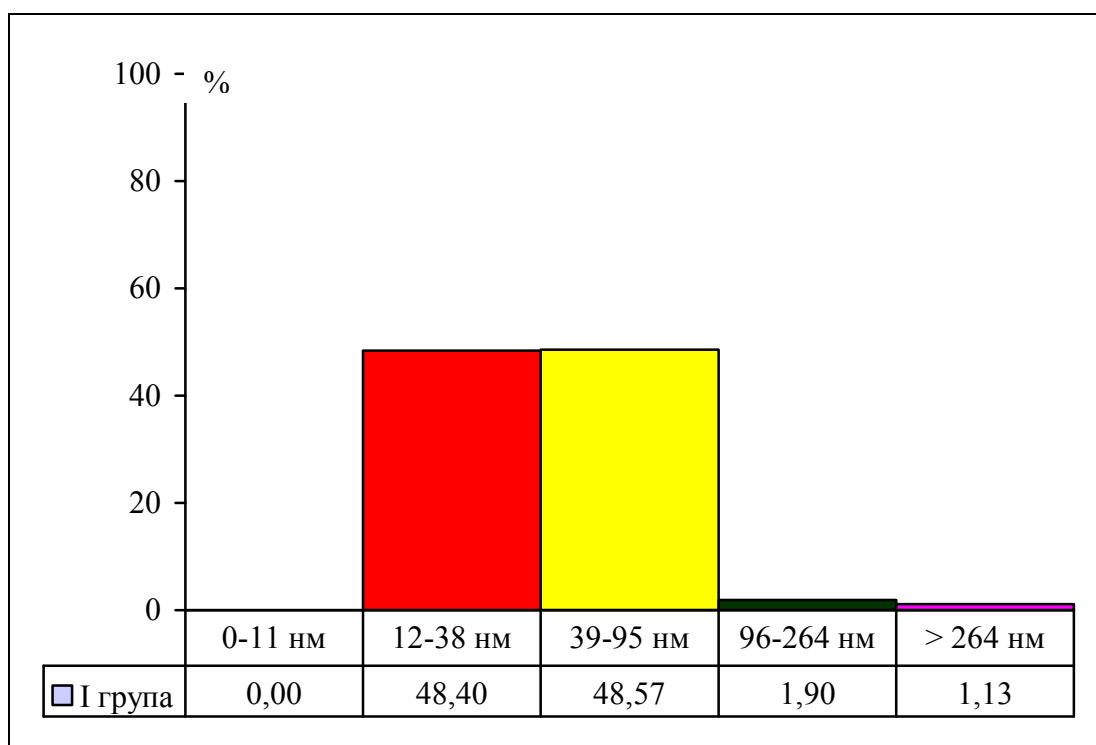


Рис. 4.22. Усереднена гістограма ЛК-спектрів ТП щурів контрольної групи

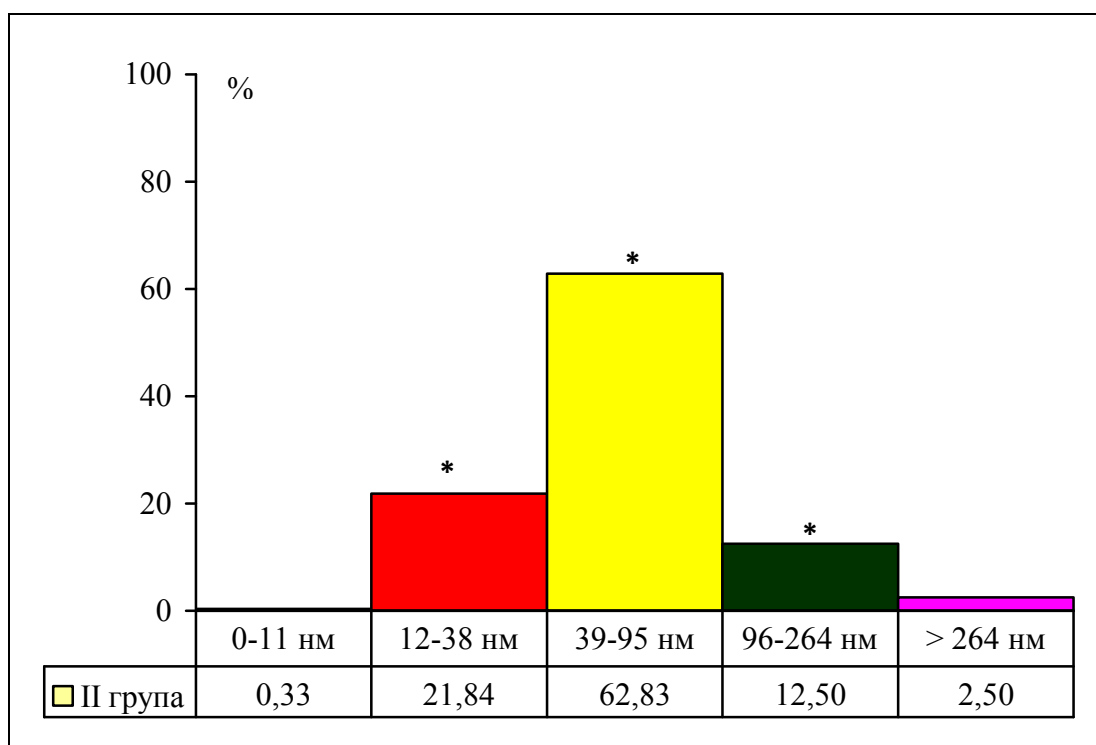


Рис. 4.23. Усереднена гістограма ЛК-спектрів ТП щурів II групи, яким здійснювалось курсове в/о введення медгерму дозою 1/40 ЛД₅₀

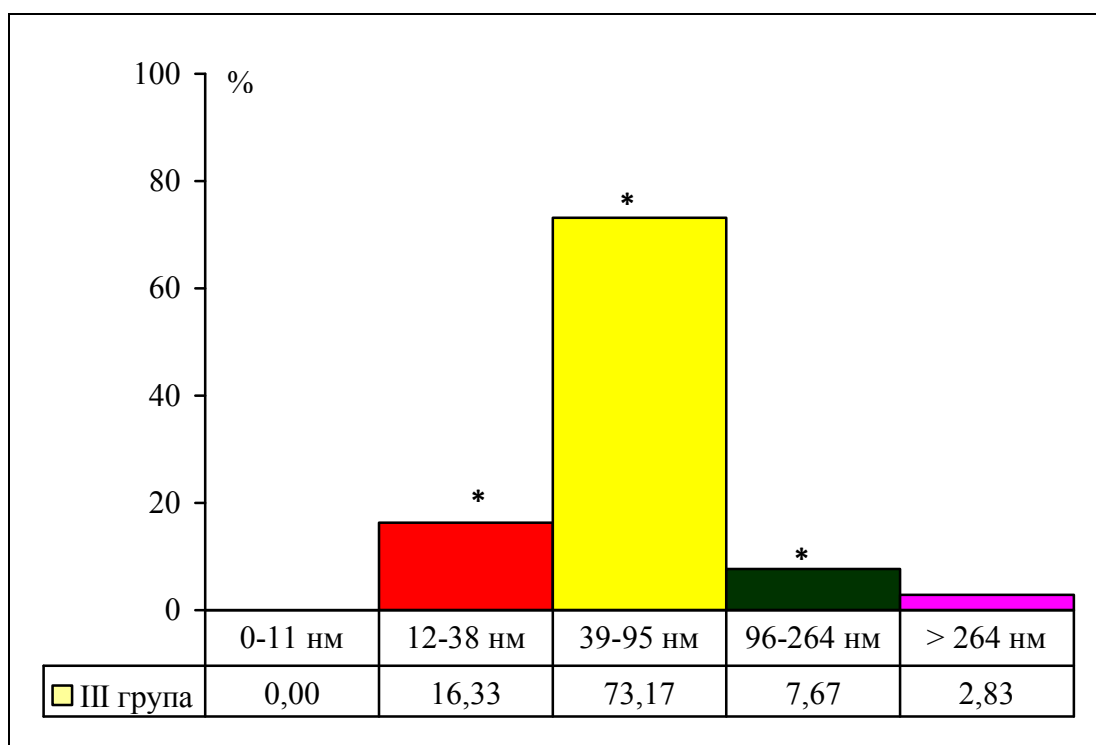


Рис. 4.24. Усереднена гістограма ЛК-спектрів ТП щурів III групи, яким здійснювалось курсове в/о введення медгерму дозою $1/80$ ЛД₅₀

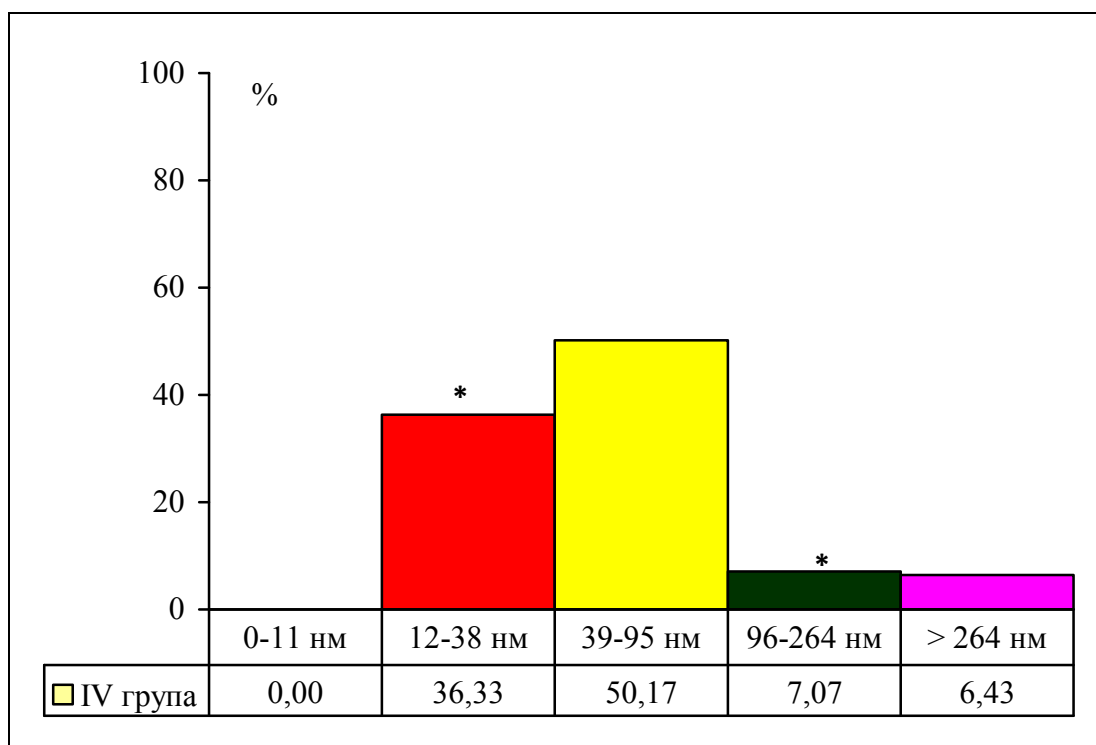


Рис. 4.25. Усереднена гістограма ЛК-спектрів ТП щурів IV групи, яким здійснювалось курсове в/о введення медгерму дозою $1/160$ ЛД₅₀

часток низькомолекулярної (до 35,3 %) і зменшення внеску середньомолекулярної (до 50,2 %) фракцій, тобто ЛК-спектри наближалися до таких, що характерні для ТП щурів контрольної групи рис. 4.25).

Результати проведених досліджень, які наведені у даному розділі, свідчать про те, що на фоні курсового в/о введення інтактним щурам медгерму різними дозами відбувалися дозозалежні зрушення ЛК-спектрів сироватки крові і гомогенату тканини печінки, а доза 1/160 ЛД₅₀ була найбільш оптимальною для подальших досліджень фармакологічної активності нового БАР.

Результати досліджень даного розділу опубліковано:

1. Тимчишин О. Л. Вплив медгерму на функціональний стан печінки інтактних щурів / О. Л. Тимчишин, В. В. Годован, Л. А. Полукарова // Інтегративна антропологія. — 2010. — № 2. — С. 23-27

2. Тимчишин О. Л. Патоморфологія паренхіматозних органів щурів на фоні курсового введення нової біологічно активної речовини медгерму / О. Л. Тимчишин, В. В. Годован, А. І. Даніленко // Вісник проблем біології і медицини. — 2011. — вип. 4. — С. 147-150.

3. Тимчишин О. Л. Оценка фармакодинамических эффектов медгерма методом ЛКС-метрии / О. Л. Тимчишин, В. Й. Кресюн, В. В. Годован // Біофізичні стандарти та інформаційні технології в медицині : наук.-практ. конф., Одеса, вересень 2010 р. : тези. — Одеса : ОДМУ, 2010.— С. 62-63.

4. Тимчишин О. Л. Влияние медгерма на интегральные показатели функции печени интактных крыс / О. Л. Тимчишин // Фармація України. Погляд у майбутнє : VII національний з'їзд фармацевтів України ; Харків, 15-17 вересня 2010 р. : матеріали. — Харків, 2010.— С. 134.

5. Кресюн В. Й. Вплив нової біологічно активної речовини медгерм на функціональний стан печінки інтактних щурів / В. Й. Кресюн, В. В. Годован, О. Л. Тимчишин, Л. А. Полукарова // 100 років Українському лікарському то-

вариству : XIII Конгрес світової федерації Українських лікарських товариств, 30 вересня–03 жовтня 2010 р. : матер. — Львів-Київ-Чикаго, 2010. — С. 608.

6. Тимчишин О. Л. Вплив біологічно активної речовини медгерм на показники обміну міді у інтактних щурів / О. Л. Тимчишин, В. В. Годован, Л. А. Полукарова // Спортивна медицина, лікувальна фізкультура та валеологія – 2010 : XV ювілейна міжнародна наук.-практ. конф. ; Одеса, 11-12 жовтня 2010 р. : матер. — Одеса, 2010. — С. 167.

7. Тимчишин О. Л. Нові підходи до оцінки функціонального стану печінки методом лазерної кореляційної спектроскопії / О. Л. Тимчишин // Вісник морської медицини. – 2011. – № 4 – С. 125 (Актуальні питання професійної патології : наук.-практ. конф. ; Одеса, 1-2 грудня 2010 р. : матер).

РОЗДІЛ 5

ЕФЕКТИВНІСТЬ МЕДГЕРМУ НА ФОНІ ГОСТРОГО ТОКСИЧНОГО ГЕПАТИТУ

Отримані результати досліджень, які наведені у розділах 3 і 4, переконливо вказують на те, що нова комплексна сполука германію, ОЕДФ з есенціальним мікроелементом купрум — купрум-оксіетиліденфосфонатогерманат, має гепатотропні властивості. Тому наступною задачею роботи стало встановлення ефективності даної сполуки при гострому галактозаміновому гепатиті. Умови проведення експериментів наведено у підрозділі 2.5.

5.1. Вплив медгерму на активність маркерних ферментів печінки на фоні галактозамінового гепатиту

У початковій серії даних досліджень необхідно було встановити вплив курсового в/о введення медгерму різними дозами і режимами введення (профілактично-курсним, тобто за 7 діб до і протягом 7 діб після застосування гепатотоксиканту, профілактичним, курсним) на виживаність тварин в умовах моделювання гострого токсичного гепатиту. Враховуючи результати попередніх експериментів, для цього дослідження були обрані такі дози: 1/80, 1/160 і 1/320 ЛД₅₀.

У контрольній групі тварин, яким вводили тільки галактозамін, спостерігалась загибель 50 % тварин. У щурів, що вижили через 24 год, розвивався підтверджений як патоморфологічними, так і біохімічними дослідженнями гострий гепатит. У тварин різко знижувалась рухова активність, зменшувалось споживання води та їжі.

Курсове та профілактично-лікувальне в/о введення медгерму дозою 1/80 ЛД₅₀ (0,79 мг/кг) підвищувало відсоток тварин, що вижили, в середньому до 81,6 %. При профілактичному введенні речовини цією дозою виживаність тварин складала 63,7 %. Зменшення дози медгерму у 2 рази (1/160 ЛД₅₀ – 0,40

мг/кг) суттєво підвищувало виживаність тварин при усіх трьох схемах його застосування. Проте найбільш ефективним виявилось профілактично-курсове введення: виживаність щурів – 100 %. При застосуванні медгерму дозою 1/320 ЛД₅₀ (0,20 мг/кг) різними схемами виживало в середньому 89,0 %. Таким чином, найбільш ефективним було профілактично-лікувальне застосування медгерму дозою 1/160 ЛД₅₀ (0,4 мг/кг). Тому цей алгоритм введення БАР був використаний для подальшого дослідження її гепатозахисної активності.

У наступній серії експерименту проводили оцінку впливу медгерму на функціональний стан печінки при гострому галактозаміновому гепатиті за оцінкою динаміки активності ферментів цитолізу і холестазу СК і ТП (табл. 5.1, рис. 5.1). При гострому токсичному гепатиті, який не лікувався (II група), на 1-у добу після введення гепатоксиканту активність ферментів цитолізу СК (АлАТ і АсАТ) була значно підвищеною і достовірно відрізнялася від активності аналогічних ферментів у щурів I (контрольної) групи (відповідно на 220,0 і 160,0 %, $p < 0,05$) (див. табл. 5.1, рис. 5.1). Якщо тваринам за профілактично-лікувальною схемою в/о вводили медгерм дозою 0,4 мг/кг (III група), то у них також виявлено суттєве підвищення активності АлАТ і АсАТ у 1-у добу гепатиту, однак значно меншою мірою (відповідно на 43,5 і 34,5 %, $p < 0,05$) (див. табл. 5.1, рис. 5.1). Схожі дані було отримано і у щурів на фоні профілактично-лікувального введення референс-препарату есенціале. Активність АсАТ і АлАТ СК цих щурів у 1-у добу гепатиту підвищувалась відповідно на 51,0 і 35,0 %, $p < 0,05$ (див. табл. 5.1, рис. 5.1). Подальша динаміка активності маркерних ферментів цитолізу СК була не однаковою у різних груп щурів. У нелікованих щурів суттєве підвищення активності АлАТ і АсАТ (порівняно з аналогічними показниками тварин контрольної групи) зберігалось і на 12-ту добу гепатиту. На фоні прийому медгерму у тварин III групи, починаючи з 5-ї доби гепатиту, активність маркерних ферментів цитолізу не мала суттєвих відмінностей від аналогічних показників у тварин контрольної групи. Аналогічно складалася ситуація і у щурів, які отримували препарат порівняння (табл. 5.1).

Таблиця 5.1

Активність ферментів цитолізу у сироватці крові та тканині печінки щурів різних груп при галактозаміновому гепатиті ($M \pm m$, $n=6$)

Група тварин	Доба гепатиту	Активність АЛАТ		Активність АсАТ	
		СК, мкат/л	ТП, мкат/Г _{тк}	СК, мкат/л	ТП, мкат/Г _{тк}
І група		1,75±0,05	57,00±2,80	2,39±0,04	156,01±7,80
ІІ група	1-ша	5,60±0,07*	12,10±0,61*	6,22±0,03*	42,90±2,10*
	3-тя	5,25±0,04*	18,50±0,90*	6,11±0,03*	15,91±0,80*
	5-та	4,87±0,03*	29,20±1,52*	4,69±0,02*	41,61±2,10*
	7-ома	4,22±0,03*	37,00±1,83*	3,76±0,03*	99,62±5,01*
	10-та	3,88±0,12*	40,00±1,65*	3,86±0,19*	100,15±5,16*
	12-та	2,40±0,07*	35,00±0,71*	3,65±0,18*	110,81±3,32*
ІІІ група	1-ша	2,64±0,07*	23,60±1,28*	3,22±0,03*	122,90±6,14*
	3-тя	2,33±0,04*	40,90±2,00*	2,70±0,03*	128,20±6,44*
	5-та	1,94±0,03	51,00±2,60*	2,42±0,02	149,90±7,52
	7-ома	1,77±0,03	55,00±2,80	2,35±0,03	157,74±7,97
	10-та	1,68±0,08	57,40±3,11	2,41±0,06	160,13±5,12
	12-та	1,78±0,09	55,30±2,86	2,38±0,05	158,21±5,22
ІV група	1-ша	2,51±0,07*	24,50±1,24*	3,30±0,03*	127,80±6,43*
	3-тя	2,44±0,04*	42,50±2,11*	3,02±0,03*	134,50±6,74*
	5-та	1,84±0,03	53,30±2,70	2,30±0,02	157,40±7,91
	7-ома	1,74±0,03	57,70±2,90	2,23±0,03	165,66±8,32
	10-та	1,76±0,03	60,10±3,30	2,25±0,03	166,43±4,11
	12-та	1,69±0,07	58,50±3,20	2,3±0,03	164,81±8,24

Примітка: у табл. 5.1-5.9, рис. 5.1-5.3, 5.17 * - відмінності достовірні відносно щурів І групи ($p < 0,05$)

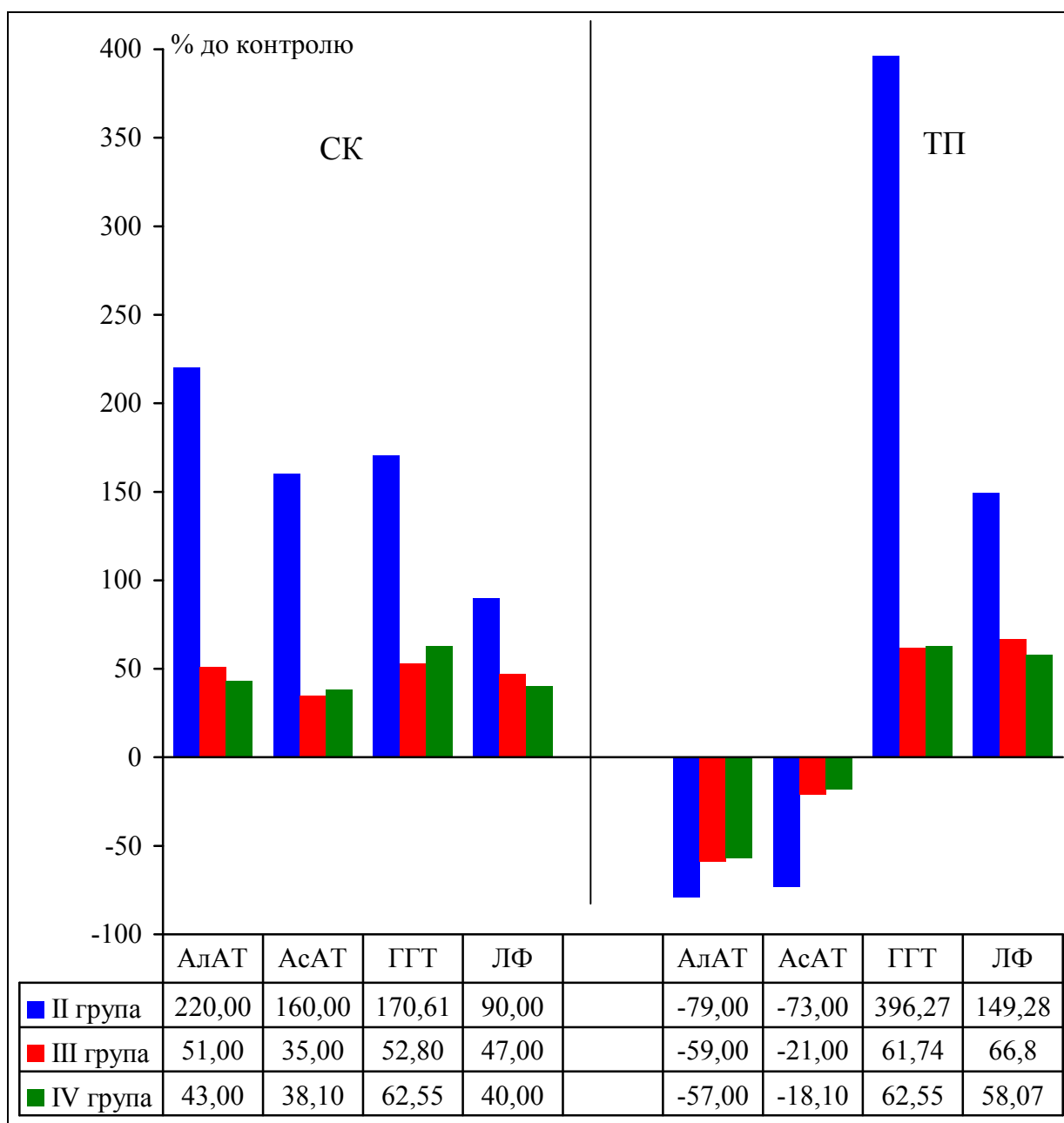


Рис. 5.1. Спрямованість і виразність зміни активності маркерних ферментів СК і ТП у щурів на 1-у добу гострого галактозамінового гепатиту залежно від типу терапії

На фоні гострого токсичного гепатиту у 1-у добу виявлено значне зменшення активності ферментів цитолізу в ТП щурів усіх дослідних груп. Так, на 1-у добу активність АлАТ і АсАТ відповідно у щурів II групи зменшувалась на 78,8 і 72,5 %, III групи — на 58,6 і 21,2 % і у тварин IV групи — на 57,0 і 18,1% відносно контролю ($p < 0,05$) (див. табл. 5.1, рис 5.1). Подальша динаміка активності ферментів цитолізу ТП була не однаковою у різних груп дослідних щурів.

У нелікованих щурів суттєве зменшення активності АлАТ і АсАТ (порівняно з аналогічними показниками тварин контрольної групи) зберігалось і на 12-ту добу гепатиту. На фоні прийому медгерму у тварин III групи, починаючи з 7-ї (АлАТ) і 5-ї (АсАТ) доби гепатиту, активність маркерних ферментів цитолізу вже не мала суттєвих відмінностей від контролю. У щурів, які отримували препарат порівняння, відновлення активності цих ферментів відбувалася на 5-ту добу гострого гепатиту (див. табл. 5.1).

Динаміка активності ферментів холестазу при гострому гепатиті на фоні профілактично-лікувального введення медгерму мала такі особливості (див. табл. 5.2, рис. 5.1). У тварин II групи на 1-у добу після введення гепатоксиканту активність ферментів холестазу СК (ГГТ і ЛФ) була значно підвищеною і достовірно відрізнялася від показників щурів контрольної групи (відповідно на 170,6 і 90,2 %, $p < 0,05$) (табл. 5.2, рис. 5.1). Якщо тваринам за профілактично-лікувальною схемою в/о вводили медгерм дозою 0,4 мг/кг (III група), то у них також виявлено суттєве підвищення активності ГГТ і ЛФ у 1-у добу гепатиту, однак значно меншою мірою (відповідно на 52,8 і 47,2 %, $p < 0,05$) (див. табл. 5.1, рис. 5.1). Схожі дані було отримано і у щурів на фоні введення есенціале. Активність ГГТ і ЛФ СК цих щурів у 1-у добу гепатиту підвищувалась відповідно на 62,6 і 39,7 %, $p < 0,05$ (див. табл. 5.1, рис. 5.1). Подальша динаміка активності маркерних ферментів цитолізу СК була не однакою у різних груп дослідних щурів. У нелікованих щурів суттєве підвищення активності ГГТ і ЛФ (у порівнянні з контролем) зберігалось і на 12-ту добу гепатиту.

На фоні прийому медгерму у тварин III групи, починаючи з 5-ї доби гепатиту, активність маркерних ферментів холестазу не мала суттєвих відмінностей від показників контрольної групи. У щурів, які отримували референс-препарат, активність ГГТ і ЛФ СК була відновлена тільки на 7-му добу (див. табл. 5.2).

На фоні гострого токсичного гепатиту виявлено значне підвищення ГГТ і ЛФ ТП щурів в усіх дослідних груп. Так, на 1-шу добу активність ГГТ і ЛФ відповідно у щурів II групи підвищувалась на 396,3 і 149,3 %, III групи — на 61,7

і 66,8 %, IV групи — на 39,1 і 58,1 % відносно контролю ($p < 0,05$) (див. табл. 5.2, рис 5.1).

Таблиця 5.2

Активність ферментів холестазу у сироватці крові та у тканині печінки щурів різних груп при галактозаміновому гепатиті ($M \pm m$, $n=6$)

Група тварин	Доба гепатиту	Активність ГГТ		Активність ЛФ	
		СК, мкат/л	ТП, мкат/Г _{тк}	СК, мкат/л	ТП, мкат/Г _{тк}
I група (контроль)		0,17±0,01	4,01±0,20	17,53±0,88	1,26±0,06
II група	1-ша	0,45±0,01*	19,88±0,99*	33,35±1,29*	3,13±0,16*
	3-тя	0,48±0,02*	16,03±0,80*	43,87±1,15*	2,49±0,12*
	5-та	0,37±0,03*	14,31±0,72*	34,74±0,98*	2,04±0,10*
	7-ома	0,30±0,02*	11,00±0,55*	23,79±1,11*	1,95±0,10*
	10-та	0,27±0,01*	10,40±0,52*	22,41±1,12*	1,84±0,09*
	12-та	0,22±0,01*	9,30±0,47*	20,78±1,04*	1,47±0,07*
III група	1-ша	0,25±0,01*	6,48±0,32*	25,81±1,29*	2,09±0,10*
	3-тя	0,18±0,02*	5,11±0,26*	23,05±1,15*	1,69±0,08*
	5-та	0,17±0,03	4,42±0,22	18,50±0,98	1,26±0,06
	7-ома	0,18±0,02	3,99±0,20	18,51±1,11	1,27±0,06
	10-та	0,17±0,01	4,05±0,20	17,20±0,86	1,22±0,06
	12-та	0,16±0,01	4,14±0,21	18,45±0,92	1,24±0,06
IV група	1-ша	0,27±0,01*	5,57±0,28*	24,48±1,29*	1,99±0,10*
	3-тя	0,25±0,02*	5,34±0,27*	21,65±1,15*	1,77±0,09*
	5-та	0,21±0,03*	4,97±0,25*	20,08±0,98*	1,50±0,07*
	7-ома	0,17±0,02	4,59±0,23*	17,58±1,11	1,21±0,06
	10-та	0,16±0,01	4,22±0,21	16,98±0,85	1,22±0,06
	12-та	0,18±0,01	4,12±0,21	17,01±0,85	1,25±0,06

Подальша динаміка активності маркерних ферментів холестазу ТП була не однакою у різних груп дослідних щурів. У нелікованих тварин суттєве зменшення активності ГГТ і ЛФ (порівняно з аналогічними показниками контро-

льної групи) зберігалось і на 12-ту добу гепатиту. На фоні прийому медгерму, починаючи з 5-ої доби гепатиту, активність маркерних ферментів холестази вже не мала суттєвих відмінностей від контролю. У щурів, які отримували есенціале, нормалізація активності ГГТ відбувалася на 10-ту, а ЛФ – на 7-му добу розвитку гепатиту (див. табл. 5.2).

Результати дослідження, які наведені у даному підрозділі, свідчать, що медгерм здійснював значний вплив на виразність і перебіг гострого галактозамінового гепатиту. За показниками виживаності тварин при гепатиті найбільш ефективним було профілактично-лікувальне застосування нової БАР медгерму дозою 0,4 мг/кг, що в подальшому використано як алгоритм введення медгерму для вивчення гепатопротекторної активності.

Профілактично-лікувальне введення медгерму достовірно підвищувало стійкість щурів до гепатотоксиканту, про що свідчать менш виразні зміни активності маркерних ферментів цитолізу і холестази на 1-у добу гострого галактозамінового гепатиту як у сироватці крові, так і тканині печінки щурів. Крім того, застосування медгерму суттєво зменшувало тяжкість перебігу гострого ураження печінки і строки відновного періоду. За виразністю гепатопротекторної активності нова БАР не поступалась препарату порівняння есенціале, а за деякими досліджуваними показниками навіть його перевершувала.

Результати дослідження свідчать про значні гепатопротекторні властивості медгерму і диктують доцільність подальшого поглибленого вивчення купрум-оксіетилідендифоснатогерманату як нової перспективної гепатопротекторної біологічно активної речовини.

5.2. Корекція медгермом інтегральних показників функції печінки при токсичному гепатиті

При профілактично-лікувальному застосуванні в/о медгерму зміни вмісту інтегральних біохімічних показників функціонального стану печінки як у СК, так і ТП щурів були менш виразними, ніж у щурів при нелікованому гепатиті

(табл. 5.3-5.4, рис. 5.2). Так, у тварин II групи вміст загального білка у СК на 1-у добу розвитку гепатиту достовірно зменшувався відносно контролю на 62,96% (див. табл. 5.3, рис. 5.2).

Таблиця 5.3

Вміст загального білку та сечовини у сироватці крові та тканині печінки щурів різних груп при галактозаміновому гепатиті ($M \pm m$, $n=6$)

Група тварин	Доба гепатиту	Вміст загального білку		Вміст сечовини	
		СК, г/л	ТП, г/Г _{тк}	СК, ммоль/л	ТП, ммоль/Г _{тк}
I група (контроль)		65,38±4,58	17,03±1,53	9,43±0,57	0,67±0,03
II група	1-ша	24,22±1,56*	6,29±0,31*	6,29±0,31*	0,16±0,01*
	3-тя	18,57±2,49*	4,88±0,35*	4,88±0,35*	0,14±0,02*
	5-та	31,53±3,06*	5,92±0,46*	5,92±0,46*	0,23±0,03*
	7-ома	41,25±3,45*	7,00±0,48*	7,00±0,48*	0,35±0,03*
	10-та	44,52±1,11*	7,92±0,20*	7,92±0,20*	0,47±0,02*
	12-та	51,93±1,30*	8,66±0,22*	8,66±0,22*	0,51±0,02*
III група	1-ша	31,13±1,56*	6,29±0,31*	6,29±0,31*	0,22±0,01*
	3-тя	49,81±2,49*	6,92±0,35*	6,92±0,35*	0,37±0,02*
	5-та	61,17±3,06	9,13±0,46	9,13±0,46	0,61±0,03
	7-ома	68,96±3,45	9,58±0,48	9,58±0,48	0,62±0,03
	10-та	65,41±1,64	9,71±0,24	9,71±0,24	0,69±0,03
	12-та	64,92±1,62	9,69±0,24	9,69±0,24	0,66±0,03
IV група	1-ша	42,65±1,56*	6,07±0,31*	6,07±0,31*	0,44±0,01*
	3-тя	47,32±2,49*	7,51±0,35*	7,51±0,35*	0,52±0,02*
	5-та	51,21±3,06*	7,73±0,46*	7,73±0,46*	0,58±0,03*
	7-ома	65,24±3,45	9,11±0,48	9,11±0,48	0,70±0,03
	10-та	64,28±1,61	9,34±0,23	9,34±0,23	0,65±0,03
	12-та	65,47±1,64	9,45±0,24	9,45±0,24	0,68±0,03

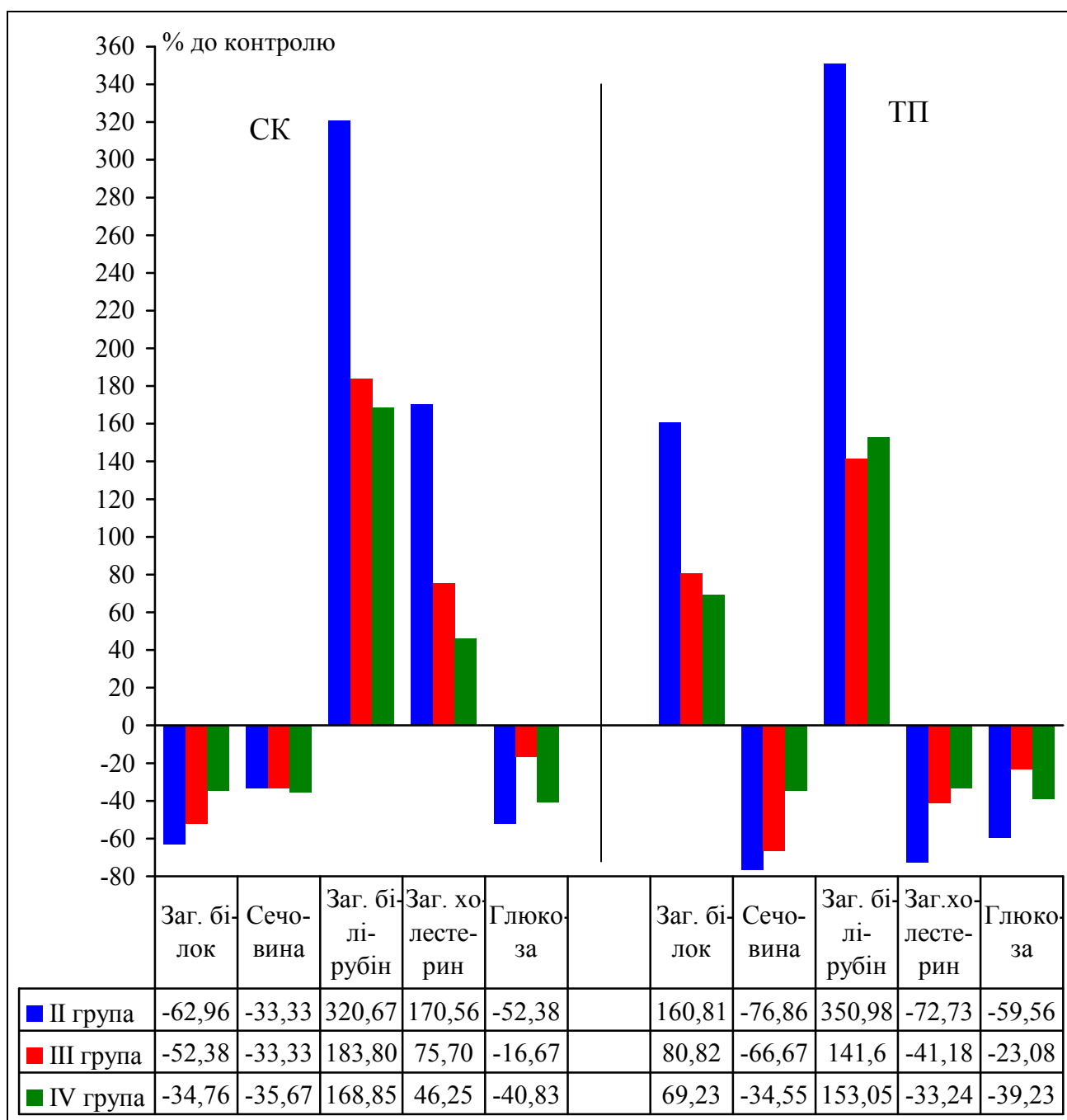


Рис. 5.2. Спрямованість і виразність зміни інтегральних біохімічних показників функції печінки в СК і ТП у щурів на 1-у добу галактозамінового гепатиту залежно від типу терапії (всі показники достовірні відносно контролю)

У щурів, які одержували медгерм, зменшення цього показника у СК було менш виразним (на 52,38 %) (див. табл. 5.3, рис. 5.1). Водночас у ТП щурів, які не отримували лікування, вміст загального білка підвищувався на 160,8 %, а на

фоні введення медгерму — тільки на 69,2 % ($p < 0,05$). При застосуванні есенціале вміст загального білка у СК зменшувався на 34,8 %, а у ТП - підвищувався 69,2 % ($p < 0,05$).

При подальшому спостереженні відновлення даного показника відмічалось у різні строки (див. табл. 5.3). У нелікованих щурів протягом всього періоду спостерігалось достовірне відносно контролю (при $p < 0,05$) зменшення вмісту загального білка як у СК (на 20,6 %), та і значне підвищення його вмісту у ТП (на 50,6 %). У щурів, яким вводили медгерм, вміст загального білка у СК вже на 3-ю добу і у ТП на 5-у добу майже не відрізнявся від контролю (див. табл. 5.3). У щурів, яким застосовувався референс-препарат, відновлення досліджуваного показника відбувалося пізніше - тільки на 7-му добу гепатиту.

Динаміка вмісту сечовини в СК і ТП щурів на фоні галактозамінового гепатиту залежно від БАР, яку отримували тварини, мала значні відмінності (див. табл. 5.3, рис. 5.2).

У 1-у добу нелікованого гепатиту у СК і ТП щурів виявлено суттєве зменшення вмісту сечовини відповідно на 33,3 і 76,9 % (див. табл. 5.3, рис. 5.2). При застосуванні медгерму вміст сечовини також суттєво зменшувався і у СК, і у ТП, відповідно на 33,3 і 66,7 % (при $p < 0,05$). При введенні есенціале вміст сечовини у СК і ТП зменшувався відповідно на 35,7 і 34,6 % відносно контролю ($p < 0,05$). Одночасно у тварин IV групи вміст сечовини у СК і ТП також достовірно відносно контролю зменшувався (відповідно на 35,7 і 66,7 %).

Подальше спостереження показало, що у тварин з нелікованим гепатитом відновлення даного показника було більш повільним, ніж у щурів, які отримували медгерм і есенціале. У нелікованих тварин протягом усього періоду вміст сечовини у СК був достовірно зменшеним, а у ТП підвищеним порівняно з контролем (див. табл. 5.3). При введенні щурам медгерму вже на 5-ю добу гепатиту вміст сечовини у СК і на 7-ту добу у ТП суттєво не відрізнявся від контролю. Подібна картина змін вмісту сечовини у СК і ТП спостерігалася при застосуванні есенціале, однак нормалізація цього показника відбулася і у СК і у ТП тільки на 7-у добу.

На фоні гострого гепатиту відмічалось суттєве збільшення вмісту загального білірубину у СК і ТП щурів (табл. 5.4, див. рис. 5.2).

Таблиця 5.4

Вміст загального білірубину, загального холестерину та глюкози у сироватці крові та у тканині печінки щурів різних груп при галактозаміновому гепатиті (M±m, n=6)

Група тварин	Доба гепатиту	Вміст загального білірубину		Вміст загального холестерину		Вміст глюкози	
		СК, мкмоль/л	ТП, мкмоль/Г _{тк}	СК, мкмоль/л	ТП, мкмоль/Г _{тк}	СК, ммоль/л	ТП, ммоль/Г _{тк}
I група		1,22±0,10	15,95±0,77	3,01±0,30	0,27±0,02	5,48±0,33	4,82±0,24
II група	1-ша	5,13±0,17*	71,93±2,31*	8,14±0,26*	0,07±0,01*	2,61±0,23*	1,95±0,19*
	3-тя	4,90±0,12*	81,39±1,54*	9,34±0,24*	0,05±0,01*	1,87±0,25*	2,14±0,20*
	5-та	4,29±0,07*	67,03±1,40*	8,47±0,16*	0,09±0,01*	2,57±0,29*	2,59±0,23*
	7-ома	2,95±0,06*	45,92±0,90*	5,05±0,15*	0,12±0,01*	3,40±0,27*	3,41±0,24*
	10-та	1,96±0,05*	32,84±1,31*	4,27±0,11*	0,18±0,01*	4,32±0,11*	3,75±0,15*
	12-та	1,53±0,04*	28,55±1,14*	3,25±0,08	0,22±0,01	5,11±0,13	4,01±0,16*
III група	1-ша	3,46±0,17*	38,54±2,31*	5,29±0,26*	0,16±0,01*	4,57±0,23*	3,71±0,19*
	3-тя	2,31±0,12*	25,69±1,54*	4,81±0,24*	0,14±0,01*	5,23±0,25	4,08±0,20*
	5-та	1,47±0,07*	23,35±1,40*	3,21±0,16	0,17±0,01*	5,78±0,29	4,69±0,23
	7-ома	1,24±0,06	14,97±0,90	2,91±0,15	0,22±0,01*	5,40±0,27	4,89±0,24
	10-та	1,21±0,03	15,01±0,60	3,00±0,08	0,26±0,01	5,39±0,13	4,85±0,19
	12-та	1,24±0,03	16,08±0,64	3,08±0,08	0,27±0,01	5,42±0,14	4,79±0,19
IV група	1-ша	3,28±0,17*	40,36±2,31*	4,40±0,26*	0,18±0,01*	3,24±0,23*	2,93±0,19*
	3-тя	3,41±0,12*	26,91±1,54*	3,65±0,24*	0,19±0,01*	4,22±0,25*	3,80±0,20*
	5-та	1,91±0,07*	24,46±1,40*	3,03±0,16	0,24±0,01*	5,05±0,29	3,96±0,23*
	7-ома	1,66±0,06*	19,99±0,90*	3,06±0,15	0,28±0,01	5,13±0,27	4,75±0,24
	10-та	1,54±0,04*	17,52±0,70	2,98±0,07	0,25±0,01	4,35±0,11	4,79±0,19
	12-та	1,27±0,03	16,94±0,68	3,05±0,08	0,27±0,01	5,23±0,13	4,83±0,19

Особливо значним підвищення рівня загального білірубину було на 1-у добу. Так, вміст загального білірубину у СК і ТП достовірно щодо контролю ($p < 0,05$) підвищувався у тварин II групи відповідно на 320,7 і 351,0 %, III групи

— на 183,8 і 141,6 %, IV групи — на 168,9 і 153,1 % (див. табл. 5.4, рис. 5.2). У подальшому спостерігалось зменшення досліджуваного показника. Вміст загального білірубіну в СК і в ТП відновлювався у тварин, які одержували медгерм, на 7-му добу. У нелікованих тварин протягом всього періоду спостереження вміст загального білірубіну у СК і ТП був достовірно підвищений. У щурів IV групи вміст загального білірубіну у СК нормалізувався тільки на 12-у добу, у ТП - на 10-у (див. табл. 5.4).

На 1-шу добу гострого галактозмінового гепатиту у всіх щурів дослідних груп в СК виявлено значне підвищення, а у ТП значне зменшення вмісту загального холестерину (див. табл. 5.4, рис. 5.2). У тварин II групи підвищення вмісту загального холестерину у СК (на 170,6 %) і зменшення його вмісту в ТП (на 72,7 %) достовірно відрізнялося від аналогічного показника у контрольній групі. При застосуванні медгерму динаміка вмісту загального холестерину мала аналогічну спрямованість, але підвищення вмісту загального холестерину у СК (на 75,7 %) і зменшення його вмісту у ТП (на 41,2 %) було менш виразним, ніж у нелікованих тварин, хоча і відрізнялося від контролю. У тварин, яким вводили есенціале, вміст загального холестерину у СК достовірно підвищувався на 46,3 %, а у ТП достовірно зменшувався на 33,2 %.

При нелікованому гепатиті вміст загального холестерину у СК і ТП до 12-ї доби був відповідно достовірно вищим і нижчим, ніж у тварин контрольної групи (див. табл. 5.4, рис. 5.2). У тварин III групи вміст загального холестерину у СК на 5-у добу, а у ТП на 10-у добу не відрізнявся від рівня аналогічного показника контрольної групи. У щурів, які на фоні гепатиту отримували есенціале, відновлення вмісту загального холестерину відбулося у СК на 5-ту добу, а у ТП на 7-му добу.

Найбільш виразне зниження рівня глюкози у СК і ТП (відповідно на 52,4 і 59,6 %) порівняно з контрольною групою спостерігалось у щурів, які на фоні гострого галактозамінового гепатиту не отримували лікування (див. табл. 5.4, рис. 5.2). У тварин, які на фоні гепатиту отримували медгерм, також виявлено достовірне зниження рівня глюкози у СУ і ТП відповідно на 16,7 і 23,1 %. При

застосуванні есенціале виявлено більш суттєве зниження рівня глюкози у СК і ТП, ніж під впливом медгерму – відповідно на 40,8 і на 39,2 %.

Динаміка відновлення вмісту глюкози в СК і ТП дослідних тварин на фоні гострого галактозамінового гепатиту мала деякі особливості залежно від того, яке лікування одержували тварини (див. табл. 5.4, рис. 5.2). Якщо тварини не отримували ні медгерм, ні есенціале, відновлення вмісту глюкози у СК відбувалося тільки на 12-у добу, а у ТП суттєве зменшення вмісту глюкози (порівняно з контролем) виявлено протягом усього спостереження. Водночас, при застосуванні медгерму вміст глюкози у СК вже на 3-ю добу, а у ТП на 5-добу не відрізнявся від контролю. При застосуванні есенціале нормалізація рівня глюкози у СК відбувалася на 5-у добу, а у СК на 7-у добу.

Таким чином, отримані результати дослідження при гострому токсичному гепатиті показників, які інтегрально характеризують функціональний стан печінки, свідчать про значні гепатопротекторні властивості медгерму і диктують доцільність його подальшого поглибленого вивчення як нової перспективної гепатопротекторної БАР.

5.3. Вплив нової БАР на показники обміну купруму тварин при експериментальному гепатиті

За результатами вивчення вмісту купруму та церулоплазміну у СК та ТП щурів встановлено, що при профілактично-лікувальному введенні медгерму динаміка змін цих показників відрізнялася від таких у тварин, які при галактозаміновому гепатиті не лікувались, чи отримували есенціале. Встановлено, що введення галактозаміну супроводжується значними змінами вмісту як купруму, так і церулоплазміну у СК і ТП (табл. 5.5, рис. 5.3). Якщо у нелікованих тварин вміст купруму у СК на 1-у добу гепатиту достовірно збільшувався відносно контролю на 253,6 %, то у щурів, які одержували медгерм, підвищення цього показника хоча і суттєво відрізнялося від контролю, але було менш виразним (на 168,1 %) (див. табл. 5.5, рис. 5.3). Водночас у ТП щурів II групи вміст куп-

руму підвищувався на 203,6 %, а у тварин III групи — тільки на 57,2 % ($p < 0,05$). При застосуванні есенціале вміст купруму у СК на 1-у добу підвищувався на 40,1 %, а у ТП зменшувався 28,10 % ($p < 0,05$).

Таблиця 5.5

Вміст купруму та церулоплазміну у сироватці крові та у тканині печінки щурів різних груп при галактозаміновому гепатиті ($M \pm m$, $n=6$)

Група тварин	Доба гепатиту	Вміст купруму		Вміст церулоплазміну	
		СК, мкмоль/л	ТП, мкмоль/Г _{тк}	СК, мг/л	ТП, мг/Г _{тк}
I група		105,65±7,63	61,31±5,80	1135,75±116,07	0,24±0,03
II група	1-ша	373,58±12,29*	186,14±6,12*	3049,15±241,55*	0,62±0,05*
	3-тя	317,54±30,87*	165,70±11,12*	2585,88±291,43*	0,51±0,06*
	5-та	256,27±8,12*	138,30±4,38*	2254,92±147,07*	0,48±0,03*
	7-ома	216,26±15,88*	107,75±7,91*	1629,12±137,53*	0,38±0,03*
	10-та	194,35±7,77*	84,20±4,21*	1454,29±72,71*	0,35±0,01*
	12-та	169,43±6,78*	79,50±3,98*	1215,51±60,78	0,28±0,01*
III група	1-ша	283,20±14,16*	96,40±4,80*	1171,04±83,19	0,23±0,01
	3-тя	162,63±22,39*	61,14±3,12	1520,75±162,64*	0,31±0,01*
	5-та	150,20±14,30*	63,97±4,66	1217,56±128,52	0,36±0,07*
	7-ома	113,00±4,92	66,80±2,82	1044,49±18,91	0,32±0,02*
	10-та	109,21±2,73	62,40±1,87	1105,28±36,47	0,25±0,01
	12-та	103,28±2,58	59,11±1,77	1143,21±37,73	0,23±0,01
IV група	1-ша	148,00±7,60*	44,08±5,80*	721,88±109,00*	0,41±0,05*
	3-тя	195,40±8,40*	51,25±,20*	577,50±82,60*	0,46±0,06*
	5-та	187,90±4,13*	50,52±2,53*	1780,63±108,62*	0,33±0,01*
	7-ома	184,00±6,30*	47,82±6,80	1203,13±161,22	0,13±0,02*
	10-та	169,34±3,73*	55,28±2,21	1108,94±67,65	0,25±0,01
	12-та	121,55±2,67*	60,34±2,41	1142,27±69,68	0,23±0,01

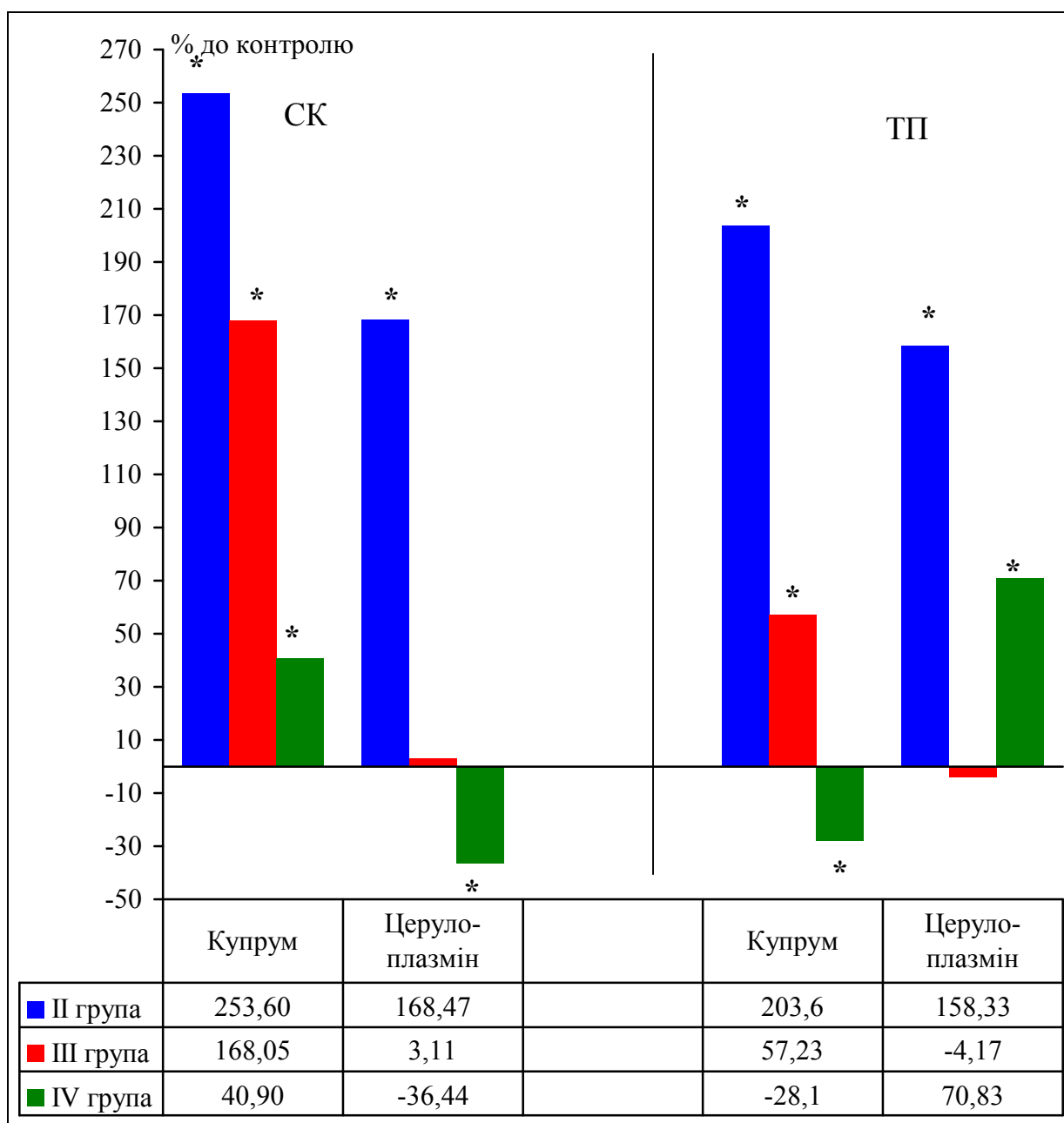


Рис. 5.3. Спрямованість і виразність зміни вмісту купруму та церулоплазміну в СК і ТП у щурів на 1-у добу галактозамінового гепатиту залежно від типу терапії

При подальшому спостереженні відновлення вмісту купруму у СК та ТП відбувалося у різні строки. У щурів, яким вводили медгерм, вміст купруму у СК відновлювався на 7-у добу, а у ТП вже на 3-ю добу (див. табл. 5.5). При нелікованому гепатиті вміст купруму як у СК, так і ТП протягом всього терміну спостереження суттєво і достовірно відрізнявся від такого у щурів контрольної групи. У тварин, які отримували референс-препарат, вміст купруму в СК на 3-

ю добу продовжував збільшуватися (на 84,95 %) і навіть на 12-ту добу цей показник у СК залишався підвищеним на 15,05 %. У ТП відновлення вмісту купруму відбувалося на 7-у добу.

Вміст церулоплазміну в СК та ТП на фоні токсичного галактозамінового гепатиту також зазнав значних змін (табл. 5.5, рис 5.3). У тварин І групи на 1-у добу відмічено достовірний ріст вмісту церулоплазміну у СК і ТП відносно контролю (на 168,5 і 158,3 % відповідно). Починаючи з 3-ї доби, у тварин цієї групи відмічено позитивну динаміку вмісту церулоплазміну як у СК, так і ТП. Надалі у СК нелікованих тварин вміст церулоплазміну тільки на 12-у добу розвитку гепатиту наблизився до контрольних значень, а у ТП протягом всього терміну спостереження відбувалося значне і достовірне його підвищення.

У тварин, які одержували медгерм, на 1-у добу гострого галактозамінового гепатиту рівень вмісту церулоплазміну у СК і ТП суттєво не відрізнявся від контролю (див. табл. 5.5, рис. 5.3). Проте на 3-ю добу рівень церулоплазміну у СК і ТП достовірно ($p < 0,05$) підвищувався відповідно на 33,9 і 29,2 %. У подальшому спостерігалось зменшення рівня церулоплазміну у СК і на 5-ту добу його вміст не відрізнявся від контролю. У ТП до 5-ї доби спостерігалось підвищення вмісту церулоплазміну, а з 7-ї доби його вміст почав знижуватися і на 10-ту добу вміст церулоплазміну у ТП не відрізнявся від контролю.

У щурів, які одержували есенціале, вміст церулоплазміну у СК на 1-у добу значно зменшувався (на 36,4 %), а у ТП суттєво підвищувався (на 70,8 %). На 3-ю добу у тварин цієї групи рівень церулоплазміну у СК продовжував зменшуватися, а у ТП підвищуватися. На 7-му добу у СК рівень церулоплазміну був у межах референтних значень, а у ТП нормалізація цього показника настала тільки на 10-у добу (див. табл. 5.5, рис. 5.3).

Таким чином, на фоні профілактично-курсного застосування медгерму виявлено менш значні зміни вмісту купруму і церулоплазміну в сироватці крові та тканині печінки, ніж у тварин при нелікованому гепатиті та щурів, які одержували препарат порівняння. Строки відновлення вмісту купруму і церулоплазміну при застосуванні медгерму були меншими, ніж при довільному перебігу

гострого токсичного гепатиту і при застосуванні есенціале. Підвищення рівня толерантності щурів до гепатотоксиканту та більш сприятливий перебіг гострого галактозамінового гепатиту при застосуванні медгерму є переконливими ознаками його гепатопротекторних властивостей.

5.4. Морфологічна картина печінки щурів при введенні медгерму на фоні галактозамінового гепатиту

Результати патоморфологічного дослідження підтвердили розвиток гострого галактозамінового гепатиту у щурів. На 1-шу добу гострого токсичного галактозамінового гепатиту у печінці визначалася часточкова будова. Водночас, спостерігалися повнокров'я центральних вен, розширення міжбалочних синусоїдів, набряк строми. У гепатоцитах чітко видно дистрофічні зміни у вигляді дифузної гідропічної (балонної) дистрофії та одиничних осередків некрозу. У портальних трактах спостерігалися осередки лімфоцитарно-макрофагальної інфільтрації з розширенням портальних полів. Глибчасті PAS-позитивні речовини у цитоплазмі гепатоцитів практично відсутні, інтенсивність забарвлення дифузно розташованих PAS-позитивних речовин значно знижена. На 3-тю добу гепатиту у щурів цієї групи патологічні зміни зберігалися і погіршувалися: центральні вени різко розширені, набряк строми став більш виразним, портальні поля розширені, мала місце значна інфільтрація лімфогістоцитарними елементами. Часточкова будова печінки зберігалася, однак простежувалися ділянки з чіткою дисконкомплексацією печінкових балок і вакуольною дистрофією гепатоцитів. У периферичних відділах часточок виявлялася гідропічна і балонна дистрофія гепатоцитів. Балочна будова порушувалася в окремих часточках з виразним поліморфізмом клітин. Глибчасті PAS-позитивні речовини відсутні, у переважної більшості гепатоцитів спостерігалося значне зменшення інтенсивності забарвлення дифузно розташованих PAS-позитивних речовин. На 7-му добу гепатиту у щурів II групи патологічні зміни у тканині печінки значно менші: повнокров'я центральних вен зменшено, на-

бряк строми з лімфогістоцитарною інфільтрацією менш виразний, дисконплексація печінкових балок зустрічалася рідше, дистрофічні зміни хоча і мали місце, однак менш виразні. У більшості часточок відновлювалася балочна будова. У центральних і периферичних відділах часточок спостерігалася гідропічна і місцями балонна дистрофія гепатоцитів. У цитоплазмі багатьох гепатоцитів виявлялися глибокі PAS-позитивні речовини, підвищувалася інтенсивність забарвлення дифузно розташованих PAS-позитивних речовин. Таким чином, введення галактозаміну супроводжувалося дистрофічними, некротичними і дисциркуляторними змінами в печінці.

У щурів, що одержували медгерм (III група), на 1-шу добу гепатиту спостерігалася збереження часточкової структури печінки (рис. 5.4). Грубих дистрофічних порушень виявлено не було. Однак в одиничних гепатоцитах, або невеликих групах (осередкова) виявлено наявність гідропічної дистрофії (балонної), зон некрозу не було. Більше поширення мала білкова дистрофія гепатоцитів (рис. 5.4). У щурів під впливом медгерму кількість глибоких PAS-позитивних речовин значно була знижена, і вони виявлялись лише в одиничних гепатоцитах. Інтенсивність фарбування дифузно розташованих PAS-позитивних речовин була значно знижена по всьому протягу (рис. 5.5). Вже на 3-ю добу гепатиту у щурів, які одержували медгерм дозою, на відміну від тварин, які не отримували лікування, виявлено виразну позитивну динаміку змін морфології тканини печінки (рис. 5.6).

Зберігалась часточкова структура тканини печінки, зон некрозу не було, повнокров'я судин було помірно виразне, набряк строми з вакуольною дистрофією був присутній в одиничних гепатоцитах. Дистрофічні зміни значно зменшились і тільки у невеликих групах залишалася помірно виразна осередкова білкова дистрофія гепатоцитів (рис. 5.6). Глибокі PAS-позитивні речовини розташовувалися маргінально в гепатоцитах переважно периферичних відділів часточок. Помічено осередкове, нерівномірне зниження інтенсивності забарвлення дифузно розташованих PAS-позитивних речовин (рис. 5.7).

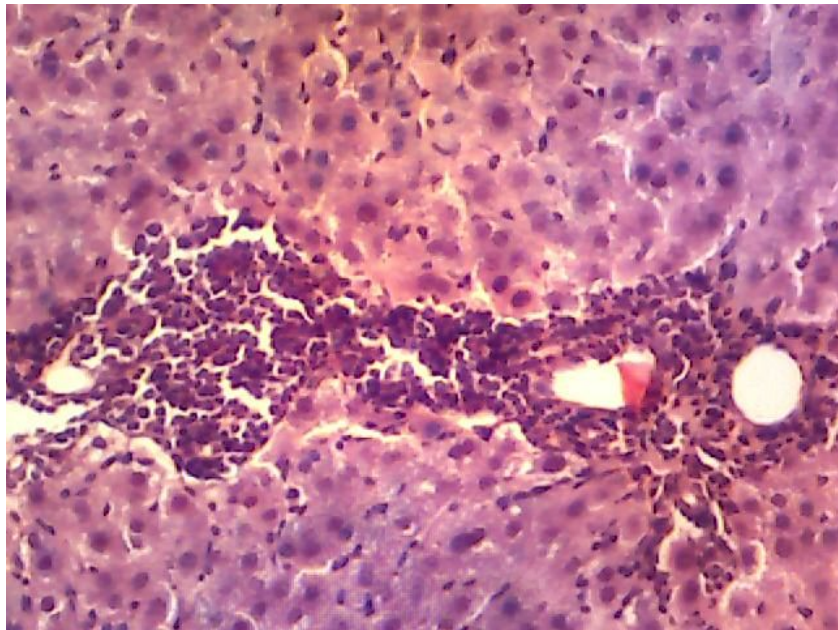


Рис. 5.4. Морфологічні зміни тканини печінки на 1-шу добу галактозамінового гепатиту при введенні медгерму (забарвл. за гематоксилином та еозином, ок. x10, об. x20)

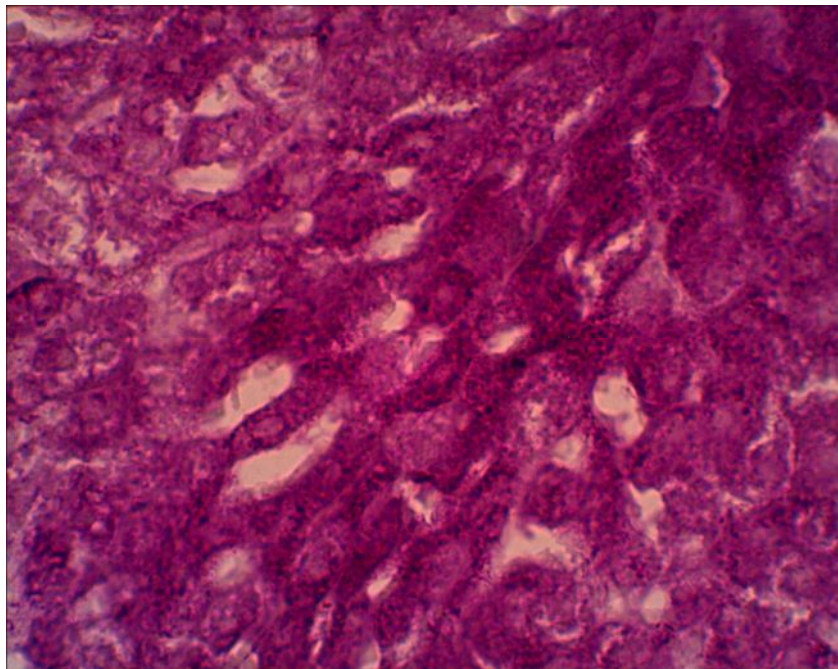


Рис. 5.5. Морфологічні зміни тканини печінки на 1-шу добу галактозамінового гепатиту на фоні медгерму (забарвл. за А.Л. Шабдашем, ок.x10, 40)

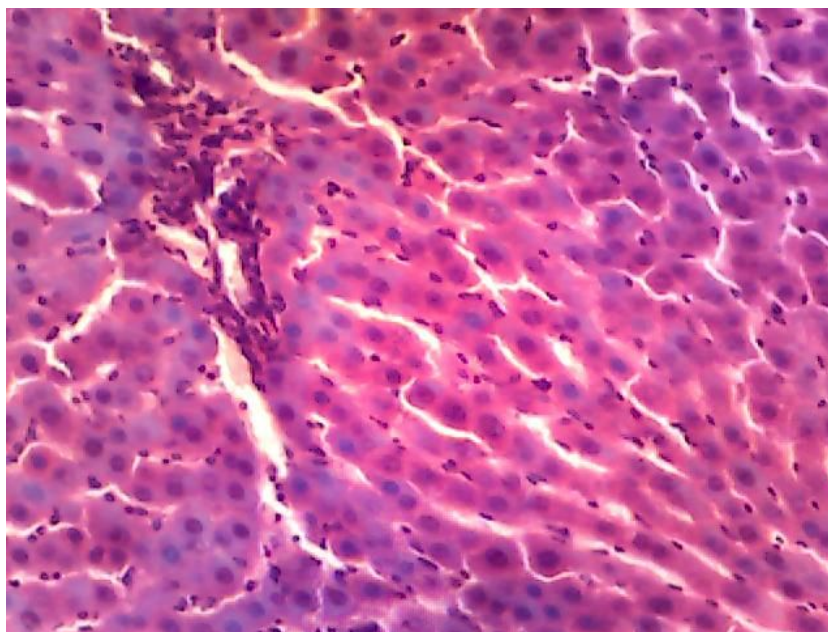


Рис. 5.6. Морфологічні зміни тканини печінки на 3-ю добу гепатиту на фоні медгерму (забарвл. за гематоксиліном та еозином, ок. x10, об. x40)

На 7-му добу гепатиту у щурів, які одержували медгерм на фоні гострого галактозамінового гепатиту, морфологічні зміни тканини печінки майже не відрізнялись від контрольної групи. Із особливостей слід відмітити те, що мала місце помірно виразна осередкова білкова дистрофія одиничних гепатоцитів, незначне повнокров'я в окремих печінкових часточках. Лімфоцитарно-макрофагальна інфільтрація портальних трактів виражена помірно (рис. 5.8).

PAS-позитивні речовини у щурів III групи на 7-му добу гострого галактозамінового гепатиту спостерігалися у вигляді інтенсивно забарвлених глибок, які виявлялися майже у всіх клітинах печінки. Водночас відмічалось значне накопичення дифузно розташованих PAS-позитивних речовин в цитоплазмі гепатоцитів (рис. 5.9).

У тварин, які одержували есенціале, патоморфологічні зміни тканини печінки були менш виразними, ніж у нелікованих щурів (рис. 5.10). На 1-шу добу гепатиту при введенні референс-препарату, на фоні збереженої часточкової структури тканини печінки, спостерігалися помірно повнокров'я центральних вен і незначне розширення міжбалочних синусоїдів. Крім того, у гепатоцитах

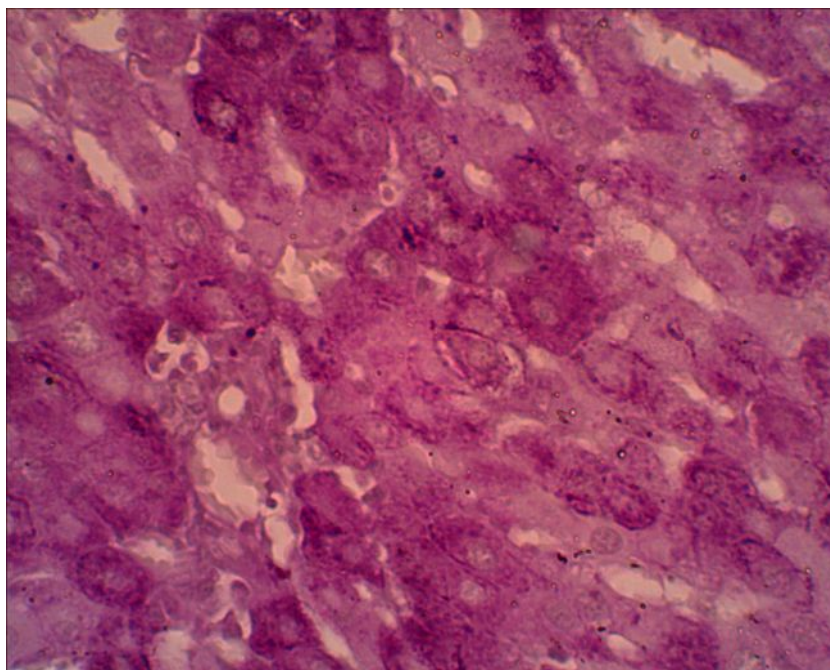


Рис. 5.7. Морфологічні зміни тканини печінки на 3-тю добу гепатиту на фоні введення медгерму (забарвл. за А.Л. Шабашем, ок. x10, x40)

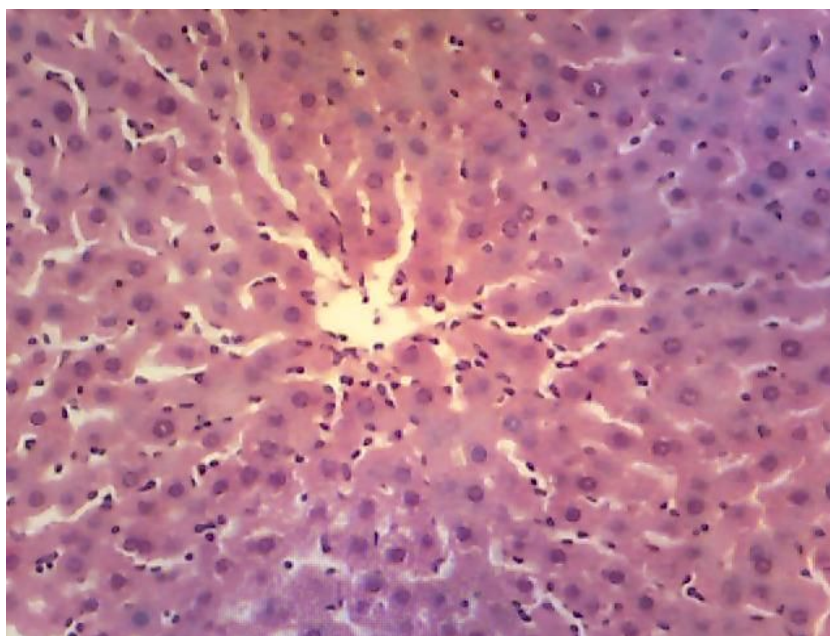


Рис. 5.8. Морфологічні зміни тканини печінки на 7-му добу гепатиту на фоні профілактично-лікувального введення медгерму (забарвл. за гематоксиліном та еозином, ок. x10, об. x20)

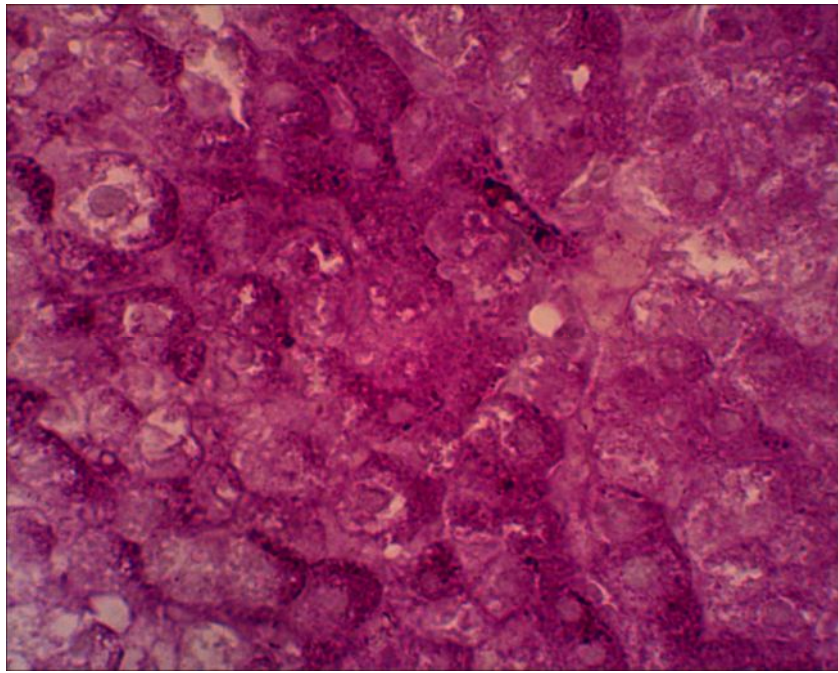


Рис. 5.9. Морфологічні зміни тканини печінки на 7-му добу гострого галактозамінового гепатиту на фоні профілактично-лікувального введення медгерму (забарвл. за А.Л. Шабадашем, ок. x10, x40)

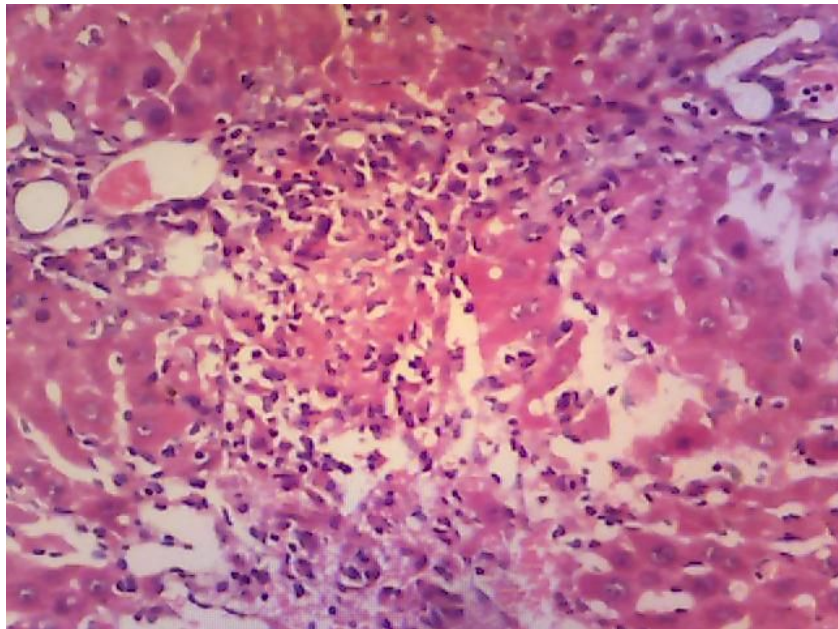


Рис. 5.10. Морфологічні зміни тканини печінки щурів у 1-шу добу гепатиту на фоні профілактично-лікувального введення есенціале дозою 5 мг/кг (забарвл. за гематоксиліном та еозином, ок. x10, об. x20)

спостерігалися помірні дистрофічні порушення у вигляді незначної гідропічної дистрофії і поодиноких зон некрозу. У порталних трактах спостерігалися одиничні осередки лімфоцитарно-макрофагальної інфільтрації (рис. 5.10).

На 1-у добу галактозамінового гепатиту глибокі PAS-позитивні речовини у цитоплазмі гепатоцитів щурів, які на фоні гострого галактозамінового гепатиту отримували есенціале, відсутні, однак інтенсивність забарвлення дифузно розташованих PAS-позитивних речовин значно знижена (рис. 5.11).

На 3-тю добу гепатиту у тварин, що одержували референс-препарат, на фоні збереженої часточкової структури тканини печінки, спостерігалися помірне повнокров'я центральних вен, у одиничних гепатоцитах незначні дистрофічні порушення у вигляді гідропічної дистрофії, зон некрозу немає. Осередки лімфоцитарно-макрофагальної інфільтрації були одиничними (рис. 5.12). Хоча кількість глибоких PAS-позитивних речовин і була знижена на 3-тю добу, вони виявлялись частіше, ніж на 1-шу добу гепатиту. Інтенсивність фарбування дифузно розташованих PAS-позитивних речовин була все ж таки значно знижена по всьому протягу (рис. 5.13).

У тварин, що одержували на фоні гострого галактозамінового гепатиту есенціале, на 7-му добу гепатиту на фоні нормальної гістологічної структури тканини печінки (рис. 5.14) виявлено значні порушення у накопиченні PAS-позитивних речовин (рис. 5.15). Глибокі PAS-позитивні речовини виявлялися у цитоплазмі одиничних гепатоцитів. Крім того, у переважної більшості гепатоцитів спостерігалось значне зменшення інтенсивності фарбування дифузно розташованих PAS-позитивних речовин по всьому протягу (рис. 5.15).

Таким чином, профілактично-лікувальне застосування медгерму на фоні галактозамінового гепатиту супроводжувалося значним зменшенням патоморфологічних та патогістохімічних змін у тканині печінки. На це вказувало зменшення характерних для гострого галактозамінового гепатиту дистрофічних та дисциркуляторних змін в ТП. Причому, за виразністю змін і строками

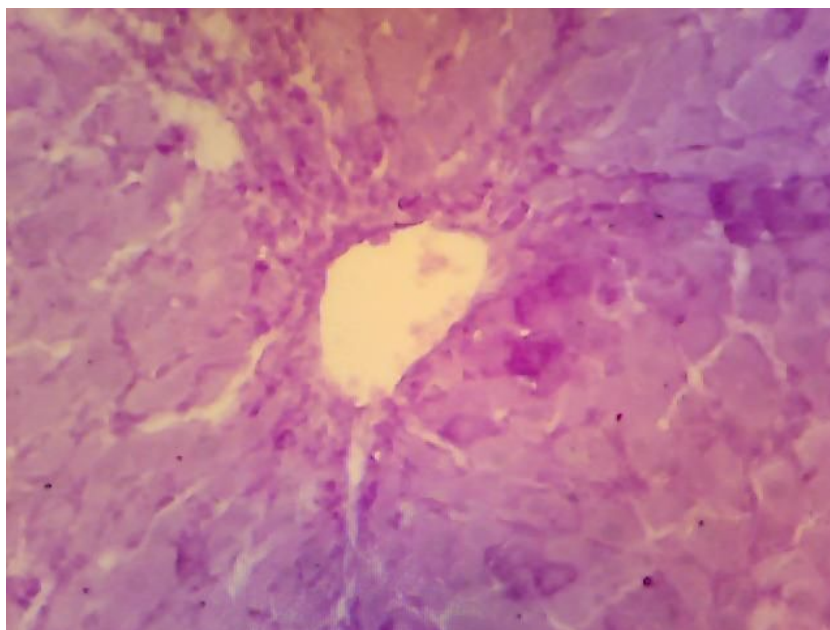


Рис. 5.11. Морфологічні зміни тканини печінки щурів у 1-шу добу гепатиту при введенні есенціале (забарвл. за А.Л. Шабдашем, ок. x10, об. x40)

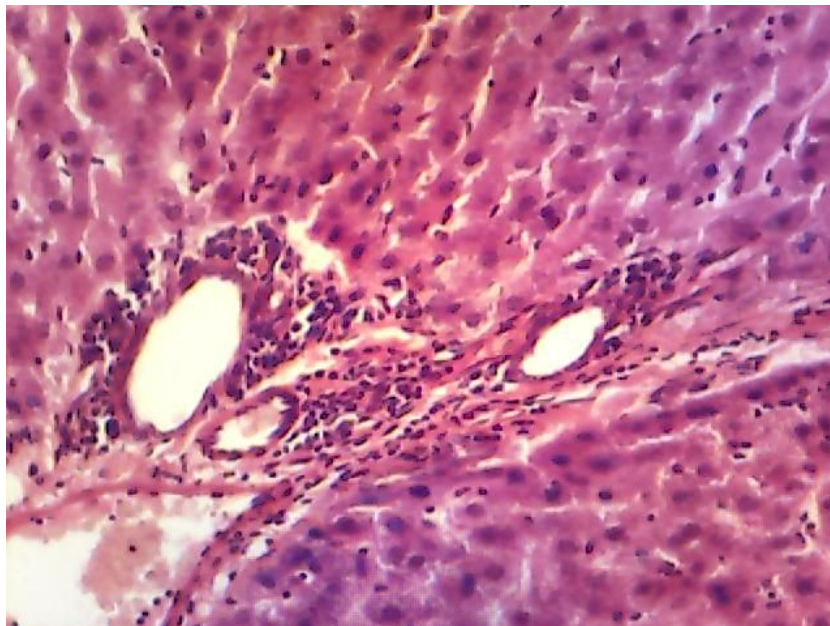


Рис. 5.12. Морфологічні зміни тканини печінки щурів у 3-ю добу гепатиту при введенні есенціале (забарвл. за гематоксиліном та еозином, ок. x10, об. x20)

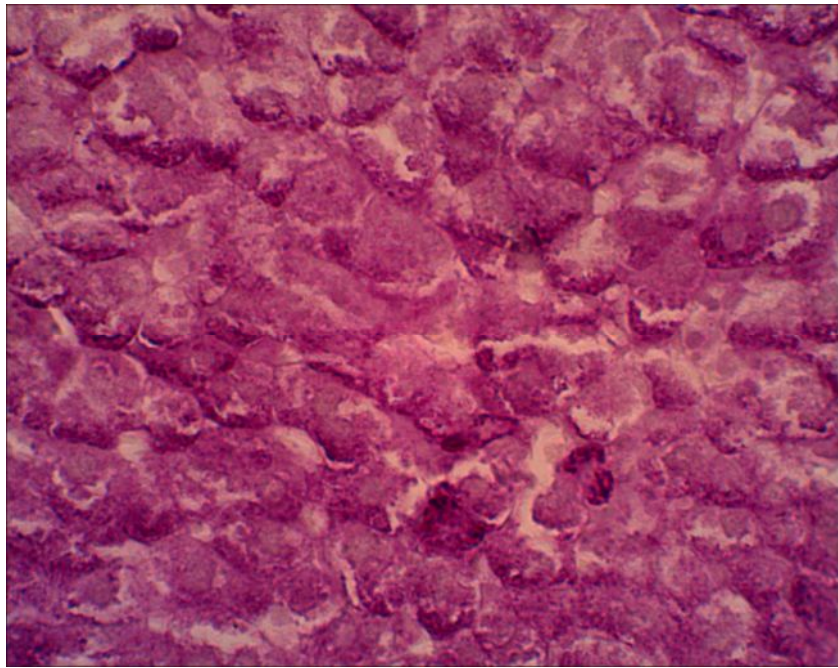


Рис. 5.13. Морфологічні зміни тканини печінки щурів у 3-ю добу гепатиту при введенні есенціале (забарвл. за А.Л. Шабдашем, ок. x10, об. x40)

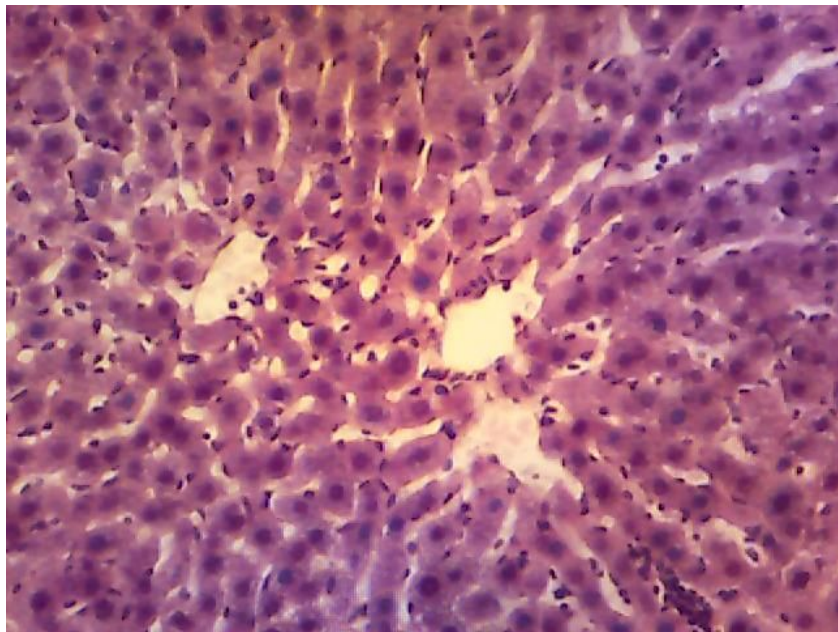


Рис. 5.14. Морфологічні зміни тканини печінки щурів у 7-у добу гепатиту на фоні введення есенціале (забарвл. за гематоксиліном та еозином, ок. x10, об. x20).

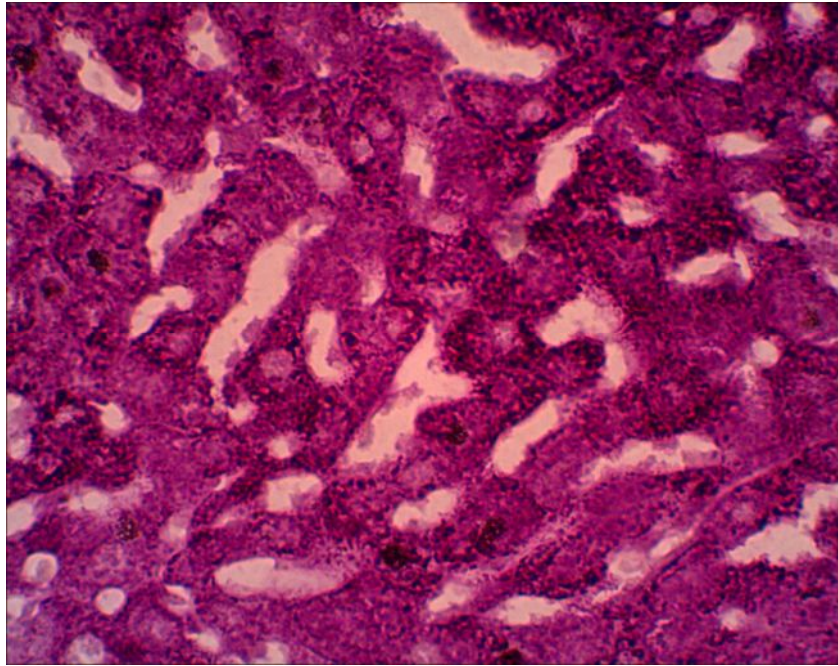


Рис. 5.15. Морфологічні зміни тканини печінки щурів у 7-му добу гепатиту на тлі введення есенціале (забарвл. за А.Л. Шабадашем, ок. $\times 10$, об. $\times 40$)

відновлення морфологічної картини печінки медгерм перевищував референс-препарат. Крім того, строки відновлення гістологічної структури печінки при застосуванні медгерму були меншими, ніж при довільному перебігу гострого токсичного гепатиту і застосуванні референс-препарату.

5.5. Зміни ЛК-спектрів сироватки крові та гомогенату печінки тварин при галактозаміновому гепатиті та його корекції медгермом

Дослідження методом ЛКС-метрії СК і гомогенату ТП щурів дослідних груп виявило цікаві особливості змін ЛК-спектрів як при нелікованому гострому токсичному гепатиті, так і на фоні профілактично-лікувального введення медгерму і референс-препарату.

При ЛКС-дослідженні СК на 1-у добу гепатиту у тварин усіх дослідних груп виявлено значне збільшення внеску в світлорозсіювання часток надвеликомолекулярних розмірів (більше 264 нм) (табл. 5.6).

Внесок часток різних розмірів в ЛК-спектри сироватуи крові тварин
при гострому токсичному гепатиті ($M \pm m$, $n=6$)

Доба гепатиту	Внесок у світлорозсіювання часток СК різних розмірів (у %)				
	I ДЗ (0-11 нм)	II ДЗ (12-38 нм)	III ДЗ (39-95 нм)	IV ДЗ (96-264 нм)	V ДЗ (> 264 нм)
I група					
-	1,77±0,09	15,62±0,78	48,08±2,40	20,38±1,02	14,15±0,71
II група					
1-ша	0,00	2,20±0,11*	16,08±0,80*	13,50±0,68*	68,22±3,41*
3-тя	0,00	0,21±0,01*	10,66±0,53*	4,85±0,24*	84,28±4,21*
5-та	0,00	1,21±0,06*	13,37±0,67*	9,18±0,46*	76,25±3,81*
7-ма	0,00	2,80±0,14*	20,30±1,02*	8,45±0,42*	68,45±3,42*
12-та	1,12±0,06	10,70±0,54*	25,40±1,27*	12,22±0,61*	50,56±2,53*
III група					
1-ша	0,00	1,32±0,07*	31,68±1,58*	13,28±0,66*	53,72±2,69*
3-тя	0,09±0,00	7,38±0,37*	31,48±1,57*	17,68±0,88*	43,37±2,17*
5-та	0,92±0,05	11,75±0,59*	40,55±2,03*	18,72±0,94	28,06±1,40*
7-ма	1,87±0,09	15,68±0,78	46,94±2,35	21,65±1,08	13,86±0,69
12-та	1,57±0,08	15,21±0,76	48,54±2,43	20,56±1,03	14,12±0,71
IV група					
1-ша	0,00	1,76±0,09*	23,88±1,19*	13,39±0,67*	60,97±3,05*
3-тя	0,09±0,00	5,24±0,26*	30,10±1,51*	12,28±0,61*	52,29±2,61*
5-та	0,68±0,03	7,81±0,39*	32,55±1,63*	15,11±0,76*	43,85±2,19*
7-ма	1,10±0,06	10,60±0,53*	43,10±2,16	18,30±0,92	26,90±1,35*
12-та	1,68±0,08	12,53±0,63*	46,28±2,31	21,53±1,08	17,98±0,90

Однак незважаючи на односпрямованість змін у ЛК-спектрах, їх виразність була найбільшою у тварин II групи і найменшою у III групі (відповідно

на 328,1 і 279,7 % відносно контролю, $p < 0,05$). Такі зміни відбувалися за рахунок значного і статистично достовірного зменшення внеску часток СК інших розмірів (див. табл. 5.6).

Крім того, привертає увагу динаміка відновлення характеру ЛК-спектрів СК у тварин різних груп. У тварин II групи на 3-ю добу патологічні зміни наростали і навіть на 12-у добу захворювання характер ЛК-спектру СК достовірно відрізнявся від контролю. У тварин III групи вже на 3-ю добу виявлено позитивну динаміку, яка виражалася у значному зменшенні внеску в світлорозсіювання часток V ДЗ за рахунок збільшення внеску у світлорозсіювання часток інших ДЗ. На 5-ту добу гострого галактозамінового гепатиту на фоні профілактично-лікувального введення медгерму дозою 0,4 мг/кг ЛК-спектри СК наближались до контролю.

У тварин IV групи на 3-ю добу також виявлено позитивну динаміку відновлення ЛК-спектрів СК, яка виражалася у значному зменшенні внеску в світлорозсіювання часток V ДЗ за рахунок збільшенні внеску у світлорозсіювання часток інших ДЗ.

Проте до 12-ї доби гепатиту у щурів цієї групи відновлення ЛК-спектрів СК до величин контролю виявлено не було. Зміни ЛК-спектрів СК тварин IV групи продовжували достовірно відрізнятися від контролю за рахунок достовірного підвищення на 27,1 % внеску у світлорозсіювання часток надвеликомолекулярних розмірів (більш 264 нм) і зменшення на 19,8 % внеску часток низькомолекулярних розмірів (від 12 до 38 нм).

При ЛКС-дослідженні ТП на 1-у добу розвитку гепатиту у тварин усіх дослідних груп виявлено значне збільшення внеску в світлорозсіювання часток великомолекулярних (від 96 до 264 нм) та надвеликомолекулярних розмірів (більше 264 нм) (табл. 5.7). Це відбулося за рахунок помірного зменшення внеску часток низькомолекулярного (від 12 до 38 нм) та середньомолекулярного розмірів (від 39 до 95 нм).

Незважаючи на односпрямованість змін у ЛК-спектрах ТП тварин у 1-у добу токсичного гепатиту, їх виразність була найбільшою у щурів II групи

Внесок часток різних розмірів в ЛК-спектри супернатанту гомогенату тканини печінки тварин при гострому токсичному гепатиті ($M \pm m$, $n=6$)

Доба гепатиту	Внесок у світлорозсіювання часток ТП різних розмірів (у %)				
	I ДЗ (0-11 нм)	II ДЗ (12-38 нм)	III ДЗ (39-95 нм)	IV ДЗ (96-264 нм)	V ДЗ (> 264 нм)
I група					
-	0,00	48,40±2,42	48,57±2,43	1,90±0,10	1,13±0,06
II група					
1-ша	0,00	21,40±1,07*	25,60±1,28*	21,00±1,05*	32,00±1,60*
3-тя	26,82±1,34	16,55±0,83*	15,28±0,76*	10,13±0,51*	31,22±1,56*
5-та	32,75±1,64	20,41±1,02*	18,44±0,92*	7,52±0,38*	20,88±1,04*
7-ма	19,86±0,99	19,45±0,97*	20,16±1,01*	12,50±0,63*	28,03±1,40*
12-та	7,55±0,38	24,25±1,21*	31,40±1,57*	10,32±0,52*	26,48±1,32*
III група					
1-ша	0,00	26,44±1,32*	30,67±1,53*	20,22±1,01*	22,67±1,13*
3-тя	7,23±0,36	31,35±1,57*	28,37±1,42*	18,23±0,91*	14,82±0,74*
5-та	1,25±0,06	40,25±2,01*	39,84±1,99*	10,21±0,51*	8,45±0,42*
7-ма	0,00	48,20±2,41	44,50±2,23	4,00±0,20*	3,30±0,17*
12-та	0,19±0,01	47,95±2,40	48,15±2,41	2,25±0,16	1,46±0,02
IV група					
1-ша	0,00	23,88±1,19*	25,70±1,28*	18,24±0,91*	32,20±1,61*
3-тя	2,53±0,13	22,74±1,14*	30,25±1,51*	12,10±0,61*	32,38±1,62*
5-та	1,73±0,09	31,55±1,58*	29,64±1,48*	16,62±0,83*	20,46±1,02*
7-ма	0,00	31,80±1,59*	31,30±1,57*	16,00±0,80*	21,00±1,05*
12-та	0,00	43,25±2,16	47,15±2,36	5,78±0,29*	3,82±0,19*

(II ДЗ - зменшення у 2,3 рази, III ДЗ - зменшення у 1,9 рази, IV ДЗ – підвищення у 11,1 рази, V ДЗ – підвищення в 28,3 рази). У тварин III групи патологічні

зміни були найменшими (II ДЗ - зменшення у 1,8 рази, III ДЗ - зменшення у 1,6 рази, IV ДЗ – підвищення у 10,6 рази, V ДЗ – підвищення в 20,1 рази). Зміни спектрів у тварин IV групи були меншими, ніж у тварин II групи, але більшими, ніж у тварин III групи (див. табл. 5.7).

За строками відновлення ЛК-спектрів гомогенату ТП нелікована група щурів з модельованим гепатитом значно відрізнялась від тварин, яким вводили медгерм і есенціале. У тварин II групи ЛК-спектри ТП достовірно відрізнялися від контролю за характером патологічних змін навіть на 12-у добу спостереження. У тварин III групи вже на 3-ю добу спостереження виявлено позитивну динаміку відновлення ЛК-спектрів порівняно з контролем, що проявлялось у значному зменшенні внеску в світлорозсіювання часток IV та V ДЗ і збільшенню внеску у світлорозсіювання часток інших II і III ДЗ. На 7-му добу розвитку гепатиту на фоні профілактично-лікувального введення медгерму ЛК-спектри ТП наближались до контролю.

У тварин IV дослідної групи на 3-ю добу експерименту також виявлено позитивну динаміку відновлення ЛК-спектрів гомогенату ТП до контрольних значень. Проте до 12-ї доби спостереження у щурів цієї групи нормалізації ЛК-спектрів виявлено не було. Зміни ЛК-спектрів у IV групі продовжували достовірно відрізнятися від контролю за рахунок підвищення внеску у світлорозсіювання часток СК IV (96-264 нм) та V ДЗ (> 264 нм).

5.6. Вплив медгерму на процеси ПОЛ і систему антиоксидантного захисту при гострому галактозаміновому гепатиті

Проведені дослідження з вивчення впливу нової БАР на стан процесів ПОЛ показали, що на 1-у добу нелікованого галактозамінового гепатиту відбувалося найзначніше і достовірне збільшення вмісту кінцевих продуктів ліпідпероксидації ТБК-реактантів в СК і ТП: відповідно в 2,49 і 3,47 рази відносно контрольної групи (табл. 5.8, рис. 5.16). Одночасно у щурів на фоні введення есенціале рівень ТБК-реактантів суттєво підвищувався в СК на 49,3 %, а ТП –

Вміст ТБК-реактантів та глутатіону відновленого у сироватці крові
та тканини печінки щурів ($M \pm m$, $n=6$)

Група тварин	Доба гепатиту	Вміст ТБК-реактантів		Вміст глутатіону відновленого	
		СК,	ТП,	СК,	ТП,
		нмоль/л	нмоль/Г _{тк}	мкмоль/л	мкмоль/Г _{тк}
І група		27,81±1,67	0,31±0,01	54,10±3,13	155,35±8,10
ІІ група	1-ша	69,20±3,11*	1,08±0,05*	25,15±1,30*	62,50±3,13*
	3-тя	57,19±2,90*	0,78±0,04*	26,04±0,52*	54,61±2,18*
	5-та	53,04±,70*	0,46±0,02*	29,30±1,79*	81,64±2,45*
	7-а	42,79±2,11*	0,41±0,01*	36,86±0,88*	113,93±5,70*
	10-та	37,42±1,87*	0,39±0,02*	41,17±1,07*	128,70±3,35*
	12-та	31,25±1,56*	0,35±0,02*	49,25±1,28	134,29±3,49*
ІІІ група	1-ша	34,39±1,42*	0,41±0,02*	30,31±1,55*	114,22±5,70*
	3-тя	32,20±0,98*	0,39±0,02*	35,20±0,70*	133,48±5,32*
	5-та	28,68±1,16	0,33±0,02	45,57±2,36*	145,29±4,36
	7-а	27,35±0,90	0,31±0,01	53,17±2,71	160,34 ± 8,02
	10-та	28,41±1,14	0,30±0,01	55,21±1,88	159,25±5,41
	12-та	27,15±1,09	0,27±0,01	54,28±1,85	162,48±5,52
ІV група	1-ша	41,5±1,10*	0,50±0,03*	29,92±1,50*	98,82 ± 4,94*
	3-тя	41,02±2,12*	0,39±0,02*	31,87±1,14*	122,17±4,90*
	5-та	33,75±1,76*	0,34±0,02*	36,39±1,83*	124,25±3,71*
	7-а	30,13±1,52	0,31±0,01	43,91±2,25*	138,49±6,89
	10-та	27,22±0,95	0,30±0,01	49,28±2,46	145,32±7,27
	12-та	28,93±1,01	0,28±0,01	54,02±2,70	150,33±7,52

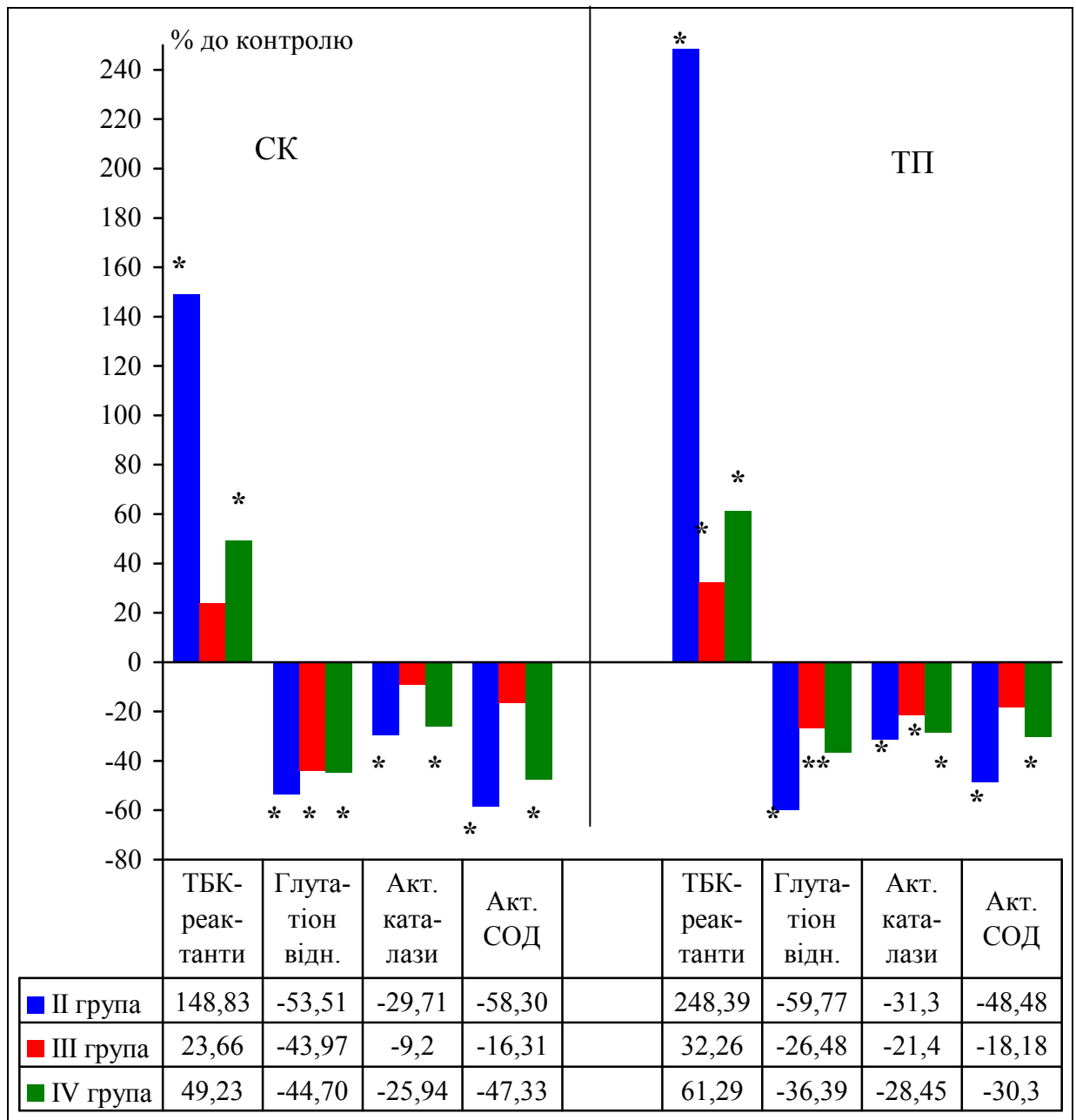


Рис. 5.16. Спрямованість і виразність зміни вмісту/активності показників ПОЛ і АОС в СК і ТП у щурів на 1-у добу галактозамінового гепатиту залежно від типу терапії

61,3 % ($p < 0,05$). При введенні медгерму відмічено найменше, але достовірне підвищення рівня ТБК-реактантів як в СК, так і ТП (на 23,7 і 33,6 % відповідно). Подальше спостереження дозволило оцінити перебіг гострого токсичного гепатиту. Встановлено, що у нелікованих тварин рівень вмісту ТБК-реактантів і в СК, і ТП протягом всього періоду спостереження був суттєво підвищеним.

У тварин, які одержували медгерм, уже на 5-ту добу вміст ТБК-реактивів і в СК, і ТП не відрізнявся від контрольної групи. У щурів, які отримували есенціале, рівень ТБК-реактивів і в СК, і в ТП відновився тільки на 7-му добу експерименту.

Динаміка вмісту одного з основних компонентів неферментативної ланки АОС – глутатіону відновленого, в СК і ТП дослідних тварин залежно від лікування мала деякі особливості (див. табл. 5.8, рис. 5.16). Так, на 1-у добу у тварин, які не лікувалися, відмічено значне зменшення вмісту глутатіону відновленого як у СК, так і ТП (на 53,5 і 59,8 % відповідно, $p < 0,05$) порівняно з контрольною групою.

У щурів, які одержували лікування, на 1-у добу вміст глутатіону також зменшувався, але меншою мірою. Так, у щурів на фоні введення медгерму даний показник достовірно зменшувався в СК на 44,0 %, а в ТП – 26,6 %, а при застосуванні есенціале, в СК – на 44,7 %, а в ТП – 36,4 %.

У подальшому у всіх групах відзначалося поступове відновлення вмісту глутатіону відновленого у СК і у ТП (див. табл. 5.8). Найбільш виразна позитивна динаміка за строками та вмістом глутатіону відновленого була у щурів, які одержували медгерм. У них відновлення вмісту глутатіона відновленого у СК відбулося на 7-у добу, а в ТП – 5-у. На фоні есенціале нормалізація вмісту цього показника настала у СК на 10-у добу, а в ТП – 5-у добу. У тварин II групи рівень глутатіону відновленого в ТП був достовірно зниженим відносно контролю протягом усього експерименту, а в СК його відновлення відбувалось тільки на 12-у добу експерименту.

Активність одного з ключових ферментів ензимної складової АОС – каталази у дослідних групах на фоні галактозамінового гепатиту знижувалася тією чи іншою мірою і у СК і ТП (табл. 5.9, рис. 5.16). На 1-у добу у тварин II групи активність каталази достовірно знижувалась відносно контролю у СК на 29,71 %, а у ТП - на 31,30 %. Одночасно у щурів III групи активність даного ферменту знижувалася в СК - на 9,2 %, в ТП - на 21,4 % ($p < 0,05$), а у щурів IV групи - в СК на 25,9 %, ТП - на 28, 5% ($p < 0,05$).

Активність каталази та СОД у сироватці крові и тканині печінки у щурів
($M \pm m$, $n=6$)

Група тварин	День гепатиту	Активність каталази		Активність СОД	
		СК, кат/л	ТП, кат/Г _{ТК}	СК, УЕ	ТП, УЕ/Г _{ТК}
І група		152,14 ± 6,12	1065,00 ± 14,55	63,72 ± 5,05	0,33 ± 0,02
II група	1-ша	106,94 ± 5,45*	731,66 ± 36,58*	26,57 ± 1,04*	0,17 ± 0,01*
	3-тя	110,01 ± 3,41*	836,56 ± 33,46*	28,12 ± 1,04*	0,16 ± 0,01*
	5-та	120,27 ± 1,20*	881,18 ± 26,44*	32,64 ± 2,38*	0,20 ± 0,01*
	7-а	124,37 ± 6,22*	938,69 ± 46,93*	42,95 ± 2,58*	0,27 ± 0,01*
	10-та	134,28 ± 4,43*	981,23 ± 32,38*	44,35 ± 2,22*	0,30 ± 0,02
	12-та	144,57 ± 4,77	1124,55 ± 37,11	51,28 ± 2,56*	0,29 ± 0,01
II група	1-ша	138,14 ± 3,87*	837,09 ± 41,85*	53,33 ± 2,67*	0,27 ± 0,01*
	3-тя	144,82 ± 6,52	949,02 ± 37,96*	56,15 ± 2,81*	0,26 ± 0,01*
	5-та	147,71 ± 5,61	999,72 ± 29,99	58,48 ± 0,64	0,30 ± 0,02
	7-а	154,03 ± 2,93	1050,94 ± 52,55	63,49 ± 2,73	0,33 ± 0,01
	10-та	152,88 ± 6,42	1125,67 ± 47,28	64,15 ± 1,80	0,35 ± 0,01
	12-та	156,33 ± 6,57	1094,25 ± 45,96	65,28 ± 1,83	0,32 ± 0,01
IV група	1-ша	112,67 ± 5,63*	762,01 ± 38,10*	33,56 ± 1,68*	0,23 ± 0,01*
	3-тя	114,27 ± 5,71*	853,38 ± 34,14*	37,73 ± 1,89*	0,24 ± 0,01*
	5-та	121,32 ± 6,31*	1007,06 ± 30,21	43,43 ± 2,17*	0,29 ± 0,01*
	7-а	136,06 ± 6,80	1089,46 ± 54,47	52,09 ± 2,03*	0,30 ± 0,01
	10-та	147,55 ± 7,53	1072,38 ± 54,69	54,37 ± 2,72*	0,32 ± 0,02
	12-та	155,28 ± 7,92	1105,43 ± 56,38	60,29 ± 3,01	0,34 ± 0,02

У подальшому у всіх тварин відзначалася позитивна динаміка відновлення активності каталази у СК і у ТП (див. табл. 5.9). Найбільш виразна нормалізація за строками та активністю каталази була у щурів, які одержували мед-герм. У них відновлення цього показника у СК відбувалося на 3-ю добу, а в ТП

– на 5-у. При введенні есенціале нормалізація активності каталази наставала у СК на 7-у добу, а в ТП – на 5-у. У тварин II групи активність каталази у СК відновлювалась на 12-у добу, а в ТП – на 10-у.

Активність іншого ключового ферменту ензимної складової АОС – СОД при галактозаміновому гепатиті в дослідних групах також знижувалася тією чи іншою мірою і в СК, і в ТП. На 1-у добу у II групі активність СОД значно і достовірно відносно контролю зменшувалась у СК на 58,3 %, а у ТП – на 48,5 %. У щурів III групи, на фоні введення медгерму, цей показник достовірно, але меншою мірою знижувався в СК - на 16,3 %, в ТП - на 18,2 %, а на фоні введення есенціале – в СК на 47,3 %, в ТП - на 30,3 % (табл. 5.9, рис. 5.16).

У подальшому у всіх групах відзначалася позитивна динаміка відновлення активності СОД у СК і ТП (див. табл. 5.9). Найбільш швидше це відбувалося у щурів, які одержували медгерм. У них відновлення активності каталази і у СК, і у ТП наставало на 5-у добу. У тварин, які одержували есенціале, нормалізація цього показника відбувалася у СК на 10-у добу, а в ТП – на 5-ту. У тварин II групи активність каталази у СК протягом всього періоду спостереження суттєво відрізнялася від аналогічного показника у тварин контрольної групи, а у ТП активність СОД відновлювалася тільки на 10-у добу.

Як свідчать дані табл. 5.8-5.9, динаміка досліджуваних показників при гострому галактозаміновому гепатиті в кожній дослідній групі мала свої особливості. Так, у нелікованих тварин II групи зміни досліджуваних показників у СК і в ТП були най виразнішими і достовірно відрізнялися від показників щурів контрольної групи аж до 7-12-ї доби спостереження.

У тварин III групи на фоні профілактично-лікувального введення медгерму виразність патологічних змін досліджуваних показників була значно меншою, а їх відновлення до початкових значень контрольних щурів відбувалося набагато раніше, ніж у нелікованих тварин II групи. Так, підвищення вмісту ТБК-реактантів і в СК, і в ТП було достовірним тільки до 3-ї доби спостереження (див. табл. 5.8), вміст глутатіону відновленого в СК був достовірно зниженим до 5-ї доби спостереження, а в ТП вже на 3-ю добу гострого галактоза-

мінового гепатиту наближався до контролю (див. табл. 5.8). Зменшення активності каталази в СК щурів, які на фоні гепатиту отримували медгерм, достовірно відрізнялося від аналогічного показника щурів I групи тільки на 1-у добу спостереження, а на 5-у добу гострого гепатиту активність каталази укладалася в референтний інтервал і у ТП. Водночас, активність СОД у СК і ТП щурів III групи вже на 5-ту добу гострого галактозамінового гепатиту не відрізнялася від контрольних значень.

У щурів IV групи, на фоні профілактично-лікувального введення есенціале, зниження вмісту ТБК-реактивнів в СК і ТП було достовірним аж до 5-ої доби експерименту. Вміст глутатіону відновленого в СК і ТП навіть до 7-ї доби спостереження залишався достовірно меншим, ніж у тварин контрольної групи. Активність каталази в СК тільки до 7-ї доби укладалася в референтні межі, а в ТП - до 5-ї доби. Активність СОД в СК і на 7-у добу все ще була достовірно знижена, а в ТП відновлення активності СОД настало тільки на 7-у добу гострого галактозамінового гепатиту (див. табл. 5.8-5.9).

Таким чином, оцінюючи характер впливу медгерму на стан прооксидантно-антиоксидантного гомеостазу при гострому галактозаміновому гепатиті, необхідно відмітити його здатність досить ефективно попереджати генерацію і накопичення кінцевих продуктів ліпідопероксидації а також зберігати і відновлювати активність неферментативної і ферментативної ланок АОС.

Привертає на себе увагу той факт, що динаміка показників ПОЛ і АОС при застосуванні медгерму схожа з динамікою аналогічних показників при застосуванні препарату порівняння - есенціале. Це дозволяє зробити припущення, що досліджувана БАР має антиоксидантну активність, в основі механізму якої, перш за все, лежить здатність реалізувати антиоксидантні та антирадикальні властивості, попереджаючи, таким чином, надлишкові витрати запасів ендогенних антиоксидантів і одночасно знижуючи гіперпродукцію активних форм кисню, які ініціюють процес ПОЛ.

Результати досліджень даного розділу опубліковано:

1. Тимчишин О. Л. Вплив медгерму на функціональний стан печінки при гострому токсичному гепатиті / О. Л. Тимчишин, В. Й. Кресюн, В. В. Годован // Інтегративна антропологія. — 2011. — № 2. — С. 66-73.

2. Гепатопротекторні властивості нової комплексної сполуки германію з купрумом (медгерму) при експериментальному токсичному гепатиті / О. Л. Тимчишин, В. Й. Кресюн, В. В. Годован, А. І. Даніленко // Досягнення біології та медицини. — 2011. — № 2. — С. 64-69.

3. Тимчишин О. Л. Гепатопротективная активность нового германийорганического биологически активного вещества (медгерм) при экспериментальном гепатите / О. Л. Тимчишин // Казанский медицинский журнал. — 2013. — № 5. — С. 628-632.

4. Пат. 66392 Україна, МПК (2011.01.) А61Р 1/16 (2006.01), А61К 31/30 (2006.01), А61К 9/14 (2006.01), G09В 23/28 (2006.01). Медгерм - біологічно активна гепатопротекторна речовина / Тимчишин О. Л., Годован В. В., Кресюн В. Й., Сейфулліна І. Й., Марцинко О. Е. ; заявник та патентовласник Одеський національний медичний університет. - № u201113639 ; заявл. 21.11.2011 р. ; опубл. 26.11.2011 р., Бюл. № 24. — 6 с.

5. Пат. 70302 Україна, МПК (2012.01.) А61В 10/00. Спосіб оцінки функціонального стану печінки в експерименті / Кресюн В. Й., Годован В. В., Тимчишин О. Л., Андронов Д. Ю. ; заявник та патентовласник Одеський національний медичний університет. - № u201112597 ; заявл. 27.10.2011 ; опубл. 11.06.2012, Бюл. № 11. — 5 с.

6. Медгерм — біологічно активна речовина : пат. № 66392, 2011 р., Україна / Тимчишин О. Л. [та ін.] ; ОНМедУ ; НДР "Пошук і комплексне вивчення фармакологічного профілю нових біологічно активних речовин метаболітного походження і ксенбіотиків" ДР 0110U06658 2001-2015 // Реєстр галузевих нововведень. — 2014. — Вип. № 38-39. Реєстр. № 454/39/13. — С. 123-124.

7. Спосіб оцінки функціонального стану печінки : пат. № 70302, 2012 р., Україна / Кресюн В. Й. [та ін.] ; ОНМедУ ; НДР "Пошук і комплексне вивчення

фармакологічного профілю нових біологічно активних речовин метаболітного походження і ксенбіотиків" ДР 0110U06658 2001-2015 // Реєстр галузевих нововведень. — 2014. — Вип. № 38-39. Реєстр. № 455/39/13. — С. 124

8. Тимчишин О. Л. Оценка фармакодинамических эффектов медгерма методом ЛКС-метрии / О. Л. Тимчишин, В. Й. Кресюн, В. В. Годован // Біофізичні стандарти та інформаційні технології в медицині : міжнарод. дистанц. наук.-практ. конф., вересень 2010 р., Одеса : тези. — Одеса : ОДМУ, 2010.— С. 62-63.

9. Тимчишин О. Л. Вплив медгерму на інтегральні показники функціонального стану печінки при експериментальному гепатиті у щурів / О. Л. Тимчишин // 100 років Українському лікарському товариству : XI з'їзд ВУЛТ ; Харків, 28-30 вересня 2011 р. : матеріали — Київ, 2011. — С. 285.

10. Тимчишин О. Л. Оцінка впливу медгерму на вміст продуктів перекисного окиснення ліпідів у тварин з експериментальним токсичним гепатитом / О. Л. Тимчишин, В. Й. Кресюн, В. В. Годован // Ліки -людині. Сучасні проблеми фармакотерапії і призначення лікарських засобів : XXX Всеукраїнська наук.-практ. конф. з міжнародною участю ; Харків, 23 травня 2013 р. : матеріали. — Харків, 2013. - С. 108.

11. Тимчишин О. Л. Вплив медгерму на показники ферментативної ланки антиоксидантної системи у тварин з токсичним гепатитом / О. Л. Тимчишин, В. Й. Кресюн, В. В. Годован // Українські медичні вісті. — 2013. — Т.10 (1-4). — С. 277 (XII з'їзд Всеукраїнського лікарського товариства (ВУЛТ) ; Київ, 5-7 вересня 2013 р. : матеріали)

РОЗДІЛ 6

АНАЛІЗ ТА УЗАГАЛЬНЕННЯ ОТРИМАНИХ РЕЗУЛЬТАТІВ

Одним з перспективних напрямів пошуку нових ліків, які мають високу специфічну активність та достатньо безпечність, є їх прицільний синтез на базі речовин, які добре відомі своїми фармакологічними ефектами. На кафедрі загальної хімії та полімерів Одеського національного університету імені І. І. Мечникова під керівництвом з.д.н.т., професора І. Й. Сейфулліної була цілеспрямовано створена нова БАР на основі германієвих солей дифосфонових кислот з есенціальним мікроелементом купрумом – купрум-оксіетилідендифосфонатогерманат (під робочою назвою медгерм) за формулою – $\text{Cu}_4[\text{Ge}_6(\mu\text{-OH})_4(\mu\text{-O})_2(\mu\text{-Oedph})_6]\cdot 40\text{H}_2\text{O}$ (молярна маса – 1362 г/моль). Встановлені індивідуальність, вивчення фізико-хімічних властивостей синтезованої БАР дозволяють дати таку фармакопейну характеристику. Медгерм є блакитним кристалічним порошком, без специфічного запаху, негігроскопічним, добре розчинним у воді, помірно – в етанолі, практично нерозчинним в ефірі та інших органічних розчинниках. Речовина термостабільна (T розкладу = 170 °C), стійка при зберіганні в субстанції, водному розчині і при стерилізації (кип'ятінні). Такі фізико-хімічні властивості нової БАР дозволяють припустити можливість її клінічного застосування як у твердій лікарській формі, так і рідкій, тобто використовувати для перорального і парентерального введення, а також передбачають доцільність її всебічного подальшого токсикологічного і фармакологічного вивчення.

Першим етапом дослідження було вивчення нешкідливості медгерму для тварин (мишей та щурів) в гострому і хронічному експериментах. Вивчення гострої токсичності медгерму показало, що ця сполука належить до класу малотоксичних сполук (IV клас токсичності) при пероральному застосуванні (у мишей LD_{50} достовірно склала 2517,73 (2429,06÷2606,40), щурів — 2366,29 (2278,32÷2454,26) мг/кг) і помірно токсичних сполук (III клас токсичності) при внутрішньоочеревинному і підшкірному (у мишей LD_{50} достовірно склала від-

повідно 113,55 (95,81÷131,28) і 163,26 (145,66÷180,85), щурів — 63,55 (45,81÷81,28) і 73,26 (55,66÷90,85) мг/кг). Більш низька токсичність медгерму при пероральному введенні може бути обумовлена особливістю його фармакокінетичних параметрів (зниження біодоступності у шлунково-кишковому тракті).

Порівняльна оцінка параметрів токсичності медгерму при трьох шляхах введення у різних видів гризунів показала деякі відмінності, що можна пояснити фармакогенетичними особливостями різних видів гризунів.

Аналіз різних показників гострої токсичності (варіабельність смертельних доз, сумарний показник токсичності та ін.) встановив, що медгерм можна віднести до сполук, які не становлять високої потенційної небезпеки виникнення і розвитку отруєння. Результати екстраполяції на людей параметрів гострої токсичності, одержаних на тваринах, також підтверджували, що ця сполука не представляє небезпеки для людей, в тому числі при в/о, п/ш застосуванні.

У ході дослідження підгострої (протягом 28 діб), субхронічної (3 міс) та хронічної (6 міс) токсичності медгерм при щоденному одноразовому застосуванні субтоксичними дозами 1/10 і 1/20 ЛД₅₀ не спричиняв якої-небудь негативної дії на дослідних тварин. Вживаність щурів складала 100 %. Показники загальноклінічного, біохімічного аналізів крові, загальноклінічного аналізу сечі, гістологічна картина внутрішніх органів тварин при довготривалому введенні нової БАР не мали патологічних змін і практично не відрізнялись від контрольних значень. Помірні гемодинамічні (повнокров'я) і незначні патоморфологічні (ознаки білкової дистрофії) порушення у міокарді, тканинах печінки і нирок тварин були зворотними, дозозалежними і більш виразними при застосуванні БАР дозою 1/10 ЛД₁₀.

Отримані результати з вивчення кумулятивних, місцевоподразнювальних та антигенних властивостей також встановили нешкідливість медгерму. Все це свідчить про доцільність подальшого його дослідження як потенційного лікарського засобу.

До обов'язкового комплексу дослідницьких процедур та операцій на етапі доклінічного випробування лікарських засобів відносять вивчення впливу нової БАР на інтегральні показники поведінкових реакцій тварин.

У тесті «відкрите поля» виявлено значний депримуєчий вплив медгерму на загальну рухову активність, горизонтальне переміщення, емоційну реактивність, емоційну тривожність та орієнтовано-дослідницьку активність дослідних тварин. Найбільш виразний депримуєчий вплив медгерму був встановлений при його введенні дозою $1/40$ ЛД₅₀. За таких умов сполука виявляла суттєвий пригнічуючий вплив на горизонтальну локомоцію (на 61,8 %), емоційну реактивність (43,7 %), емоційну тривожність (на 67,7 %) та орієнтовано-дослідницьку активність (на 63,1 %). Цікаво, що тільки елемент «грумінг» значно і достовірно збільшувався (на 57,1 %).

Вплив медгерму на поведінку щурів у тесті «відкрите поле» виявився залежним від дози. Це проявилось в тому, що при дворазовому зменшенні його дози встановлено зниження депримуєчого ефекту сполуки, крім впливу на емоційну реактивність, яка при введенні $1/40$ і $1/80$ ЛД₅₀ достовірно знижувалась відповідно на 43,7 і 48,8 %. Так, при застосуванні медгерму дозою $1/80$ ЛД₅₀ реєструвалося достовірне зменшення виразності таких поведінкових реакцій як «обнюхування», «сидіння на місці», «дефекації», «уринації», «фризінгу», «загального квадрату» та «стійки з упором». Проте за цих умов відзначалося збільшення «грумінг» (на 78,7 %), «центрального квадрату» (на 36,1 %), «нора» (на 29,4 %), «вертикальна стійка» (на 18,4 %). Введення медгерму дозою $1/160$ ЛД₅₀ практично не впливало на поведінкові реакції у гризунів.

Таким чином, при застосуванні медгерму дозами $1/40$ і $1/80$ ЛД₅₀ відбувалося дозозалежне переважне пригнічення горизонтальної рухової активності, емоційної тривожності та орієнтовано-дослідницької активності. Також встановлено, що при введенні БАР цими дозами виявився приблизно однаковим його вплив на емоційну реактивність дослідних тварин.

Виявлене пригнічення показників горизонтальної рухової активності, орієнтовано-дослідницької активності тварин в тесті «відкрите поле» під впли-

вом медгерму може свідчити про його пряму нейротропну депримуєчу дію. Тобто можна констатувати, що медгерм детермінує виразність моторної та орієнтовно-дослідницької поведінки тварин, що, зважаючи на нейрофізіологічні механізми організації пірамідної та екстрапірамідної активності в організмі, вказує на його вплив на кортико-спінальні шляхи, які мають окремі «входи» до утворень середнього та довгастого мозку, а також мозочку.

Слід відмітити, що у щурів, які були вміщені на інтенсивно освітлений відкритий простір, виникають захисні реакції, характерні для емоційної відповіді на незнайому ситуацію. Тому зменшення емоційної реактивності та тривожності свідчить про протитривожну і стреспротективну дії. Це також може бути доказом залучення під впливом медгерму до реалізації його нейротропної активності ще й утворень лімбічної системи та/або гіпоталамусу, які є повною мірою або частково відповідальними за структурно-функціональну побудову емоційного фону організму.

До методик, що застосовують при фармакологічному скринінгу нових БАР, належить аналіз їх взаємодії зі стандартними лікарськими засобами. Для вивчення діапазону можливої нейротропної активності медгерму, а також механізмів реалізації цієї активності було запроваджено низку досліджень із застосуванням медгерму на фоні стандартних збуджуючих («класичний» психостимулятор групи фенілалкіламінів амфетамін) та депримуєчих (похідне барбітурової кислоти – тіопентал натрію) препаратів.

Цікаві дані отримано при вивченні взаємодії медгерму з амфетаміном. Взагалі відмічалась антагоністична взаємодія медгерму до класичного психостимулятора, яка виявлялася в дозозалежному зниженні стимулюєчих ефектів амфетаміну на загальну рухову активність та ряд поведінкових елементів. Найбільш виразний ефект мала доза $1/40$ ЛД₅₀. Дозою $1/160$ ЛД₅₀ медгерм практично не змінював ефекти психостимулятора на поведінкові реакції тварин. Слід враховувати, що в даній дозі самостійно медгерм також не змінював загальну рухову активність і поведінкові реакції щурів.

Проте при сумісному застосуванні БАР дозою $1/80$ ЛД₅₀ з амфетаміном спостерігались певні особливості у поведінці щурів: достовірне підвищення кількості таких поведінкових елементів як «грумінг» (на 80,7 %), «обнюхування» (на 32,4 %). Крім того, медгерм даною дозою не тільки більш стабільно зберігав протитривожну активність щурів, ніж дозою $1/40$ ЛД₅₀, але й суттєво (в 2,4 рази) збільшував її виразність. При цьому краще зберігалась орієнтовано-дослідницька активність тварин.

Таким чином, медгерм дозами $1/40$ і $1/80$ ЛД₅₀ виявляв антагоністичну взаємодію з класичним психостимулятором, зменшуючи виразність амфетамін-індукованого збудження.

Цікавими є факти, встановлені при дослідженні взаємодії медгерму з класичним депресантом ЦНС тіопенталом натрію. Медгерм, введений за 30 хв до аналізатора трьома дослідними дозами, достовірно не впливав на швидкість настання сну у мишей. Такі результати під впливом медгерму можна пояснити тим, що синтезована БАР суттєво не впливала на біодоступність тіопенталу натрію. Проте дозами $1/40$ і $1/80$ ЛД₅₀ (але не $1/160$ ЛД₅₀) медгерм, який вводився за 30 хв до тіопенталу, достовірно скорочував тривалість фармакологічного сну: відповідно на 52,1 та 47,0 % ($p < 0,05$), що могло б свідчити про антагоністичну дію з ГАМК-міметиком. Проте у 2-й серії дослідів, коли БАР вводилась за 24 год до тіопенталу натрію, медгерм дозами $1/40$ і $1/80$ ЛД₅₀ ($p < 0,05$) також зменшував тривалість сну, що дозволило дійти до висновку про посилення під дією нової БАР детоксикуючої функції печінки через активацію ферментативних систем печінки та їх вплив на біотрансформацію аналізатора. Це, поперше, може деякою мірою пояснювати зниження снодійної дії тіопенталу під впливом медгерму в 1-ї серії експериментів, по-друге, стає підставою для подальшого вивчення його гепатотропного впливу.

На нашу думку, відсутність гіпнотичного ефекту й асомногенну активність медгерму можна пояснити наступним. По-перше, при застосуванні медгерму, купрумвмісної сполуки, саме цими дозами ($1/40$ і $1/80$ ЛД₅₀) у сироватці крові виникало достовірне підвищення вмісту купруму (підрозд. 4.3). Дані лі-

температури свідчать про асомногенні ефекти цього мікроелементу. Так, показано вплив підвищення вмісту мікроелементів (цинку і купруму) у сироватці крові і волоссі на скорочення тривалості сну [341]. Скорочення тривалості сну реєструється при хворобі Вілсона (гепатоцеребральна дистрофія), яка характеризується значним підвищенням вмісту купруму в сироватці крові [342]. Крім того, деякі автори припускають антагонізм купруму з NMDA (N-methyl-D-aspartate glutamate) рецепторами, що спричиняє скорочення сну [343]. По-друге, асомногенний ефект медгерму можна пояснити його серотонінімімічною активністю, встановленою у тесті з 5-окситриптофаном (підрозд. 3.3.4).

Таким чином, проведений нейрофармакологічний аналіз дії нової БАР виявив його здатність проявляти антагонізм з амфетаміном, тобто підтверджено розвиток медгерм-індукованої депримууючої дії. Очевидним є також факт того, що нова синтезована сполука не виявляла самостійної сомногенної дії. Насамкінець, найбільш ефективною в аспекті нейротропного впливу є доза сполуки, еквівалентна $1/80$ ЛД₅₀.

Отримані результати пояснюємо, зважаючи на відомі фармакологічні та нейрохімічні взаємодії, наступним чином. Відомо, що амфетамін впливає на виразність моноамінергічної нейротрансмісії. Для цієї сполуки показано посилення вивільнення дофаміну, норадреналіну і серотоніну, пригнічення їх зворотного захоплення. Він суттєво пригнічує активність моноамінооксидази в стовбурових, серединномозкових та підкіркових утвореннях ЦНС – ретикулярній формації, таламусі, гіпоталамусі, лімбічній системі тощо, що загалом спричиняє розвиток під його впливом виразного, швидкого психостимулюючого ефекту. Отже, медгерм індукує певні нейротропні ефекти у поєднанні з протитривожною (анксіолітичною) дією.

Таким чином, отримані результати впливу медгерму на активність сполук з відомою стимулюючою та/або пригнічуючою активністю дозволяє припустити наявність його впливу на різні нейромедіаторні системи – ймовірно, моноаміноергічні (дофамінергічну, адренергічну, серотонінергічну) передачі на різних рівнях підкіркових утворень ЦНС.

Підтвердженням впливу медгерму на активність серотонінергічної передачі були результати з вивчення 5-окситриптофан-індукованих «струшувань голови» у мишей. Було встановлено, що за умов сумісного введення медгерму дозою $1/80$ ЛД₅₀ і попередника серотоніну 5-окситриптофану збільшувалася кількість "струшувань голови" у мишей, що, по-перше, виявляє синергізм нової БАР і 5-окситриптофану, а, по-друге, пояснює механізм цієї взаємодії – скоріше за все, через посилення серотонінергічної нейротрансмісії в утвореннях ЦНС. Відомо, що синтезуючі серотонінергічні нейрони локалізовані переважно в серединномозкових утвореннях та лімбічній системі. Це може бути поясненням механізму реалізації протитривожної дії медгерму. Крім того, можливо, що саме серотонініметична активність нової БАР пояснює «подвійну» його дію при взаємодії з психостимулятором: зменшення деяких амфетамін-викликаних поведінкових реакцій при збереженні на достатньо високому рівні орієнтовано-дослідницької активності тварин, суттєвому підвищенні таких поведінкових реакцій як «грумінг», «обнюхування».

Наступним етапом дослідження ефектів медгерму стало вивчення його впливу на виразність м'язового тону за умов «стрижня, що обертається», оскільки виявлення наявності або відсутності міорелаксантаної дії є важливим в аспекті подальшого з'ясування діапазону їх фармакологічної активності. Встановлено, що в/о введення медгерму дозами $1/40$, $1/80$ та $1/160$ ЛД₅₀ не викликало міорелаксантаної дії і не впливало на координацію рухів тварин. Пояснюючи отримані дані, слід пам'ятати, що міорелаксація індукується внаслідок загального гіпотонусу активності нейронів спинного та довгастого мозку, що, в свою чергу, відбувається внаслідок підвищення активності ГАМК-ергічної нейротрансмісії. Отже, скоріше за все, механізми реалізації нейротропних ефектів медгерму виключають вплив цієї сполуки на ГАМК-ергічну медіацію. Це підтверджує припущення про механізми асомногенного ефекту даної БАР. Скоріше за все, відсутність міорелаксантаного впливу медгерму пояснюється переважним впливом цієї сполуки на кортикальні нейрони, не залучені до маніфестації

моторних реакцій, а також певною стійкістю нейронів спинного та довгастого мозку щодо дії медгерму.

Враховуючи виявлення детоксикуючої дії нової БАР та її передбачувану гепатотропну активність, ще одним етапом встановлення загально фармакологічних властивостей медгерму стало вивчення його впливу на виразність больової реакції та запальний процес, які відіграють суттєву роль при патологіях печінки.

За умов відтворення «оцтових корчів», тобто периферичного компоненту ймовірного анагетичного ефекту, було зареєстровано гальмуючий дозозалежний вплив медгерму ($1/40 > 1/80$ ЛД₅₀) на локальну активацію медіаторів болю і запальну реакцію.

На моделі карагенінового гострого асептичного запалення було встановлено, що найбільш значний відсоток інгібування набряку спостерігався при застосуванні медгерму дозою $1/40$ ЛД₅₀ на 30-й та 180-й хв (відповідно на 95,0 і 41,3 %). Проте найбільш рівномірний як за часом, так і виразністю вплив на запалення відмічався при введенні БАР дозою $1/80$ ЛД₅₀. Медгерм дозою $1/160$ ЛД₅₀ практично не мав антиексудативної дії. Отже, медгерм реалізує гальмівний вплив на циклооксигеназний шлях розвитку запалення.

На моделі зимозанового набряку медгерм трьома дослідними дозами не виявив протизапального ефекту, що свідчить про відсутність впливу БАР на ліпооксигеназний шлях перетворення арахідонової кислоти.

Таким чином, встановлення токсикологічного і загальнофармакологічного профілю нової сполуки в ряду оксіетилідендифосфонатогерманатів – медгерму – виявило його цікаві властивості: достатньо низька токсичність; депримуєчий нейротропний ефект; анксиолітична активність, поряд з відсутністю гіпнотичної і міорелаксатної дії, а також анагетична, протизапальна ефективність, підсилення детоксикуючої функції печінки. Виявлено синергізм з попередником серотоніну 5-окситриптофаном і антагонізм з амфетаміном, що певним чином пояснює механізм виявлених центральних ефектів медгерму, які, скоріше за все, реалізуються через переважний вплив на моноамінергічну передачу. Проте виявлений спектр фармакологічної активності БАР був дозоза-

лежним і, в основному, виявлявся при застосуванні достатньо високих доз – 1/40, 1/80 ЛД₅₀.

Тому важливим було встановити вплив курсового введення медгерму трьома дозами (1/40, 1/80 і 1/160 ЛД₅₀) на біохімічні показники і морфологічний стан інтактних тварин, у тому числі печінки, як важливого органу біотрансформації ксенобіотиків.

У результаті даної серії експериментів виявлено, що купрум-оксіетилідендифосфонатогерманат по-різному впливав на активність маркерних ферментів печінки. Якщо активність ферменту цитолізу АлАТ СК і ТП щурів майже не відрізнялася від контролю, то активність іншого ферменту цитолізу АсАТ і ферментів холестазу ГГТ та ЛФ як СК, так і ТП на фоні введення медгерму дозами 1/40 і 1/80 ЛД₅₀ частіше значно змінювалась.

Як правило, ці зміни мали дозозалежний характер і при збільшенні активності ферменту у СК спостерігалось зменшення його активності у ТП і, навпаки. Свідченням цього є те, що активність АсАТ СК відносно контролю підвищувалась при введенні медгерму дозою 1/40 ЛД₅₀ у 4,02 рази ($p < 0,05$), 1/80 ЛД₅₀ – 3,47 ($p < 0,05$), а 1/160 ЛД₅₀ – тільки у 1,25 рази. Водночас у ТП щурів відмічено значне зниження активності АсАТ відповідно у 12,41 ($p < 0,05$), 7,23 ($p < 0,05$) та 1,14 рази.

Подібний вплив медгерм здійснював і на активність ГГТ. Так, активність ГГТ СК відносно контролю підвищувалась при застосуванні медгерму дозою 1/40 ЛД₅₀ у 7,54 рази ($p < 0,05$), 1/80 ЛД₅₀ – 3,46 ($p < 0,05$), а 1/160 ЛД₅₀ – тільки у 1,69 рази. Водночас у ТП щурів відмічено зниження активності ГГТ на фоні введення медгерму дозами 1/40 і 1/80 ЛД₅₀ відповідно у 1,75 ($p < 0,05$), 0,98 рази, а застосування БАР дозою 1/160 ЛД₅₀ викликало незначне підвищення активності ГГТ (у 1,05 рази).

Зміни активності ЛФ при курсовому введенні медгерму мали значні відмінності. Так, зміни активності ЛФ СК хоча і мали дозозалежний характер, проте їх виразність була меншою, а спрямованість неоднозначною. На фоні введення медгерму інтактним щурам дозою 1/40 ЛД₅₀ активність ЛФ СК змен-

шувалась у 2,35 рази ($p < 0,05$), $1/80$ ЛД₅₀ підвищувалась у 1,20 рази, а при застосуванні БАР дозою $1/160$ ЛД₅₀ активність ЛФ СК зменшувалась на 1,08 рази. В ТП зміни активності ЛФ на фоні введення медгерму трьома дозами мали феноменологічний характер. При введенні медгерму дозою $1/40$ ЛД₅₀ активність ЛФ суттєво не змінювалася, а $1/80$ ЛД₅₀ зменшувалась у 3,51 рази ($p < 0,05$). При застосуванні БАР дозою $1/160$ ЛД₅₀ активність ЛФ підвищувалась у 1,14 рази ($p > 0,05$).

Подальше вивчення фармакологічних властивостей медгерму виявило, що він здійснює неоднозначний вплив на інтегральні біохімічні показники функціонального стану організму (вміст загального білка, сечовини, загального білірубину, загального холестерину, глюкози сироватки крові та печінки).

На фоні курсового введення інтактним щурам медгерму дозою $1/40$ ЛД₅₀ відмічено відносно контролю достовірне зменшення в СК та збільшення в ТП вмісту загального білка (у 1,20 та 1,32 рази відповідно, $p < 0,05$), збільшення вмісту сечовини у СК і ТП (у 1,19 та 1,41 рази відповідно, $p < 0,05$), загального білірубину тільки у СК у 1,32 рази (вміст загального білірубину у ТП достовірно не змінювався), зменшення у СК та підвищення у ТП вмісту загального холестерину (відповідно у 2,59 і 7,15 разів, $p < 0,05$), зменшення у СК та підвищення у ТП вмісту глюкози (відповідно у 1,49 і 2,70 разів, $p < 0,05$).

При застосуванні інтактним щурам медгерму дозою $1/80$ ЛД₅₀ відмічено достовірне зменшення відносно контролю в СК та збільшення в ТП вмісту загального білка (у 1,13 і 1,15 рази відповідно, $p < 0,05$), зменшення загального білірубину тільки у СК у 1,22 рази (вміст загального білірубину у ТП достовірно не змінювався), зменшення у СК та підвищення у ТП вмісту загального холестерину (відповідно у 1,47 і 5,15 разів, $p < 0,05$), зменшення у СК та підвищення у ТП вмісту глюкози (відповідно у 1,23 і 1,79 разів, $p < 0,05$). При введенні БАР дозою $1/80$ ЛД₅₀ вірогідних від контролю змін вмісту сечовини у СК і ТП не виявлено.

При введенні інтактним щурам медгерму дозою $1/160$ ЛД₅₀ спостерігалось відносно контролю достовірне зменшення в СК вмісту загального холестерину у 1,64 рази та підвищення вмісту глюкози у ТП у 1,27 рази ($p < 0,05$).

Враховуючи, що медгерм у своєму складі містить есенціальний мікроелемент купрум, було важливо оцінити зміни вмісту купруму та церулоплазміну в СК та в ТП інтактних щурів на фоні його курсового введення.

Медгерм дозами 1/40 і 1/80 ЛД₅₀ викликав підвищення вмісту купруму в СК у 1,37 і 1,15 рази відповідно ($p < 0,05$ порівняно контролю). Вміст купруму у ТП достовірно не змінювався.

На фоні введення медгерму дозами 1/40 і 1/80 ЛД₅₀ спостерігалось також збільшення вмісту церулоплазміну у СК (у 1,28 і 1,27 рази відповідно при $p < 0,05$ порівняно контролю) і зменшення його вмісту у ТП (у 2,96 і 1,67 разів відповідно, $p < 0,05$). При введенні інтактним щурам медгерму дозою 1/160 ЛД₅₀ не виявлено вірогідних змін вмісту купруму і церулоплазміну як у СК, так і у ТП.

Таким чином, при курсовому введенні медгерму трьома дозами (1/40, 1/80 і 1/160 ЛД₅₀) встановлено, що він здійснював певний вплив на активність маркерних ферментів цитолізу і холестази, вміст інтегральних показників біохімічного гомеостазу, купруму і церулоплазміну у інтактних щурів, причому найбільш виразний при введенні БАР дозою 1/40 ЛД₅₀. На фоні застосування медгерму дозою 1/160 ЛД₅₀ значних змін досліджуваних показників не відмічалось.

Найбільш цікавими були зміни при курсовому введенні медгерму дозою 1/80 ЛД₅₀. Як свідчать дані табл. 6.1, під впливом медгерму у СК щурів підвищувалась активність АсАТ, ГГТ, вміст сечовини, купруму та церулоплазміну. Водночас у СК тварин відмічалось зменшення активності ЛФ та рівня загального білка, загального холестерину і глюкози.

У ТП на фоні курсового введення медгерму достовірно підвищувався рівень загального білка, сечовини, загального холестерину та глюкози. Водночас у ТП відмічено зниження активності АсАТ, ГГТ та ЛФ і тільки вміст церулоплазміну у ТП зменшувався. Вміст загального білірубину та купруму у ТП не змінювався.

Ці дані можуть бути свідченням того, що високі дози медгерму (1/40 ЛД₅₀) мають певну дію при курсовому введенні інтактним щурам, а низькі –

суттєво не впливають на досліджувані показники. Найбільш виразні зміни аналітів спостерігалися при дослідженні гомогенатів тканини печінки. Коливання вмісту інтегральних показників у сироватці крові були менш виразними.

Таблиця 6.1

Спрямованість змін інтегральних біохімічних показників у інтактних щурів на фоні курсового введення медгерму трьома дозами

Досліджувані показники	Вид біоматеріалу	Доза (від ЛД ₅₀)		
		1/40	1/80	1/160
Активність АЛАТ	СК	(-)	(-)	(-)
	ТП	(-)	(-)	(-)
Активність АсАТ	СК	↑	↑	↑
	ТП	↓	↓	↓
Активність ГГТ	СК	↑	↑	↑
	ТП	↓	(-)	(-)
Активність ЛФ	СК	↓	(-)	(-)
	ТП	(-)	↓	(-)
Вміст загального білка	СК	↓	↓	(-)
	ТП	↑	↑	(-)
Вміст сечовини	СК	↑	(-)	(-)
	ТП	↑	(-)	(-)
Вміст загального білірубіну	СК	↑	↓	(-)
	ТП	(-)	(-)	(-)
Вміст загального холестерину	СК	↓	↓	↓
	ТП	↑	↑	(-)
Вміст глюкози	СК	↓	↓	(-)
	ТП	↑	↑	↑
Вміст купруму	СК	↑	↑	(-)
	ТП	(-)	(-)	(-)
Вміст церулоплазміну	СК	↑	↑	(-)
	ТП	↓	↓	(-)

Примітка: 1. — ↑ — достовірне підвищення активності/вмісту показника;
 2. — ↓ — достовірне зменшення активності/вмісту показника;
 3. — (-) — відсутні достовірні зміни активності/вмісту показника

Зміни у біохімічному гомеостазі, які спостерігались при в/о курсовому введенні медгерму інтактним щурам, потребують морфологічного дослідження їх внутрішніх органів. Встановлено, що у тварин під дією нової БАР відмічались помірні гемодинамічні і незначні зворотні патоморфологічні зміни паренхіматозних органів (ознаки білкової дистрофії). Причому ці зміни були більш виразні на фоні введення медгерму дозою 1/40 ЛД₅₀, а при застосуванні середньоєфективної дози (1/160 ЛД₅₀) БАР гістологічна картина тканин серця, печінки і нирок не відрізнялася від контролю.

Все це свідчить, що медгерм не здійснював грубих незворотних патоморфологічних змін у тканинах паренхіматозних органів при його курсовому введенні у широкому діапазоні доз інтактним щурам. Ці результати і дані раніше проведених досліджень щодо його безпечності у гострому і хронічному експериментах, дають можливість дійти висновку про низьку токсичність досліджуваної БАР і перспективність подальшого вивчення медгерму, як потенційного лікарського засобу, який має ще й гепатотропні властивості.

Крім вищенаведених досліджень, у цій серії експериментів була проведена одномоментна багатопараметрова детекція гомеостатичних зрушень у СК і ТП інтактних тварин під впливом нової БАР. Для зручності та повноти аналізу отриманих даних узагальнення проведено наприкінці даного розділу.

Враховуючи отримані результати вищенаведених токсикологічних, загальнофармакологічних, біохімічних та морфологічних дослідженнях, цікавим було оцінити гепатотропну активність нової сполуки на фоні гострого галактозамінового гепатиту.

На початковому етапі, з метою скринінгу гепатозахисної дії медгерму, проведена серія експериментів з вивчення його впливу дозами 1/80, 1/160, 1/320 ЛД₅₀ (відповідно 0,20, 0,40, 0,79 мг/кг) профілактичною, лікувальною та профілактично-лікувальними схемами введення. У результаті встановлено, що найбільш ефективним було профілактично-лікувальне (за 7 діб до і протягом 7 діб після застосування гепатотоксиканту) застосування медгерму дозою 1/160 ЛД₅₀ (0,4 мг/кг), оскільки при цьому виживаність тварин складала 100 %. Тому

цей алгоритм введення БАР використаний для подальшого дослідження її гепатопротекторної активності на фоні галактозамінового ураження печінки.

Подальші дослідження виявили суттєві зміни активності маркерних ферментів цитолізу і холестази при нелікованому гострому токсичному гепатиті, викликаному галактозаміном. Уже через 1-у добу після введення гепатотоксиканту у СК активність АлАТ і АсАТ достовірно підвищувалась відповідно на 220,0 і 160,0 %, а у ТП зменшувалась – на 78,8 і 72,5 %. Одночасно виявлялось збільшення активності ГГТ і ЛФ як СК, так і ТП. На 1-у добу розвитку гепатиту активність ГГТ ТП збільшувалась на 396,3 %, а СК – на 170,6 %, при тому, що активність ЛФ ТП підвищувалась усього на 149,3 %, а СК – на 90,2 % ($p < 0,05$). Таким чином, зміни активності ГГТ при токсичному гепатиті є більш чутливими і специфічними. Активність ферментів цитолізу і холестази як у СК, так і ТП не відновлювалась до вихідних рівнів і на 10-14 добу розвитку гепатиту.

Профілактично-лікувальне введення нової БАР суттєво запобігало виявленим при нелікованому гепатиті змінам активності ферментів цитолізу і холестази у СК і ТП. Вони були значно меншими навіть у 1-у добу після введення токсиканту. Відновлення активності АлАТ у СК і ТП відбувалося відповідно на 5-у і 7-у добу, АлАТ і у СК, і у ТП – на 5-у добу. При введенні медгерму активність ГГТ СК і ТП відновлювалась також на 5-у добу розвитку гепатиту. При цьому не спостерігалось її виразного підвищення на 1-у добу, як при нелікованому гепатиті. На 1-у добу спостереження застосування нової БАР позитивно вплинуло і на виявлені при нелікованому гепатиті зміни активності ЛФ СК і ТП. Активність даного ферменту холестази хоча і була підвищеною, однак меншою мірою, ніж у контрольних щурів, які отримували фізіологічний розчин, і відновлювалась вже на 5-у добу експерименту. Дослідження активності ферментів цитолізу та холестази при введенні референс-препарату есенціале показало, що він мав гепатозахисну дію, однак за строками відновлення даних показників виявляв менш виразну активність, ніж медгерм. Таким чином, профілактично-лікувальне введення купрум-оксіетилідендифосфонатогерманату запобігало або

суттєво зменшувало прояви основних детермінуючих чинників хронізації процесу та фіброзоутворення у печінці – цитолізу гепатоцитів та холестазу.

Гепатопротекторна активність медгерму підтверджувалась і наступною серією експериментів, присвячених порівняльному вивченню впливу нової БАР і референс-препарату на ті негативні зміни інтегральних біохімічних показників організму (загального білка, сечовини, загального білірубину і холестерину, глюкози сироватки крові і печінки), що спостерігались при гострому галактозаміновому гепатиті і значною мірою характеризують функцію печінки. Необхідно відзначити, що гепатотоксикант спричиняв суттєві зміни вмісту усіх вищевказаних показників як у СК, так і у ТП. Профілактично-лікувальне введення медгерму достовірно підвищувало стійкість щурів до галактозаміну, про що свідчать менш виразні зміни інтегральних біохімічних показників у сироватці крові і тканині печінки щурів на фоні застосування нової БАР вже у 1-у добу розвитку гепатиту.

Цікавими є результати дослідження впливу купрум-оксіетилідендифосфонатогерманату на вміст купруму і купрумвмісного білка церулоплазміну у СТ і ТП тварин, яким моделювався галактозаміновий гепатит. У 1-у добу при нелікованому гепатиті вміст купруму в СК збільшувався в 3,5 рази, в ТП – 3,0. При застосуванні медгерму також відбувалось підвищення цього показника, але меншою мірою (відповідно в 2,7 і 1,5 рази). На фоні есенціале спостерігалась інша картина: в СК вміст купруму збільшувався на 40,1 %, а у ТП зменшувався 28,1 %. У подальшому і при нелікованому гепатиті, і під дією медгерму відбувалось відновлення даного показника, але якщо у першому випадку протягом 12 днів спостерігалась тільки тенденція, то при застосуванні нової БАР нормалізація виявлялась вже на 7-у добу у СК і 3-ю добу у ТП. При введенні есенціале, навпаки, вміст купруму в СК став збільшуватися і навіть на 12-у добу залишався підвищеним. У ТП відновлення вмісту купруму відбувалось на 7-у добу.

Вміст церулоплазміну на фоні токсичного галактозамінового гепатиту також зазнав значних змін. У нелікованих тварин на 1-у добу відмічено суттєве

збільшення цього показника у СК і ТП в 2,7-2,6 рази. Потім протягом 12 днів відмічалась тенденція до його відновлення. Під впливом медгерму на 1-у добу не виявлялось будь-яких змін ні у СК, ні ТП і тільки на 3-ю добу спостерігалось деяке підвищення вмісту церулопазміну в обох субстратах (в 1,3 рази), що достатньо швидко минало. При застосуванні есенціале вже на 1-у добу вміст церулоплазміну, навпаки, в 1,6 рази зменшувався у СК і в 1,8 рази збільшувався у ТП з подальшою тенденцією до підсилення цих змін, а потім повільного відновлення (к 10-ї добі). Таким чином, при застосуванні медгерму виявлено менш значні зміни і кращі строки відновлення вмісту купруму і церулоплазміну в СК і ТП, ніж у тварин при нелікованому гепатиті і щурів, які одержували препарат порівняння.

Резюмуючи вище наведене, можна дійти наступного висновку, що застосування медгерму суттєво підвищувало резистентність тварин до гепатоксиканту, зменшувало тяжкість перебігу гострого токсичного ураження печінки і строки відновного періоду (табл. 6.2).

Таблиця 6.2

Строки (доба) відновлення активності/вмісту біохімічних показників у тварин з гострим токсичним ураженням печінки залежно від сполуки, яку вводили

Показники	Вид біоматеріалу	Група тварин (БАР)		
		II (гепатит)	III (медгерм)	IV (есенціале)
1	2	3	4	5
Активність АлАТ	СК	(-)	5	5
	ТП	(-)	7	5
Активність АсАТ	СК	(-)	5	5
	ТП	(-)	5	5
Активність ГГТ	СК	(-)	5	7
	ТП	(-)	5	10
Активність ЛФ	СК	(-)	5	7
	ТП	(-)	5	7
Вміст загального білка	СК	(-)	5	5
	ТП	(-)	7	5

1	2	3	4	5
Вміст сечовини	СК	(-)	5	5
	ТП	(-)	5	5
Вміст загального білірубіну	СК	(-)	5	12
	ТП	(-)	5	10
Вміст загального холестерину	СК	12	5	5
	ТП	12	10	7
Вміст глюкози	СК	12	3	5
	ТП	(-)	5	7
Вміст купруму	СК	(-)	5	-
	ТП	(-)	3	7
Вміст церулоплазміну	СК	12	5	7
	ТП	(-)	10	10

Примітка: (-) — протягом усього періоду спостереження показник достовірно відрізнявся від референтних значень контролю (1 група)

За виразністю гепатопротекторної активності нова БАР не поступалась препарату порівняння есенціале, а за деякими досліджуваними показниками навіть його перевершувала.

Результати проведених біохімічних досліджень з оцінювання гепатопротекторної активності медгерму корелювали з даними щодо вивчення змін морфологічної картини печінки при застосуванні нової БАР на фоні галактозамінового гепатиту. Встановлено, що під дією профілактично-курсного введення медгерму спостерігалось достовірне і виразне зменшення характерних для гострого галактозамінового гепатиту дистрофічних і дисциркуляторних змін в ТП, що свідчило про виразну гепатозахисну дію медгерму. Причому за виразністю змін і строкам відновлення морфогістохімічної структури печінки медгерм перевершував есенціале.

Як було зазначено вище, для комплексної інтегральної оцінки фармакодинамічних властивостей медгерму був обраний метод лазерної кореляційної спектроскопії, який дозволив провести одномоментну багатопараметрову дете-

кцію гомеостатичних зсувів у СК і гомогенаті ТП на підставі визначення макромолекулярного складу ЛК-спектрів зазначених біологічних зразків. Ці дослідження виконано як при курсовому введенні медгерму трьома дозами (1/40, 1/80 та 1/160 ЛД₅₀) інтактним щурам, так і на фоні профілактично-курсowego застосування медгерму і препарату порівняння есенціале при гострому галактозаміновому гепатиті.

При курсовому введенні інтактним щурам медгерму дозою 1/40 ЛД₅₀ спостерігалось достовірне зниження відносно контролю (інтактні, яким вводився фізіологічний розчин натрію хлориду) внеску в ЛК-спектри СК часток середньомолекулярної (32,0 %) та збільшення надвисокомолекулярної (до 58,5%) фракцій. Подібні спектральні зміни у СК інтактних щурів, але меншою мірою, виявлено і при введенні БАР дозою 1/80 ЛД₅₀. При застосуванні медгерму дозою 1/160 ЛД₅₀ суттєвих змін у ЛК-спектрах порівняно з контролем не було. Виявлені зміни ЛК-спектрів СК при введенні достатньо високих доз синтезованої БАР, мабуть, обумовлені макромолекулярними зсувами – утворенням циркулюючих імунокомплексів.

Дослідження гомогенату ТП методом ЛКС-метрії раніше не проводилося. Тому нами вперше визначено і запропоновано для подальших експериментальних досліджень референтні межі ЛК-спектру гомогенату печінки інтактних щурів. Встановлено, що у інтактних щурів ЛК-спектри гомогенату ТП суттєво відрізняються від спектрів СК: основний внесок у світлорозсіювання склали частинки низько- та середньомолекулярної фракцій (відповідно 48,4 і 48,6 %). У тварин контрольної групи, які отримували фізіологічний розчин натрію хлориду, ЛК-спектри ТП не відрізнялись від інтактних.

Одночасно, на фоні курсового в/о введення медгерму достатньо високими дозами спостерігались у ЛК-спектрах гомогенату ТП значні зміни. При застосуванні доз 1/40 і 1/80 ЛД₅₀ виявлено достовірне зниження внеску в ЛК-спектри часток низькомолекулярної (відповідно до 21,8 і 16,3 %) і збільшення середньомолекулярної (відповідно до 62,8 і 73,2 %) фракцій. Динаміка змін ЛК-спектрів ТП щурів при введенні БАР дозою 1/160 ЛД₅₀ була позитивною:

достовірно збільшився внесок в ЛК-спектри часток низькомолекулярної (до 35,3 %) і зменшення середньомолекулярної (до 50,2 %) фракцій, тобто ЛК-спектри наближалися до таких, що характерні для ТП щурів контрольної групи. Встановлені зсуви у ЛК-спектрах ТП при введенні достатньо високих доз даної БАР корелюють з проведеними біохімічними дослідженнями: збільшення у ТП вмісту загального білка, холестерину, сечовини.

Таким чином, на фоні курсового в/о введення медгерму інтактним щурам відбувалися дозозалежні (1/40, 1/80 ЛД₅₀) зсуви ЛК-спектрів СК і гомогенату ТП. Доза 1/160 ЛД₅₀ була практично індиферентною.

Методом ЛКС-метрії проводилась також інтегральна оцінка змін ЛК-спектрів у СК і гомогенаті ТП під впливом медгерму на фоні галактозамінового гепатиту. На 1-у добу токсичного гепатиту спостерігались суттєві і достовірні зміни ЛК-спектрів СК щурів відносно контрольної групи. А саме спостерігалось значне зменшення внеску у світлорозсіювання часток низько-, середньота викомолекулярних фракцій; внесок в світлорозсіювання часток надвисокомолекулярної фракції значно збільшувався (понад 4,5-4,9 рази). Зазначені зміни ЛК-спектрів пов'язані з процесами інтенсивного руйнування клітин печінки і циркуляцією в крові високомолекулярних комплексів [331, 344].

Крім того, на 1-у добу токсичного гепатиту відбувалися значні та достовірні зміни ЛК-спектрів гомогенату ТП щурів відносно контрольної групи. А саме: спостерігалось значне зменшення внеску у світлорозсіювання часток низько- та середньомолекулярних фракцій, внесок в світлорозсіювання часток високо- та надвисокомолекулярної фракцій значно збільшувався. Такий зсув в ЛК-спектрах гомогенату ТП, ймовірно, також пов'язаний з пошкодженням гепатоцитів токсикантом [331, 344]. Слід відмітити, що при спостереженні у динаміці змін в ЛК-спектрах гомогенату ТП виявлено значний внесок у світлорозсіювання часток наднизькомолекулярної фракції, що є ознакою дистрофічних змін в печінці.

Виразність змін ЛК-спектрів як СК, так і гомогенату ТП була найбільшою у тварин з нелікованим гепатитом і найменшою у тварин, яким профілак-

тично-лікувально вводили медгерм. Спостереження у динаміці розвитку гострого галактозамінового гепатиту виявило, що відновлення ЛК-спектрів до контролю як СК, так і гомогенату ТП було виявлено раніше у тварин, які одержували на фоні гепатиту медгерм (на 5-у і 7-му доби відповідно). У тварин з нелікованим гепатитом протягом всього терміну спостереження відмічались патологічні зміни у ЛК-спектрах СК і гомогенату ТП.

Зіставляючи результати проведених біохімічних, морфологічних досліджень з даними ЛКС-метрії СК і гомогенату ТП, виявилася їх кореляція, що медгерм підвищує толерантність дослідних тварин до гепатотоксину, поліпшує тяжкість перебігу гепатиту, а позитивна динаміка відновлення показників на фоні введення медгерму наступала раніше ніж у тварин, які одержували препарат порівняння (есенціале).

Відомо, що ключовим фактором, який опосередкує пошкодження мембранних структур органів і тканин при різноманітних захворюваннях, в тому числі печінки, є активація процесів ПОЛ і пригнічення антиоксидантного захисту організму [313]. Для з'ясування основних механізмів захисної дії медгерму на тканину печінки було вивчено деякі параметри перекисного окиснення ліпідів (вміст ТБК-реактивних речовин), а також основні показники стану антиоксидантної ланки (вміст глутатіон відновленого, активність СОД і каталази).

Встановлено, що профілактично-курсове застосування медгерму вже на 1-у добу розвитку галактозамінового ураження печінки суттєво запобігало збільшенню вмісту кінцевих продуктів ліпідпероксидації ТБК-реактивних як в СК, так і ТП (в 2,0 і 2,6 рази відповідно). Водночас препарат порівняння знижував підвищений вміст ТБК-реактивних в СК в 1,7 рази, а в ТП – в 2,2, тобто за ефективністю медгерм достовірно перевершував есенціале. За строками відновлення даного показника медгерм також виявився найбільш ефективним. Під його впливом на 5-ту добу вміст ТБК-реактивних і в СК, і ТП не відрізнявся від контролю, а при застосуванні есенціале – тільки на 7-у добу. У нелікованих тварин даний показник в обох субстратах був достовірно підвищеним протягом всього періоду спостереження.

Вивчення основних показників, які характеризують стан АОС показало, що при модельованому гепатиті нова БАР значно зменшувала негативний вплив гепатотоксиканту як на її неферментативну, так і ферментативну ланки. Так, вже на 1-у добу медгерм достовірно запобігав зменшенню вмісту одного з основних компонентів неферментативної ланки АОС – глутатіону відновленого в СК і ТП (в 1,2 і 2,3 рази відповідно). При цьому референс-препарат за ефективністю був практично на тому ж рівні. На його фоні знижений під дією галактозаміну вміст глутатіону відновленого збільшувався в СК також достовірно в 1,2 рази, в ТП – в 1,6. Проте за строками відновлення даного показника до рівня контролю в СК медгерм виявився більш ефективним. Якщо на його фоні нормалізація вмісту глутатіону відновленого у СК відбулась на 7-у добу, то при застосуванні есенціале тільки на 10-у. В ТП цей показник в обох випадках не відрізнявся від контрольних значень на 5-у добу. Необхідно відмітити, що при нелікованому гепатиті рівень глутатіону відновленого в ТП був достовірно відносно контролю зниженим протягом усього експерименту, а в СК його відновлення відбувалось тільки на 12-у добу експерименту.

Медгерм і препарат порівняння також запобігали пригніченню активності ключових ферментів ензимної складової АОС – каталази і СОД на фоні галактозамінового гепатиту, проте декілька відрізнялись за виразністю дії і строкам відновлення. Цікавим є той факт, що і медгерм, і есенціале взагалі здійснювали односпрямовану дію на ферментативну частину антиоксидантного захисту. Проте вони найактивніше впливали на СОД, але за строками відновлення показників до контрольних значень були найефективнішими відносно каталази. Так, на 1-у добу гепатиту активність СОД в СК і ТП достовірно збільшувалась під впливом медгерму відповідно в 2,1 і 1,6 рази, а есенціале – на 26,3 і 35,4 %. Водночас сполуки не здійснювали значного впливу на активність каталази, спостерігалась тільки тенденція до зменшення токсичних властивостей галактозаміну. Відновлення до контролю активності каталази на фоні введення медгерму і есенціале відбувалося в СК відповідно на 3-ю і 7-у доби, а в ТП – на 5-у. Активність СОД дійшла до референтних значень під впливом нової БАР і

референс-препарату в СК відповідно на 5-у та 12-у доби, в ТП – на 5-у та 7-у доби. Таким чином, за ефективністю дії медгерм лише декілька перевищував препарат порівняння. Враховуючи односпрямованість і практично однакову виразність дії, можна дійти висновку про подібність механізму їх антиоксидантної дії.

Резюмуючи отримані результати, можна стверджувати, що медгерм підвищує толерантність щурів до гепатотоксинів. Нова БАР певною мірою зменшує активацію процесів ліпідпероксидації і значно зберігає і відновлює систему антиоксидантного захисту організму, гальмує процеси цитолізу та холестазу при гострому токсичному гепатиті. Все це, в кінцевому підсумку, забезпечує зменшення негативного впливу гепатотоксиканта на печінку. Таким чином, медгерм має гепатозахисні властивості при гострому токсичному гепатиті.

ВИСНОВКИ

У дисертації наведено нове вирішення актуального завдання фармакології, яке полягає в експериментальному обґрунтуванні доцільності і перспективності застосування нової вітчизняної біологічно активної речовини – купрум-оксіетилідендифосфонатогерманату (медгерму) як потенційного гепатопротекторного засобу.

1. У гострому експерименті встановлено, що медгерм належить до малотоксичних сполук (IV клас токсичності) при пероральному введенні (ЛД₅₀ складала у мишей і щурів більше 2250,0 мг/кг) і помірно токсичних (III клас) при внутрішньоочеревинному і підшкірному (відповідно у мишей ЛД₅₀ знаходилась у діапазонах 95,81÷131,28 і 145,66÷180,85, щурів — 45,81÷81,28 і 55,66÷90,85 мг/кг) застосуванні. Ця БАР при всіх шляхах введення немає високої потенційної небезпеки виникнення і розвитку отруєння та є не шкідливою для людини. За даними вивчення підгострої, субхронічної та хронічної токсичності, кумулятивних, місцевоподразнювальних і алергізуючих властивостей підтверджено низьку токсичність медгерму.

2. Аналіз загальнофармакологічних властивостей медгерму встановив, що у достатньо високих дозах дозозалежно ($1/40 > 1/80$ ЛД₅₀) мав депримууючий ефект на ЦНС, який характеризувався достовірним пригніченням загальної рухової (переважно горизонтальної) та орієнтовано-дослідницької активності, зменшенням емоційної реактивності і тривожності щурів у тесті «відкрите поле». Анксиолітичні ефекти БАР підтверджувались і тим, що на фоні антагоністичної взаємодії з амфетаміном медгерм дозою $1/80$ ЛД₅₀ в 2,4 рази підвищував протитривожну активність тварин, а також достовірно зберігав їх орієнтовано-дослідницьку діяльність. Поряд з цим, виявлена його синергічна дія з попередником серотоніну 5-окситриптофаном. Медгерм не викликав сну, міорелаксацію і порушення координації рухів у інтактних тварин. БАР ($1/40$ і $1/80$ ЛД₅₀) не впливала на швидкість настання тіопенталового сну, проте достовірно скорочувала його тривалість як за 30 хв, так і за 24 год до введення аналізатора,

підсилюючи детоксикуючу функцію печінки. Медгерм також мав дозозалежну ($1/40 > 1/80$ ЛД₅₀) аналгетичну і антиексудативну (за циклооксигеназним шляхом) дію.

3. Курсове в/о введення медгерму інтактним тваринам здійснювало певний дозозалежний ($1/40 > 1/80$ ЛД₅₀) вплив на активність маркерних ферментів цитолізу і холестази, інтегральні біохімічні показники (загальний білок, сечовина, загальний білірубін і холестерин, глюкоза), вміст купруму та церулоплазміну у сироватці крові та печінці. Найбільш виразні зміни спостерігалися у гомогенаті тканини печінки. При цьому медгерм не здійснював грубих незворотних патоморфологічних змін у тканинах паренхіматозних органів. Дозою $1/160$ ЛД₅₀ нова сполука не викликала достовірних змін досліджуваних показників.

4. Профілактично-лікувальне в/о введення медгерму ($0,4$ мг/кг) суттєво підвищувало толерантність тварин до гепатоксиканту, про що свідчили 100% виживаність щурів, суттєве зменшення активності ферментів цитолізу та холестази, виразність змін інтегральних біохімічних показників, вміст купруму і церулоплазміну у сироватці крові та тканині печінки, виразність морфогістохімічних порушень у тканині печінки вже на 1-у добу розвитку галактозамінового гепатиту. Відновлення цих показників до рівня контролю відбувалось у 2-5 разів швидше, ніж у групі нелікованих тварин, і в 1,5-2 рази порівняно з референс-препаратом есенціале ($p < 0,05$).

5. Одномоментна багатопараметрова інтегральна оцінка змін у сироватці крові та печінці інтактних тварин лазерною кореляційною спектроскопією корелювала з біохімічними і морфологічними дослідженнями і дозволила виявити дозозалежний вплив медгерму ($1/40 > 1/80$ ЛД₅₀). ЛКС-метрія гомогенату печінки (вперше запропонована як спосіб оцінки ступеня її ураження) і сироватки крові встановила, що медгерм суттєво запобігав (на 5-7-му доби), перевищуючи референс-препарат за виразністю дії і строкам відновлення, тим патологічним зсував у ЛК-спектрах, що виявлялись при галактозаміновому гепатиті і характеризувались як деструктивні та дистрофічні процеси.

6. Гепатозахисний ефект медгерму на фоні гострого токсичного гепатиту реалізувався за рахунок того, що значно зберігав і відновлював ферментативну і неферментативну складові антиоксидантного захисту організму тварин, гальмував процеси цитолізу і холестазу, певною мірою пригнічував процеси ліпідопероксидації, а також запобігав збільшенню вмісту загального холестерину в сироватці крові та печінці. Результати досліджень з вивчення токсикологічних і фармакодинамічних властивостей медгерму дозволяють рекомендувати його в подальшому як потенційний ефективний і безпечний гепатопротекторний засіб.

СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ

1. Metal ion coordination of macromolecular bioligands / K. Burger, J. Illes, B. Gyurcsik [et al.] // *Carbohydr Res.* – 2001. – Vol. 332, № 2. – P. 197-207.
2. Thiele D. J. Integrating trace element metabolism from the cell to the whole organism / D. J. Thiele // *J Nutr.* – 2003. – Vol.133, №5 Suppl 1. – P.1579-1580.
3. Орлова С. И. Комплексная система оценки антиоксидантной активности полифункциональных элементоорганических соединений и комплексов биометаллов : автореф. дис. на соискание науч. степени канд. хим. наук. : спец. 02.00.16 "Медицинская химия" / С. И. Орлова. – Москва, 2012. – 20 с.
4. Витамины и микроэлементы в клинической фармакологии / В. Г. Кукес, В. Г. Ребров, А. К. Стародубцев [и др.]. – М: Палея-М, 2001. – 560 с.
5. Сарымзакова Р. К. Пути снижения токсичности и повышения избирательности лекарственных препаратов / Р. К. Сарымзакова, Ю. А. Абдурашитова, Ж. А. Джаманбаев // *Вестн. Моск. ун-та.* – 2006. – Т. 47, № 3. – С. 242-244.
6. Шубчинська А. С. Вплив координаційних сполук германію на біосинтез і активність протеаз *bacillus sp.та Yarrowia lipolytica* / А. С. Шубчинська // *Мікробіологічний журнал.* - 2008 . – Том 70, № 4. – С.3-9.
7. Скальный А. В. Химические элементы в физиологии и экологии человека / А. В. Скальный. – М.: Мир, 2004. – 215 с.
8. Дизайн и синтез гомо- и гетерометаллических (Ge – Co, Ni, Cu, Zn) координационных соединений – субстанций низкотоксичных фармпрепаратов широкого спектра действия / И. Й. Сейфуллина, Е. Э.Марцинко, Е. А. Чебаненко [и др.] // *Микроэлементы в медицине, ветеринарии, питании: перспективы сотрудничества и развития : международн. науч.-практ. конф. ; 24-26 сентября 2014 ; Одеса : тези.- Одесса, 2014.- С. 229-231.*

9. Кресюн В. Й. Перспективи створення нових лікарських препаратів на основі комплексних сполук германію / В. Й. Кресюн, В. В. Годован, І. Й. Сейфулліна // Одеський медичний журн. - 2011. - № 1. - С. 31-35.
10. Лучишин Т. Р. Пошук засобів фармакотерапії синдрому ендогенної інтоксикації серед координаційних сполук германію : автореф. дис. ... канд. мед. наук : 14.03.05 / Т. Р. Лучишин; Одес. нац. мед. ун-т. – О., 2013. – 20 с.
11. Годован В. В. Ноотропні ефекти різнометальних (Mg, Co) бісцитратогерманатів (станатів) / В. В. Годован, М. В. Матюшкіна, Р. С. Вастьянов // Запорожский медицинский журнал. – 2014. – № 5. – С. 41-46.
12. Висоцький А. А. Експериментальна оцінка церебропротекторної активності координаційних сполук германію з біолігандами при закритій черепно-мозковій травмі : автореф. дис. ... канд. мед. наук : 14.03.05 / А. А. Висоцький; Одес. нац. мед. ун-т. – Одеса, 2014. – 20 с.
13. Варбанець О. І. Нейротропна дія нових германійорганічних сполук (експериментальне дослідження) : автореф. дис. на здобуття наук. ступеня канд. мед. наук : спец. 14.03.05 – Фармакологія / О. І. Варбанець. – Одеса, 2014. – 20 с.
14. Порівняльна оцінка фармакологічної активності координаційних сполук біс(цитрато)германатів та станатів на моделі закритої черепно-мозкової травми / В. Д. Лук'янчук, Є. М. Поліщук, І. Й. Сейфулліна [та інш.] // Фармакологія та лікар. токсикологія. - 2014. - № 2. - С. 36-43.
15. Ніженковський О. І. Фармакодинаміка та фармакокінетика потенційного церебропротектора ВІТАГЕРМ-2 на моделі закритої черепно-мозкової травми : автореф. дис. ... канд. мед. наук : 14.03.05 / О. І. Ніженковський; НАМН України, ДУ "Ін-т фармакології та токсикології". - Київ, 2014. – 24 с.
16. Юрьева Э. А. О биофосфонатах как о лекарственных соединениях (по материалам международного конгресса в Нидерландах, 2001) / Э. А. Юрьева, Т. А. Матковская // Российский вестник перинатологии и педиатрии. – 2001. – № 3. – С. 59-60.

17. Константинова М. М. Новые поддерживающие средства (противорвотные, бифосфонаты, колониестимулирующие факторы) / М. М. Константинова // Практическая онкология. – 2002. – Т. 3, № 4. – С. 309-319.
18. Lipton A. The safety of zoledronic acid / A. Lipton // Expert Opin Drug Saf. – 2007. – Vol.6, №3. – P. 305-313.
19. Годован В. В. Фармакологія гепатозахісної дії нових координаційних сполук германію з біолігандами : автореф. дисс. на здобуття наук. ступеня канд. мед. наук : спец. 14.03.05 "Фармакологія" / В. В. Годован. – Одеса, 1998. – 17 с.
20. Вплив координаційних сполук германію (IV) та стануму (IV) на активність деяких гліколітичних і протеолітичних ферментів мікроорганізмів / Л. Д. Варбанець, О. В. Мацелюх, Н. А. Нідялкова [та інш.] // Мікробіологічний журнал. - 2014. - Т. 76, № 6. - С. 11-18.
21. Uetake T. Osteoporosis in elderly patients / T. Uetake, N. Enomoto // Nippon. Rinsho. – 2007. – Vol.65, №5. – P. 933-938.
22. Bone resorption and renal calcium reabsorption in renal cell carcinoma-bearing mice: the effects of bisphosphonate / M. Weissglas, C. Lowik, D. Schamhart [et al.] // B. J. U. Int. – 2007. – Vol.99, №6. – P. 1530-1533.
23. Pritchard K. I. Bisphosphonates: are they standard of care for the treatment of breast cancer? / K. I. Pritchard // Br J Cancer. – 2007. – Vol.96, №12. – P. 1781-1782.
24. Potentiated antitumor effects of the combination treatment with statins and pamidronate in vitro and in vivo / T. Issat, D. Nowis, M. Legat [et al.] // Int J Oncol. – 2007. – Vol.30, №6. – P. 1413-1425.
25. Downregulation of STEAP4, a highly-expressed TNF-alpha-inducible gene in adipose tissue, is associated with obesity in humans / C. M. Zhang, X. Chi, B. Wang [et al.] // Acta Pharmacol Sin. – 2008. – N. 29 (5). – P. 587-592.
26. Систематический анализ молекулярно-физиологических эффектов синергидного воздействия железа, марганца и меди на соединительную ткань

- / Н. В. Керимкулова, И. Ю. Торшин, О. А. Громова [и др]. // Репродуктивная эндокринология. – 2013. – № 4(12). – С. 101-110.
27. Ващенко В. И. Церулоплазмин – от метаболита до лекарственного средства / В. И. Ващенко, Т. Н. Ващенко // Психофармакология и биологическая наркология. – 2006. – Т. 6, Выпуск 3. – С. 1254-1269.
28. Щербинина М. Б. Болезнь Вильсона–Коновалова: своевременная диагностика означает жизнь / М. Б. Щербинина, Л. П. Дмитренко // Здоров'я України. – 2009. – № 21/1. – С. 40-41.
29. Мартынова С. Н. Метаболические эффекты меди и кобальта (обзор) / С. Н. Мартынова, В. Н. Зовский // Експериментальна і клінічна медицина. 2010. – №2 (47). – С. 42-49.
30. Клинические примеры результатов использования церулоплазмина в составе интенсивной терапии критических состояний. / Н. В. Эделева, Е. Р. Немцова, Л. М. Иванова, Н. А. Осипова // Анестезиол и реаниматология. – 2005. – № 5. – С. 49-51.
31. Кожин А. А. Микроэлементозы в патологии человека экологической этиологии / А. А. Кожин, Б. М. Владимирский // Экология человека . 2013. – Вып. – С. 56-61.
32. Мазепа А. І. Роль міді та цинку в розвитку патології сполучної тканини / А. І. Мазепа, І. В. Мазепа // Медична хімія. – 2002. – Т. 4, № 2. – С. 71-76.
33. Дзюба А. Н. Лечение рассеянного склероза и динамика антиоксидантного статуса / А. Н. Дзюба Ю. Н. Сорокин // Укр. мед. часопис. – 2008. – № 1. – С. 79 - 82
34. Harris M. J. Insights into prevention of human neural tube defects by folic acid arising from consideration of mouse mutants / M. J. Harris // Birth Defects Res. A Clin. Mol. Teratol. – 2009. – Vol. 85, N 4. – P. 331-339.
35. Овсяннікова Н. М. Особливості адаптаційних реакцій людини в зв'язку із вмістом важких металів в організмі: автореф. дис. на здобуття наук. ступеня канд. біол. наук : спец 03.00.13 " Фізіологія людини і тварин" / Н.М. Овсяннікова. – Симф., 2007. – 20 с.

36. Башкірова Л. М. Клініко-параклінічна характеристика та стан забезпечення макро- та мікроелементами у хворих з пароксизмальними станами при хронічних порушеннях мозкового кровообігу: автореф. дис. на здобуття наук. ступеня канд. мед. наук : спец. 14.01.15 "Нервові хвороби" / Л. М. Башкірова. – К., 2008. – 20 с.
37. Дятлова Н. М. Комплексоны и комплексонаты металлов / Н. М. Дятлова, В. Я. Темкина, К. И. Попов. – М.: Химия, 1988, 544 с.
38. Schwarzenbach G. The chelate effect / G. Schwarzenbach // *Helv. Chim. Acta.* – 1952. – Vol.35. – P. 2344-2359.
39. Архипова О. Г. Перспективы применения комплексонов в медицине / О. Г. Архипова, Э. А. Юрьева, Н. М. Дятлова // *Журн. Всесоюзн. хим. инст. им. Д.И. Менделеева.* – 1984. – Т.29, №3. – С. 316-320.
40. Геллерт Р. Ионы металлов в биологических системах / Р. Геллерт, Р. Бау, Р. Мартин. – М.: Мир, 1982. – 168 с.
41. Трахтенберг И. М. Тяжелые металлы во внешней среде (современные гигиенические и токсикологические аспекты) / И. М. Трахтенберг, В. С. Колесников, В. П. Луковенко. – Минск: "Наука и техника", 1994. – 285с.
42. Deng W. Protein kinase C activation is required for the lead-induced inhibition of proliferation and differentiation of cultured oligodendroglial progenitor cells / W. Deng, R. D. Poretz // *Brain Res.* – 2002. – V.929. – N.1. – P. 87-95.
43. Kim Y. Evaluation of activity of erythrocyte pyrimidine 5'-nucleotidase (P5N) in lead exposed workers: with focus on the effect on hemoglobin / Y. Kim, C. I. Yoo, C. R. Lee [et al] // *Ind Health.* – 2002. – V.40., N.1. – P. 23-27.
44. Авцын А. П. Микроэлементозы человека / А. П. Авцын, А. А. Жаворонков, М. А. Риги, Л. С. Строчкова. – М.: Медицина, 1991. – 496 с.
45. Скальный А. В. Влияние цинка на активность этанолокисляющих ферментов потомков алкоголизированных крыс / А. В. Скальный, А. Б. Кампов-Полевой, А. Е. Воронин // *Микроэлементы в медицине.* – 2001. – № 2. – . 21-23.

46. Общая патология гипомикроэлементозов / А. А. Жаворонков, А. М. Михалева, Л. В. Кактурский, А. В. Кудрин // Архив. Патологии. – 1997. – Т. 59. – № 2. – С. 8-11.
47. Тяжелые металлы внешней среды и их влияние на иммунный статус населения / Н. М. Паранько, Э. Н. Белицкая, Н. Г. Карнаух, Н. И. Рублевская. – Днепропетровск: Полиграфист, 2002. –143 с.
48. Луговской С. П. Механизмы биологического действия свинца на пищеварительную систему / С. П. Луговской, Л. А. Легкоступ // Современ. проблемы токсикологии. – 2002. – №2. – С. 45-50.
49. Шевага В. М. Діагностичне значення мікроелементного складу сироватки крові у хворих з дисциркуляторними енцефалопатіями / В. М. Шевага М. Г. Семчишин // Укр. мед. часопис. – 2006. – №5 (55). – С. 90-93.
50. Серов В. В. Соединительная ткань (Функциональная морфология и общая патология) / В. В. Серов, А. Б. Шехтер. – М.: М, 1980. – 172 с.
51. Balla G. Ferritin – a cytoprotective antioxidant stratagem of endothelium / G. Balla, H. S. Jacob, J. Balla // J. Biol. Chem. – 1992. – Vol. 267. – P. 18148-18153.
52. Бородихина С. В. Корреляция уровней альфа-фетопротеина и лактоферрина в крови при заболевании сифилисом / С. В. Бородихина, С. С. Решетников, Э. А. Юркина [и др.] // Проблемы инфекционной патологии в регионах Сибири, Дальнего Востока и Крайнего Севера: Тез. докл. науч. конф. – Новосибирск, 1998. – С.145-146.
53. Удельнова Т. М. Цинк в жизни растений, животных и человека / Т. М. Удельнова, Б. А. Ягодин // Усп. совр. биол. – 1993. – т. 113. – Вып.2. – С. 178-190.
54. Уильямс Д. Металлы жизни / Д. Уильямс. – М. : Мир, 1975. – 220 с.
55. Kharasch N. Trace metals in health and disease: new roles of metals in biochemistry, the environment, and clinical/nutritional studies / N. Kharasch. – Proc. Intra-Science Research Foundation Symposium. – Raven Press, 1979. – 315 p.

56. Sugimoto T. Progress in diagnosis and therapy: Hypercalcemia due to primary hyperparathyroidism / T. Sugimoto // *Nippon Naika Gakkai Zasshi*. – 2007. – Vol.96, №4. – P. 662-668.
57. Kelleher S. L. Molecular regulation of milk trace mineral homeostasis / S. L. Kelleher, B. Lonnerdal // *Mol Aspects Med*. – 2005. – Vol.26, №4-5. – P.328-39.
58. Головенко Н. Я. Биохимическая фармакология пролекарств / Н. Я. Головенко, И. А. Кравченко. – Одесса: Экология, 2007. – 357 с.
59. Влияние координационных соединений германия на синтез и активность ферментов / И. И. Сейфуллина, Е. Э. Марцинко, О. А. [и др.] // *Мікробіологічн. журнал*. – 2002. – Т. 64, №4. – С. 3-11.
60. Біологічно активні комплексонати металів / І. Й. Сейфулліна, О. Е. Марцинко, О. Г. Песарогло, О. П. Пожарицький // *Вісник Одеського національного університету. “Хімія”*. – 2004. – Т.9, № 2. – С.5-13.
61. Felson D. T. The futility of current approaches to chondroprotection / D. T. Felson, Y. J. Kim // *Arthritis Rheum*. – 2007. – Vol.56, №5. – P.1378-1383.
62. The bisphosphonate YM529 inhibits osteoblastic bone tumor proliferation of prostate cancer / H. Yonou, A. Ochiai, S. Ashimine [et al.] // *Prostate*. – 2007. – Vol. 67, № 9. – P. 999-1009.
63. Кукушкин Ю. Н. Соединения высшего порядка / Ю. Н. Кукушкин. – Ленинград: Химия, 1991. – 110 с.
64. Акбаров А. Б. Бионеорганические аспекты особенностей взаимосвязи типа состав-строение-специфическая активность биоконплексов / А. Б. Акбаров, Ю. Я. Исламов, М. Н. Исламов // *Журн. неорган. химии*. – 1993. – Т. 38, № 2. – С. 312-326.
65. Оксипропилендифосфоновая кислота и её применение // М. И. Кабачник, Н. М. Дятлова, Т. Е. Медведь [и др.] / *Хим. прм.* – 1995. – № 4. – С. 14-18.
66. Russell R.G. Bisphosphonates: The first 40 years / R. G. Russell // *Bone*. – 2011. – Vol. 49. – P. 2–19.
67. Князькова И. И. Клиническая фармакология бисфосфонатов / И. И. Князькова // *Ліки України*. – 2014. – №5–6. С. 84-89

68. Кабачник М. И. Фосфоросодержащие комплексоны / М. И. Кабачник, Н. М. Дятлова. – М.; Знание, 1989. – 29с.
69. Drake M. T. Bisphosphonates: mechanism of action and role in clinical practice / M. T. Drake, B. L. Clarke, S. Khosla // Mayo Clin. Proc. – 2008. – Vol. 83 (9). – P. 1032–1045.
70. Обзорная информация «Комплексоны в биологии и медицине» // Хим. пром., реактивы и особо чистые вещества. – НИИТЭХИМ. – 1986. – № 4. – 39 с.
71. Сейфуллина И. И. Растворяющие и комплексообразующие функции органических кислот в направленном синтезе координационных соединений: Дис... д-ра хим. наук: 02.00.06 / Сейфуллина Инна Иосифовна. – Одесса, 1990.– 350 с.
72. Баренбойн Г. М. Биологически активные вещества – новые принципы поиска / Г. М. Баренбой, А. Г. Маленков. – М : Наука, 1986. – 366 с.
73. Fleisch H. Development of bisphosphonates / H. Fleisch // Breast Cancer Res. – 2002. –Vol.4, №1. – P.30-34.
74. Грэхем-Смит Д. Г. Оксфордский справочник по клинической фармакологии и фармакотерапии / Д. Г. Грэхем-Смит, Дж. К. Аронсон. – М.: Медицина, 2000. – 744 с.
75. Машковский М. Д. Лекарственные средства / М. Д. Машковский. – М.: изд-во Новая Волна, 2006. – 1200 с.
76. Bisphosphonates in Medical Practice / R. Bartl, B. Frisch, E. von Tresckow, C. Bartl. – Springer, 2007. – 265 p.
77. Urinary excretion of aminohydroxypropylidene bisphosphonate in cancer patients after single intravenous infusions / E. Redalieu, J. M. Coleman, K. Chan [et al.] // J. Pharm. Sci. – 1993. – V. 82, No 6. – P. 665-667.
78. Usui T. Pharmacokinetics of YM175, a new bisphosphonate, in rats and dogs / N. Usui, N. Watanabe, S. Higuchi // Drug Metab. Dispos. – 1995. – V. 23, No 11. – P. 1214-1219.

79. Lin J. H. Bisphosphonates: a review of their pharmacokinetic properties / J. H. Lin // *Bone*. – 1996. – V. 18, No 2. – P. 75-85.
80. Алексеева Н. В. Ксидифон – кальцийрегулирующий препарат / Н. В. Алексеева, Э. А. Юрьева // *Российский вестник перинатологии и педиатрии*. – 1998. – № 5. – С. 34.
81. Monkkonen J. Comparison of the distribution of three bisphosphonates in mice / J. Monkkonen, H. M. Koponen, P. Ylitalo // *Pharmacol. Toxicol.* – 1990. – V. 66, № 4. – P. 294-298.
82. Once-yearly zoledronic acid for treatment of postmenopausal osteoporosis / D. M. Black, P. D. Delmas, R. Eastell [et al.] // *N. Engl. J. Med.* – 2007. – Vol. 356, № 18. – P.1809-1822.
83. Bisphosphonate-associated osteonecrosis can be controlled by nonsurgical management / L. Montebugnoli, L. Felicetti, D. Messi [et al.] // *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* – 2007, Oct. – Vol.104. – №4. – P.473477.
84. Glorieux F. H. Experience with bisphosphonates in osteogenesis imperfecta / F. H. Glorieux // *Pediatrics*. – 2007. – Vol. 119, N 2. – P. 163-165.
85. Bisphosphonates and osteonecrosis of the jaw: a retrospective study / O. M. Murad, S. Arora, A. F. Farag, H. A. Guber // *Endocr Pract.* – 2007. – Vol.13, №3. – P. 232-238.
86. Tanaka Y. Bisphosphonates for vascular calcification / Y. Tanaka, Y. Okada // *Clin. Calcium*. – 2007. – Vol. 17, № 3. – P. 386-390.
87. Phosphate depletion in the rat: effect of bisphosphonates and the calcemic response to PTH / A. Jara, E. Lee, D. Stauber [et al.] // *Kidney Int.* – 1999. – Vol. 55, № 4. – P. 1434-1443.
88. Bisphosphonates inhibit the adhesion of breast cancer cells to bone matrices in vitro / G. van der Pluijm, H. Vloedgraven, E. van Beek [et al.] // *Clin. Invest.* – 1996. – Vol.98, №3. – P. 698-705.
89. Prevention of leaflet calcification of bioprosthetic heart valves with diphosphonate injection therapy. Experimental studies of optimal dosages and

- therapeutic durations / R. J. Levy, F. J. Schoen, S. A. Lund, M. S. Smith // *J. Thorac. Cardiovasc. Surg.* – 1997. – V. 94, No 4. – P. 551-557.
90. Sunyecz J. A. Update on the use of bisphosphonates in the management of postmenopausal osteoporosis by obstetricians-gynecologists / J. A. Sunyecz, R. Derman // *Obstet Gynecol Surv.* – 2007. – Vol.62, №6. – P.407-416.
91. Wingen F. Pharmacokinetics of the osteotropic diphosphonate 3-amino-1-hydroxypropane-1,1-diphosphonic acid in mammals / F. Wingen, D. Schmahl // *Arznei-mittelforschung.* – 2001. – V. 37, No 9. – P. 1037-1042.
92. Moro Alvarez M. J. Pharmacological treatment of osteoporosis for people over 70 / M. J. Moro Alvarez, M. Diaz-Curiel // *Aging Clin Exp Res.* – 2007. – Vol. 19, № 3. – P.246-254.
93. A review of bisphosphonate-associated osteonecrosis of the jaws and its management / D. K. Lam, G. K. Sandor, H. I. Holmes [et al.] // *J. Can. Dent. Assoc.* – 2007. – Vol.73, №5. – P. 417-422.
94. Brown S. A. Drug insight: the use of bisphosphonates for the prevention and treatment of osteoporosis in men / S. A. Brown, T. A. Guise // *Nat. Clin. Pract. Urol.* – 2007. – Vol.4, №6. – P. 310-320.
95. Ieda Y. Secondary osteoporosis: Inhaled corticosteroids induced osteoporosis in respiratory diseases / Y. Ieda, Y. Nagasaka // *Clin Calcium.* – 2007. – Vol.17, № 6. – P. 955-962.
96. Transient migratory osteoporosis: rapid response to pamidronate treatment / S. Carty, G. Herdman, F. Williams, U. Srinivasan // *J. Clin. Rheumatol.* – 2007. – Vol. 13, № 3. – P. 138-139.
97. Buhaescu I. Mevalonate pathway: a review of clinical and therapeutical implications / I. Buhaescu, H. Izzedine // *Clin. Biochem.* – 2007. – Vol.40, № 9–10. – P. 575-584.
98. Therapeutic adherence to bisphosphonates / J. Payer, Z. Killinger, Ivana Sulkova, P. Celec // *Biomed Pharmacother.* – 2007. – Vol.61, №4. – P. 191-193.
99. The molecular mechanism of action of the antiresorptive and antiinflammatory drug clodronate: evidence for the formation in vivo of a metabolite that

- inhibits bone resorption and causes osteoclast and macrophage apoptosis / J. C. Frith, J. Monkkonen, S. Auriola [et al.] // *Arthritis Rheum.* – 2001. – Vol. 44, №9. – P. 2201-2210.
100. Nitrogen-containing bisphosphonates induce apoptosis of Caco-2 cells in vitro by inhibiting the mevalonate pathway: a model of bisphosphonate-induced gastrointestinal toxicity / S. Suri, J. Monkkonen, M. Taskinen [et al.] // *Bone.* – 2001. – Vol.29, №4. – P. 336-343.
101. Zoledronic acid has direct antiproliferative and antimetastatic effect on pancreatic carcinoma cells and acts as an antigen for delta2 gamma/delta T cells / A. Marten, M. Lilienfeld-Toal, M. W. Buchler, J. Schmidt // *J. Immunother.* – 2007. – Vol. 30, № 4. – P. 370-377.
102. Gralow J. Managing metastatic bone pain: the role of bisphosphonates / J. Gralow, D. Tripathy // *J. Pain Symptom Manage.* – 2007. – Vol. 33, № 4. – P.462-472.
103. Bisphosphonate treatment as a cause of jaw osteonecrosis / O. Kanat, A. Ozet, S. Ataergin [et al.] // *Oral Dis.* – 2007. – Vol.13, №3. – P.346-347.
104. Жабина А. С. Роль бисфосфонатов для профилактики и лечения метастазов в кости / А. С. Жабина // *Практическая онкология.* – 2011. – Т. 12, №3. – С. 124-131.
105. Inhibition of breast cancer cell proliferation in repeated and non-repeated treatment with zoledronic acid / T. Ibrahim¹, L. Mercatali¹, E. Sacanna¹ [et al.] // *Cancer Cell International.* – 2012. – N 56. – P. 12-48.
106. Critical review: updated recommendations for the prevention, diagnosis, and treatment of osteonecrosis of the jaw in cancer patients - May 2006 / R. Weitzman, N. Sauter, E. F. Eriksen [et al.] // *Crit. Rev. Oncol. Hematol.* – 2007. – Vol.62, №2. – P.148-152.
107. van Voorst F. The high affinity ATP binding site modulates the SecA-precursor interaction / F. van Voorst, I. J. Vereyken, B. de Kruijff // *FEBS Lett.* – 2000. – Vol. 486, №1. – P. 57-62.

108. Мембраностабилизирующие препараты в детской терапевтической практике / Э. А. Юрьева, В. В. Длин, И. М. Османов [и др.] // Российский медицинский журнал. – 2001. – № 2. – С. 15-17.
109. Князев Ю. А. Эффект ксидифона и витамина Е на показатели липидного обмена при дислипидемии, вызванной холестероловой нагрузкой / Ю. А. Князев, Т. И. Туркина, Е. А. Юрьева // Вопр. мед. хим. – 1983. – Vol.29, №1. – P.72-76.
110. Мегдятов Р. С. Влияние ксидифона на патогенез невралгии тройничного нерва / Р. С. Мегдятов, В. К. Решетняк, Е. В. Хоженко. – М., 2002. – 142 с.
111. Исаев Ю. А. Лечение микроэлементами, металлами и минералами / Ю. А. Исаев. –К.: «Здоров'я», 1992. – 115 с.
112. Clinical application of bisphosphonate's pharmacokinetic principles / E. J. Roldan, O. Quattrocchi, G. L. Araujo, E. Piccinni // Medicina (B Aires). – 1997. – Vol. 57, Supp. 11. – P. 76-82.
113. Toxicology of ethyleneglycol-monoethyl ether / E. G. Stenger, L. Aepli, D. Muller [et al.] // Arzneimittelforschung. – 1971. – Vol.21, №6. – P.880-885.
114. Experimental urinary stone formation following persorption / A. Rost, W. Brosig, D. Riedel, B. Muhling // Eur Urol. – 1975. – Vol.1, №3. – P. 151-153.
115. Inhibition of bioprosthetic heart valve calcification by sustained local delivery of Ca and Na diphosphonate via controlled release matrices / G. Golomb, M. Dixon, M. S. Smith [et al.] // ASAIO Trans. – 1996. – V. 32, No 1. – P. 587-590.
116. Monoglycosyl, diglycosyl, and dinucleoside methylenediphosphonates: direct synthesis and antiviral activity / C. Grison, S. Joliez, E. De Clercq, P. Coutrot // Carbohydr Res. – 2006. – Vol. 341, № 9. – P. 1117-1129.
117. Cummings S. R. Alendronate and atrial fibrillation / S. R. Cummings, A. V. Schwartz, D. M. Black // N Engl J Med. – 2007. – Vol.356, №18. – P. 1895-1896.
118. Co-EDTA renal imaging in rats / C. Van de Wiele, P. Goethals, A. Volkaert [et al.] // Nucl Med Commun. – 2000. – Vol. 21, N 4. – P. 313-316.

119. Review of Ge detectors for gamma spectroscopy / D. Alexiev, M. I. Reinhard, L. Mo [et al.] // *Australas Phys Eng Sci Med.* – 2002. – Vol. 25, № 3. – P. 102-109.
120. Stein A. Materials science: germanium takes holey orders / A. Stein // *Nature.* – 2006. – Vol. 441, №7097. – P. 1055-1056.
121. Zyubin A. S. Optical Properties of Oxygen Vacancies in Germanium Oxides: Quantum Chemical Modeling of Photoexcitation and Photoluminescence / A. S. Zyubin, A. M. Mebel, S. H. Lin // *J. Phys. Chem. A.* – 2007. – Vol. 12, N 4. – P. 112-115.
122. Рабинович В. А. Краткий химический справочник / В. А. Рабинович, З. Я. Хавин. - Л. : Химия, 1977. – 61 с.
123. Гар Т. К. Биологическая активность соединений германия: Обзор. инф. Сер. «Элементоорганические соединения и их применение» / Т. К. Гар, В. Ф. Миронов. – М.: НИИТЭХИМ, 1982.– 25 с.
124. Rappoport Z. The chemistry of organic germanium, tin and lead compounds / Z. Rappoport. – Wiley, 2002. – 1914 p.
125. Goodman S. Germanium – the health and life enhancer: editorial issue / S. Goodman // *Positive health.* – 2003. – № 91. – P. 1–2.
126. Adams M. Review: clinical studies – safety of Ge-132 / M. Adams // *Naturalnews.* – 2009. – № 5 (6). – P. 1–5.
127. Куш О. А. Германий и перспективы его получения из углей Лисичанского геолого-промышленного района Донбасса / О. А. Куш, Н. С. Бурлуцкий // *Наукові праці Донецького національного технічного університету. Серія: „Гірничо-геологічна”.* – 2006. – Вип. 111, Т.1. – С. 209-214.
128. Thayer J. S. Germapharmaca: some recent studies on biological active organogermanium compounds / J. S. Thayer // *Appl. Organomet. Chem.*– 1987.–V.1.– P.227-234.
129. Биологическая активность соединений германия / Э. Я. Лукевиц, Т. К. Гар, Л. М. Игнатович [и др.]. – Рига: Зинатне, 1990.– 191 с.

130. Asai K. *Miracle Cure: Organic Germanium* / K. Asai. – Tokyo: Japan Publications, Inc. 1980. – 47 p.
131. Hara S. Determination of germanium in some plants and animals / S. Hara, N. Hayashi, S. Hirano // *Z. Naturforsch.* – 1990. – V. 45, N 11-12. – P. 1250-1251.
132. Lukevics E. *³²Ge Biological Activity of Organogermanium Compounds* / E. Lukevics, L. Ignatovich / *Metallotherapeutic Drugs and Metal-Based Diagnostic Agents.* – John Wiley & Sons, Ltd, 2005. – P. 279-295.
133. Координационные соединения германия как эффекторы синтеза и активности ферментов / И. И. Сейфуллина, Е. Э. Марусенко, О. А. Батракова [и др.] // XX Международная Чугаевская конференция. – Ростов-на-Дону. – 2001. – С. 401.
134. Биокинетические свойства новых производных германия / И. И. Сейфуллина, В. И. Кресюн, Е. Ф. Шемонаева, А. Г. Видавская // *Досягнення біології та медицини.* – 2003. – № 1. – С. 38-44.
135. Фармакокінетичний профіль МПГУ-5 у нормі та на моделі ендотоксемії / В. Д. Лук'янчук, В. Й. Кресюн, Т. Р. Лучишин [та інш.] // *Журн. НАМН України.* – 2012. – Т. 18, № 4. – С. 529-535.
136. Разработка дозового режима витагерм-2 при закрытой черепно-мозговой травме с использованием многофакторного регрессионного анализа / В. Д. Лукьянчук, В. И. Кресюн, А. И. Ниженковский [и др.] // *Журн. НАМН України.* – 2013. – Т. 19, № 1. - С. 104-107.
137. Матюшкіна М. В. Вплив на генералізовану судомну активність нової координаційної сполуки – магній біс(цитрато)германату / М. В. Матюшкіна, В. В. Годован, К. Ф. Шемонаєва // *Ліки-людині. Сучасні проблеми фармакотерапії і призначення лікарських засобів : XXXI Всеукраїнська науково-практична конференція з міжнародною участю, 22 травня 2014 р., Харків : матеріали.* – Харків : НФАУ, 2014. – С. 92-93
138. *Germanium: Handbook on the toxicology of metals* / O. M. Faroon, L. S. Keith, H. Hansen, B. A. Fowler. – Elsevier academic press, 2007. – 1024 p.

139. Фармакологічні ефекти германійорганічних сполук / І. Й. Сейфулліна, О. Д. Немятих, В. Д. Лук'янчук, Є. В. Ткаченко // Одеський медичний журнал. – 2002. – № 6. – С. 110-114.
140. Halford B. Germanium / B. Halford // Chemical and Engineering news. – 2003. – № 1. – P. 1–2.
141. Wedeen R. P. Occupational and environmental renal disease / R. P. Wedeen // Semin Nephrol. – 1997. – Vol.17, №1. – P.46-53.
142. Скрининг потенциальных антигипоксантов с термопротекторными свойствами в ряду координационных соединений германия с различными би-олигандами / В. Д. Лукьянчук, Н. В. Витохина, И. И. Сейфуллина [и др.] // Український журнал екстремальної медицини ім. Г.О. Можаяєва. – 2008. – Т 4, № 9. – С. 120-123.
143. Germanium dioxide induces mitochondria-mediated apoptosis in Neuro-2A cells / C. H. Lin, S. S. Chen, Y. C. Lin [et al.] // Neurotoxicology. – 2006. – Vol. 27, № 6. – P. 1052-1063.
144. Cochlear damage due to germanium-induced mitochondrial dysfunction in guinea pigs / T. Yamasoba, Y. Goto, H. Komaki [et al.] // Neurosci Lett. – 2006. – Vol. 395, № 1. – P.18-22.
145. Role of mitochondrial dysfunction and mitochondrial DNA mutations in age-related hearing loss / T. Yamasoba, S. Someya, C. Yamada [et al.] // Hear Res. – 2007. – Vol. 226, № 1-2. – P. 185-193.
146. Schauss A. G. Nephrotoxicity and neurotoxicity in humans from organogermanium compounds and germanium dioxide / A. G. Schauss // Biol Trace Elem Res. – 1991. – Vol.29, №3. – P.267-280.
147. Kong X. Organic germanium: its toxic effect and function in medical care / X. Kong // Zhonghua Yi Xue Za Zhi. – 1993. – Vol. 73, № 8. – P.454-456.
148. Accumulation of germanium in the tissues of a long-term user of germanium preparation died of acute renal failure / N. Nagata, T. Yoneyama, K. Yanagida [et al.] // J Toxicol Sci. – 1985. – Vol. 10, №4. – P. 333-341.

149. Tao S. H. Hazard assessment of germanium supplements / S. H. Tao, P. M. Bolger // *Regul Toxicol Pharmacol.* – 1997. – Vol. 25, № 3. – P. 211-219.
150. A case of inorganic germanium poisoning with peripheral and cranial neuropathy, myopathy and autonomic dysfunction / M. Iijima, M. Mugishima, M. Takeuchi [et al.] // *No To Shinkei.* – 1990. – Vol.42, №9. – P.851-856.
151. Taylor A. Effects of germanium health supplements in the rat / A. Taylor, F. Dickson, M. Dobrota // *Clinical Chemistry.* – 1991. – Vol.37, №6. – P.985.
152. Nephrotoxicity of germanium compounds: report of a case and review of the literature / A. Takeuchi, N. Yoshizawa, S. Oshima [et al.] // *Nephron.* – 1992. – Vol. 60, № 4. – P. 436-442.
153. Toxicity of an organic Germanium compound: deleterious consequences of a "natural remedy" / J. Raisin, B. Hess, M. Blatter [et al.] // *Schweiz Med Wochenschr.* – 1992. – Vol.122, №1-2. – P.11-113.
154. Lukevics E. Toxicity of Organogermanium Compounds / E. Lukevics, L. M. Ignatovich // *The Chemistry of Organic Germanium, Tin and Lead Compounds.* – 2003. – Vol. 43, № 1. – P. 857-863.
155. Zaijun L. Spectrophotometric method for determination of germanium in foods with new color reagent trimethoxyphenylfluorone / L. Zaijun, P. Jiaomai, T. Jan // *Analytica Chimica Acta.* – 2001. – Vol.445, №1. – P.153-159.
156. Pan J. Chromagenic reagents and their application in spectrophotometric analysis / J. Pan, Y. Chen, H. Yan. – Shanghai Science and Technology Press, Shanghai, 1981. – 416 p.
157. Wendei Z. Physical Testing and Chemical Analysis / Z. Wendei, W. Xincheng / In.: *Chem. Anal.* – 1997, – Vol.33, №4. – 170 p.
158. Jung B. G. Antiviral effect of dietary germanium biotite supplementation in pigs experimentally infected with porcine reproductive and respiratory syndrome virus / B. G. Jung, J. A. Lee, B. J. Lee // *J. Vet. Sci.* – 2013. – № 14 (2). – P. 135-141.

159. Protective effects of gallium, germanium, and strontium against ovariectomized osteoporosis in rats / D. W. Qin, Z. Gu, L. Dai [et al.] // *Biol. Trace Elem. Res.* – 2013. – P. 350-354.
160. Inhibition by germanium oxide of the mutagenicity of cadmium chloride in various genotoxicity assays / C. Han; G. Wu; Y. Yin [et al.] // *Food Chem. Toxicol.* – 1992. – № 30(6). – P. 521-524.
161. Шевченко І. М. Корекція імунного статусу при токсичному гепатиті експериментальним гепатопротектором МІГУ–1 / І. М. Шевченко, В. В. Годован // *Буковинський медичний вісник.* – 2005. – Т. 9, № 1 – С. 100-102.
162. Nakamura T. Effects of a lactobacilli, oligosaccharide and organic germanium intake on the immune responses of mice / T. Nakamura, M. Saito, H. Aso // *Biosc. Biotechnol. biochem.* – 2012. – № 76 (2). – P. 375-377.
163. Comparison of organic and inorganic germanium compounds in cellular radiosensitivity and preparation of germanium nanoparticles as a radiosensitizer / M. H. Lin, T. S. Hsu, P. M. Yang [et al.] // *Int. J. Radiat Biol.* – 2009. – № 85 (3). – P. 214-226.
164. Ionic nature of Ge(II)-centered dications: a germanium K-edge X-ray absorption near edge structures study / M. W. Murphy, M. J. Ward, P. A. Rupar [et al.] // *Chem. Commun.* – 2010. – № 46 (37). – P. 7016–7018.
165. Показатели физиологических параметров обезьян *Macaca fascicularis*, иммунизированных против вируса краснухи в сочетании с адьювантами на основе германия / Д. Д. Карал, В. З. Агрба., И. Н. Лаврентьева [и др.] // *Бюллетень экспериментальной биологии и медицины.* – 2013. – Т. 156, № 10. – С. 12-19.
166. DNA binding specificity and cytotoxicity of novel antitumor agent Ge–132 derivatives / G. Shangguan, F. Xing, X. Qu [et al.] // *Bioorg. Med. Chem. Lett.* // 2005. – № 15 (12). – P. 2962-2965.
167. Synthesis and evaluation of novel organogermanium sesquioxides as antitumor agents / C. L. Zhang, T. H. Li, S. H. Niu [et al.] // *Bioinorg. Chem. Appl.* – 2009. – № 9(8). – P. 62-65.

168. Матюшкина М. В. Антимікробні властивості нових координаційних сполук металів з лимонною кислотою / М. В. Матюшкина, В. В. Годован, Л. М. Мудрик, Т. Л. Гридiна // Одеський медичний журнал. – 2014. – № 4(144). – С. 13-17.
169. Лукьянчук В. Д. Влияние координационного соединения германия с никотинамидом на течение свободнорадикальных реакций при экспериментальном токсическом гепатите / В. Д. Лукьянчук, М. А. Внукова // Современные проблемы токсикологии. – 2007. – №1. – С.50-52.
170. Внукова М. А. Прооксидантно-антиоксидантний профiль організма в умовах гепатотоксического действия изониазида, рифампицина и пиразинамида и его фармакокоррекции / М. А. Внукова // Український медичний альманах. – 2007. – Т 10, №1. – С. 34-38.
171. Чадова Л. В. Влияние нового потенциального нейропроектора – МИГУ-1 на состояние антиоксидантного профiля в условиях острой цереброваскулярной недостаточности / Л. В. Чадова // Український медичний альманах. – 2007. – №6. – С. 164-168.
172. Lorenz P. Organic germanium – oxygen enricher and antioxidant / P. Lorenz // Organic Germanium and ATP's Fulvic Acid. – 2008. – № 4. – С. 32-48.
173. Пат. № 13746 Україна, МПК6 А61Р 9/10. Спосiб фармакокорекції ішемічного інсульту головного мозку / Чадова Л. Д., Лук'янчук В. Д., Сейфулліна І. Й., Ткаченко В. М. ; – u200509941 ; заявл. 21.10.2005 ; опубл. 17.04.2006., Бюл. № 4.
174. Сейфулліна І. Й. Скринінг і порівняльна оцінка ефективності протиішемічних зісобів серед координаційних сполук германію з біолігандами при гострій цереброваскулярній недостатності / І. Й. Сейфулліна, Л. В. Чадова, В. М. Ткаченко // Одес. мед. журн. – 2005. – № 6 (92). – С. 19-22.
175. Пат. № 20555 Україна, МПК6 А61К 35/30 Спосiб фармакологічної корекції закритої черепно-мозкової травми / Лук'янчук В. Д., Сейфулліна І. Й., Висоцький А. А., Марцинко О. Е., Песарогло О. Г. ;u200610903 ; заявл. 16.10.2006, опубл. 15.01.2007, Бюл. № 1.

176. Вітохіна Н. В. Порівняльний аналіз процесів абсорбції потенційного антигіпоксанту – МІГУ-2 в нормі та при гіпоксичному синдромі / Н. В. Вітохіна // Український медичний альманах. – 2009. – №5. – С. 45-47.
177. Влияние координационного соединения германия с никотиномидом на энергетический гомеостаз при экспериментальном медикаментозном гепатите / И. И. Сейфуллина, В. Д. Лукьянчук, М. А Внукова [и др.] // Укр. журн. експерим. медицини. – 2007. – Т. 8, № 1. – С. 79–84.
178. Лук'янчук В. Д. Вплив координаційної сполуки германію з нікотинамідом на процеси природної детоксикації за умов токсичного ураження печінки туберкулостатиками / В. Д. Лук'янчук, М. О. Внукова // Ліки. – 2007. – № 1-2. – С. 59-62.
179. Внукова М. О. Фармакологічна корекція гепатотоксичності протитуберкульозних засобів координаційною сполукою германію з нікотинамідом / М. О. Внукова // Військова медицина України. – 2007. – Т.7, № 1-2. – С 41-46.
180. Yoshinari O. Hepatoprotective effect of germanium-containing Spirulina in rats with d-galactosamine- and lipopolysaccharide-induced hepatitis / O. Yoshinari, Y. Shiojima, K. Igarashi // Br. J. Nutr. – 2013. – № 17. – P. 1-6.
181. Пат. № 19965 Україна, МПК6, А61К 31/19 (2006.01), А61К 33/12 (2006.01), А61К 33/24 Магнійоксіетилідендифосфонатогермант, який характеризується вазодилататорною дією / Годован В. В., Кресюн В. Й., Сейфулліна І. Й. ; u200605317 ; заявл. 15.05.2006 ; опубл. 15.01.2007, Бюл. № 1.
182. Пат. № 20658 України, МПК7 А61К 31/19 (2007.01), А61К 33/00. Біологічно активна протиаритмічна речовина „гермакорд” / Годован В. В., Кресюн В. Й., Сейфулліна І. Й.; u200605323 ; заявл. 15.05.2006 ; опубл. 15.02.2007, Бюл. № 2.
183. An anti-inflammatory drug, propagermanium, may target GPI-anchored proteins associated with an MCP-1 receptor, CCR2 / S. Yokochi, H.

- Hashimoto, Y. Ishiwata et al. // J. Interferon Cytokine Res. – 2001. – Vol. 21, № 6. – P.389-398.
184. Протизапальна активність комплексів германію з саліцилальгідрозонами нітробензойної кислоти / І. І. Сейфулліна, О. В. Нікітін, Б. М. Галкін [и др.] // Одес. мед. журн. – 2003. – № 3 (77). – С. 21-23.
185. Anti-inflammatory effect of germanium-concentrated yeast against paw oedema is related to the inhibition of arachidonic acid release and prostaglandin E production in RBL 2H3 cells / J. H. Lee, K. W. Kim, M. Y. Yoon [et al.] // Auton Autacoid Pharmacol. – 2005. – Vol. 25, № 4. – P. 129-134.
186. Высоцкий А. А. Влияние германийограниченного соединения ОК-3 на состояние углеводного обмена у животных с травматической болезнью головного мозга / А. А. Высоцкий // Український журнал екстремальної медицини ім. Г. О. Можаєва. – 2007. – Т 8, № 4. – С. 61-67.
187. Лук'янчук В. Д. Токсикометрические исследования потенциального церебропротектора МИГУ-1 / В. Д. Лукьянчук, Д. С. Кравец, Л. В. Чадова // Інтегративна антропологія. – 2008. – №1. – С. 46-49.
188. Фармакокинетическая характеристика МИГУ-1 в норме и в условиях церебральной ишемии / В. Й. Кресюн, В. Д. Лук'янчук, Д. С. Кравець, Л. В. Чадова // Журнал АМН України. – 2008. – №3. – С. 582-592.
189. Лук'янчук В. Д. Токсикометричні параметри потенційного церебропротектора ВІТІН-1 / В. Д. Лук'янчук, О. В. Крилова // Український біофармацевтичний журнал. – 2009. – №3, Т.1. – С. 4-7.
190. Математичне моделювання та експериментальне обґрунтування оптимального режиму дозування координаційної сполуки германію з пірацетамом при ішемічному інсульті головного мозку / О. В. Крилова, Д. С. Кравець, В. Д. Лук'янчук, І. Й. Сейфулліна, О. Е. Марцинко // Одеський медичний журнал. – №2. – 2009. – С.17-20.
191. Особливості біотрансформації нового потенційного церебропротектора – ВІТІН-1 у нормі та при церебральному ішемічному інсульті / О. В. Кри-

- лова, В. Д Лук'янчук, В. Г Ткаченко [та ін.] // Фармакологія та лікарська токсикологія. – №3 (10). – 2009. – С.5-20.
192. Вплив нових ксиларатних комплексів германію (IV) на прояви синдрому стереотипної поведінки у щурів / О. І. Варбанець, В. В. Годован, О. А. Кащенко [та ін.] // Одеський медичний журнал. – 2012. – № 4 (132). – С. 15-18.
193. Ноотропные свойства бисцитратогерманата магния / М. В. Матюшкина, В. В. Годован, И. И. Сейфуллина, Е. Ф. Шемонаева // 13-е чтения В. В. Подвысоцкого : научно-практ. конф. с международным участием, 19-20 июня 2014 р. : бюлет. – Одеса, 2014. – С.167.
194. Волошенков Д. Б. Изоболографический анализ взаимодействия МИГУ-5 с общепринятыми и новыми противоэпилептическими препаратами в условиях модели 6-Гц-вызванных судорог у мышей / Д. Б. Волошенков, П. А. Шандра, О. А. Кащенко // Одеський медичний журнал. – 2007. – № 1 (99) – С. 30-35.
195. Исследование противосудорожных эффектов новых производных дифосфоната германия с никотинамидом, никотиновой кислотой и магнием / Д. Б. Волошенков, В. И. Кресюн, В. В. Годован [и др.] // Психофармакология и биол. наркология. – 2007. – Т. 7, спец. вып. (сентябрь). – Ч. 1 (А-Л). – С. 1-1642.
196. Волошенков Д. Б. Противосудорожное действие нового соединения германия с никотинамидом (МИГУ-5) на модели киндлинга / Д. Б. Волошенков, О. А. Кащенко, А. А. Шандра // Вісник епілептології. – 2007. – №1 (54). – С. 70.
197. Варбанець О. І. Дослідження взаємодії нового ксиларатного комплексу германію (IV) з іонами калію та протисудомних препаратів в умовах моделі 6-Гц-викликаних судом у мишей / О. І. Варбанець / Клінічна та експериментальна патологія. – Т.ХІ, №3 (41). – 2012. – С. 19-23.
198. Варбанець О. І. Протисудомна дія нових ксиларатних комплексів германію (IV) на різних моделях судомного синдрому у мишей / О. І. Варба-

- нець // Адаптационные стратегии живых систем: междисципл. науч. конф., 11–16 июня 2012 г. : тезисы докл. – Новый Свет, 2012. – С. 206.
199. Протисудомна дія нового ксиларатного комплексу германію (IV) на моделях гострого судомного синдрому / О. І. Варбанець, В. В. Годован, О. А. Шандра [та ін.] // Інтегративна антропологія. – 2012. – №2 (20). – С. 33-36.
 200. Вплив нового ксиларатного комплексу германію (IV) з літієм та його сумісного застосування з вальпроєвою кислотою та літієм хлоридом на реакції самостимуляції мозку / О. І. Варбанець, В. В. Годован, О. А. Шандра [та ін.] // XII читання ім. В. В. Підвисоцького, присвячені до 156-річчя з дня народження: наук.–практ. конф., 23-24 травн. 2013 р. : прогр. конф. – Одеса : УкрНДІ медицини транспорту, 2013. – С. 14.
 201. Varbanets O. I. Anticonvulsant effects of a new germanium (IV) xylarate complexe with potassium to acute seizure models in mice / O. I. Varbanets, V. V. Godovan, V. Y. Kresyun // 30th International Epilepsy Congress, 23-27 Jun. 2013 : final progr. booklet – Montreal, 2013. – P. 170.
 202. Propagermanium suppresses macrophage-mediated formation of coronary arteriosclerotic lesions in pigs in vivo / H. Shimokawa, Y. Eto, K. Miyata [et al.] // J Cardiovasc Pharmacol. –2003. – Vol.41, №3. – P.372-380.
 203. Automated 2D IR spectroscopy using a mid-IR pulse shaper and application of this technology to the human islet amyloid polypeptide / S. H. Shim, D. B. Strasfeld, Y. L. Ling Y.L. [at. al.] // Proc Natl Acad Sci USA. – 2007. – Vol.6, №4. – P.155-161.
 204. Germanium and silver resistance, accumulation and toxicity in microorganisms: Review / R. M. Slawson, M. I. Van Dyke, H. Lee [et al.] // Plasmid. – 1992. – V. 27, N 1. – P. 72-79.
 205. The influence of coordinational germanium compounds on the activity of a number of glycosidases / S. Sakamoto, Y. Nakamoto, M. Amano M. [et al.] // Mikrobiol Z. – 2007. – Vol. 69, № 3. – P.11-18.

206. Kaars S. A. Induction of cytochrome formation and stimulation of oxidative dissimulation by hemic in *Streptococcus lactis* and *Leuconostoc mesenteroides* / S. A. Kaars // *A. van Leeuwenhoek J. Microbiol. Serol.* – 1970. – V. 36, N 3. – P. 335-348.
207. Mrema I. E. K. Spirogermanium: a new drug with antimalarial activity against chloroquine-resistant *plasmodium falciparum* / I. E. K. Mrema, M. Slavik, I. Davis // *Int. J. Clin. Pharmacol., Ther. Toxicol.* – 1983. – V. 21, N4. – P. 167-171.
208. Antiviral activity of carboxyethylgermanium sesquioxide (Ge-132) in mice infected with influenza virus / H. Aso, F. Suzuki, T. Ebina [et al.] // *J. Biol. Response Mod.* – 1989. – Vol.8, №2. – P.180-189.
209. Serkedjieva J. Plant polyphenolic complex inhibits the reproduction of influenza and herpes simplex viruses / J. Serkedjieva, N. Manolova // *Basic Life Sci.* – 1992. – Vol.59, № 2. – P. 705-715.
210. Nagahama N. Protective effects of Ge-132 (an organic germanium compounds) on murine cytomegalovirus infection / N. Nagahama, M. Okada, Y. Minamishima // *Chemotherapy.* – 1987. – V. 35, N 7. – P. 546-550.
211. Umezawa J. Suppressive effect of organogermanium Ge-132 on vaccine virus infection / J. Umezawa, K. Komijama // *Ipaku to Seibutsugaku.* – 1987. – V. 114, N 6. – P. 392-395.
212. Propagermanium: a nonspecific immune modulator for chronic hepatitis B / C. Hirayama, H. Suzuki, M. Ito [et al.] // *J Gastroenterol.* – 2003. – Vol.38, №6. – P.525-32.
213. Studies on the antiviral activity of propagermanium with immunostimulating action / Y. Ishiwata, E. Suzuki, S. Yokochi [et al.] // *Arzneimittelforschung.* – 1994. – Vol. 44, № 3. – P. 357-361.
214. Loren K. The Report on Germanium / K. Loren. – 2nd Ed. by Karl Loren. – Life Extension Educational Service, 1987. – 82 p.

215. Ho C. C. Effects of organogermanium compound 2-carboxyethyl germanium sesquioxide on cardiovascular function and motor activity in rats / C. C. Ho, Y. F. Chern, M. T. Lin // *Pharmacology*. – 1990. – Vol.41, №5. – P.286-291.
216. Protective effect of an organic germanium compound on warm ischemia and prolonged kidney preservation / Y. Masaki, K. Kumano, M. Iwamura [et al.] // *Transplant. Proc.* – 1989. – V. 21, N 1. – P. 1250-1251.
217. Effect of carboxyethylgermanium sesquioxide on cultured normal neonatal rat myocardial cells and cells injured by isoproterenol / Y. Q. Chen, B. Tian, X. M. Li [et al.] // *Yao Hsueh Hsuen Pao*. – 1992. – V. 27, N 7. – P. 481-485.
218. Kagoshima M. Study of general pharmacological effects of germanium compounds / M. Kagoshima, H. Kodaira, T. Onishi // *J. Med. Pharm. Sci.* – 1986. – V. 15, N 5. – P. 1491-1496.
219. Effect of germanium-132 on galactose cataracts and glycation in rats / N. J. Unakar, M. Johnson, J. Tsui [et al.] // *Exp. Eye Res.* – 1995. – V. 61, N 2. – P. 155-164.
220. Effect of organic germanium compound on experimental osteoporosis in rats / A. Fujii, N. Kuboyama, J. Yamane [et al.] // *Gen. Pharmacol.* – 1993. – V. 24, N 6. – P. 1527-1532.
221. Antiarthritic and immunoregulatory activity of spirogermanium / M. J. DiMartino, J. C. Lee, A. M. Badger [et al.] // *J. Pharmacol. Exp. Ther.* – 1986. – Vol. 236, № 1. – P. 103-110.
222. Badger A. M. Generation of suppressor cells in normal rats by treatment with spirogermanium, a novel heterocyclic anticancer drug / A. M. Badger, C. K. Mirabelli, M. DiMartino // *Immunopharmacology*. – 1985. – Vol.10, №3. – P. 201-207.
223. Goodman S. Therapeutic effects of organic germanium / S. Goodman // *Med Hypotheses*. – 1988. – Vol. 26, № 3. – P.207-215.
224. Central action of sanumgerman in mice / Z. Kleinrok, D. Lekim, E. Jagiello-Wojtowicz et al // *Pol. J.Pharmacol.Pharm.* – 1986. – V.38, N 3. – P. 299-307.

225. Синтез, нейротропная и противоопухолевая активность ряда герматранов, гермесеквиоксанов и их оловоорганических аналогов / Э. Лукевиц, С. Германе, А. А. Зидермане [и др.] // Хим-фармац. журн. – 1984. – Т. 18, N 2. – С. 154-159.
226. Розробка режиму дозування координаційної сполуки германію з нікотиною кислотою в умовах гіпоксії замкнутого простору / І. Й. Сейфулліна, О. Д. Нем'ятих, О. П. Гудзенко [и др.] // Фармацевт. журн. – 2002. – № 4. – С. 86-90.
227. Скринінг і порівняльна оцінка церебропротекторної активності координаційних сполук германію на моделі закритої черепно-мозкової травми / І. Й. Сейфулліна, В. Д. Лук'янчук, А. А. Висоцький [та ін.] // Ліки. – 2006. – № 5–6. – С. 38-41.
228. Сейфулліна І. Й. Вивчення можливих шляхів детоксикації при гострому отруєнні динітроорртокрезолом і застосуванні координаційної сполуки германію з нікотинамідом / І. Й. Сейфулліна, М. М. Бабенко, В. М. Ткаченко // Одес. мед. журн. – 2005. – № 4 (90). – С. 18-20.
229. Годован В. В. Мембранотропные эффекты новых производных никотиновой кислоты / В. В. Годован // Ліки. – 1996. – № 4. – С. 57-62.
230. Кресюн В. И. Гепатопротекторные свойства нового класса координационных соединений германия / В. И. Кресюн, В. В. Годован, Н. В. Кресюн // Науковий вісник Ужгородського університету – серія "Медицина". – 1999. – Вып. 10. – С. 99-100.
231. Коркач В. И. Активность аланинаминотрансферазы в сыворотке крови и печени в условиях воздействия на крыс химических веществ / В. И. Коркач // Гигиена и санитария. – 1987. – № 11. – С. 86-87.
232. Леутский К. М. Никотиновая кислота (витамин РР) / К. М. Леутский. – Львов: Изд-во Львовского ун-та, 1972. – 182 с.
233. Терапевтическое действие янтарной кислоты / Под ред. М.Н. Кондрашовой. – Пушино, 1976. – 229 с.

234. Максимович М. Я. Анализ гепатопротективных свойств никотиновой кислоты / М. Я. Максимович // 5 съезд фармакологов Украины. – Запорожье, 1985. – С. 98.
235. Кресюн В. И. Механизмы гепатопротекторного действия новых производных никотиновой кислоты при экспериментальном поражении печени четыреххлористым углеродом / В. И. Кресюн, С. Б. Стречень // Бюлл. эксперим. биол. и медицины. – 1992. – № 7. – С. 58-61.
236. Hongo R. Clinical usage of the new hepatoprotector Securion / R. Hongo. – Review. – Masao Ohrishi Medical Information department, 1998. – 32 p.
237. Yang M. K. Protective role of germanium-132 against paraquat-induced oxidative stress in the livers of senescence-accelerated mice / M. K. Yang, Y. G. Kim // J Toxicol Environ Health A. – 1999. – Vol.58, №5. – P. 289-297.
238. Воронков М. Г. Гепатопротекторная активность 1-этоксилитрана и 1-изопропоксигерманата / М. Г. Воронков, М. К. Нурбеков, М. М. Расулов // Бюлл. Эксп. Биол. Мед. – 2002. – Vol.134, №4. – С. 342-344.
239. Влияние эссенциальных фосфолипидов на структурные и метаболические изменения в печени крыс при экспериментальном алкогольном поражении / Б. У. Буко, В. В. Немкевич, А. Н. Мальцев [и др.] // Патолог. физиол. и эксперим. тер. – 1994. – № 4. – С.50-53.
240. Скакун Н. П. Клиническая фармакология гепатопротекторов / Н. П. Скакун, В. В. Шманько, Л. М. Охримович. – Тернополь, 1995. – 272 с.
241. Гуревич К. Г. Эссенциальные фосфолипиды в лечении заболеваний печени / К. Г. Гуревич // Качественная клиническая практика. – 2002. – № 4. – С. 14.
242. Ушкалова Е. А. Место эссенциальных фосфолипидов в современной медицине / Е. А. Ушкалова // Фарматека. – 2003. – № 10. – С. 10-15.
243. Козачок М. М. Роль та місце есенціальних фосфоліпідів у лікуванні хронічних дифузних хвороб печінки / М. М. Козчок, Г. В. Осьодло, Т. В. Куц // Сучасна гастроентерологія. – 2006. – № 4 (30). – С. 95-101.

244. Немятих О. Д. Пошук засобів профілактики гіпоксії замкнутого простору : автореф. дисс. на здобуття наук. ступеня канд. мед. наук : спец. 14.03.05 "Фармакологія" / О. Д. Немятих – Харків, 2004.– 21 с.
245. Пат. № 22954, Україна, МПК G01N 33/576 A61K 39/29. Спосіб фармакокорекції токсичного медикаментозного гепатиту / Лук'янчук В. Д., Внукова М. О., Сейфулліна І. Й., Шпуліна О. О., Ткаченко В. М.; – u200701811 ;заявл. 21.02.07 ; опубл. 25.04.07, Бюл. № 5 - 14 с.
246. Скринінг і порівняльна оцінка ефективності засобів детоксикації серед координаційних сполук германію з біолігандами при синдромі тривалого розчавлювання / В. Д. Лук'янчук, І. Й. Сейфулліна, Н. В. Рисухіна [та ін.] // Одеський медичний журнал. – 2007. – №1. – С. 15-19.
247. Schroeder H. A. Abnormal trace metals in man: germanium / H. A. Schroeder, J. J. Balassa // J.Chronic Diseases. –1967. – V.20, N 4. – P. 211-224.
248. Shinogi M. Determination and biokinetics of germanium in mouse tissues by atomic absorption spectrometry with electrothermal atomization / M. Shinogi, T. Masaki, I. Mori // J. Trace Elem. Electrolytes Health Dis. – 1989. – V. 3, N 1. – P. 25-28.
249. The Pharmacokinetics of SC Semitard MC, Human NPH Ge, Rapitard MC and Human NPH-30/70-Ge Insulin in Normals / S. D. Luzio, L. George, K. Deabrew [et al.] // Diabetologia. – 1997. – Vol. 40. – P. 1293-1293.
250. Shinohara A. Determination of germanium in human specimens: comparative study of atomic absorption spectrometry and microwave-induced plasma mass spectrometry / A. Shinohara, M. Chiba, Y. Inaba // J. Anal. Toxicol. – 1999. – V. 23, No 7. – P. – 625-631.
251. Kinetics of germanium dioxide in rats / C. H. Lin, T. J. Chen, Y. L. Hsieh [et al.] // Toxicology. – 1999. – Vol.132, №2-3. – P. 147-153.
252. Epidemiological survey of workers exposed to inorganic germanium compounds / B. Swennen, A. Mallants, H. A. Roels [et al.] // Occup Environ Med. – 2000. – Vol. 57, № 4. – P.242-248.

253. Шемонаєва К. Ф. Фармакокінетика координаційних сполук германію з біолігандами : автореф. дисс. на здобуття наук. ступеня канд. мед. наук : спец. 14.03.05 "Фармакологія" / К. Ф. Шемонаєва – Одеса, 2003. – 20 с.
254. Відавська Г. Г. Фармакокінетика нових біологічно активних речовин на основі оксіетилідендифосфонату германію з нікотиною кислотою, нікотинамідом і магнієм : автореф. дисс. на здобуття наук. ступеня канд. мед. наук : спец. 14.03.05 "Фармакологія" / Г. Г. Відавська – Одеса, 2003. – 19 с.
255. Войнар А. И. Биологическая роль микроэлементов в организме животных и человека / А. И. Войнар. – М.: Высшая школа, 1960. - 544 с.
256. Москалев Ю. И. Минеральный обмен / Ю. И. Москалев. – М.: Медицина, 1985. – 287 с.
257. Тутельян В. А. Коррекция микронутриентного дефицита – важнейший аспект концепции здорового питания населения России / В. А. Тутельян, В. Б. Спиричев, Л. Н. Шатнюк // Вопросы питания. – 1999. – №1. – С. 32-35.
258. Коровина Н. А. Профилактика дефицита витаминов и микроэлементов у детей / Н. А. Коровина, И. Н. Захарова, А. Л. Заплатникова. – Москва, 2000. – 328 с.
259. Корреляционные связи между содержанием токсичных и эссенциальных металлов в организме и характеристиками ЭЭГ-потенциалов у юношей в условиях городской среды / Е. В. Евстафьева, О. А. Залата, Е. В. Репинская [и др.] // Нейрофизиология. – 2006. – 38, N 2. – С. 167-174.
260. Безруков О. Ф. Роль коцентрации медьсодержащих соединений в пище в возникновении патологии щитовидной железы / О. Ф. Безруков, П. Е. Григорьев // Таврический медико-биологический вестник. – 2010. – том 13, № 4 (52) – С. 11-13.
261. Everson G. J. Chemical and morfological changes in brains of copper-deficient guinea pigs / G. J. Everson, R. E. Shrader, T. Wang // J. Nutr. – 1968. – № 96. – P. 1150–125.

262. Aganov A. V. Cu(II) content in the structures of the peripheral nervous system at their damage / A. V. Aganov, D. S. Guseva, D. G. Zverev [at al.] // *Appl. Magn. Reson.* – 2006. – Vol. 30, N 1. – P. 201-206.
263. Furukawa Y. Posttranslational modifications in Cu, Zn-superoxide dismutase and mutations associated with amyotrophic lateral sclerosis / Y. Furukawa, T. V. O'Halloran // *Antioxid. Redox Signal.* – 2006. – Vol. 8, N 5. – P. 847-867.
264. Toxicity of familial ALS-linked SOD1 mutants from selective recruitment to spinal mitochondria / J. Liu, C. Lillo, P. Jonsson [et al.] // *Neuron.* – 2004. – Vol. 43, N 1. – P. 5-17.
265. Reeves P. G. Copper deficiency reduces iron absorption and biological half-life in male rats / P. G. Reeves, L. C. DeMars // *J Nutr.* – 2004. – N 134 (8). – P. 1953-1957.
266. MtDNA mutations associated with sideroblastic anaemia cause a defect of mitochondrial cytochrome c oxidase / S. Broker, B. Meunier, P. Rich [et al.] // *Eur. J. Biochem.* – 1998. - №. 258 (1). - P. 132-138.
267. Bannister J. V. Aspects of the structure, function, and applications of superoxide dismutase / J. V. Bannister, W. H. Bannister, G. Rotilio // *CRC Crit Rev Biochem.* – 1987. - № 22 (2). - P. 111-180.
268. Семенова Е. Роль меди и марганца в метаболизме железа / Е. Семенова, М. Кунина, Н. Стуклов // *Медицинские аспекты здоровья женщины.* – 2014. – № 1 (75). – С. 49-55.
269. Громова О. А. Анализ молекулярных механизмов воздействия железа (II), меди, марганца в патогенезе железодефицитной анемии / О. А. Громова, И. Ю. Торшин, А. К. Хаджидис // *Клин. фармакология и фармаэкономика.* – 2010. – № 1. – С. 1-9.
270. Зубаренко О. В. Метаболічна корекція залізодефіцитних анемії у дітей / О. В. Зубаренко, К. О. Гурієнко // *Сучасна педіатрія.* – 2006. – № 1 (10) – С. 110-112.

271. Copperdependent activation of hypoxia-inducible factor (HIF)-1: implications for ceruloplasmin regulation / F. Martin, T. Liden, D. Katschinski [et al.] // *Blood*. – 2005. – № 12. – P. 4613-4619.
272. Changes in the content of transferrin, ceruloplasmin, iron, and copper in blood serum and granulation tissue in wound healing in an experiment / L. A. Mamedov, N. Iu. Kosaganova, G. T. Rikhireva [et al.] // *Patol Fiziol Eksp Ter*. – 1988. – N. 4. – P. 58-61
273. O'Dell B. L. Roles for iron and copper in connective tissue biosynthesis / B. L. O'Dell // *Philos TransR SocLondBBiolSci*. – 1981. – N. 294 (1071). – P. 91-104.
274. Дисплазии соединительной ткани у детей и подростков. Инновационные стационар-сберегающие технологии диагностики и лечения в педиатрии / Г. И. Нечаева, В. М. Яковлев, О. А. Громов [и др.]. – М.: Союз педиатров России, 2009 – 375 с.
275. Fox P. L. The copper-iron chronicles: the story of an intimate relationship / P. L. Fox // *Biometals*. – 2003. – Mar;16(1). – P. 9-40.
276. Contrasting and cooperative effects of copper and iron deficiencies in male rats fed different concentrations of manganese and different sources of sulfur amino acids in an AIN-93G-based diet / P. G. Reeves, N. V. Ralston, J. P. Idso, H. C. Lukaski / *J Nutr*. – 2004. – № 134. – P. 416-425.
277. Пучкова Л. В. Механизм, обеспечивающий гомеостаз меди у эукариот, и его связь с транспортом железа. / Л. В. Пучкова, Н. А. Платонова // *Успехи совр. биол.* – 2003. – Т. 123, № 1. – С. 41–58.
278. Марушко Ю. В. Вміст окремих мікроелементів при залізодефіцитних станах у дітей / Ю. В. Марушко, О. О. Лісоченко // *Збірник наукових праць співробітників НМАПО ім. П.Л. Шупика*. – К., 2007. – Вип. 16, 3 кн. – С. 207-211.
279. Гусева С. А. Церулоплазмин: физико-химические свойства, функции в организме, клиническое применение / С. А. Гусева, А. О. Петруша, Я. П.

- Гончаров // Український журнал гематологи та трансфузіолопії – № 4 (4) – 2004. – С. 46-51.
280. Vassiliev V. Ceruloplasmin in neurodegenerative diseases. / V. Vassiliev, Z. L. Harris, P. Zatta // *Brain Res. Rev.* – 2005. – Vol. 49, N 3. – P. 633–640.
281. Wilson disease: clinical and biological aspects. / P. Chappuis, M. Bost, M. Misrahi [et al.] // *Ann. Biol. Clin. (Paris)*. – 2005. – Vol. 63, N 5. – P. 457–466.
282. Роль церулоплазмина при развитии неопластических процессов. / Т. П. Вавилова, Ю. Н. Гусарова, О. В. Королева, А. Е. Медведев // *Биомед. химия*. – 2005. – Т. 51, Вып. 3. – С. 263-275.
283. Kono S., Miyajima H. Molecular and pathological basis of aceruloplasminemia / S. Kono, H. Miyajima // *Biol. Res.* – 2006. – Vol. 39, N 1. – P. 15–23.
284. Сакаева Д. Д. Коррекция анемического синдрома у онкологических больных препаратом церулоплазмин / Д. Д. Сакаева, Т. Н. Жбанкова // *Гематология и трансфузиология*. – 2002. – № 5. – С. 22-25.
285. Накашидзе И., Чиковани Т., Саникидзе Т., Бахутапшвили В. Проявление оксидантного стресса и его коррекция при травматическом шоке. // *Анестезиол. и реаниматол.* – 2003. – № 5. – С. 22–24.
286. Gastrointestinal symptoms and blood indicators of copper load in apparently healthy adults undergoing controlled copper exposure / M. Araya, M. Olivares, F. Pizarro [et al.] // *Am J Clin Nutr.* – 2003, № 77. – P. 646 - 650.
287. Hamed S.A., Abdellah M.M., El-Melegy N. Blood levels of trace elements, electrolytes, and oxidative stress/ antioxidant systems in epileptic patients. // *J. Pharmacol. Sci.* – 2004. – Vol. 96, N 4. – P. 465–473.
288. Fisher A.E, Naughton D.P. Therapeutic chelators for the twenty first century: new treatments for iron and copper mediated inflammatory and neurological disorders. // *Curr. Drug Deliv.* – 2005. – Vol. 2, N 3. – P. 261–268.
289. Эделева Н.В., Немцова Е.Р., Иванова Л.М., Осипова Н.А. Клинические примеры результатов использования церулоплазмина в составе интенс-

- вной терапии критических состояний. // Анестезиол и реаниматология. – 2005. – № 5. – С. 49–51.
290. Stephensen C.B., Marquis G.S., Douglas S.D., Wilson C.M. Immune activation and oxidative damage in HIV-positive and HIV-negative adolescents. // *J. Acquir Immune Defic. Syndr.* – 2005. – Vol. 38, N 2. – P. 180–190.
291. Bremner I Copper and zinc metabolism in health and disease: speciation and interactions / I. Bremner, J. H. Beattie // *Proc Nutr Soc.* – 1995. – V. 54, N. 2. – P. 489-499.
292. Waggoner D. J. The role of copper in neurodegenerative disease / D. J. Waggoner, J. D. Bartnikas // *Neurobiol Dis.* – 1999. – V. 6, N. 4. – P. 221-230.
293. Mazumder B., Sampath P., Fox P. L. Translational control of ceruloplasmin gene expression: beyond the IRE / B. Mazumder, P. Sampath, P. L. Fox // *Biol. Res.* – 2006. – Vol. 39, N 1. – P. 59–66.
294. Arnaud J. Affinity differences for vitamin D metabolites associated with the genetic isoforms of the human serum carrier protein (DBP) /J. Arnaud, J. Constans // *Hum Genet.* – 1993. – V. 92, N/ 2. – P. 183-188.
295. Вариабельность сердечного ритма школьников 10-11 лет в зависимости от содержания цинка, меди, кальция и стронция в организме / А. В. Негериш, С. Л. Тымченко, Е. В. Казачкина, Е. В. Евстафьева // *Перинатология и педиатрия.* – 2011. – № 3. – С. 53-56.
296. Доклинические исследования лекарственных средств : Метод, рекомендации / Под ред. А. В. Стефанова. – К. : Авіцена, 2002. – 567 с.
297. Разнометальные оксиэтилидендифосфонаты некоторых s- и d-металлов и их влияние на активность ферментов / И. И. Сейфуллина, Е. Э. Марцинко, В. Н. Ткаченко [и др.] // *Вісник ОНУ.* – 2005. – № 8. – С. 5–13.
298. Климова В. А. Основные микрометоды анализа органических соединений / В. А. Климова. – М. : Химия, 1975. – 221 с.

299. Hayes A. W. Principles and Methods of Toxicology / A. W. Hayes – New York: Raven Press. – 1989. – 899 p.
300. Прозоровский В. Б. Использование метода наименьших квадратов для пробит-анализа кривых летальности / В. Б. Прозоровский // Фармакология и токсикология. – 1962. – Т. 23, № 1. – С. 115-120.
301. Рыболовлев Ю. Р. Дозирование веществ для млекопитающих по константе биологической активности / Ю. Р. Рыболовлев, Р. С. Рыболовлев // Журнал АН СССР. – 1979. – Т. 247, № 6. – С. 1513–1516.
302. Методические рекомендации по оценке аллергенных свойств фармакологических средств / Под ред. О. Г.Алексеевой. – М. : М, 1988. – С. 19.
303. Буреш Я. Методики и основные эксперименты по изучению мозга и поведения / Я. Буреш, О. Бурешова, Дж. П. Хьюстон. – М. : Высшая школа, 1991. – 398 с.
304. Новиков В. Е. Влияние антигипоксанта $\pi Q226$ на поведение мышей в "открытом поле" / В. Е. Новиков, М. В. Арбаева, Э.А. Парфенов // Психофармакология и биологическая наркология. – 2005. – Т. 5, Вып. 3. – С. 979-983.
305. Гацура В. В. Методы первичного фармакологического исследования биологически активных веществ / В. В. Гацура – М.: М, 1974. – С. 142.
306. Бунятян А. А. Анестезиология: национальное руководство / А. А. Бунятян, В. М. Мазиков – ГЭОТАР-Медиа, 2011. – С. 1104.
307. Машковский М. Д. Фармакология антидепрессантов / М. Д. Машковский, Н. И. Андреева, А. И. Полежаева – М. : М, 1983. – 239 с.
308. Андронати С. А. Феназепам / С. А. Андронати, Г. Я. Авруцкий, А. В. Богатский – К. : Наукова думка, 1982. – 283 с.
309. Wood R. L. Animal models in analgesic testing / In: Analgesics: Neurochemical, Behavioral and Clinical perspectives // M. Kuhar, J. Pasternac. – Raven Press. New-York, 1941. – Vol. 42. – P. 74.

310. Мандриевская Н. М. Роль тиол-дисульфидной и аскорбатной систем в патогенезе воспаления: дис. ... кандидата мед. наук: 14.03.04 / Н. М. Мандриевская. – Одесса., 1997. – 145 с.
311. Тимчишин О. Л. Вплив медгерму на функціональний стан печінки інтактних щурів / О. Л. Тимчишин, В. В. Годован, Л. А. Полукарова // Інтегративна антропологія. – 2010. – № 2. – С. 23-27.
312. Годован В. В. Галактозаміновий гепатит як модель вивчення морфофункціональних порушень клітинних мембран / В. В. Годован, В. Й. Кресюн // Одеський медичний журнал. – 2005. – № 3. – С. 11-15.
313. Клинико-экспериментальное применение супероксиддисмутазы в медицине / А. В. Стефанов, Л. В. Деримедведь, И. В. Чурилова [и др.] – Х: Изд-во НФау; Золотые страницы, 2004. – 288 с.
314. Лабораторные животные. Разведение, содержание, использование в эксперименте / И. П. Западнюк, В. И. Западнюк, Е. А. Захария [и др.] – К. : Вища школа, 1983. – 383 с.
315. Справочник по лабораторным методам исследования / Под ред. Л. А. Даниловой. – СПб.: Питер, 2003. – С. 310-324.
316. Лабораторные методы исследования в клинике: Справочник / Под ред. В. В. Меншикова. – М.: Медицина, 1987. – 363 с.
317. Reitman S. Colorimetric method for the determination of serum glutamic oxalacetic and glutamic pyruvic transaminases / S. Reitman, S. A. Frankel // Am. J. Clin. Path. – 1957. – V. 28, N 1. – P. 56-59.
318. IFCC Primary reference procedures for the measurements of catalytic activity concentrations of enzymes at 37°C. Part 6. Reference procedure for the measurements of catalytic concentration of gamma-glutamyltransferase. // Clin. Chem. Lab Med. – 2002. – V. 40 – P. 734-738.
319. Multicenter evaluation of iso-ALPtest kit for measurement of bone alkaline phosphatase activity in serum and plasma / S. B. Rosalki, A. Y. Foo, A. Burlina [et al] // Clin. Chem. – 1993. – V. 39. – P. 648-652.

320. Стальная И. Д. Метод определения малонового диальдегида с помощью тиобарбитуровой кислоты / И. Д. Стальная, Г. Г. Гаришвили // Современные методы в биохимии: Под ред. Ореховича В.И., – М.: Медицина, 1977. – С. 57-59.
321. Ellman G. L. Tissue sulfhydryl group / G. L. Ellman // *Acc. Biochem. Biophys.* – 1959. – Vol.25.– P. 70-77.
322. Королюк М. А. Метод определения активности каталазы / М. А. Королюк, Л. И. Иванова, И. Г. Майорова // *Лаб. дело.* – 1988. – №1. – С. 16-18.
323. Костюк В. А. Простой и чувствительный метод определения активности супероксиддисмутазы, основанный на реакции окисления кверцетина / В. А. Костюк, А. И. Потапович, Ж. А. Ковалев // *Вопросы мед. химии.* – 1990. – № 2. – С. 88-91.
324. Карпищенко А. И. Медицинские лабораторные технологии / А. И. Карпищенко. – СПб, 1999 – 649 с.
325. Арефьев И. М. Лазерный корреляционный спектроскоп для иммунологических и вирусологических анализов / И. М. Арефьев, А. Н. Еськов, И. К. Юдин // *Мед. техника.* – 1979. – № 2. – С. 30-34.
326. Молекулярно-генетические и биофизические методы исследования в медицине / Ю. И. Бажора, В. И. Кресюн, В. Н. Запорожан [и др.]. – К. : Здоров'я, 1996 – 205 с.
327. Lin S. H. C. Effect of calcium ion on the structure of native bovine casein / S. H. C. Lin, S. L. Leong, R. K. Dewan [et al.] // *Virology.* – 1972. – N. 11. – P. 1818-1821.
328. Salmeen I. Hydrodynamic diameters of RNA tumor viruses. Studies by laser beat frequency light scattering spectroscopy of avian myeloblastosis and Rauscher murine leukemia viruses / I. Salmeen, L. Rimai, L. Liebes [et al.] // *Biochemistry.* – 1975. – N 14. – P. 134 - 141.
329. Лебедев А. Д. Лазерная корреляционная спектроскопия в биологии / А. Д. Лебедев, Ю. Н. Левчук, В. А. Носкин. – К. : Наукова думка, 1987. – 256 с.

330. Соколовский В. С. Экспресс-оценка системы гомеостаза в динамике физической нагрузки спортсменов, занимающихся циклическими и ациклическими видами спорта / В. С. Соколовский, Л. А. Носкин, Ю. И. Бажора // Теория и практика физической культуры. – 1991. – № 11. – С. 2-6.
331. Simmons P. Plasma Protein Diagnostics / P. Simmons. – Somerville: Behring Diagnostics. – 1994. – 543 p.
332. Классификация результатов исследования плазмы крови с помощью лазерной корреляционной спектроскопии на основе семиотики предклинических и клинических состояний / К. С. Терновой, Г. Н. Крыжановский, Ю. И. Мусийчук [и др.] // Укр. биохим. журн. – 1998. – № 2. – С. 53-56.
333. Яновская Н. Б. Спектроскопия квазиупругого рассеяния в исследовании белков плазмы крови / Н. Б. Яновская // Укр. биохим. журн. – 1996. – Т. 68, № 4. – С. 21-22.
334. Луппа Х. Основы гистохимии / Х. Луппа. - М.: Мир. – 1980. – 343 с.
335. Лапач С. Н. Статистические методы в медико-биологических исследованиях с использованием Excel / С. Н. Лапач, А. В. Чубенко, П. Н. Бабиц. – К. : Морион, 2001. – 408 с.
336. Афонин Е. Г. Физико-химическое изучение оксиэтилидендифосфонатов натрия / Е. Г. Афонин, Н. И. Печурова // Журн. общ. химии. – 1987. – Т. 57, № 3. – С.538–544.
337. Марцинко Е. Э Синтез, свойства и кристаллическая структура гетерометаллического комплекса германия (IV) и цинка (II) с 1-оксиэтилидендифосфоновой кислотой / Е. Э. Марцинко, И. И. Сейфуллина, В. С. Сергиенко [и др] // Журн. неорган. химии. – 2005. – Т. 50, № 6. – С. 42-49.
338. Сидоров К. К. Токсикология новых промышленных химических веществ / К. К. Сидоров – М.: Медицина, 1973. – Вып. 3. – 47 с.
339. Маянский Д. Н. Хроническое воспаление / Д. Н. Маянский – М.: Медицина, 1991. – 272 с.

340. Фармакологическая регуляция воспаления / Ф. П. Тринус, Б. М. Клебанов, И. М. Ганджа, Р. Д. Сейфулла. – К. : Здоров'я, 1987. – 144 с.
341. Song C.H. Associations of zinc and copper levels in serum and hair with sleep duration in adult women / C. H. Song, Y. H. Kim, K. I. Jung // Biol Trace Elem Res. – 2012. – N. 10 – P. 16-21.
342. Sleep disorders in wilson's disease / S. Nevsimalova, J. Buskova, R. Bruha [et al.] // Eur J Neurol. – 2011. – N. 18. – P. 184-190.
343. Sleep-promoting action of excitatory amino acid antagonists: a different role for thalamic NMDA and non-NMDA receptors / G. Juhasz, K. Kekesi, Z. Emri [et al.] / Neuroscience Letters. – 1990. – Vol. 114. – P. 333-338.
344. Бажора Ю. И. Лазерная корреляционная спектроскопия в медицине / Ю.И. Бажора, Л. А. Носкин. – Одесса : ОДМУ, 2002. – 400 с.