



УКРАЇНА

(19) UA (11) 82639 (13) C2

(51) МПК (2006)

A61K 31/355 (2008.01)

A61K 31/10 (2008.01)

A61K 31/133

A61P 39/00

МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ  
І НАУКИ УКРАЇНИДЕРЖАВНИЙ ДЕПАРТАМЕНТ  
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ  
ВЛАСНОСТІОПИС  
ДО ПАТЕНТУ НА ВИНАХІД

(54) КОМПЛЕКСНИЙ ПРЕПАРАТ ДЛЯ ПІДВИЩЕННЯ ВНУТРІШНЬОКЛІТИННОГО ЕНЕРГЕТИЧНОГО ОБМІНУ В ОРГАНІЗМІ

1

2

(21) a200610264

(22) 26.09.2006

(24) 25.04.2008

(46) 25.04.2008, Бюл. № 8, 2008 р.

(72) ДОНЧЕНКО ГЕОРГІЙ ВІКТОРОВИЧ, UA,  
КУЗЬМЕНКО ІРИНА ВАСИЛІВНА, UA, КУЧМЕНКО  
ОЛЕНА БОРИСІВНА, UA, ПЕТУХОВ ДМИТРО  
МИКОЛАЙОВИЧ, UA(73) ІНСТИТУТ БІОХІМІЇ ІМ. О.В.ПАЛЛАДІНА  
НАЦІОНАЛЬНОЇ АКАДЕМІЇ НАУК УКРАЇНИ, UA

(56) RU 2 080 858 C1, 10.06.1997

RU 2 184 564 C1, 28.01.2000

EP 0 804 239 B1, 15.09.1999

(57) 1. Комплексний препарат для підвищення  
внутрішньоклітинного біоенергетичного обміну  
організму, який **відрізняється** тим, що до його  
складу входять компоненти (на разову дозукомплексного препарату) при співвідношенні, мас.  
%:

вітамін Е 4,8-11,1;

ПОБК

(параоксисбензойна

кислота)

23,8-47,6;

метіонін

44,4-71,4.

2. Комплексний препарат за п. 1, який  
**відрізняється** тим, що він додатково містить  
диметилсульфоксид (ДМСО) при наступному  
співвідношенні компонентів, мас. %:

вітамін Е 3,5-8,3;

ПОБК

17,5-35,1;

метіонін

33,3-52,6;

ДМСО

25,0-26,3.

Винахід відноситься до медицини, а саме до препаратів, що активують внутрішньоклітинний біоенергетичний обмін шляхом стимулювання біосинтезу та функціонування убіхінону (кофермент Q, (Q)) в організмі і може використовуватись в експериментальній біології, медицині, ветеринарії та тваринництві.

Відомо, що при незбалансованому за амінокислотним складом, вітамінами і особливо жиророзчинним вітаміном Е (α-токоферолацетатом) раціоном спостерігається значний дефіцит Q. Білкова нестача уповільнює синтез Q в організмі і порушує його обмін [1].

Відомо, що при стресових ситуаціях, в похилому віці, при захворюваннях та ін. біосинтез Q в організмі людини та тварин часто порушується [2, 3]. Поповнення внутрішньоклітинного пулу Q відбувається лише частково за рахунок надходження його ззовні із харчами, а переважно за рахунок ендogenous синтезу, саме тому Q належить до вітаміноподібних сполук.

Відомо, що порушення біосинтезу Q в тканинах призводить до його дефіциту, що

супроводжується широким спектром патологій. Проявами дефіциту в організмі є слабкість, втомлюваність, зниження працездатності та витривалості, серцева недостатність, зниження імунного захисту, ожиріння, ксеродермія та ін. [2, 4, 5]. В основі розвитку цих патологій лежить саме порушення біоенергетичного обміну, який є одним з найважливіших компонентів внутрішньоклітинного обміну.

Відомо про ефективне використання препаратів екзогенного Q в дозі 200-500мг на добу протягом 3-6 місяців при різноманітних порушеннях синтезу його в організмі [6]. Корегувати Q-статус можливо завдяки споживанню збагачених Q харчових продуктів і додатків, або за допомогою безпосереднього введення фармацевтичних препаратів Q. Препарати Q знайшли широке практичне використання у високорозвинених країнах (США, Японія, Німеччина, Франція). В Японії Q запропонований в якості профілактичного засобу широкого спектру захворювань і для загального оздоровлення населення. На світовому ринку

(13) C2

(11) 82639

(19) UA

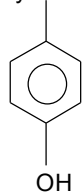
виробляються таблетовані препарати, гранули, водні, ліпосомальні форми, капсули, та ін.

Проте застосування препаратів Q має ряд недоліків. Після закінчення курсу лікування препаратом Q спостерігають гальмування ендogenous синтезу Q, що у наступному неодмінно викличе потребу в постійному прийомі його препаратів, оскільки їх вживання не веде до відновлення та активації систем його біосинтезу та функціонування в організмі. В Україні Q не виробляється, а ввезення його з-за кордону дуже обмежене внаслідок високої вартості препарату та низької купівельної спроможності населення, що не дозволяє вживати його як лікарський засіб, не кажучи вже про забезпечення повсякденного прийому цього препарату населенням України.

Стимуляція ендogenous синтезу Q шляхом підсилення власних біосинтетичних ресурсів організму (на відміну від екзогенних його препаратів) є принципово новим способом та найбільш перспективним і раціональним підходом.

Найближчим аналогом винаходу є комплексний препарат водорозчинної пара-амінобензойної кислоти разом з вітаміном E [7]. Відомо, що вітамін E не тільки активує на декількох етапах біосинтезу Q в організмі, що підвищує його вміст у тканинах, але й активує процеси, пов'язані з його функціонуванням, що проявляється в інтенсифікації процесів тканинного дихання та окисного фосфорилування. Недоліком найближчого аналогу є недостатня ефективність відновлення та активації ендogenous систем біосинтезу та функціонування Q в організмі.

В основу винаходу поставлено задачу розробки нового комплексного препарату на основі регулятора біосинтезу Q - вітаміну E та попередника біосинтезу бензохінонової частини молекули Q - пара-оксибензойної кислоти (ПОБК) формули



шляхом додаткового введення: а) метіоніну - попередника в реакціях трансметилування на термінальних етапах біосинтезу біологічно активної форми молекули Q; б) метіоніну та транспортеру біологічно активних речовин - диметилсульфоксиду (ДМСО), - що забезпечує інтенсифікацію біосинтезу та функціонування Q в організмі. Запропонований спосіб відрізняється від найближчого аналогу тим, що відбувається більш ефективне відновлення та активація ендogenous систем біосинтезу та функціонування Q в організмі. Практично при застосуванні нового комбінованого препарату відбувається

реконструкція порушених систем біосинтезу та функціонування Q в організмі.

Винахід ілюструється прикладами впливу запропонованого комбінованого препарату на вміст та функціонування Q у піддослідних тварин за умов різного забезпечення їх вітаміном E.

Приклад 1. Матеріалом для дослідження слугували білі лабораторні щури-самці масою 150-180 г, що утримувались на раціоні віварію. Тварин було поділено на 3 групи. За десять діб до експерименту дослідним тваринам групи 2 щоденно вводили *per os* 10 мг вітаміну E на кг маси тіла разом з 50 мг ПОБК на кг маси, а тваринам групи 3 - аналогічно вітамін E, ПОБК разом із 150 мг метіоніну на кг маси тіла. Тварини контрольної групи препаратів не одержували.

Використання наркотизуючих речовин безпосередньо перед забоем було неможливим, оскільки вплив таких речовин на остаточні результати неможливо передбачити та врахувати. Тому згідно з вимогами Міжнародного Комітету із гуманного поводження з тваринами декапітацію проводили максимально швидко та з найменшим боєм. Після забою тварин в гомогенатах печінки та міокарду визначався вміст Q та глутатіонпероксидазна активність, а в мітохондріях печінки та серця - сукцинатубіхінонредуктазна (SQR) та NADH-убіхінонредуктазна (HQR) активність. Визначення вмісту Q та токоферолу в гомогенаті міокарду та печінки використовували методику [8]. Вміст білку в препараті визначався за методом Лоурі [9]. Ферментативну активність сукцинат- та NADH-дегідрогеназних систем, де Q являється кофактором, визначали в мітохондріях клітин печінки та серця за методом Зіглера [10] та Тарасової [11] відповідно.

Комплекс вітаміну E, ПОБК і метіоніну підвищує рівень Q в гомогенатах печінки, серця та в мітохондріях печінки більше ніж в 2 рази порівняно з контролем; порівняно з групою, яка одержувала комплекс вітаміну E і ПОБК, вміст Q достовірно зростає в 2 рази (табл. 1).

Вміст Q у гомогенатах печінки, серця та в мітохондріях печінки в групі, яка отримувала комплекс ПОБК, метіоніну і вітаміну E, є найвищий. Активність SQR та HQR у мітохондріях печінки щурів також найбільша в групі, яка отримувала цей комплекс.

Отже, отримання тваринами комплексного препарату ПОБК, метіоніну і вітаміну E приводить до значного підвищення рівня Q в печінці та серці щурів, що може свідчити про посилення його біосинтезу. Крім того, підвищується ефективність його функціонування як коферменту в обох досліджених ферментних комплексах, що свідчить про значну активацію біосинтезу Q та його функціонування в ланцюгу транспорту електронів внутрішньої мембрани мітохондрій та процесів тканинного дихання.

Таблиця 1

Вміст Q в міокарді та печінці щурів (мкг/г білка) та активність ферментів ланцюгу транспорту електронів в мітохондріях печінки щурів, які утримувалися на стандартному раціоні віварію (мМ/мг білку за хв.) ( $M \pm m$ ,  $n=5-7$ )

| Показники \ Групи              | Контроль          | Отримували вітамін Е і ПОБК | Отримували вітамін Е, ПОБК і метіонін |
|--------------------------------|-------------------|-----------------------------|---------------------------------------|
| Вміст Q в гомогенаті печінки   | 8,81 $\pm$ 1,57   | 14,19* $\pm$ 2,71           | 17,63* $\pm$ 3,22                     |
| Вміст Q в гомогенаті серця     | 14,24 $\pm$ 2,60  | 17,37 $\pm$ 3,08            | 35,65* $\pm$ 6,03                     |
| Вміст Q в мітохондріях печінки | 15,66 $\pm$ 2,34  | 29,92* $\pm$ 2,44           | 34,29* $\pm$ 5,61                     |
| SQR                            | 76,14 $\pm$ 15,73 | 142,30* $\pm$ 18,04         | 146,77* $\pm$ 22,58                   |
| HQR                            | 48,44 $\pm$ 5,89  | 40,82 $\pm$ 1,26            | 79,24* $\pm$ 2,20                     |

Примітка: \* - зміни достовірні порівняно з контролем ( $p < 0,05$ ), # - зміни достовірні порівняно з групою тварин, що отримували вітамін Е і ПОБК ( $p < 0,05$ ).

Таким чином, введення ПОБК, вітаміну Е разом з метіоніном тваринам, які утримувались на стандартному раціоні віварію, є ефективним в плані підвищення рівня та функціонування Q шляхом підсилення його біосинтезу та функціонування як коферменту у SQR та HQR ферментних комплексах. Комплекс ПОБК, вітаміну Е разом з метіоніном може бути рекомендовано для інтенсифікації біосинтезу Q у організмі людини з достатнім харчуванням з метою підвищення його забезпеченості Q та функціонування ферментних комплексів.

Приклад 2. В досліді використовували білих лабораторних щурів-самців масою 60 г, що протягом 3,5 місяців утримувались на вітамін Е-дефіцитному раціоні. Методом аналогів дослідних тварин було поділено на чотири групи. За десять днів до експерименту тваринам першої експериментальної групи щоденно вводили по 10 мг вітаміну Е на кг маси тіла разом з 50 мг ПОБК на кг маси тіла, тваринам другої експериментальної групи - 10 мг вітаміну Е разом з 50 мг ПОБК і 150 мг метіоніну на кг маси тіла. Контрольна група додатково до Е-дефіцитного раціону отримувала вітамін Е у фізіологічній дозі. Досліджувались вміст Q та вітаміну Е в печінці та міокарді і SQR та HQR активності в мітохондріях печінки, вміст білку, Q в гомогенатах та мітохондріях, а також активність Q-залежних

ферментних комплексів визначали за методиками, поданими в Прикладі 1 [8, 9, 10, 11].

У тварин з Е-гіповітамінозом порівняно з тваринами контрольної групи, які утримувалися на синтетичній дієті та отримували вітамін Е, спостерігається достовірне зниження вмісту Q в гомогенатах і мітохондріях печінки, а також активності Q-залежних ферментних систем (SQR і HQR) (табл. 2).

Застосування комплексу вітамін Е, ПОБК і метіонін приводить до зростання рівня Q в гомогенатах печінки і серця в 2,5-3 рази порівняно з тваринами з Е-гіповітамінозом (табл. 2) та на 84% і на 60% відповідно в порівнянні з тваринами, що отримували препарат-прототип (комплекс вітаміну Е та ПОБК [7]).

Активність SQR та HQR у мітохондріях печінки щурів з Е-гіповітамінозом при введенні комплексу, що вивчається, достовірно зростає як в порівнянні з тваринами у стані Е-гіповітамінозу, так і з тими, що отримували препарат-прототип (активність SQR - в 4 рази та в 1,6 разів, відповідно; HQR - в 2,5 рази та в 1,6 разів, відповідно). Цьому необхідно відзначити, що додаткове введення комплексу вітамін Е, ПОБК і метіонін протягом 10 днів практично відновлювало показники до рівня контролю або навіть перевищувало його.

Таблиця 2

Вміст Q в міокарді та печінці щурів (мкг/г білка) та активність ферментів ланцюгу транспорту електронів в мітохондріях печінки щурів (мкМ/мг білку за хв.) (M±m, n=6)

| Групи                        |                     | Контроль      | Тварини з вітаміном Е-гіповітамінозом | Отримували вітамін Е і ПОБК | Отримували вітамін Е, ПОБК і метіонін |
|------------------------------|---------------------|---------------|---------------------------------------|-----------------------------|---------------------------------------|
| Показники                    |                     |               |                                       |                             |                                       |
| Вміст Q в гомогенаті печінки |                     | 9,53±1,15     | 7,34*±0,96                            | 10,22#±1,41                 | 18,85*#±1,07                          |
| Вміст Q в гомогенаті серця   |                     | 15,94±1,93    | 7,84*±2,05                            | 13,43#±1,10                 | 21,61*#±2,81                          |
| SQR                          | A <sub>1</sub>      | 135,98 ±19,44 | 22,31* ±3,28                          | 59,88#±7,32                 | 96,07*# ±6,83                         |
|                              | Відсоток дефіциту Q | 32,26         | 68,62                                 | 43,43                       | 35,40                                 |
| HQR                          | A <sub>1</sub>      | 214,41 ±23,36 | 63,77* ±19,60                         | 94,97 ±17,31                | 152,53*# ±14,64                       |
|                              | Відсоток дефіциту Q | 50,14         | 75,30                                 | 74,48                       | 65,03                                 |

Примітка: \* - зміни достовірні порівняно з контролем (p<0,05), # - зміни достовірні порівняно з групою тварин з Е-гіповітамінозом (p<0,05).

Приклад 3. В досліді використовували білих лабораторних щурів-самців масою 60г, яких утримували протягом 3,5 місяців на Е-авітамінозному раціоні. Методом аналогів дослідних тварин було поділено на вісім груп. Введення комплексів біологічно активних речовин проводили протягом 10 днів до завершення експерименту. Тваринам контрольної групи (1 група) щоденно вводили *per os* емульсію оливкової олії; тваринам групи контролю до гіповітамінозу (2 група) до раціону додавали в емульсії вітамін Е у фізіологічній дозі. Дослідні групи отримували відповідно: 3 група -10мг вітаміну Е, 50мг ПОБК, 150мг метіоніну на кг маси тіла; 4 група -10мг вітаміну Е, 50мг ПОБК, 150мг метіоніну, 75мг диметилсульфоксиду (ДМСО) на кг маси тіла; 5 група - 10мг вітаміну Е, 100мг ПОБК, 100мг метіоніну на кг маси тіла; 6 група - 10 мг вітаміну Е, 100мг ПОБК, 100мг метіоніну, 75мг ДМСО на кг маси тіла; 7 група - 25мг вітаміну Е, 100мг ПОБК, 100мг метіоніну на кг маси тіла; 8 група - 25мг вітаміну Е, 100мг ПОБК, 100мг метіоніну, 75мг ДМСО на кг маси тіла. Досліджувались вміст Q та вітаміну Е в печінці та міокарді і SQR та HQR активності в мітохондріях печінки. Вміст білку, Q в гомогенатах та мітохондріях, а також активність ферментних комплексів визначали за методиками, поданими в Прикладі 1 [8, 9,10,11].

Спостерігали зростання вмісту вітаміну Е у печінці та особливо у серці тварин, що отримували вітамін Е в комплексі з іншими попередниками та медіаторами біосинтезу Q. Особливо помітне

зростання спостерігали в групах тварин, що отримували додатково до досліджуваних комплексів ДМСО, що можна пояснити кращим транспортом вітаміну Е при комплексному введенні з цією речовиною.

Отримання тваринами вітаміну Е разом з іншими попередниками та медіаторами біосинтезу Q приводить до достовірного в порівнянні з контролем підвищення рівня Q в гомогенаті та мітохондріях печінки та серця щурів, що свідчить про можливість посилення його ендogenous синтезу (табл.3). Значне підвищення активності SQR та HQR ферментних систем в мітохондріях печінки свідчить про ефективну доступність новосинтезованого пулу убіхінону для цих ферментних систем. Одержані експериментальні результати свідчать про ефективність комплексів: вітамін Е, ПОБК та метіонін (групи 3, 5, 7) в досліджуваних дозах в підвищенні вмісту убіхінону в печінці та серці дослідних тварин з Е-гіповітамінозом та у зростанні його функціональної коферментної активності в складі оксидоредуктазних ферментних систем ланцюгу транспорту електронів мітохондрій. Введення комплексів вітаміну Е, ПОБК та метіоніну разом з ДМСО (групи 4, 6, 8) приводить до збільшення їх ефективності, що підтверджують дані таблиці 3. Вміст Q в досліджуваних тканинах (особливо в тканинах серця) зростає в порівнянні з групами, що отримували досліджувані комплекси без ДМСО. Така ж тенденція спостерігається для активності Q-залежних ферментних систем внутрішньої мембрани мітохондрій.

Таблиця 3

Вміст Q в міокарді та печінці щурів (мкг/г білка) та активність ферментів ланцюгу транспорту електронів в мітохондріях печінки щурів (мМ/мг білку за хв.) ( $M \pm m$ , n=6)

| Групи                                   |                     | Контроль   | Тварини з Е-гіповітамінозом | Група 3      | Група 4      | Група 5      | Група 6      | Група 7      | Група 8     |
|---|---------------------|------------|-----------------------------|--------------|--------------|--------------|--------------|--------------|-------------|
| Показники                               |                     |            |                             |              |              |              |              |              |             |
| Вміст вітаміну Е в мітохондріях печінки |                     | 4,69±0,44  | 2,72*±0,26                  | 3,72#±0,31   | 4,22#±0,61   | 4,77#±0,79   | 6,31*±0,64   | 3,85#±0,39   | 5,01#±0,56  |
| Вміст вітаміну Е в мітохондріях серця   |                     | 8,92±1,00  | 6,57*±0,79                  | 10,98#±1,18  | 12,10*±1,37  | 13,06*±1,01  | 16,07*±1,28  | 9,01#±1,63   | 12,81*±1,34 |
| Вміст Q в мітохондріях печінки          |                     | 6,6 ±0,43  | 3,49* ±0,42                 | 4,69# ±0,55  | 5,47# ±0,35  | 5,17# ±0,37  | 7,23# ±0,69  | 5.13 ±0,61   | 7,45# ±0,53 |
| Вміст Q в мітохондріях серця            |                     | 11,5±3,08  | 4,19*±1,35                  | 19,08*±3,57  | 17,71# ±2,94 | 22,85* ±4,01 | 26,85* ±4,82 | 18,08*±1,87  | 17,99#±4,90 |
| SQR                                     | A <sub>1</sub>      | 46,77±4,62 | 33,59* ±3,16                | 46,74# ±6,89 | 62,77* ±3,63 | 45,15# ±5,84 | 63,97* ±3,50 | 53,23#±5,64  | 47,07±7,40  |
|   | Відсоток дефіциту Q | 35,30      | 61,84                       | 35,43        | 35,63        | 42,45        | 31,43        | 30,08        | 31,87       |
| HQR                                     | A <sub>1</sub>      | 38,82±4,43 | 15,94* ±1,45                | 33,14# ±7,54 | 30,64# ±5,68 | 32,10# ±7,15 | 38,75# ±6,91 | 40,62# ±2,08 | 34,05#±2,22 |
|   | Відсоток дефіциту Q | 63,04      | 89,06                       | 73,37        | 63,99        | 61,97        | 55,67        | 69,98        | 55,25       |

Примітка: \* - зміни достовірні порівняно з контролем (p<0,05), # - зміни достовірні порівняно з групою тварин з Е-гіповітамінозом (p<0,05).

Наведені в прикладах 1-3 експериментальні дані підтверджують переваги препарату, що заявляється, порівняно з прототипом (препаратом вітамін Е та ПОБК) у інтенсифікації ендогенного синтезу та функціонування Q в якості коферменту ферментів ланцюгу транспорту електронів мітохондрій. Запропонований спосіб підвищення вмісту Q в організмі за рахунок введення комплексного препарату попереднику Q - ПОБК разом з медіатором синтезу вітаміном Е, метіоніном і ДМСО виявився найбільш ефективним порівняно з прототипом за різних умов утримання піддослідних тварин.

Після проведення клінічних випробувань запропонованого препарату „Енерговітам” він може бути використаний в медицині та експериментальній біології як препарат, що покращує біосинтез Q та його функціонування в складі оксидо-редуктазних ферментних систем ланцюгу транспорту електронів внутрішньої мембрани мітохондрій, для відновлення та стимуляції біоенергетичного обміну клітин, порушення якого лежить в основі розвитку широкого спектра захворювань.

1. Lane R.H., Flozak A.S., Ogata E.S. et al. Altered hepatic gene expression of enzymes involved in energy metabolism in the growth-retarded fetal rat // *Pediatric research*.- 1996.-V.39, No.3.-P.390-394.

2. Kucharska J., Gvozdjakova A., Snircova M. et al. Determination of coenzyme Q10 and alpha-tocopherol levels in patients with cardiopathies of unknown origin: perspectives in diagnosis //

*Bratislavske lekarske listy*.-1996.-V.97, No.6.-P.351-354.

3. Muller-Hocker J., Aust D., Napiwotzky J. et al. Defects of the respiratory chain in oxyphil and chief cells of the normal parathyroid and in hyperfunction // *Human pathology*.-1996.-V.27, No.6.-P.532-541.

4. Karlsson J., Sylven C., Jansson E. et al. Coenzyme Q10 and key enzyme activities in papillary muscle related to left ventricle function in mitral valve disease // *Molecular and cellular biochemistry*.-1988.-V.84, No.1.-P.59-64.

5. Yamagami T., Iwamoto Y., Folkers K. Deficiency of activity of succinate dehydrogenase-coenzyme Q10 reductase in leucocytes from patients with essential hypertension // *International journal for vitamin and nutrition research*. -1974.-V.44, No.3.-P.404-414.

6. Донченко Г.В. Биохимия убихинона (0).- К.: Наукова думка, 1988.-240 с.

7. Патент 73433 UA. Спосіб відновлення та активації ендогенних систем біосинтезу та функціонування убихінону в організмі / Донченко Г.В., Кузьменко І.В., Петухов Д.М., Кліменко К.П. // Оpubл. 15.07.2005, бюл.№7.

8. Донченко Г.В., Коваленко В.Н., Забарная Е.Н., Маковецкий В.П. Басалкевич Е.Д., Яременко В.В., Свищук А.А., Халмуратов А.Г. Действие производных  $\alpha$ -токоферола на содержание природных хинонов в тканях витамин Е-недостаточных крыс // *Биохимия*.-1979.-Т. 44, №5.-С. 923-930.  
O.N., Rosebrough N.J., Farr A.L., Randall R.J. Protein measurment with the folin phenol

reagent // Journal of Biological Chemistry.-1951.-V.193.-No.L-P.265-275.

10.Ziegler D., Doeg K.A. Preparation and properties of succinate dehydrogenase-coenzyme Q reductase (complex II) / In: Methods in Enzymology.-New York, 1967.-V.10.-P231-235.

11.Тарасова Н.В., Иванова Г.И., Гололобов А.Д. Участие убихинона в цепи переноса электронов у *Candida quilliermondii* // Микробиология.-1976.-Т.45,№3.-С.400-405.