



УКРАЇНА

(19) **UA** (11) **146441** (13) **U**  
(51) МПК (2021.01)  
**A61K 31/00**  
**A61P 43/00**

НАЦІОНАЛЬНИЙ ОРГАН  
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ  
ВЛАСНОСТІ  
ДЕРЖАВНЕ ПІДПРИЄМСТВО  
"УКРАЇНСЬКИЙ ІНСТИТУТ  
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ  
ВЛАСНОСТІ"

**(12) ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА КОРИСНУ МОДЕЛЬ**

<b>(21)</b> Номер заявки: <b>u 2020 04795</b>	<b>(72)</b> Винахідник(и): <b>Гуменюк Микола Іванович (UA)</b>
<b>(22)</b> Дата подання заявки: <b>27.07.2020</b>	<b>(73)</b> Володілець (володільці): <b>ТОВАРИСТВО З ОБМЕЖЕНОЮ ВІДПОВІДАЛЬНІСТЮ "МЕДИЧНИЙ ЦЕНТР "М.Т.К.",</b> вул. М. Амосова, 10, м. Київ, 03680 (UA)
<b>(24)</b> Дата, з якої є чинними права інтелектуальної власності: <b>25.02.2021</b>	<b>(74)</b> Представник: <b>Якобчук Олена Миколаївна, реєстр. №268</b>
<b>(46)</b> Публікація відомостей про державну реєстрацію: <b>24.02.2021, Бюл.№ 8</b>	

**(54) СПОСІБ ЛІКУВАННЯ ГОСТРИХ ПОРУШЕНЬ МОЗКОВОГО КРОВООБІГУ ТА ХРОНІЧНИХ ПОРУШЕНЬ МОЗКОВОГО КРОВООБІГУ У ЛЮДИНИ**

**(57) Реферат:**

Спосіб лікування гострих порушень мозкового кровообігу, хронічних порушень мозкового кровообігу у людини, яка страждає гострими порушеннями мозкового кровообігу, хронічними порушеннями мозкового кровообігу, включає введення згаданий людині фармацевтичної композиції, у такій лікарській формі як оральний розчин. Фармацевтична композиція містить як активні компоненти аргініну аспартат та левокарнітин, як допоміжні компоненти - коригент рН, який є підкислювачем, підсолоджувач, консервант та воду. Фармацевтичну композицію вводять у кількості, що є ефективною для лікування гострих порушень мозкового кровообігу, хронічних порушень мозкового кровообігу.

**UA 146441 U**

UA 146441 U

Запропонована корисна модель належить до галузі медицини, а саме до способів профілактики і лікування гострих порушень мозкового кровообігу, хронічних порушень мозкового кровообігу.

До гострих порушень мозкового кровообігу, хронічних порушень мозкового кровообігу належить зокрема гостра форма або хронічна форма недостатності мозкового кровообігу.

Гостра форма або хронічна форма недостатності мозкового кровообігу - це результат процесу прогресуючої недостатності кровопостачання головного мозку, яке призводить до розвитку множинних дрібно-вогнищевих некрозів мозкової тканини і поступового порушення функцій головного мозку. Основними причинами, які обумовлюють виникнення і розвиток хронічної недостатності мозкового кровообігу, є артеріальна гіпертонія та атеросклероз, в залежності від цього виділяють гіпертонічну та атеросклеротичну енцефалопатію.

Атеросклероз - хронічне захворювання артерій, що виникає внаслідок порушення ліпідного і білкового обміну і супроводжується відкладенням різних фракцій холестеринів і білків в судинах у вигляді бляшок, з подальшим розростанням на них сполучної тканини (склероз), і кальцинозу (відкладенням кальцію), що приводять до деформації судини і звуження просвіту судини, іноді аж до обтурації (закупорки судини). Атеросклероз призводить до органного та/або загального розладу кровообігу. Залежно від ступеня атеросклерозу і його локалізації в судинній системі формуються певні клінічні прояви, частина з яких виділяється в окремі синдроми і навіть нозологічні форми. Чинники, які призводять до атеросклерозу, поділяють на ендogenous (спадковість, стать, вік) і екзогенні (інтоксикація, артеріальна гіпертензія, хвороби обміну, переїдання тощо). До такого порушення можуть привести наступні чинники:

- вік;
- генетична схильність;
- живлення з підвищеним вмістом холестерину;
- малорухомий спосіб життя;
- надмірна маса тіла;
- хронічні захворювання, наприклад артеріальна гіпертензія і цукровий діабет;
- часті психоемоційні навантаження.

У патогенезі атеросклерозу провідна роль належить порушенням ліпідного обміну та білкового обміну. Важливим чинником є якісний склад жиру, що надходить до організму, та склад їжі. Етерифікація холестерину ненасиченими жирними кислотами (лінолевою, ліноленовою, арахідоною), які містяться в оліях або риб'ячому жирі, спричиняє появу важкорозчинних холестерин-естерів, які легко випадають з розчину крові. Останнім часом у розвитку атеросклерозу важливе значення надають зміні співвідношення у крові різноманітних компонентів системи так званих ліпопротеїдів (жиро-білкові комплекси, які складаються переважно з холестерину-білкових мас, тобто жирових речовин, зв'язаних з білками). Саме утворені жиро-білкові комплекси, які виникають та відкладаються в інтимі судин, на ранніх стадіях хвороби можна побачити за допомогою світлової мікроскопії. Відкладення в інтимі аорти і великих артерій видно у вигляді плям і смуг.

Атеросклероз судин головного мозку (інша назва церебральний атеросклероз) - патологічний процес, що характеризується відкладенням бляшок (які називаються атеросклеротичні бляшки) на стінках великих судин головного мозку, з подальшим їх розростанням і заміщенням сполучною тканиною. Відбувається поступове звуження просвіту судин головного мозку і формування недостатності кровопостачання. Найчастіше відбувається ураження внутрішньої і зовнішньої сонних артерій. Причина цього стану криється в порушенні ліпідного обміну та білкового обміну. Атеросклеротичні бляшки виявляються вже у молодих людей у віці 20 років, але найбільша поширеність захворювання відзначають у осіб в зрілому віці - 50 та більше років, причому частіше у чоловіків; ніж у жінок. Висока поширеність цього захворювання серед населення асоціює його навіть з одним з проявів старіння організму.

Клінічні ознаки захворювання проявляються не відразу. Це відбувається через довгий час після того, як почав відкладатися холестерин. Симптоми з'являються після звуження просвіту артерій і капілярів головного мозку настільки, що до органів стало надходити на 15 % і більше менше крові.

Симптоматика атеросклерозу судин головного мозку має певні симптоми, пов'язані із скаргами пацієнтів, які при сильному прояві значно знижують якість життя людини: проблеми з сном: безсоння, тривожні сновидіння, важкий підйом і проблеми з повторними засипаннями; зниження чутливості тіла; головні болі; що часто повторюються; зміна ходи і порушення координації; проблеми із зором, шум у вухах; емоційні зміни - поява дратівливості, депресії, плаксивості, почуття тривоги; приливи жару і пітливість обличчя; швидка стомлюваність,

постійна слабкість і неуважність; тремтіння підборіддя і кінцівок; проблеми або порушення пам'яті, проблеми з короткостроковою пам'яттю.

Лікування при такому захворюванні спрямоване на те, щоб відновилися обмінні процеси, а шкідливий холестерин більше не осідав на стінках судин. При цьому також приділяється увага тому, щоб відновити кровообіг і нормалізувати живлення тканин головного мозку. Лікування є комплексним, і включає коригування способу життя та медикаментозну терапію. Коригування способу життя включає: вибір дієти із обмеженням надходження ліпідів до організму, відмова від шкідливих звичок, збільшення фізичної активності, уникнення стресів та зниження рівня психоемоційного навантаження. Спрямованість медикаментозної терапії полягає у використанні гіполіпідемічних засобів, антитромбоцитарних, гіпотензивних і антиоксидантних препаратів, засобів для поліпшення мікроциркуляції, і симптоматичної терапії. Медикаментозна терапія, як правило, здійснюється дуже тривало і залежить від стадії захворювання.

У публікації із назвою "Церебральный атеросклероз" на веб-сторінці з адресою <https://diseases.medelement.com/disease/церебральный-атеросклероз/12935> описано, що для лікування атеросклерозу судин головного мозку використовують комплексну терапію, що включає застосування лікарських засоби на основі статинів - ловастатину (добова доза від 20 до 80 мг), правастатину (добова доза від 20 до 80 мг), та застосування антиагрегантів, наприклад ацетилсаліцилової кислоти (добова доза від 50 до 100 мг).

Ішемія - це тимчасова дисфункція або стійке ушкодження тканини органу або всього органу внаслідок місцевого зниження кровопостачання, яке обумовлене судинним чинником (звуженням або повною obturaцією просвіту артерії). Наслідки ішемії залежать від міри і швидкості зниження параметрів кровотоку, тривалості ішемії, чутливості тканин до гіпоксії, загального стану організму. Найчутливішими до ішемії є органи центральної нервової системи і міокард, тканина нирок. Ішемія відрізняється від гіпоксії, яка є станом кисневого голодування тканини органу внаслідок порушень зовнішнього і внутрішнього (тканинного, клітинного) дихання. Ішемія характеризується відносною або абсолютною недостатністю кровопостачання, що проявляється як локальною тканинною гіпоксією, так і порушеннями метаболізму внаслідок недостатнього надходження поживних речовин. Ішемія є динамічним, і, як правило, потенційно оборотним процесом. Вірогідність ішемічного некрозу (інфаркту) тканини органу безпосередньо залежить від тривалості і міри зниження локального кровотоку.

Хронічна ішемія головного мозку - це повільно прогресуюча дисфункція головного мозку, що виникла внаслідок дифузного або дрібно осередкового ушкодження мозкової тканини в умовах тривало існуючої недостатності церебрального кровопостачання. У такому клінічному протоколі як "КЛИНИЧЕСКИЙ ПРОТОКОЛ ДИАГНОСТИКИ И ЛЕЧЕНИЯ ХРОНИЧЕСКАЯ ИШЕМИЯ МОЗГА", рекомендован Экспертным советом РГП на ПХВ "Республиканский центр развития здравоохранения" Министерства здравоохранения и социального развития Республики Казахстан от "30" ноября 2015 года Протоколом № 18, вказано, що для лікування хронічної ішемії головного мозку застосовують комплексну терапію, яка включає введення людині лікарських засобів із таких класів як:

антиагреганти - лікарські засоби, які знижують здатність крові згущуватися і покращують реологічні властивості крові за рахунок відвертання агрегації еритроцитів і тромбоцитів;

антиоксиданти і антигіпоксанти - лікарські засоби, які зв'язують вільні радикали, уповільнюють процеси окислення, підвищують стійкість організму до кисневої недостатності, впливають на внутрішньоклітинні окислювально-відновні процеси побічно, полегшуючи перехід кисню з крові в тканині, покращуючи кровопостачання головного мозку.

У цьому клінічному протоколі описано спосіб лікування, який включає введення людині магнію сульфату та ацетилсаліцилової кислоти для лікування хронічної ішемії головного мозку різного ступеня.

Задачею запропонованої корисної моделі є удосконалення способу лікування гострих порушень мозкового кровообігу, хронічних порушень мозкового кровообігу у людини, розширення арсеналу і асортименту лікарських засобів для лікування гострих порушень мозкового кровообігу, хронічних порушень мозкового кровообігу у людини, підвищення ефективності лікування гострих порушень мозкового кровообігу, хронічних порушень мозкового кровообігу у людини.

Задача вирішується тим, що у способі лікування гострих порушень мозкового кровообігу, хронічних порушень мозкового кровообігу у людини, яка страждає гострими порушеннями мозкового кровообігу, хронічними порушеннями мозкового кровообігу, що включає введення згаданій людині фармацевтичної композиції, яка має таку лікарську форму як оральний розчин, згідно з корисною моделлю, вводять фармацевтичну композицію, яка містить як активні компоненти аргініну аспартат та левокарнітин, фармацевтична композиція містить такі

допоміжні компоненти, як коригент рН, який є підкислювачем, підсолоджувач, консервант та воду, при наступному співвідношенні компонентів, у мг/мл:

аргініну аспартат	180-320
левокарнітин	50-150
коригент рН, який є підкислювачем	1,5-6,0
підсолоджувач	0,4-1,2
консервант	0,5-2,0
вода	до 1, мл,

причому фармацевтичну композицію вводять у кількості, що є ефективною для лікування гострих порушень мозкового кровообігу, хронічних порушень мозкового кровообігу.

- 5 Крім цього, вводять фармацевтичну композицію, яка містить аргініну аспартат, левокарнітин, коригент рН, який є підкислювачем, підсолоджувач, консервант, воду, при наступному співвідношенні компонентів, у мг/мл:

аргініну аспартат	240-300
левокарнітин	80-120
коригент рН, який є підкислювачем	2,5-4,5
підсолоджувач	0,6-1,0
консервант	1,0-1,5
вода	до 1. мл.

Вводять фармацевтичну композицію, яка містить аргініну аспартат, левокарнітин, коригент рН, який є підкислювачем, підсолоджувач, консервант, воду, при наступному співвідношенні компонентів, у мг/мл:

аргініну аспартат	264
левокарнітин	100
коригент рН, який є підкислювачем	3,5
підсолоджувач	0,8
консервант	1,25
вода	до 1. мл.

Фармацевтична композиція може містити як коригент рН, який є підкислювачем, яблучну кислоту.

Фармацевтична композиція може містити як підсолоджувач сахаринат натрію.

- 15 Фармацевтична композиція може містити як консервант метилпарагідроксибензоат або пропілпарагідроксибензоат або суміш метилпарагідроксибензоату та пропілпарагідроксибензоату.

Фармацевтична композиція може містити як воду - воду для ін'єкцій.

Фармацевтична композиція може мати щільність 1,1 г/мл, рН розчину 5-6,5, динамічну в'язкість при 20 °С 2,5 сП.

- 20 Введення фармацевтичної композиції здійснюють у складі комплексної терапії гострих порушень мозкового кровообігу, хронічних порушень мозкового кровообігу.

Фармацевтичну композицію можуть вводити у кількості, що є добовою дозою 20-40 мл...

- 25 Такий компонент як підсолоджувач коригує смакові властивості фармацевтичної композиції - завдяки наявності у складі фармацевтичної композиції певного співвідношення яблучної кислоти та підсолоджувача досягається приємний для переважної більшості людей смак. Переважним варіантом є застосування як підсолоджувача такої речовини як сахаринат натрію (інша назва - сахарин натрію), який приблизно у 500 разів солодший за цукор.

Такий компонент як консервант надає розчину фармацевтичної композиції стабільності. Як консервант може бути використаний метилпарагідроксибензоат та/або

- 30 пропілпарагідроксибензоат.

Вміст допоміжних речовин підібраний з урахуванням задачі досягнення великої концентрації активних компонентів та задачі досягнення стабільності розчину.

Аргінін у фармацевтиці часто застосовують у формі такої солі як аргінін аспартат, надалі у тексті під терміном "аргінін" буде розумітись саме така форма аргініну як аргініну аспартат.

- 35 Фармацевтична композиція у запропонованому способі є прозорим розчином, лікарська форма для застосування - оральний розчин. Спосіб виготовлення фармацевтичної композиції наведений у прикладах 1-20.

Приклад 1

Фармацевтичну композицію виготовляють шляхом змішування у воді інших компонентів фармацевтичної композиції.

У реактор з нержавіючої сталі наливають 180 літрів нагрітої до 80 °С води для ін'єкцій. У реактор завантажують 0,08 кг метилпарагідроксибензоату і 0,02 кг пропілпарагідроксибензоату, та перемішують до повного розчинення. Потім рідину у реакторі охоложують до температури 40 °С. Потім у реактор додають 36 кг аргініну аспартату та інтенсивно перемішують протягом певного часу до отримання прозорого розчину. Потім в реактор завантажують 10 кг левокарнітину і інтенсивно перемішують протягом певного часу до отримання прозорого розчину. Потім в реактор завантажують 0,3 кг яблучної кислоти та перемішують до повного розчинення. Потім у реактор завантажують 0,08 кг сахаринату натрію і перемішують до розчинення компонентів та отримання прозорого розчину. Потім у реактор додають воду для ін'єкцій, доводячи об'єм розчину до 200 літрів. Отриманий розчин охолоджують, насичують азотом до залишкової кількості кисню не більше 300 ppm, після чого розчин фільтрують через мембранний фільтр. Після фільтрації розчин розливають в скляні або полімерні контейнери (пляшки).

#### Приклад 2

Фармацевтичну композицію виготовляють аналогічно до способу, описаного у прикладі 1, при цьому завантажують воду для ін'єкцій температурою 75 °С, аргінін аспартат у кількості 36 кг та левокарнітин у кількості 15 кг, яблучну кислоту у кількості 0,6 кг, сахаринат натрію у кількості 0,13 кг, метилпарагідроксибензоат у кількості 0,1 кг та пропілпарагідроксибензоат у кількості 0,1 кг.

#### Приклад 3

Фармацевтичну композицію виготовляють аналогічно до способу, описаного у прикладі 1, при цьому завантажують воду для ін'єкцій температурою 80 °С, аргінін аспартат у кількості 36 кг та левокарнітин у кількості 25 кг, яблучну кислоту у кількості 0,9 кг, сахаринат натрію у кількості 0,18 кг, пропілпарагідроксибензоат у кількості 0,3 кг.

#### Приклад 4

Фармацевтичну композицію виготовляють аналогічно до способу, описаного у прикладі 1, при цьому завантажують воду для ін'єкцій температурою 75 °С, аргінін аспартат у кількості 36 кг та левокарнітин у кількості 30 кг, яблучну кислоту у кількості 1,2 кг, сахаринат натрію у кількості 0,24 кг, метилпарагідроксибензоат у кількості 0,1 кг та пропілпарагідроксибензоат у кількості 0,3 кг.

#### Приклад 5

Фармацевтичну композицію виготовляють аналогічно до способу, описаного у прикладі 1, при цьому завантажують воду для ін'єкцій температурою 75 °С, аргінін аспартат у кількості 44 кг та левокарнітин у кількості 10 кг, яблучну кислоту у кількості 0,4 кг, сахаринат натрію у кількості 0,09 кг, метилпарагідроксибензоат у кількості 0,1 кг.

#### Приклад 6

Фармацевтичну композицію виготовляють аналогічно до способу, описаного у прикладі 1, при цьому завантажують воду для ін'єкцій температурою 80 °С, аргінін аспартат у кількості 44 кг та левокарнітин у кількості 15 кг, яблучну кислоту у кількості 0,7 кг, сахаринат натрію у кількості 0,12 кг, пропілпарагідроксибензоат у кількості 0,2 кг.

#### Приклад 7

Фармацевтичну композицію виготовляють аналогічно до способу, описаного у прикладі 1, при цьому завантажують воду для ін'єкцій температурою 75 °С, аргінін аспартат у кількості 44 кг та левокарнітин у кількості 25 кг, яблучну кислоту у кількості 0,9 кг, сахаринат натрію у кількості 0,17 кг, метилпарагідроксибензоат у кількості 0,3 кг.

#### Приклад 8

Фармацевтичну композицію виготовляють аналогічно до способу, описаного у прикладі 1, при цьому завантажують воду для ін'єкцій температурою 75 °С, аргінін аспартат у кількості 44 кг та левокарнітин у кількості 30 кг, яблучну кислоту у кількості 1,2 кг, сахаринат натрію у кількості 0,24 кг, метилпарагідроксибензоат у кількості 0,3 кг та пропілпарагідроксибензоат у кількості 0,1 кг.

#### Приклад 9

Фармацевтичну композицію виготовляють аналогічно до способу, описаного у прикладі 1, при цьому завантажують воду для ін'єкцій температурою 80 °С, аргінін аспартат у кількості 53 кг та левокарнітин у кількості 10 кг, яблучну кислоту у кількості 0,5 кг, сахаринат натрію у кількості 0,1 кг, пропілпарагідроксибензоат у кількості 0,1 кг.

#### Приклад 10

Фармацевтичну композицію виготовляють аналогічно до способу, описаного у прикладі 1, при цьому завантажують воду для ін'єкцій температурою 80 °С, аргінін аспартат у кількості 53 кг та левокарнітин у кількості 15 кг, яблучну кислоту у кількості 0,7 кг, сахаринат натрію у кількості 0,14 кг, метилпарагідроксибензоат у кількості 0,2 кг.

5      Приклад 11

Фармацевтичну композицію виготовляють аналогічно до способу, описаного у прикладі 1, при цьому завантажують воду для ін'єкцій температурою 75 °С, аргінін аспартат у кількості 53 кг та левокарнітин у кількості 25 кг, яблучну кислоту у кількості 1,0 кг, сахаринат натрію у кількості 0,19 кг, пропілпарагідроксибензоат у кількості 0,3 кг.

10     Приклад 12

Фармацевтичну композицію виготовляють аналогічно до способу, описаного у прикладі 1, при цьому завантажують воду для ін'єкцій температурою 80 °С, аргінін аспартат у кількості 53 кг та левокарнітин у кількості 30 кг, яблучну кислоту у кількості 1,2 кг, сахаринат натрію у кількості 0,24 кг, метилпарагідроксибензоат у кількості 0,4 кг.

15     Приклад 13

Фармацевтичну композицію виготовляють аналогічно до способу, описаного у прикладі 1, при цьому завантажують воду для ін'єкцій температурою 75 °С, аргінін аспартат у кількості 58 кг та левокарнітин у кількості 10 кг, яблучну кислоту у кількості 0,6 кг, сахаринат натрію у кількості 0,12 кг, пропілпарагідроксибензоат у кількості 0,1 кг.

20     Приклад 14

Фармацевтичну композицію виготовляють аналогічно до способу, описаного у прикладі 1, при цьому завантажують воду для ін'єкцій температурою 80 °С, аргінін аспартат у кількості 58 кг та левокарнітин у кількості 15 кг, яблучну кислоту у кількості 0,8 кг, сахаринат натрію у кількості 0,16 кг, метилпарагідроксибензоат у кількості 0,2 кг.

25     Приклад 15

Фармацевтичну композицію виготовляють аналогічно до способу, описаного у прикладі 1, при цьому завантажують воду для ін'єкцій температурою 80 °С, аргінін аспартат у кількості 58 кг та левокарнітин у кількості 25 кг, яблучну кислоту у кількості 1,0 кг, сахаринат натрію у кількості 0,20 кг, пропілпарагідроксибензоат у кількості 0,3 кг.

30     Приклад 16

Фармацевтичну композицію виготовляють аналогічно до способу, описаного у прикладі 1, при цьому завантажують воду температурою 80 °С, аргінін аспартат у кількості 58 кг та левокарнітин у кількості 30 кг, яблучну кислоту у кількості 1,2 кг, сахаринат натрію у кількості 0,24 кг, метилпарагідроксибензоат у кількості 0,4 кг.

35     Приклад 17

Фармацевтичну композицію виготовляють аналогічно до способу, описаного у прикладі 1, при цьому завантажують воду для ін'єкцій температурою 80 °С, аргінін аспартат у кількості 64 кг та левокарнітин у кількості 10 кг, яблучну кислоту у кількості 0,7 кг, сахаринат натрію у кількості 0,14 кг, пропілпарагідроксибензоат у кількості 0,1 кг.

40     Приклад 18

Фармацевтичну композицію виготовляють аналогічно до способу, описаного у прикладі 1, при цьому завантажують воду для ін'єкцій температурою 80 °С, аргінін аспартат у кількості 64 кг та левокарнітин у кількості 15 кг, яблучну кислоту у кількості 0,9 кг, сахаринат натрію у кількості 0,18 кг, метилпарагідроксибензоат у кількості 0,2 кг.

45     Приклад 19

Фармацевтичну композицію виготовляють аналогічно до способу, описаного у прикладі 1, при цьому завантажують воду для ін'єкцій температурою 80 °С, аргінін аспартат у кількості 64 кг та левокарнітин у кількості 25 кг, яблучну кислоту у кількості 1,1 кг, сахаринат натрію у кількості 0,22 кг, пропілпарагідроксибензоат у кількості 0,3 кг.

50     Приклад 20

Фармацевтичну композицію виготовляють аналогічно до способу, описаного у прикладі 1, при цьому завантажують воду для ін'єкцій температурою 80 °С, аргінін аспартат у кількості 64 кг та левокарнітин у кількості 30 кг, яблучну кислоту у кількості 1,2 кг, сахаринат натрію у кількості 0,24 кг, метилпарагідроксибензоат у кількості 0,4 кг.

55     Виготовлення запропонованої фармацевтичної композиції можливо також іншими способами.

Для вивчення фармацевтичного ефекту від застосування запропонованої фармацевтичної композиції було проведено низку досліджень.

60     Для вивчення таких властивостей як токсичність та терапевтичний ефект при лікуванні різних захворювань, було проведено низку доклінічних та клінічних досліджень. Далі у тексті

надано дизайн проведених досліджень та результати проведених досліджень. Фармацевтична композиція, надалі у тексті буде скорочено називатись ФК.

Для вивчення токсичності ФК було проведено наступне дослідження.

5 Задачею дослідження було вивчення параметрів гострої токсичності ФК, розчину для орального застосування, при внутрішньошлунковому введенні щурам обох статей (самцям, самицям).

У задачу дослідження входило:

- визначення класу гострої токсичності ФК на щурах обох статей при внутрішньошлунковому введенні;

10 - визначення класу гострої токсичності сухої суміші субстанцій ФК на щурах обох статей при внутрішньошлунковому введенні.

При виявленні летальності розрахувати LD<sub>50</sub> ФК, сухої суміші субстанцій.

Методи дослідження: токсикологічні, лабораторні, патоморфологічні і статистичні.

15 Об'єктом дослідження були: ФК, розчин для орального застосування; плацебо(розчинник); суха суміш субстанцій;

Дослідження проведене відповідно до Методичних рекомендацій по експериментальному (доклінічному) вивченню нових лікарських засобів (2001 р.), Наказом № 944 Державні Експертні центри МЗ України, і відповідає вимогам Good Laboratory Practice(GLP) - Належної лабораторної практики(НЛП).

20 Тестовані об'єкти:

1) ФК, розчин для орального застосування. Склад: діючі речовини левокарнітин, L-аргініну аспартат. 1 мл розчину містить 100 мг левокарнітину і 264 мг аргініну аспартату. Допоміжні речовини - кислота яблучна, сахаринат натрію, метилпарагідроксибензоат (E218), пропілпарагідроксибензоат (E216), вода для ін'єкцій.

25 2) Плацебо (розчинник). Склад: кислота яблучна, сахаринат натрію, метилпарагідроксибензоат (E218), пропілпарагідроксибензоат (E216), вода для ін'єкцій.

3) Суха суміш субстанцій ФК, розчину для орального застосування. Склад суміші: на 368,8 г, що відповідає 1000 мл ФК у вигляді розчину для орального застосування: діючі речовини: левокарнітин - 100 г, аргініну аспартат - 264 г; допоміжні речовини: кислота яблучна - 3,0 г, сахаринат натрію - 0,8 г, метилпарагідроксибензоат (E218) - 0,8 г, пропілпарагідроксибензоат (E216) - 0,2 г.

Акліматизація і утримання тварин.

35 Тривалість акліматизаційного періоду для тварин склала 14 днів. Впродовж цього періоду проводили щоденний огляд кожної тварини (загальний стан, захворюваність). Перед початком дослідження тварини, що відповідають критеріям включення в дослідження, були розподілені по групах за допомогою методу рандомізації по масі. Тварини, які не відповідали критеріям включення в дослідження, - були виключені з експерименту.

40 Тварин містили в окремій кімнаті з контрольованими параметрами мікроклімату: температура повітря +20-24, вологість 45-65 %, світловий режим "12 годин день/ніч", в стандартних пластикових клітинах по 6 голів в кожній. Відхід за тваринами проводився відповідно до Науково-методичних рекомендацій з утримання лабораторних тварин та роботи з ними / Ю.М. Кожемякін, О.С. Хромов, М.А. Філоненко, Г.А. Сайфетдінова. - К.: Авіцена, 2002. - 156 с.

45 Тварини мали вільний доступ до води. Для питва використали відстояну водопровідну воду із скляних напувалок. Як корми використали гранульований повнораціонний комбікорм ТМ "ГОРА" (відповідає ТУ.У15.7-2123600159-001: 2007).

З тваринами поводилися відповідно до правил "Європейської конвенції по захисту хребетних тварин, використовуваних для експериментальних і наукових цілей".

Спостереження за тваринами

50 Впродовж дослідження кожна тварина піддавалася щоденному огляду, який включав оцінку загальної поведінки і стану тварин. Патологічні утворення, що зорово виявляються, підлягали пальпації.

55 Досліди по вивченню гострої токсичності проводили на нелінійних безпородних білих щурах обох статей масою тіла 200±20 г, вік тварин - 13-15 тижнів. Всього в експерименті використані 210 щурів. Усіх тварин поділили на групи по 12 особин (6 самців, 6 самиць). Кожній тварині був присвоєний індивідуальний номер. До початку експерименту тварин нумерували наскрізною нумерацією від 1 до 210. Групи були сформовані методом випадкового відбору з використанням маси тіла як провідної ознаки (розкид по початковій масі між і усередині груп не перевищував 10 %). Дизайн дослідження представлений в таблиці 1.

60



Таблиця 1

№ з/п	Групи тварин	Доза ТЗ	Кількість робочого розчину, мл/кг	Кількість тварин в групі	
				самці	самиці
Вивчення гострої токсичності ФК					
1.	Інтактний контроль	-	-	6	6
2.	Негативний контроль(розчинник)	40 мл/кг	-	6	6
3.	Тест-зразок (ФК)	40 мл/кг	-	6	6
Вивчення гострої токсичності сухої суміші субстанцій ФК					
4.	Тест-зразок	15000	100	6	6
5.	(суха суміш субстанцій, які входять до складу ФК), мг/кг	20000	100	6	6
6.		30000	100	6	6
7.		35000	100	-	6
8.		40000	100	6	6
9.		50000	100	6	6
10.		60000	100	6	6
Вивчення гострої токсичності окремих субстанцій діючих речовин ФК					
11.	Субстанція Левокарнітину, мг/кг	14000	20	6	6
12.		18000	20	6	6
13.		20000	20	6	6
14.		22000	20	6	6
15.	Субстанція L-аргініну аспартату, мг/кг	25000	20	6	6
16.		30000	20	6	6
17.		32500	20	6	6
18.		35000	20	6	6

Тваринам дослідних груп зразки вводили в об'ємі по 2 мл / 100 г маси за одне введення і через 2 години між введеннями. Відразу після введення за тваринами спостерігали за проявами інтоксикації (у разі їх виникнення). Реєстрували характер дихання, рухової активності, наявність/відсутність судом, блювоти, діареї, офтальмологічні, серцево-судинні симптоми, саливацію, пілоерекцію, тонус м'язів. До їди тварин допускали через 2 години після останнього введення тестового зразка (далі скорочено ТЗ), до води доступ був вільний.

Спостереження за тваринами вели впродовж 14 діб. Перед початком досліду і на 3, 7 і 14 діб реєстрували масу тіла тварин. На підставі відсотка загибелі тварин в кожній групі залежно від дози, що вводиться, розраховували середні летальні дози LD<sub>50</sub> за допомогою методу Кербера (Доклінічні дослідження лікарських засобів (методичні рекомендації) / За ред. Стефанова О.В. - вид. дім "Авіцена", 2001. - 527 с.).

На 14-й день усіх тварин, які вижили, виводили з експерименту під інгаляційним наркозом. При розтині тварин проводили макроскопічну оцінку стану внутрішніх органів. Визначали абсолютну масу серця, печінки, селезінки, легенів, нирок, надниркових залоз, насінників і тимусу. Коефіцієнт маси (КМ) - відносну масу органів, розраховували за формулою:

$$KM_{\text{органа}} = \frac{M_{\text{тварини}}}{M_{\text{тварини}}} \times 100\%$$

Досліджена гістологічна структура печінки, нирок, легенів, міокарда, тимусу, селезінки, надниркових залоз, підшлункової залози, стравоходу, шлунка, тонкої і прямої кишки, яєчок, яєчників щурів через 14 днів після внутрішньошлункового введення розчину ФК в дозі 40 мл/кг порівняно з гістологічною структурою аналогічних органів щурів, яким вводили плацебо (розчинник) в дозі 40 мл/кг (негативний контроль), і інтактними тваринами.

Отримані при розтині зразки органів фіксували в 10 % розчині формаліну, зневоднювали в спиртах зростаючої фортеці, заливали в парафін. Зрізи забарвлювали гематоксиліном і еозином. Перегляд мікропрепаратів проводили під мікроскопом Granum. Фотографування мікроскопічних зображень здійснювали цифровою відеокамерою Granum ДСМ 310. Фотознімки обробляли на комп'ютері Pentium 2,4GHz з потужністю програми Tour View.

Отримані первинні дані оброблені за допомогою загальноприйнятих методів варіаційної статистики з використанням параметричних критеріїв порівняння кількісних показників (дисперсійний аналіз ANOVA, критерій Ньюмена-Кейлса) і непараметричних критеріїв (метод Крускала-Волліса, критерій Манна-Уїтні), для порівняння якісних змінних використали критерій

χ<sup>2</sup> [4, 5]. Перед використанням параметричних критеріїв проводилася перевірка гіпотези на нормальність розподілу випадкових величин з використанням тесту Левен).

Для множинних порівнянь був прийнятий рівень значущості  $p < 0,050$ . При застосуванні непараметричних методів порівняння використали поправку Бонферроні, відповідно до якої рівень значущості склав  $p < 0,0250$ . Для проведення математичних розрахунків використали стандартний пакет статистичних програм "Statistica 6.0".

Вплив ФК на виживаність білих щурів.

ФК, розчин для орального застосування, і плацебо (розчинник) вводили внутрішньошлунково двократно по 2 мл/ 100 г тварині протягом одного дня з інтервалом 2 години. В сумі об'єм ТЗ, що вводяться, склав 40 мл/кг. Через 20-30 хвилин після першого введення ТЗу тварин спостерігали зниження рухової активності, що, очевидно пов'язано з великим об'ємом введених розчинів. Ці ознаки зникали через 1 годину, і надалі стан тварин не відрізнявся від стану тварин в групі ІК. Повторне введення розчинів тваринам також викликало аналогічні ознаки, які зникали через 1 годину.

Подальші спостереження впродовж 14 днів свідчили про те, що усі тварини були активними, мали задовільний апетит, нормально реагували на звукові і світлові подразники, процеси сечовипускання і дефекації були в нормі. Були відсутні ознаки порушення дихання, судом не спостерігали.

За увесь період спостереження ні в одній з експериментальних груп не відмічали загибелі тварин, результати дослідження летальності після внутрішньошлункового введення ТЕ щурам обох статей наведено у таблиці 2.

Таблиця 2

Групи тварин	Доза, мл/кг ваги	Летальний ефект, кількість загиблих тварин/загальна кількість тварин в групі	
		самці	Самиці
Інтактний контроль	-	0/6	0/6
Негативний контроль (розчинник)	40	0/6	0/6
Розчин ФК	40	0/6	0/6

Відповідно до методичних рекомендацій, важливим показником є маса тіла тварин, зміна якої характеризує вираженість токсичної дії ЛС. Відповідно до отриманих даних в усіх дослідних групах спостерігалася позитивна динаміка маси тіла, результати впливу ТЗ на динаміку маси (г) тіла щурів,  $n=6(M \pm m)$  наведено у таблиці 3. Приріст маси не відрізнявся від приросту в групі ГИК як у самців, так і у самиць щурів.

Таблиця 3

Термін	pANOVA	Інтактний контроль	Негативний контроль (розчинник), 40 мл/кг	Розчин ФК, 40 мл/кг
Самці				
pANOVA		0,0047	0,0007	0,1899
Початковий	0,9770	201±6	199±6	200±6
3 день	0,6916	208±7 P1N <sup>K</sup> =0,4608	201±5 P1N <sup>K</sup> =0,8108	202±6 P1N <sup>K</sup> =0,8707
7 день	0,8723	217±7 P1N <sup>K</sup> =0,1996	213±4 P1N <sup>K</sup> =0,1532	213±8 P1N <sup>K</sup> =0,4458
14 день	0,2314	236±6 P1N <sup>K</sup> =0,0042	230±5 P1N <sup>K</sup> =0,0013	220±8 P1N <sup>K</sup> =0,2285
Самиці				
pANOVA		0,0506	0,9418	0,0471
Початковий	0,9418	190±5	192±6	193±5
3 день	0,7859	198±6 p1NK=0,4470	193±5 p1N <sup>K</sup> =0,9929	198±6 p1N <sup>K</sup> =0,5916
7 день	0,1290	203±6 p1NK=0,3701	193±4 p1NK=0,9101	208±5 p1N <sup>K</sup> =0,2200
14 день	0,1072	218±10 p1NK=0,0381	196±6 p1NK=0,9392	218±8 p1N <sup>K</sup> =0,0482

Примітка:

1. рANOVA - рівень статистичної значущості між експериментальними групами або в кожній експериментальній групі (один факторний дисперсійний аналіз ANOVA)

5 2. р1N-K - рівень статистичної значущості відносно результату (критерій Ньюмена-Кейлса)

3. n - кількість тварин в кожній групі.

10 Аналіз показників коефіцієнтів маси внутрішніх органів тварин свідчить про відсутність токсичного впливу розчину ФК і плацебо при гострому передозуванні. Коефіцієнти маси внутрішніх органів знаходяться в межах фізіологічної норми і не відрізняються статистично значимо від показників тварин з групи ІК. Результати впливу ТЗ на коефіцієнти маси (%) внутрішніх органів щурів самців, n=6, M(Mmin÷Mmax) наведено у таблиці 4. Результати впливу ТЗ на коефіцієнти маси (%) внутрішніх органів щурів самиць, n=6, M(Mmin÷Mmax) наведено у таблиці 5.

Таблиця 4

Показники	рK-U	Інтактний контроль	Негативний контроль (розчинник), 40 мл/кг	Розчин ФК, 40 мл/кг
Печінка	0,7508	3,57 (3,18^3,84)	3,46 (2,84+3,45)	3,48 (2,97+3,87)
Нирки	0,7508	0,60 (0,53^0,65)	0,61 (0,63+0,70)	0,62 (0,50+0,66)
Серце	0,3722	0,31 (0,27^0,34)	0,31 (0,35+0,37)	0,34(0,33+0,40)
Легені	0,2359	0,55 (0,45^0,63)	0,79 (0,63+1,02)	0,74 (0,57+1,05)
Селезінка	0,7777	0,42 (0,31+0,61)	0,43 (0,35+0,56)	0,43 (0,31^0,55)
Надниркові залози	0,5034	0,022 (0,016+0,027)	0,020 (0,013+0,027)	0,023 (0,016^0,031)
Тимус	0,5225	0,133 (0,069+0,238)	0,103 (0,068+0,167)	0,111 (0,079^0,144)
Насінники	0,1190	1,05 (0,94+1,31)	1,13 (0,92+1,38)	1,17 (1,05^1,32)

Примітка:

1. рK-U - рівень статистичної значущості між експериментальними групами (критерій Крускала-Волліса);

2. n - кількість тварин в кожній групі.

Таблиця 5

Показники	рK-U	Інтактний контроль	Негативний контроль (розчинник), 40 мл/кг	Розчин ФК, 40 мл/кг
Печінка	0,2501	3,43 (3,08: 3,92)	3,20 (2,84:3,45)	3,48 (2,97-3,87)
Нирки	0,0387	0,62 (0,52:0,67)	0,67 (0,63^0,70) p2M-U=0,0931	0,60 (0,50-0,66) p2M-U=0,4849
Серце	0,1979	0,34 (0,35^0,37)	0,36 (0,35^0,37)	0,36 (0,32-0,40)
Легені	0,6758	0,78 (0,58^0,86)	0,79 (0,63-1,02)	0,74 (0,57-1,05)
Селезінка	0,7378	0,49 (0,37^0,66)	0,46 (0,31-0,55)	0,44 (0,33-0,57)
Надниркові залози	0,9308	0,036 (0,020:0,044)	0,034 (0,021-0,047)	0,036 (0,028^0,046)
Тимус	0,9942	0,137 (0,096^0,195)	0,128 (0,071-0,160)	0,129 (0,053^0,202)

Примітка:

1. рK-U - рівень статистичної значущості між експериментальними групами (критерій Крускала-Волліса);

2. р2M-U - рівень статистичної значущості відносно групи ГИК (критерій Крускала-Волліса);

3. n - кількість тварин в кожній групі.

Результати макроскопічного дослідження.

У тварин дослідних груп (№ 1-3) стан шерстного покриву, слизових оболонок природних отворів не відрізнялося від таких щурів інтактної групи і групи тварин, яким вводили плацебо.

30 Фекальні маси сформовані, анус і вхід в піхви не забруднені, яєчка розміщені в мошонці, рухливі. При розтині в усіх щурів розміщення органів середостіння, грудної і черевної порожнини відповідає нормальному. Тимус дещо варіює за розміром, сіро-рожевого кольору.

Серце звичайної конфігурації і розміру, з типовим розташуванням коронарних артерій і вен. Поверхня епікарда без особливостей, міокард на розрізі щільний. Легені виконують усю плевральну порожнину, блідно-рожеві, повітряні, без спайок між листками плеври. Загрудинні лімфовузли не збільшені. Черевина прозора, гладка. У черевній порожнині стороннього вмісту не знайдено. Печінка рівномірного червоно-коричневого кольору, капсула не напружена, краї доль не закруглені. Поверхня органу гладка. Підшлункова залоза без ознак крововиливів, склерозу, жирових некрозів, блідо-рожевувато-жовтуватого кольору, у вигляді рихлого тяжа, що слабо галузиться, розсіяна упродовж шлунково-селезінкової зв'язки. Селезінка повнокровна, червоно-вишневого кольору.

Капсула нирок легко знімається, на розрізі органу чітко видно щільні, зі збереженням малюнком шари. Надниркові залози без особливостей. Заочеревні лімфовузли не збільшені. Слизова оболонка залізного відділу шлунка з характерним рельєфом складок, нормального кольору, без геморагій, набряку, ерозійних ушкоджень. Слизова оболонка тонкого і товстого кишечнику звичайна за кольором, вміст відповідає відділам. Яєчка, придатки яєчок, передміхурова залоза, насінні бульбашки у самців щурів, роги матки і яєчники у самиць щурів без патології. Сечовий міхур невеликий, стінка його тонка.

Патоморфологічне дослідження внутрішніх органів щурів

При гістологічному дослідженні встановлено, що печінка щурів через 14 днів після введення розчину ФК і плацебо (розчинника) в дозі 40 мл/кг не відрізнялися по структурі від печінки інтактних тварин.

Межа між печінковими часточками змащена, зони порталних трактів(тріад) вузькі, радіальна спрямованість тяжів гепатоцитів збережена.

Ознак, характерних для функціональної напруги, активації або пригноблення гепатоцитів - змін розмірів і локалізації ядер, чисельності ядерців в ядрі, стану хроматинової субстанції не виявлено. Популяція двоядерних гепатоцитів, стан мікроциркуляторного русла візуально не змінені, не відмічено підвищення апоптозу, мітотичної активності, активації клітин Купфера.

Нирки. За станом ниркових клубочків і системи звитих і прямих каналців у дослідних і контрольних щурів були порівнянні. Ниркові клубочки помірно варіювали за розміром, щільність розташування їх звичайна. Просвіт капсули вільний, ядерна насиченість гломерулярних капілярів, чіткість малюнка капілярної мережі помірна. Епітелій проксимальної і дистальної частини каналців нефронів без змін, рівень розпушеності апікальних відділів клітин порівнянний. Канальці мозкового шару звичайного виду.

Міокард зберігав звичайну гістологічну структуру. Серцево-м'язові волокна рівномірно забарвлені, досить щільно розташовані. У кардіоміоцитах поперечно покреслені міофібрили, що займають усю вільну від ядра саркоплазму, виражено помірно. Ядра довгасто-округлої форми, нормохромні. Міжпучкові простори невеликі. Судини венозного типу часто повнокровні, стромальна клітинна реакція не видима.

У респіраторному відділі легких дослідних і контрольних щурів альвеолярний малюнок паренхіми чіткий. Ознак альвеолярного набряку, збільшення клітинної насиченості міжальвеолярних перегородок не відмічено. Лімфоцитарна реакція в стромі альвеолярного дерева у всіх щурів в межах норми. Епітелій бронхів і бронхіол інтактний.

Гістологічна структура тимусу у дослідних щурів практично не відрізнялася від такої у контрольних тварин. Часточки добре сформовані, щільність розташування лімфоцитів в корі і медулі нормальна. Тимічні тільця дрібні і нечисленні. У багатьох щурів в обох групах відмічали помірний малюнок "зоряного неба".

У селезінці лімфоїдні вузлики звичайні за розміром і чисельністю, в них чітко видно періартеріальна Т-залежна і маргінальна В-залежна зони, гермінативні центри. У червоній пульпі визначалися численні еритроцити і ядерні форми клітин.

Надниркові залози дослідних щурів зберігали властиву їм гістологічну структуру. Ознак змін гістологічних характеристик, що свідчать про зміну продукції мінерало- і глюкокортикоїдів, порівняно з контрольними мікропрепаратами не відмічено. У мозковому шарі функціональний стан нейроендокриноцитів (хромафінних клітин) помірно варіює у фізіологічно нормальних межах, синуси повнокровні.

У підшлунковій залозі чітко помітні екзо- і ендокринна частини.

Екскреторні залізисті клітини ацинусів з характерним двозональним забарвленням цитоплазми, співвідношення якої у дослідних і контрольних щурів співпадає. Острівцевий апарат представлений панкреатичними острівцями різного розміру, рівномірно і досить щільно заповненими інсуліноцитами.

У стравоході усіх досліджених щурів структура багатошарового зроговілого епітелію не порушена, не виявлені ознаки роздратування в стромі слизової оболонки і в підслизовому шарі.

У слизовій оболонці дослідженої області шлунка (зона дна) після введення розчину ФК в дозі 40 мл/кг десквамативні процеси в покривному епітелії відсутні, ямковий епітелій звичайний. Власні залози шлунка прямі, довгі, з типовим розташуванням головних, обкладкових і слизових клітин.

У порожній кишці стан ворсинок слизової оболонки звичайний. Епітеліальні клітини, що вистилають ворсинки і кишкові крипти, не змінені, келихоподібні клітини достатні за чисельністю, знаходяться на різній стадії вироблення секрету.

Слизова оболонка прямої кишки в усіх експериментальних щурів вистилає кубічним одношаровим епітелієм з чіткою кутикулярною облямівкою, значним вкращенням келихоподібних клітин. Ядра епітеліальних клітин розташовані на одному рівні, кишкові крипти помірно глибокі, зона мітозів в них обмежена областю дна. Лімфоїдна клітинна насиченість стромы слизової оболонки помірна.

Насінники в усіх самців на момент дослідження без патологічних змін. Стрічка сперматогенного епітелію досить широка, містить 3-5 рядів статевих клітин, які розташовані правильними концентричними шарами, відповідно із стадіями статевого циклу. Простежені усі етапи сперміогенезу і сперматогенезу. Клітини Сертолі і клітини Лейдига візуально не змінені.

У яєчниках самиць щурів дослідної і контрольних груп чітко були видимі яєчні фолікули різних етапів розвитку, жовті тіла. Видимих на світлооптичному рівні змін в стані і чисельності яєчних фолікулів і жовтих тіл після введення ФК і його плацебо (розчинника) в дозі 40 мл/кг не відмічені.

На підставі отриманих макро- і мікроскопічних даних можна зробити висновок, що внутрішньошлункове введення ФК і плацебо (розчинника) в дозі 40 мл/кг через 14 днів не призводило до помітних змін в гістологічній структурі вивчених внутрішніх органів щурів у порівнянні з інтактним контролем.

Таким чином, отримані результати свідчать про те, що ФК і плацебо (розчинник) при внутрішньошлунковому введенні в дозі 40 мл/кг лабораторним щурам (самцям і самицям) не викликає загибелі, не впливає на фізіологічні процеси тварин. По класифікації токсичності речовин ФК належить до VI класу токсичності відносно безпечних речовин, LD<sub>50</sub> яких більше 15 мл/кг.

Оскільки точне значення LD<sub>50</sub> готової лікарської форми ФК встановити не вдалося, визначення параметрів середньо-смертельної дози проводили за змістом діючих речовин в препараті. Для цього брали ряд доз сухої суміші субстанцій ФК, які вводили тваринам в однаковому об'ємі (100 мл/кг). У зв'язку з великим об'ємом отримані розчини вводили тваринам дробово 5 разів протягом доби в максимально допустимому об'ємі для щурів - за одне введення по 2 мл/ 100 г тварини з перервами між введеннями по 2 години. Через 10-20 хвилин після першого введення досліджуваних доз у тварин спостерігали зниження рухової активності. Друге і третє введення у тварин викликало переповнювання шлунка, фекальні маси м'які, не сформовані, після чого починався пронос і діарея. Четверте і п'яте введення робили посилюючу дію на загальний стан тварин - відкрита форма проносу, діарея, слиз, мокрий і брудний хвіст. Зі збільшенням дози тварини слабшали швидше, спостерігали посилення виражених токсичних ефектів, що у результаті призводило до загибелі тварин. У самців летальність наставала в діапазоні 30 000-60 000 мг/кг, у самиць 40 000-60 000 мг/кг. Смертність у тварин спостерігалася на 1-у добу після введення ФК. Дослідження летальних ефектів сухої суміші субстанцій ФК при внутрішньошлунковому введенні щурам представлені в таблиці 6.

Таблиця 6

№ з/п	Групи тварин	Доза, мг/кг ваги	Розчин, мл/кг ваги	Кількість загиблих тварин/кількість тварин в групі	
				самці	самиці
4.	Суха суміш субстанцій, які входять до складу ФК	15 000	100	0/6	0/6
5.		20 000	100	0/6	0/6
6.		30 000	100	2/6	0/6
7.		35 000	100	-	0/6
8.		40 000	100	5/6	5/6
9.		50 000	100	6/6	6/6
10.		60 000	100	6/6	6/6

Подальше спостереження за тваринами, що вижили, виявило поступове відновлення у тварин усіх фізіологічних процесів - на 3-14 добу тварини були активними, мали задовільний

апетит, нормально реагували на звукові і світлові подразники, процеси сечовипускання і дефекації були в нормі, порушення дихання і судом не спостерігали.

Результати впливу сухої суміші субстанцій ФК на масу тварин представлені в таблицях 7 і 8.

Таблиця 7

Термін	Суха суміш субстанцій ФК, мг/кг ваги					
	15 000	20 000	30 000	40 000	50 000	60 000
Самці						
Ранова	0,2686	0,2326	0,3946	0,2523	-	-
Початковий	196±8	198±7	196±5	193±5	193±7	197±5
3 день	193±4	191±4	185±5	180	-	-
7 день	199±6	194±6	195±10	175	-	-
14 день	214±9	215±13	203±6	210	-	-

5

Примітка:

1. рANOVA - рівень статистичної значущості в кожній експериментальній групі(однфакторний дисперсійний аналіз ANOVA)

2. р1N-K - рівень статистичної значущості відносно результату(критерій Ньюмена-Кейлса)

10

3. n - кількість тварин в кожній групі.

Результати впливу сухої суміші субстанцій ФК на динаміку маси(г) тіла самиць щурів, n=6, M±m наведені в таблиці 8.

Таблиця 8

Термін	Суха суміш субстанцій ФК, мг/кг ваги						
	15 000	20 000	30 000	35 000	40 000	50 000	60 000
рANOVA	0,8629	0,0050	0,3816	0,2465	0,6161	-	-
Початковий	192±4	195±6	196±6	196±8	193±5	193±5	196±6
3 день	188±5	184±5	187±6	191±7	175	-	-
7 день	184±10	196±5	193±6	209±8	190	-	-
14 день	192±9	215±6	203±8	210±8	195	-	-

15

Примітка:

1. рANOVA - рівень статистичної значущості в кожній експериментальній групі (однофакторний дисперсійний аналіз ANOVA)

2. р1N-K - рівень статистичної значущості відносно результату(критерій Ньюмена-Кейлса)

3. n - кількість тварин в кожній групі.

20

Результати дослідження показали, що введення ФК і плацебо (розчинник) в максимальній дозі 40 мл/кг не викликає загибелі тварин, не призводить до статистично значимих змін відносно маси внутрішніх органів щурів обох статей. Гістологічні дослідження підтверджують відсутність токсичної дії ФК і плацебо на внутрішні органи при введенні ФК в токсичних дозах. При введенні максимальних доз як сухої суміші субстанцій ФК, так і окремих складових субстанцій ФК спостерігалася загибель тварин, що дозволило розрахувати середні летальні дози. Середня летальна доза сухої суміші субстанцій ФК для самців склала 33 333 мг/кг, для самиць - 38 750 мг/кг Середня летальна доза субстанції аргініну аспартату для самців щурів склала 29 792 мг/кг, для самиць - 30 833 мг/кг, субстанції левокарнітину для самців і самиць - 17 833 мг/кг

25

30

Введення сухої суміші субстанцій ФК у великих дозах викликало у тварин розлад функції ШКТ, що у свою чергу призводило до обезводнення організму і втрати маси. На третю добу маса тварин знизилася в усіх групах самців і самиць в порівнянні з початковою, через 7 днів маса тварин відновлювалася і до кінця терміну спостереження перевищувала початкові значення.

35

Отримані результати летальностей дозволили розрахувати середні смертельні дози LD<sub>50</sub>. Для самців LD<sub>50</sub> склала 33 333 мг/кг, LD<sub>50</sub> для самиць - 38 750 мг/кг

Таким чином, суміш субстанцій ФК при внутрішньошлунковому введенні лабораторним щурам (самцям і самицям) не викликає загибелі, не впливає на фізіологічні процеси тварин. По класифікації токсичності речовин суміш субстанцій ФК належить до VI класу токсичності - відносно безпечні речовини, LD<sub>50</sub> яких більше 15 мг/кг.

40

Задачею наступних досліджень було вивчення можливих токсичних ефектів лікарського засобу в умовах повторного введення впродовж 28 днів.

Методи дослідження: загальноклінічні, лабораторні, фізіологічні, біохімічні, патоморфологічні і статистичні.

Об'єктом дослідження була ФК, розчин для орального застосування, 1 мл розчину містить активних речовин: 100 мг левокарнітину і 264 мг аргініну аспартату, допоміжні речовини - кислота яблучна, сахаринат натрію, метилпарагідроксибензоат (E218), пропілпарагідроксибензоат (E216), вода для ін'єкцій.

Це дослідження проведене для виявлення фізіологічних і структурних змін, викликаних тривалим введенням ФК, розчину для орального застосування, при внутрішньошлунковому введенні (з вивченням впливу на ШКТ) в дослідах на щурах обох статей, і визначення залежності цих змін від дози.

У завдання дослідження входило:

1) Вивчення токсичних ефектів ФК, розчину для орального застосування, в дозах 2 і 20 мл/кг ваги на щурах (самці, самки).

2) Вивчення впливу ФК на стан ШКТ в умовах тривалого введення.

Дослідження проведене відповідно до Методичних рекомендацій по експериментальному (доклінічному) вивченню нових лікарських засобів (2001 р.), Наказу № 944 Державні Експертні центри МЗ України, і відповідає вимогам Good Laboratory Practice (GLP) - Належної лабораторної практики (НЛП).

Досліди по вивченню підгострої токсичності проводили на 48 нелінійних безпородних білих щурах обох статей масою тіла 170-210 г, вік тварин - 3,5-4 міс. Усіх тварин розділили на 4 групи по 12 особин (6 самців, 6 самиць).

При експериментальному дослідженні на моделі гострої асфіксії у щурів встановлено, що найбільшу і практично однакову за вираженістю активності ФК проявляє в дозах 1 і 2 мл/кг ваги. Для вивчення токсичних ефектів ФК була вибрана доза 2 мл/кг як умовнотерапевтична, визначена в експериментальному дослідженні і близька до дози, перерахованої з дози для людини, і доза 20 мл/кг, яка перевищує умовнотерапевтичну в 10 разів. Згідно з методичними рекомендаціями по вивченню токсичності, при повторних введеннях термін введення ФК склав 28 діб (Експериментальне вивчення токсичної дії потенційних лікарських засобів/ В.М. Коваленко, О.В. Стефанов, Ю.М. Максимов, І.М. Трахтенберг// Методичні рекомендації. - К., 2000. - 74-97 с.).

Для повнішої оцінки токсичної дії розчину ФК досліди проводили при внутрішньошлунковому введенні. Досліджуваний зразок вводили щурам один раз на добу. Для того, щоб оцінити токсичну дію активних і допоміжних речовин ФК, на окремій групі тварин був вивчений розчинник (плацебо) - група № 2 (6 самців і 6 самиць). Дизайн дослідження представлений в таблиці 9, де наведений розподіл тварин по групах при токсикологічному дослідженні ФК.

Таблиця 9

Експериментальні групи		Доза, мл/кг ваги	Номери тварин	
			самці	самиці
1	Інтактний контроль	-	1-6	7-12
2	Плацебо(розчинник)	20	13-18	19-24
3	Тест-зразок	2	25-30	31-36
4	Тест-зразок	20	37-42	43-48

У цьому експерименті вивчали фізіологічні показники, морфологічні і біохімічні параметри крові, сечі тварин.

Фізіологічні методи дослідження включали щоденні спостереження за поведінкою тварин, загальним станом, споживанням їжі і води, реєстрацію маси тіла в динаміці. Стан електрофізіологічної активності міокарда оцінювали методом електрокардіографії, функціональний стан центральної нервової системи(ЦНС) - в тесті "Відкрите поле".

Масу тіла тварин оцінювали в динаміці: початкова і через 7, 14, 21 і 28 днів. Вплив досліджуваного об'єкта на стан ЦНС щурів визначали з використанням тесту "Відкрите поле" у кінці терміну введення (28 днів) по руховій (кількість перетинів квадратів), орієнтовно-дослідницький (кількість заглядань в норку, кількість стойок) і емоційній активності (кількість уринацій, дефекацій, умивань). За інтегральним показником "Сума активностей" оцінювали в цілому вплив на ЦНС.

Вивчення впливу ФК на стан серцево-судинної системи (ССС) тварин проводили у кінці терміну введення (28 день) за допомогою електрокардіографа ЕК1Т-03 М2.

ЕКГ реєстрували у тварин в II стандартному відведенні. При розшифровці електрокардіограм враховували наступні показники: RR - тривалість повного серцевого циклу; тривалість інтервалу PQ, поширення збудження, що характеризує час, по передсерддю; тривалість шлуночкового комплексу QRS і електричної систоли шлуночків - інтервалу Q-T; вольтаж зубців P, T і R; розраховували частоту серцевих скорочень (60/RR, уд/хв, систолічний показник (СП, QT/RR %), що відображає скорочувальну функцію міокарда.

У периферичній крові визначали концентрацію гемоглобіну, кількість еритроцитів і лейкоцитів, підраховували процентне співвідношення різних форм лейкоцитів (паличкоядерні і сегментоядерні нейтрофіли, лімфоцити, еозинофіли, моноцити). Кров у щурів брали з хвостової вени у кінці терміну введення (28 день).

Концентрацію гемоглобіну в крові визначали гемоглобінціанідним методом (набір фірми "Філісіт-діагностика", Україна), еритроцити визначали колориметричним методом, лейкоцити - в камері Горяєва, лейкоцитарну формулу підраховували за допомогою лічильника формених елементів СЛ-01 загальноприйнятим методом (Лабораторні дослідження в клініці / під ред. В.В. Меньшикова. - М.: Медицина, 1987. - 365 с.).

Вплив досліджуваного засобу на функціональний стан печінки оцінювали по ряду біохімічних показників крові. За допомогою наборів "PLIVA-Lachema Diagnostica sro" (Чехія) вимірювали активність аланін- і аспартатамінотрансферази (АЛТ і АСТ) - ферментативно-фотометричним методом в реакції з 2,4-динітрофенілгідразом; холестерин, ЛПВЩ і ЛПНЩ - ферментативним методом (Biosystems, Іспанія). За допомогою наборів "Філісіт-діагностика" (Україна) визначали рівень глюкози глюкозооксидазним методом, загального білка - біуретовим методом, концентрацію креатиніну - по реакції з пікриновою кислотою (метод, ґрунтований на реакції Яффі); концентрацію сечовини - уреазним методом (Biosystems, Іспанія), хлоридів - фотометричним методом за допомогою набору фірми "Філісіт-діагностика" (Україна).

Здатність згущення крові визначали методом Альтгаузена. Відомо, що час згортання крові залежить від зміщень протромбінового часу, змісту іонів кальцію, фібриногену, коливань фібринолітичної активності, структурно-функціональних особливостей ряду інших чинників про- і антикоагулянтної дії, а також формених елементів крові.

Тому в плазмі крові визначали протромбіновий час (ПЧ), тромбіновий час (ТЧ), активний частковий тромбіновий час (АЧТЧ) на коагулографі за допомогою наборів фірми РЕНАМ (Росія). Концентрацію фібриногену визначали методом Рутберга.

Для оцінки секреторної функції каналців нирок використали 2,5 % навантаження водою. Після внутрішньошлункового введення води (2,5 мл / 100 г маси) щурів поміщали на 3 години в індивідуальні клітини для збору сечі.

Кількість сечі (мл), що виділилася, розраховували на 100 г маси тварин за 1 годину. Визначали концентрацію сечовини, креатиніну і хлоридів в перерахунку на об'єм зібраної сечі (мкмоль/3 години). Реакцію сечі (рН) визначали за допомогою діагностичних смужок ("PLIVA-Lachema Diagnostica sro", Чехія), щільність сечі - ваговим методом.

Тварин виводили з експерименту під легким хлороформним наркозом, розтинали і оцінювали макроскопічний стан внутрішніх органів і систем (серце, легені, печінка, нирки, селезінка, надниркові залози, яєчка, тимус, насінники/яєчники, стравохід, шлунок, товста і пряма кишка). Визначали абсолютну масу внутрішніх органів (серце, легені, печінка, нирки, селезінка, надниркові залози, яєчка, тимус, насінники) для обчислення коефіцієнтів маси (КМ) за формулою(1):

$$КМ_{орган} = (m_{орган} / m_{тварини}) \times 100 \% (1).$$

Зразки тканин серця, тимусу, легенів, печінки, селезінки, нирок, надниркових залоз, підшлункової залози, насінників / яєчників піддавали гістологічному дослідженню. Також було вивчено вплив ТЗ на слизову оболонку ШКТ (стравохід, шлунок, товста і пряма кишка). Як норму розглядали аналогічні органи тварин з групи інтактного контролю.

Зразки тканин фіксували в 10 % розчині нейтрального формаліну і заливали в целоїдин-парафін. Гістологічні препарати забарвлювали гематоксиліном і еозином, огляд проводили під мікроскопом Micros 400. Мікрофотографування мікроскопічних зображень проводили за допомогою цифрового фотоапарата Nikon Col Pix 4500. Фотографії обробляли на комп'ютері Pentium 2,4 GHz за допомогою Nikon View 5.

Для реєстрованих змінних приводили описову статистику: для кількісних показників - розмір вибірки(n), середнє арифметичне, стандартна помилка (m); для змінних, які не підлягають закону нормального розподілу, - розмір вибірки (n), середнє арифметичне, мінімальне (Min) і максимальне значення (Max); для якісних показників - частоту і долю у відсотках. Для кількісних



показників проводили перевірку гіпотези про нормальний розподіл даних в групах за допомогою тесту Левен. Якщо дані в групах за певними показниками були розподілені нормально, то дослідні групи порівнювали з контрольною за цими показниками за допомогою критерію Ньюмена-Кейлса ( $p < 0,050$ ) для незалежних вибірок. У разі ненормального розподілу використали критерій Крускала-Волліса (аналог дисперсійного аналізу для непараметричних даних) і критерій Манна-Уїтні з поправкою Бонфероні ( $p < 0,00167$ ).

Після введення досліджуваного засобу тварини знаходилися під постійним наглядом експериментатора. У тварин ознак інтоксикації не відмічали. Вони були активними, без ознак агресії, характер і поведінка індивідуальні для кожної тварини. Процеси дефекації і сечовипускання були в нормі. Тварини підходили до їжі, приймали її охоче.

При пальпації в усіх дослідних тваринних новоутворень не виявлено. Регіональні лімфовузли не збільшені, яєчка розташовані в мошонці, рухливі, розмір мошонки обмежений розміром яєчок. Загибелі тварин не було відмічено. Вживаність лабораторних щурів після внутрішньошлункового введення ФК наведено у таблиці 10.

Таблиця 10

Експериментальні групи		Доза, мл/кг	Викликаний ефект, загиблі тварини/кількість тварин	
			самці	Самиці
1	Інтактний контроль	-	0/6	0/6
2	Плацебо (розчинник)	20	0/6	0/6
3	Розчин ФК	2	0/6	0/6
4	Розчин ФК	20	0/6	0/6

Важливим показником токсичної дії препаратів є маса тіла тварин. Динаміка маси тіла білих щурів під впливом ФК представлена в таблиці 13.

Після 28 днів спостереження в групі самців, яким вводили розчин ФК в різних дозах, відмічений приріст маси тіла щурів відносно початкової на 19 %, в інтактній групі - 23 %, в групі ПК - на 24 %. Статистично значимі відмінності з групою ІК відсутні.

У групах самиць, яким вводили розчин ФК в дозах 2 і 20 мл/кг, також відмічений приріст маси тіла відносно початкової на 14 % і 12 % відповідно, в інтактній групі - 15 %, в групі ПК - на 12 %.

Статистичний аналіз також не виявив достовірних відмінностей з групою ІК.

Вплив ФК при внутрішньошлунковому введенні на масу тіла(г) щурів ( $M \pm m$ ) наведено у таблиці 11.

Таблиця 11

Терміни дослідження	pANOVA	Інтактний контроль	Негативний контроль, (плацебо) 20 мл/кг	Розчин ФК, 2 мл/кг	Розчин ФК, 20 мл/кг
1	2	3	4	5	6
Самці					
Рдинамика		0,0004	0,0058	0,0095	0,0063
Початкове стан	pANOVA=0,9942	184±6	185±8	187±7	186±7

Продовження таблиці 11

1	2	3	4	5	6
7 днів	pANOVA=0,9904	193±5 p1NK=0,3582	195±7 p1NK=0,4157	193±7 p1NK=0,5841	193±7 p1NK=0,4806
14 днів	pANOVA=0,6827	200±5 p1NK=0,1972	212±9 p1NK=0,0894	205±8 p1NK=0,2093	202±7 p1NK=0,2246
21 день	pANOVA=0,7732	215±6 p1NK=0,0099	223±9 p1NK=0,0228	217±8 p1NK=0,0401	212±6 p1NK=0,0474
28 днів	pANOVA=0,8867	227±9 p1NK=0,0007	229±10 p1NK=0,0097	223±8 p1NK=0,0173	221±6 p1NK=0,0075
Самиці					
Рдинамика		0,0041	0,0027	0,0242	0,0001
Початкове стан	pANOVA=0,9905	193±4	191±4	192±5	191±3
7 днів	pANOVA=0,8487	201±5 p1NK=0,2394	197±4 p1NK=0,3087	198±5 p1NK=0,5058	196±3 p1NK=0,1870
14 днів	pANOVA=0,9797	206±5 p1NK=0,1516	205±4 p1NK=0,0467	204±6 p1NK=0,3330	203±2 p1NK=0,0064
21 день	pANOVA=0,9247	213±6 p1NK=0,0280	211±5 p1NK=0,0078	213±7 p1NK=0,0831	209±2 p1NK=0,0004
28 днів	pANOVA=0,5777	221±5 p1NK=0,0033	213±4 p1NK=0,0059	219±7 p1NK=0,0290	214±2 p1NK=0,0001

Примітка:

1. pANOVA - рівень статистичної значущості відмінностей між експериментальними групами (дисперсійний аналіз ANOVA)
  2. Рдинамика - рівень статистичної значущості відмінностей усередині експериментальної групи в динаміці (дисперсійний аналіз ANOVA)
  3. p1NK - рівень статистичної значущості відмінностей при порівнянні з початковими показниками (критерій Ньюмана-Кейлса)
  4. n - кількість тварин в групі.
- Таким чином, у тварин усіх експериментальних груп спостерігали позитивну динаміку приросту маси тіла. Статистично достовірні відхилення від відповідних показників інтактного і негативного контролю були відсутні як у самців, так і у самиць.
- У таблиці 12 представлені дані про вплив досліджуваного засобу і його розчинника на функціональний стан ЦНС щурів.
- При порівнянні поведінкових реакцій досліджуваних груп самців (таблиця 12) з показниками відповідних груп ІК через 28 діб введення ТЗ в різних дозах відмінності не мали достовірного характеру.

Таблиця 12

Показники	pK-U	Інтактний контроль	Негативний контроль, (плацебо) 20 мл/кг	Розчин ФК, 2 мл/кг	Розчин ФК, 20 мл/кг
Кількість перетинів	0,9560	11,50 021)	9,17 017)	7,50 012)	8,50 016)
Кількість вертикальних стоек	0,2581	1,17 02)	1,50 04)	1,17 03)	0,33 01)
Кількість обстежених отворів	0,2746	7,33 011)	5,67 09)	4,16 08)	6,67 010)
Кількість дефекації	0,0334	1,33 03)	0,33 (0^1) p2M-U=0,2403	2,33 (1^4) p2M-U=0,2403	0,67 02) p2M-U=0,3939
Кількість уринацій	0,0521	0,33 02)	0,17 01)	1,17 03)	0,00 00)
Кількість умивань	0,5538	0,00 00)	0,17 01)	0,17 01)	0,00 00)
Сума показників емоційної активності	0,0069	1,67 03)	0,67 02) p2M-U=0,3095	3,67 06) p2M-U=0,0649	0,67 02) p2M-U=0,2403
Сума активностей усіх	0,7599	21,67 (11^32)	17,00 030)	16,50 027)	16,17 025)

Примітка:

1.  $pK-U$  - рівень статистичної значущості відмінностей між експериментальними групами(критерій Крускала-Волліса);

2.  $p2M-U$  - рівень статистичної значущості відмінностей з групою ГИК(критерій Манна-Уїтні  $p<0,00167$ );

3.  $n$  - кількість тварин в групі.

Результати дії ФК на функціональний стан ЦНС самиць щурів при тривалому введенні наведені в таблиці 13. Відповідно до отриманих даних, у самиць під дією ТЗ впродовж 28 днів в дозі 2 і 20 мл/кг спостерігали статистично значиме зменшення кількості вертикальних стопок і незначне зниження кількості обстежених норок. Отримані дані свідчать про деяке зниження дослідницької активності ФК. Найбільш виражена зміна були зафіксовані в групі тварин, яким вводили ФК в дозі 20 мг/кг ваги (таблиця 13). Проте, на суму активності виявлені зміни не вплинули, що дозволяє зробити висновок про відсутність токсичної дії ФК на самиць щурів.

Таблиця 13

Показники	$pK-U$	Інтактний контроль	Негативний контроль, (плацебо) 20 мл/кг	Розчин ФК, 2 мл/кг	Розчин ФК, 20 мл/кг
Кількість перетинів	0,4236	18,67 (11-24)	15,50 (6-31)	12,50 (5-23)	12,83 (5-24)
Кількість вертикальних стопок	0,0354	5,50 (2-8)	3,17 (1-7) $p2M-U=0,0931$	2,67 (0-5) $p2M-U=0,0649$	1,33 (0-5) $p2M-U=0,0152$
Кількість обстежених отворів	0,0771	8,33 (2-18)	5,83 (3-8)	6,17 (3-11)	3,17 (0-7)
Кількість дефекації	0,3184	1,17 (0-3)	2,17 (0-6)	1,33 (0-4)	3,33 (0-6)
Кількість уринації	0,4224	0,83 (0-2)	0,33 (0-1)	0,17 (0-1)	0,83 (0-2)
Кількість умивань	0,4329	0,00 (0-0)	0,17 (0-1)	0,33 (0-1)	0,50 (0-2)
Сума показників емоційної активності	0,2608	2,00 (0-4)	2,67 (0-7)	1,83 (0-4)	4,67 (0-7)
Сума активностей усіх	0,2124	34,50 (29-42)	27,17 (15-45)	23,17 (15-37)	22,00 (13-37)

Примітка:

1.  $pK-U$  - рівень статистичної значущості відмінностей між експериментальними групами(критерій Крускала-Волліса);

2.  $p2M-U$  - рівень статистичної значущості відмінностей з групою ГИК(критерій Манна-Уїтні  $p<0,00167$ );

3.  $n$  - кількість тварин в групі.

Таким чином, внутрішньошлункове введення ФК і його розчинника впродовж 28 днів не чинило нейротоксичної дії на самців і самиць щурів.

Результати вивчення впливу розчину ФК на гематологічні показники представлені в таблицях 14 і 15.

З даних, наведених в таблиці 14 видно, що в усіх дослідних групах щурів самців введення розчину ФК в двох дозах і його розчинника викликало помірне тривале збільшення кількості еритроцитів і вміст гемоглобіну в порівнянні з групою ГИК, проте показники не виходили за межі фізіологічної норми. Це може свідчити про еритропоетичну дію ФК.

Лейкоцитарна формула у піддослідних тварин не відрізнялася від такої в групі ІК. Патологічних зрушень не відмічено.

У таблиці 14 наведений вплив ФК на гематологічні показники у щурів самців, ( $M \pm m$ ),  $M(Mmin \div Mmax)$ ,  $n=6$

Таблиця 14

Показники	pANOVA/ pK-U	Інтактний контроль	Негативний контроль, (плацебо) 20 мл/кг	Розчин ФК, 2 мл/кг	Розчин ФК, 20 мл/кг
Гемоглобін, г/л	pK-U=0,0020	137,30±3,35	148,52±2,23 p1M-U=0,0260	154,38±1,51 p1M-U=0,0022	145,10±0,88 p1M-U=0,2403
Еритроцити, 10 <sup>12</sup> /л	pK-U=0,0023	4,96±0,02	5,27±0,04 p1M-U=0,0029	5,22±0,05 p1M-U=0,0078	5,08±0,08 p1M-U=0,1307
Лейкоцити, 10 <sup>9</sup> /л	0,2306	17,50±1,28	15,92±1,34	19,63±1,54	19,29±1,33
Лейкоцитарна формула %					
Нейтрофіли паличкоядерні	pK-U=0,9164	0,33 (0-1)	0,50 (0-1)	0,33 (0-1)	0,33 (0-1)
Нейтрофіли сегментоядерні	pK-U=0,9073	10,83 (8-13)	12,17 (7-21)	13,33 (8-23)	13,00 (8-20)
Еозинофіли	pK-U=0,4854	2,50 (0-6)	2,83(1-5)	3,67 (2-6)	2,83 (0-7)
Лімфоцити	pK-U=0,8119	83,83 (79-89)	82,00 (74-87)	80,50 (69-86)	82,67 (72-89)
Моноцити	pK-U=0,8377	2,50 (1-4)	2,50 (1-5)	2,17 (1-4)	1,67 (0-3)

Примітка:

1. pANOVA / pK-U - рівень статистичної значущості відмінностей між експериментальними групами (дисперсійний аналіз ANOVA або критерій Крускала-Волліса)
  2. p1M-U - рівень статистичної значущості відмінностей з групою ІК (критерій Манна-Уїтні  $p < 0,00167$ );
  3. n - кількість тварин в групі.
- У таблиці 15 наведений вплив ФК на гематологічні показники у щурів самиць, (M±m), M(Mmin÷Mmax), n=6

Таблиця 15

Показники	pANOVA/ pK-U	Інтактний контроль	Негативний контроль, (плацебо) 20 мл/кг	Розчин ФК, 2 мл/кг	Розчин ФК, 20 мл/кг
Гемоглобін, г/л	pANOVA=0,9807	133,54±3,91	133,37±3,64	131,76±2,04	132,81±3,31
Еритроцити, 10 <sup>12</sup> /л	pANOVA=0,1906	5,11±0,03	5,23±0,03	5,20±0,06	5,24±0,06
Лейкоцити, 10 <sup>9</sup> /л	pANOVA=0,6366	16,83±1,22	17,54±0,85	16,04±2,21	18,63±1,10
Лейкоцитарна формула %					
Нейтрофіли паличкоядерні	pK-U=0,6426	0,17 (0=1)	0,33 (0=1)	0,67 (0=2)	0,50 (0=2)
Нейтрофіли сегменто-ядерні	pK-U=0,1094	11,00 (7=16)	10,00 (6=12)	10,33 (7=14)	13,67 (10=16)
Еозинофіли	pK-U=0,3408	1,33 (0=4)	3,00(1=6)	3,00 (1=6)	2,00 (0=3)
Лімфоцити	pK-U=0,4163	85,17 (78=89)	84,50 (80=88)	83,50 (77=91)	81,67 (79=87)
Моноцити	pK-U=0,9746	2,33 (1=3)	2,17 (0=4)	2,50 (1=4)	2,17 (0=3)

Примітка:

1. pANOVA / pK-U - рівень статистичної значущості відмінностей між експериментальними групами(дисперсійний аналіз ANOVA або критерій Крускала- Волліса)
2. n - кількість тварин в групі.
3. З даних, наведених в таблиці 15 видно, що у самиць усіх дослідних груп статистично значимих змін кількості еритроцитів, лейкоцитів, а також зміст гемоглобіну по відношенню до контрольних показників не встановлено. Лейкоцитарна формула у піддослідних тварин не відрізнялася від такої в групі ІК. Патологічних зрушень не відмічено.

Визначення потенційної гепатотоксичності досліджуваних об'єктів в дозах 2 і 20 мг/кг впродовж тривалого введення здійснювали по загальноприйнятому спектру показників, які широко застосовуються в лабораторній практиці і дають можливість скласти уявлення про стан відносно обміну білків, ліпідів, вуглеводів, системи гемостазу, синтетичної функції печінки, а також оцінити специфічний ензимологічний спектр.

Результати досліджень, наведені в таблицях 16 і 17 свідчать про відсутність негативного впливу ФК і плацебо на показники функціонального стану печінки.

Рівень загального білка в сироватці крові впродовж експерименту не змінювався ні у самців, ні у самиць, що свідчить про відсутність негативного впливу ТЗ на білоксинтетичні процеси в печінці. Про збереження на фізіологічному рівні цілісності гепатоцитів свідчать нормальні рівні амінотрансфераз.

У таблиці 16 наведений вплив ФК на біохімічні показники сироватки крові щурів самців, ( $M \pm m$ ),  $n=6$

Таблиця 16

Показники	pANOVA/ pK-U	Інтактний контроль	Негативний контроль (плацебо), 20 мл/кг	Розчин ФК, 2 мл/кг	Розчин ФК, 20 мл/кг
Загальний білок, г/л	pK-U=0,1033	69,14 $\pm$ 1,54	69,92 $\pm$ 1,59	68,75 $\pm$ 3,34	74,74 $\pm$ 0,91
АСТ мккат/л	pANOVA=0,7692	0,64 $\pm$ 0,02	0,66 $\pm$ 0,02	0,65 $\pm$ 0,03	0,63 $\pm$ 0,02
АЛТ, мккат/л	pANOVA=0,2799	0,35 $\pm$ 0,02	0,35 $\pm$ 0,02	0,42 $\pm$ 0,04	0,37 $\pm$ 0,02

Примітка:

1. pANOVA / pK-U - рівень статистичної значущості відмінностей між експериментальними групами(дисперсійний аналіз ANOVA або критерій Крускала-Волліса)

2. n - кількість тварин в групі.

У таблиці 17 наведений вплив ФК на біохімічні показники сироватки крові щурів самиць, ( $M \pm m$ ),  $n=6$

Таблиця 17

Показники	pANOVA/ pK-U	Інтактний контроль	Негативний контроль (плацебо), 20 мл/кг	Розчин ФК, 2 мл/кг	Розчин ФК, 20 мл/кг
Загальний білок, г/л	pANOVA=0,1005	72,72 $\pm$ 1,54	70,63 $\pm$ 1,36	74,22 $\pm$ 0,56	74,67 $\pm$ 1,51
АСТ, мккат/л	pK-U=0,8435	0,62 $\pm$ 0,02	0,61 $\pm$ 0,02	0,60 $\pm$ 0,00	0,61 $\pm$ 0,02
АЛТ, мккат/л	pANOVA=0,8495	0,27 $\pm$ 0,02	0,29 $\pm$ 0,02	0,28 $\pm$ 0,03	0,30 $\pm$ 0,02

Примітка:

1. pANOVA / pK-U - рівень статистичної значущості між експериментальними групами(дисперсійний аналіз ANOVA або критерій Крускала-Волліса)

2. n - кількість тварин в кожній групі.

Для поглибленої характеристики стану загальнотрофічних процесів досліджували показники гемостазу за допомогою загальних (час згортання) і специфічних методів (АЧТЧ, протромбіновий час, тромбіновий час, фібриноген), які дають диференціальну картину можливих змін в системі гемостазу при тривалому застосуванні ФК, що дозволяє припустити тенденцію до гіпер- або гіпокоагуляції в цілому.

Результати приведені в таблицях 18 і 19.

Встановлено, що тривале введення розчину ФК в різних дозах не впливає на час згортання і АЧТЧ у самців і самок. Для виявлення порушень активності факторів згортання і для оцінки функції печінки були вивчені протромбіновий і тромбіновий час. Вони залишалися в межах фізіологічної норми як у самців, так і у самок, що свідчить про відсутність впливу на активність тромбіну. Рівень фібриногену в плазмі крові коливався в рамках фізіологічних значень як у самців, так і у самок.

У таблиці 18 наведений вплив лікарського засобу ФК на показники гемостазу у щурів самців, ( $M \pm m$ ),  $n=6$

Таблиця 18

Показники	pANOVA	Інтактний контроль	Негативний контроль (плацебо), 20 мл/кг	Розчин ФК, 2 мл/кг	Розчин ФК, 20 мл/кг
Час згортання, с	pANOVA=0,1016	154,67±17,52	96,17±14,69	118,33±18,78	87,83±25,17
АЧТЧ, с	pANOVA=0,0748	18,20±1,18	20,82±0,56	22,60±1,55	21,20±0,96
Протромбіновий час, с	pANOVA=0,6034	16,10±0,37	16,53±0,90	17,35±0,62	16,53±0,64
Тромбіновий час, с	pANOVA=0,0927	23,18±0,71	25,97±1,47	21,75±3,38	29,03±1,67
Фібриноген, г/л	pANOVA=0,5593	2,26±0,40	2,29±0,57	1,78±0,15	1,67±0,30

5 Примітка:

1. pANOVA - рівень статистичної значущості відмінностей між експериментальними групами (дисперсійний аналіз ANOVA)

2. n - кількість тварин в групі.

У таблиці 19 наведений вплив ФК на показники гемостазу у щурів самиць, ( $M \pm m$ ),  $n=6$

10

Таблиця 19

Показники	pANOVA/ pK-U	Інтактний контроль	Негативний контроль (плацебо), 20 мл/кг	Розчин ФК, 2 мл/кг	Розчин ФК, 20 мл/кг
Час згортання, с	pANOVA=0,4256	110,33±12,75	139,00±8,59	116,00±18,31	112,33±12,36
АЧТВ, с	pK-U=0,1808	21,55±1,27	22,63±1,96	24,12±2,12	25,73±0,33
Протромбіновий час, с	pANOVA=0,0109	14,15±0,41	15,23±0,70 p2NK=0,2808	12,18±0,90 p2NK=0,0579	15,54±0,67 p2NK=0,3479
Тромбіновий час, с	pANOVA=0,1848	25,88±1,63	29,02±2,79	33,50±4,39	33,76±1,65
Фібриноген, г/л	pANOVA=0,5601	2,11±0,22	1,67±0,20	1,74±0,27	1,74±0,25

Примітка:

1. pANOVA / pK-U - рівень статистичної значущості відмінностей між експериментальними групами (дисперсійний аналіз ANOVA або критерій Крускала-Волліса)

15

2. p2NK - рівень статистичної значущості відмінностей при порівнянні з групою ГИК (критерій Ньюмана-Кейлса)

3. n - кількість тварин в групі.

Згідно з отриманими результатами (таблиця 18 і 19), у тварин, яким внутрішньошлунково вводили розчин ФК в дозах 2 і 20 мл/кг і плацебо впродовж 28 днів, змін з боку показників гемостазу не виявлено. Усі вивчені показники (час згортання, АЧТЧ, протромбіновий і тромбіновий час, фібриноген) у самців і самиць знаходилися в інтервалі значень груп інтактного контролю.

20

Таким чином, можна зробити висновок, що щоденне внутрішньошлункове введення ФК і плацебо не викликає порушень в системі згортання.

25

У таблицях 20 і 21 приведені результати аналізу показників вуглеводного і ліпідного обмінів, які також характеризують функціональний стан печінки. За змістом глюкози в крові робили орієнтовний висновок про стан процесів, задіяних в метаболізмі вуглеводів, стан ліпідного обміну оцінювали за змістом загального холестерину, ЛПВЩ і ЛПНЩ.

У таблиці 20 наведений вплив ФК на біохімічні показники ліпідного і вуглеводного обмінів щурів самців в сироватці крові,  $n=6(M \pm m)$

30

Таблиця 20

Показники	pANOVA/ pK-U	Інтактний контроль	Негативний контроль(плацебо), 20 мл/кг	Розчин ФК, 2 мл/кг	Розчин ФК, 20 мл/кг
Глюкоза, ммоль/л	pANOVA=0,1761	4,34±0,32	4,32±0,08	4,74±0,19	4,01±0,23
Холестерин, ммоль/л	pANOVA=0,6958	2,69±0,12	2,54±0,14	2,72±0,11	2,84±0,29
ЛПВЩ, ммоль/л	pK-U=0,4295	1,29±0,02	1,18±0,06	1,28±0,10	1,24±0,14
ЛПНЩ, ммоль/л	pANOVA=0,8046	0,63±0,17	0,55±0,15	0,56±0,05	0,75±0,21

Примітка:

5 1. pANOVA / pK-U - рівень статистичної значущості відмінностей між експериментальними групами (дисперсійний аналіз ANOVA або критерій Крускала-Волліса)

2. n - кількість тварин в групі.

Аналіз даних (таблиця 20 і 21) свідчить, що у щурів самців і самиць тривале введення розчину ФК в обох дозах і плацебо не викликає змін вказаних показників ліпідного і вуглеводного обмінів. Значення знаходилися у рамках меж показників групи ІК.

10 У таблиці 21 наведений вплив ФК на біохімічні показники ліпідного і вуглеводного обмінів щурів самиць в сироватці крові( $M \pm m$ ), n=6.

Таблиця 21

Показники	pANOVA	Інтактний контроль	Негативний контроль (плацебо), 20 мл/кг	Розчин ФК, 2 мл/кг	Розчин ФК, 20 мл/кг
Глюкоза, ммоль/л	pANOVA=0,2861	5,69±0,26	5,68±0,22	5,93±0,29	5,14±0,37
Холестерин, ммоль/л	pANOVA=0,5209	2,87±0,28	2,46±0,29	2,81±0,18	2,42±0,30
ЛПВЩ, ммоль/л	pANOVA=0,7233	1,42±0,09	1,28±0,12	1,38±0,02	1,31±0,12
ЛПНЩ, ммоль/л	pANOVA=0,2761	0,83±0,25	0,51±0,14	0,60±0,13	0,35±0,13

Примітка:

15 1. pANOVA - рівень статистичної значущості відмінностей між експериментальними групами (дисперсійний аналіз ANOVA)

2. n - кількість тварин в групі.

Таким чином, досліджуваний ФК і плацебо при внутрішньошлунковому застосуванні не робить токсичного впливу на обмін речовин у щурів.

20 Результати вивчення функціональної активності нирок на тлі введення досліджуваних об'єктів, представлені в таблицях 22 і 23.

Згідно з отриманими результатами, внутрішньошлункове введення розчину ФК і плацебо щурам (самцям і самицям) впродовж 28 днів не робило істотного впливу на видільну функцію нирок. Усі вивчені показники не відрізнялися достовірно від таких відповідних контрольних груп.

25 У таблиці 22 наведений вплив ФК на показники функціонального стану нирок у щурів самців( $M \pm m$ ), n=6.

Таблиця 22

Показники	pANOVA/ pK-U	Інтактний контроль	Негативний контроль(плацебо), 20 мл/кг	Розчин ФК, 2 мл/кг	Розчин ФК, 20 мл/кг
Діурез, мл/100 г	pANOVA=0,6175	2,21±0,16	2,42±0,42	2,12±0,23	2,60±0,25
pH сечі	pANOVA=0,0678	6,33±0,21	7,00±0,25	7,33±0,21	6,67±0,33
Щільність сечі, мг/мл	pANOVA=0,2615	1,012±0,002	1,014±0,001	1,010±0,002	1,010±0,001
Екскреція креа- тиніна, мкмоль/3 години	pK-U=0,8414	5,42±1,02	4,95±0,37	4,39±0,73	4,58±0,42
Креатинін в сироватці, ммоль/л	pANOVA=0,1172	0,124±0,007	0,127±0,004	0,134±0,002	0,117±0,003
Екскреція сечовини, мкмоль/3 години	pANOVA=0,3605	154,18±19,64	210,33±20,95	215,26±40,74	170,27±26,42
Сечовина в сироватці, ммоль/л	pK-U=0,2145	6,10±0,32	6,90±0,44	7,45±0,70	7,49±0,47
Екскреція хлоридів, мкмоль/3 години	pANOVA=0,4777	10,33±2,48	9,18±2,72	10,37±1,93	14,13±2,09
Хлориди в сироватці, ммоль/л	pANOVA=0,6489	100,4±2,13	103,9±2,68	100,6±2,12	101,6±1,57

Примітка:

1. pANOVA / pK-U - рівень статистичної значущості відмінностей між експериментальними групами(дисперсійний аналіз ANOVA або критерій Крускала-Волліса)

2. n - кількість тварин в групі.

У таблиці 23 наведений вплив ФК на показники функціонального стану нирок у щурів самиць (M±m), n=6

Таблиця 23

Показники	pANOVA/ pK-U	Інтактний контроль	Негативний контроль (плацебо), 20 мл/кг	Розчин "Тиво - рель» 2 мл/кг	Розчин ФК, 20 мл/кг
Діурез, мл/100г	pANOVA=0,8514	1,40±0,19	1,60±0,17	1,48±0,26	1,62±0,19
pH сечі	pANOVA=0,5139	6,67±0,33	7,17±0,31	6,67±0,21	7,00±0,26
Щільність сечі, мг/мл	pK-U=0,3267	1,021±0,003	1,016±0,004	1,017±0,001	1,015±0,001
Екскреція креатиніну, мкмоль/3 години	pANOVA=0,5677	3,02±0,44	2,27±0,61	3,09±0,89	2,03±0,50
Креатинін в сироватці, ммоль/л	pANOVA=0,1507	0,125±0,007	0,125±0,003	0,136±0,007	0,114±0,007
Екскреція сечовини, мкмоль/3 години	pANOVA=0,0628	276,51±49,37	135,03±21,09	220,85 ± 32,14	186,33 ± 32,17



Продовження таблиці 23

Сечовина сироватці, ммоль/л	В	pANOVA=0,0594	5,09±0,345	5,26±0,37	6,40±0,47	6,42±0,47
Екскреція хлоридів, ммоль/3 години		pANOVA=0,9762	9,13±1,97	8,34±2,68	7,39±2,80	8,66±2,44
Хлориди сироватці, ммоль/л	В	pANOVA=0,1740	96,90±0,88	99,01±1,15	96,67±1,15	99,06±0,56

Примітка:

1. pANOVA / pK-U - рівень статистичної значущості відмінностей між експериментальними групами (дисперсійний аналіз ANOVA або критерій Крускала-Волліса)

5 2. n - кількість тварин в групі.

Таким чином, наведені в таблицях 22 і 23 дані свідчать, що лікарський засіб ФК і плацебо при тривалому введенні (28 днів) не роблять нефротоксичної дії.

Дані про вплив розчину ФК на ЧСС і параметри ЕКГ представлені в таблицях 24 і 25. У усіх тварин зберігався правильний синусовий ритм - в II стандартному відведенні постійно був присутнім позитивний зубець Р перед характерним шлуночковим комплексом QRS.

10

Введення ФК і плацебо впродовж 28 днів самцям щурів не призводило до значних зрушень показників, що характеризують електрофізіологічну активність міокарда (таблиця 24).

У таблиці 24 наведений вплив ФК на показники ЕКГ у щурів самців, (M±m), n=6.

Таблиця 24

Показники	pANOVA/ pK-U	Інтактний контроль	Негативний контроль (плацебо), 20 мл/кг	Розчин ФК, 2 мл/кг	Розчин ФК, 20 мл/кг
ЧСС, уд/хв	pANOVA=0,3261	383,17±17,24	426,17±14,01	422,00±26,71	397,67±12,22
СП %	pK-U=0,8291	42,83±1,94	44,83±1,38	47,17±4,02	44,33±2,12
PQ, с	pANOVA=0,5516	0,045±0,001	0,044±0,001	0,043±0,001	0,044±0,001
QRS, с	pANOVA=0,4343	0,013±0,001	0,013±0,001	0,014±0,001	0,014±0,001
QT, с	pANOVA=0,3680	0,07±0,00	0,06±0,00	0,07±0,00	0,07±0,00
R, мВ	pANOVA=0,7239	0,47±0,06	0,50±0,05	0,43±0,07	0,53±0,08
P, мВ	pK-U=0,3817	0,08±0,01	0,08±0,01	0,06±0,00	0,08±0,01
T, мВ	pANOVA=0,5128	0,16±0,02	0,16±0,02	0,13±0,02	0,13±0,01

15

Примітка:

1. pANOVA / pK-U - рівень статистичної значущості відмінностей між експериментальними групами (дисперсійний аналіз ANOVA або критерій Крускала-Волліса)

2. n - кількість тварин в групі.

20

Внутрішньошлункове введення розчину ФК і плацебо впродовж 28 днів самицям щурів (таблиця 25) також не призводило до зрушень показників, що характеризують електрофізіологічну активність міокарда.

У таблиці 25 наведений вплив ФК на показники ЕКГ у щурів самиць, (M±m), n=6.

Таблиця 25

Показники	pANOVA/ pK-U	Інтактний контроль	Негативний контроль (плацебо), 20 мл/кг	Розчин ФК, 2 мл/кг	Розчин ФК, 20 мл/кг
ЧСС, уд/хв	pANOVA=0,2134	453,33± 16,80	458,83±16,08	452,50± 13,95	413,67±18,01
СП %	pANOVA=0,3048	45,33±1,67	45,83±1,6	46,50±2,03	42,33±1,02
PQ, с	pANOVA=0,6972	0,043±0,001	0,043±0,001	0,044±0,001	0,044±0,001
QRS, с	pANOVA=0,8937	0,015±0,001	0,015±0,001	0,015±0,000	0,014±0,001
QT, с	pK-U=0,4774	0,06±0,00	0,06±0,00	0,06±0,00	0,06±0,00
R, мВ	pANOVA=0,2486	0,63±0,03	0,54±0,08	0,54±0,06	0,67±0,03
P, мВ	pANOVA=0,7458	0,08±0,01	0,08±0,01	0,08±0,01	0,07±0,01
T, мВ	pANOVA=0,6476	0,13±0,02	0,15±0,02	0,14±0,02	0,17±0,02

Примітка:

1. pANOVA / pK-U - рівень статистичної значущості відмінностей між експериментальними групами (дисперсійний аналіз ANOVA або критерій Крускала-Волліса)

2. n - кількість тварин в групі.

Таким чином, на підставі отриманих даних можна зробити висновок, що розчин ФК при внутрішньошлунковому введенні впродовж 28 днів не викликає істотних змін ЕКГ ні у самців, ні у самиць.

Розтин тварин показав, що розміщення органів в черевній і грудній порожнині анатомічно правильне. Зовнішній вигляд шерстного покриву, слизової оболонки природних отворів щурів усіх дослідних груп (інтактний контроль, негативний контроль(плацебо) 20 мл/кг, ФК 2 мл/кг і 20 мл/кг) були однакові.

Регіональні лімфовузли не збільшені. При ревізії порожнин тіла не виявлено патологічного вмісту, спайок. Колір, консистенція органів і тканин, стан серозних оболонок відповідає нормальному, не знайдено ознак гіпо- або гіпертрофії органів, порушень кровообігу, запалення, пухлинного зростання.

Для розрахунку коефіцієнтів маси визначали абсолютну масу внутрішніх органів. Вплив розчину ФК на коефіцієнти маси внутрішніх органів у щурів самців і самиць  $M(M_{min}+M_{max})$ ,  $n=6$  представлений в таблиці 26.

Таблиця 26

Показники	pK-U	Інтактний контроль	Негативний контроль (плацебо), 20 мл/кг	Розчин ФК, 2 мл/кг	Розчин ФК, 20 мл/кг
Самці					
Печінка	pK-U=0,0644	2,83(2,70^2,93)	2,67(2,51^2,91)	2,58(2,38^2,77)	2,64(2,40^2,92)
Нирки	pK-U=0,5492	0,68(0,60^0,74)	0,68(0,64^0,73)	0,67(0,62^0,74)	0,66(0,62^0,74)
Серце	pK-U=0,0294	0,35(0,32^0,39)	0,35(0,33^0,39) p2M-U=1,0628	0,31(0,30^0,32) p2M-U=0,0694	0,33(0,30^0,37) p2M-U=0,4849
Легені	pK-U=0,4961	0,60(0,55^0,65)	0,62(0,57^0,65)	0,67(0,57^0,89)	0,60(0,50^0,70)
Селезінка	pK-U=0,4974	0,44(0,34^0,55)	0,37(0,30^0,42)	0,40(0,30^0,50)	0,38(0,34^0,44)
Надпочеч- ники	pK-U=0,9006	0,024(0,02^0,03)	0,03(0,02^0,03)	0,02(0,02^0,03)	0,03(0,02^0,04)
Тимус	pK-U=0,2909	0,12(0,06^0,14)	0,09(0,06^0,12)	0,09(0,05^0,11)	0,10(0,09^0,14)
Насінники	pK-U=0,7418	1,21(1,06^1,40)	1,16(1,07^1,30)	1,23(1,12^1,33)	1,23(1,09^1,40)
Самиці					
Печінка	pK-U=0,0342	2,91(2,74^3,19)	3,40(2,82^4,46) P2=0,0649	3,06(2,88^3,31) P2=0,1797	3,30(3,16^3,56) P2=0,0043
Нирки	pK-U=0,0049	0,66(0,65^0,67)	0,70(0,68^0,73) p2=0,0022	0,65(0,62^0,71) P2=0,3939	0,71(0,66^0,78) P2=0,0043
Серце	pK-U=0,1427	0,34(0,32^0,38)	0,33(0,31^0,37)	0,36(0,32^0,40)	0,36(0,33^0,38)

Легені	pK-U=0,2427	0,88(0,77 <sup>^</sup> 1,22)	0,73(0,66 <sup>^</sup> 0,86)	0,81(0,62 <sup>^</sup> 1,36)	0,82(0,63 <sup>^</sup> 0,99)
Селезінка	pK-U=0,8431	0,44(0,28 <sup>^</sup> 0,60)	0,44(0,32 <sup>^</sup> 0,53)	0,43(0,33 <sup>^</sup> 0,57)	0,40(0,29 <sup>^</sup> 0,49)
Наднирники	pK-U=0,3568	0,04(0,04 <sup>^</sup> 0,05)	0,04(0,03 <sup>^</sup> 0,05)	0,04(0,03 <sup>^</sup> 0,05)	0,04(0,04 <sup>^</sup> 0,04)
Тимус	pK-U=0,9361	0,13(0,07 <sup>^</sup> 0,17)	0,13(0,09 <sup>^</sup> 0,18)	0,14(0,08 <sup>^</sup> 0,24)	0,13(0,10 <sup>^</sup> 0,20)

Примітка:

1. pK-U - рівень статистичної значущості відмінностей між експериментальними групами(критерій Крускала-Волліса);

5 2. p2M-U - рівень статистичної значущості відмінностей з групою ІК (критерій Манна-Уїтні);

3. n - кількість тварин в групі.

Встановлено, що внутрішньошлункове введення досліджуваних об'єктів впродовж 28 днів щурам самцям не викликало статистично значимих змін КМ в порівнянні з показниками групи ІК у щурів самців.

10 Проте у самиць спостерігали підвищення КМ печінки і нирок в групах ІК і тваринах, яким вводили ФК в дозі 20 мг/кг

Мікроскопічне дослідження внутрішніх органів усіх щурів, що отримували ФК в різних дозах, показало, що вони мали звичайну будову і не відрізнялися від таких у тварин груп негативного і інтактного контролю.

15 У міокарді лівого і правого шлуночків серця не відмічено явищ набряку або гіперемії. І у контрольних, і в експериментальних групах у окремих щурів зустрічалися одиничні дрібні осередкові лімфомакрофагальні інфільтрати, розташовані між кардіоміоцитами. Кардіоміоцити мали звичайні розміри і забарвлення цитоплазми і ядер, в них добре простежувалися поперечно покреслені міофібрили.

20 У легких контрольних щурів спостерігалися помірна гіперемія судин і капілярів, осередковий дистелектаз (частковий спад стінок альвеол при розтині грудної порожнини) і вогнища емфіземоподібного розтягування альвеол (агонального походження). Відзначалася помірна активність лімфоїдної тканини, що асоціюється з бронхами. Просвіти альвеол легенів вільні. Введення ФК в дозах 2 мл/кг і 20 мл/кг не робили істотного впливу на структуру органу: були відсутні ознаки посилення гіперемії, дистрофічні зміни пневмоцитів 1-го і 2-го порядків, некробіотичні зміни в клітинах, запальна реакція стромі, посилення активності перібронхіальної лімфоїдної тканини.

30 У нирках щурів групи негативного контролю і груп, що отримували ФК в різних дозах, як і у щурів групи ІК, були відсутні ознаки порушень в системі кровообігу, дистрофічні і некробіотичні зміни нефротелію канальцевого відділу нефрону, ознаки проміжного запалення. Клубочки нефрону мають звичайну будову і клітинність, капіляри помірно повнокровні. У частини щурів в усіх групах в просвіті канальців деяких ділянок мозкового шару відмічені дрібні мікроліти солей кальцію і злокалізовані поруч дрібновогнищеві круглоклітинні інфільтрати в стромі, що, можливо, пов'язано з характером живлення тварин.

35 У печінці довільність органу виражена, балочна будова збережена, печінкові балки розташовуються на невеликій відстані одна від одної.

40 Строма печінки в усіх групах представлена тонкими прошарками порталної сполучної тканини з судинами, що проходять в них, і жовчними протоками. Гепатоцити звичайної форми, з рівномірно забарвленою цитоплазмою; межі між клітинами добре виражені. Ядра гепатоцитів чітко видимі, розташовуються переважно в центрі клітин. Синусоїдальні капіляри вузькі, слабо наповнені кров'ю як в центральних ділянках, так і на периферії часточок. У частини щурів обох статей різних груп зустрічаються невеликих розмірів лімфоїдно-клітинні скупчення перипортально, дрібні вогнища некрозу гепатоцитів. За даними літератури можливою причиною подібних відхилень може бути місцеве ушкодження, що викликається токсичними речовинами, які надходять з кишечника. Окрім цього, у самиць щурів, що отримували ФК в дозах 2 мл/кг (60 %) і 20 мл/кг (40 %), в перипортальних гепатоцитах виявлена помірна (2 мл/кг) і слабка (20 мл/кг) дрібнокрапельна вакуолізація цитоплазми без порушення цілісності клітини.

45 У тканині підшлункової залози усіх щурів будова ацинусів звичайна, в цитоплазмі панкреатоцитів добре забарвлюється зимогена зона, ядра клітин великі, чіткі, розташовані у базальній мембрані. Явищ злушчування епітелію вивідних проток не відмічено. Острівці Лангерганса різних розмірів, капіляри в них помірно розширені, секреторні клітини без ознак дистрофії.

50 Часточки тимусу і у щурів контрольних груп, і після введення ФК в різних дозах помірно великі, прошарки сполучної тканини між ними відносно тонкі, в часточках добре простежується

розділення на кіркову і мозкову зони, клітинність зон звичайна. Досить часто у тварин, що отримували плацебо і лікарський ФК, відмічена картина "зоряного неба", розширення мозкового шару і кістозне розширення з ороговінням тимічних тілець. Ці зміни нагадують 1-2 стадію акцидентальної інволюції тимусу, яка розвивається через низку обставин, у тому числі внаслідок стресу. В даному випадку багатократні введення досить великого об'єму розчинника або ФК є для тварин стресовим чинником, у відповідь на яке у них формується комплекс у відповідь адаптаційних реакцій.

У селезінці в усіх щурів розміри і кількість фолікулів білої пульпи звичайні, структура їх після введення розчинника або ФК не міняється відносно інтактних, червона пульпа помірно повнокровна, містить макрофаги, мегакаріоцити і лімфоцити.

У надниркових залозах усіх щурів розміри і співвідношення поперечних розтинів зон кіркової речовини звичайні. Гістоархітектоніка кожної із зон кори збережена. Ознаки зміни морфологічних характеристик адренкортикоцитів, що свідчать про порушення продукції мінерало- і глюкокортикоїдів, не помічено, рівень ліпоїдизації клітин клубочкового і сітчастого шарів співвідносно у контрольних і дослідних тварин. Хромафінні клітини мозкової кулі без особливостей.

У яєчках у усіх щурів самців були відсутні явища набряку, гіперемії або інфільтрації, атрофії. У звитих насінних канальцях представлені усі шари сперматогенного епітелію. Злущування епітелію немає. Кількість і розташування клітин Лейдига звичайне.

У яєчниках щурів також не виявлено гемодинамічних порушень. В усіх щурів зустрічаються фолікули і жовті тіла на всіх стадіях розвитку, атретичні фолікули.

Таким чином, результати гістологічних досліджень свідчать про те, що ФК при тривалому внутрішньошлунковому введенні в дозах 2 мл/кг і 20 мл/кг, як і плацебо не викликає у щурів яких-небудь морфологічних проявів токсичної дії в серцевому м'язі, печінці, нирках, легенях, надниркових залозах, підшлунковій залозі, селезінці, органах репродуктивної системи.

Відмічений в тимусі - органі, який виділяється з усіх органів лімфоїдної системи надмірною лабільністю своєї морфологічної структури, легко і швидко виникаючими реактивними морфологічними змінами у відповідь на дії найрізноманітніших чинників, комплекс у відповідь адаптаційних реакцій відповідає 1-2 стадіям акцидентальної трансформації. За даними літератури, ці стадії оборотні і зникають після припинення стресового впливу. Також у частини самиць щурів, що отримували розчинник або ФК, помірно/слабка вакуолізація гепатоцитів не носить дозозалежного характеру і, очевидно, пов'язана з характером корму, що отримується тваринами, і більшою чутливістю їх в порівнянні з самцями.

Результати дослідження показали, що досліджуваний ФК при тривалому введенні в дозах 2 і 20 мл/кг не викликає у тварин ознак інтоксикації, не робить впливу на загальнотрофічні процеси, на гематологічні показники, на біохімічні показники крові і сечі. Не впливає на центральну нервову систему і серцево-судинну систему лабораторних тварин.

Гістологічні дослідження підтверджують відсутність токсичної дії ФК на внутрішні органи і системи лабораторних тварин. Окремі випадки у тимусі і печінці не несуть дозозалежного ефекту і вказують на оборотні процеси.

Тривале введення ФК не чинить місцевоподразнювальної дії на слизову оболонку ШКТ лабораторних тварин.

В результаті дослідження токсичності ФК можна зробити висновок про те, що тривале введення ФК в дозах 2 і 20 мл/кг не викликає у тварин ознак інтоксикації, не робить впливу на загальнотрофічні процеси, на гематологічні показники, на біохімічні показники крові і сечі, фізіологічний стан ЦНС і ССС. Окремі коливання, відмічені впродовж усього періоду дослідження, знаходилися в межах фізіологічної норми, і носили адаптивний характер.

Гістологічне вивчення внутрішніх органів в умовах підгострої токсичності (28 днів) свідчать про відсутність у щурів ознак кардіотоксичної, нефротоксичної і гепатотоксичної дії, не порушується морфофункціональний стан легеневої тканини, периферичного органу імунної системи - селезінки.

Внутрішньошлункове введення ФК і плацебо лабораторним щурам не викликає подразливої дії на стравохід і шлунок тварин, що підтверджено гістологічними дослідженнями.

Наступні дослідження стосуються визначення ефективної дози ФК у вигляді розчину для орального застосування на моделі гострої асфіксії у щурів

Гіпоксія є універсальним патологічним процесом, що супроводжує і визначає розвиток різноманітної патології: ішемічну хворобу серця, інфаркт міокарда, хронічну серцеву недостатність, міокардіопатії, порушення мозкового кровообігу, хронічні обструктивні захворювання легень, астеничний стан та інше.

У загальному вигляді гіпоксію можна визначити як дисбаланс у клітині між потребою та продукцією енергії в системі мітохондріального окисного фосфорилування. Причини порушення продукції енергії в клітині за гіпоксичних умов різноманітні: розлади зовнішнього дихання, кровообігу в легенях, транспортної функції кисню крові, порушення системного, регіонарного кровообігу і мікроциркуляції, зниження надходження кисню в мітохондрії при переважній більшості патологічних станів. В результаті розвивається пригнічення мітохондріального окиснення. В першу чергу пригнічується активність NAD-залежних оксидаз (дегідрогеназ) циклу Кребса при початковому збереженні активності FAD-залежної сукцинатоксидази, що інгібується при більш вираженій гіпоксії. Порушення мітохондріального окиснення призводить до пригнічення сполученого з ним фосфорилування та викликає прогресуючий дефіцит АТФ - універсального джерела енергії в клітині.

Дефіцит енергії становить суть будь-якої форми гіпоксії і обумовлює якісно однотипні метаболічні і структурні порушення в різних органах і тканинах. Зниження концентрації АТФ у клітині призводить до послаблення її інгібуючого впливу на один з ключових ферментів гліколізу - фосфофруктокіназу. Гліколіз, який активується при гіпоксії, частково компенсує дефіцит АТФ, однак швидко викликає накопичення лактату і розвиток ацидозу з подальшим автоінгібуванням гліколізу.

Гіпоксія призводить до комплексної модифікації функцій біологічних мембран, що зачіпає як ліпідний бішар, так і мембранні ферменти. Пошкоджуються або модифікуються головні функції мембран: бар'єрна, рецепторна, каталітична.

Задачею доклінічного дослідження було визначення впливу ФК на біоелектричну активність серця (БЕАС) у щурів на моделі гострої асфіксії. Це важливо для оцінки виразності органотропного антигіпоксичного впливу на серце за умов застосування всередину, для встановлення ефективних доз.

Доклінічне дослідження ФК у вигляді розчину для орального застосування проведено з дотриманням вимог Належної лабораторної практики (Good Laboratory Practice (GLP)), відповідно до методичних рекомендацій (Стефанов, 2001) і Наказів МОЗ України № 944 від 14.12.2009 р. та № 95 від 16.02.2009 р...

Дизайн дослідження.

Перед проведенням експерименту тварини пройшли акліматизацію протягом 14 діб у кімнаті для випробувань. Групи були сформовані методом рандомізації з використанням маси тіла як головної ознаки. Тварин утримували в пластикових клітках у кімнаті з контрольованими параметрами мікроклімату: температура повітря 20-24 °С, вологість 55±10 %, світловий режим "12 годин день/ніч". Провітрювання кімнати та стерилізацію повітря за допомогою кварцової лампи здійснювали щоденно. Тварини мали вільний доступ до води. Для пиття використовували відстояну водопровідну воду. Для годування тварин використовували гранульовані збалансовані комбікорми (ТУ.У15.7-2123600159-001:2007). Догляд за тваринами проводили відповідно до стандартних операційних процедур [43].

Досліди проводили на статевозрілих щурах самцях масою 180-220 г.

Дослідження проведено на 5-ти групах тварин:

1 група (позитивний контроль) - кількість тварин - 6

2 група (перший тест зразок) - кількість тварин - 6, тваринам вводили розчин, 1 мл якого містить 100 мг левокарнітину та 264 мг аргініну аспартату, у дозі левокарнітин/аргініну аспартат відповідно 100/264 мг/кг ваги.

3 група (другий тест зразок) - кількість тварин - 6, тваринам вводили розчин, 1 мл якого містить 100 мг левокарнітину та 264 мг аргініну аспартату, у дозі левокарнітин/аргініну аспартат відповідно 200/528 мг/кг ваги.

4 група (третій тест зразок) - кількість тварин - 6, тваринам вводили розчин, 1 мл якого містить 100 мг левокарнітину та 264 мг аргініну аспартату, у дозі левокарнітин/аргініну аспартат відповідно 300/792 мг/кг ваги.

5 група (четвертий тест зразок) - кількість тварин - 6, тваринам вводили розчин, 1 мл якого містить 100 мг левокарнітину та 264 мг аргініну аспартату, у дозі левокарнітин/аргініну аспартат відповідно 400/1056 мг/кг ваги.

Розчин вводили внутрішньошлунково протягом 3 діб у дозах 1, 2, 3 та 4 мл/кг. Дози для тварин перераховували з добової дози для людини (30 мл/добу за інструкцією до застосування в клініці) за допомогою коефіцієнтів перерахунку доз з урахуванням поверхні тіла за методом Уланової І.П. (Уланова І.П., Сидоров К.К., Халєпо А.И. К вопросу об учете поверхности тела экспериментальных животных при токсикологическом исследовании. Под ред. А.А. Летавета и И.В. Санюцкого. - Л.: Изд. "Медицина", 1968. - Вып. 10. - С. 18-25.). Зважаючи на те, що ФК

призначений для орального застосування у клініці, лабораторним тваринам препарат вводили внутрішньошлунково за допомогою шприца через металевий зонд.

Гостру асфікцію моделювали за методом (Степанюк Н.Г. Порівняльна оцінка антигіпоксичних властивостей кордарону, бензофуурокаїну, вінборону та емоксипіну в експерименті / Н.Г. Степанюк, В.В. Юшкова, В.Б. Мудрицький [та ін.] // Вісник Вінницького національного медичного університету. - 2007. - № 11 (2/1). - С. 576-579., та Степанюк Г.І., Пошук ефективних антигіпоксиків серед похідних бурштинової кислоти/ Г.І Степанюк, О.П. Драчук, С.А. Олійник, О.Г. Юшковська // Спортивна медицина. - 2010. - № 4 (17). - С. 56-59.). На 4-ту добу введення препарату наркотизованих тварин іммобілізували на препарувальному столі. Препарували шкіру, фасції та м'язи шиї за допомогою ножиців та пінцетів. Накладали електроди електрокардіографа, трахею перетискали хірургічним затискачем та реєстрували тривалість БЕАС по ЕКГ до останньої систоли.

Кількісний матеріал оброблено методами варіаційної статистики (середнє значення, його стандартна помилка, медіана, верхній та нижній квартилі) з використанням параметричних (однотакторний дисперсійний аналіз ANOVA, критерій Ньюмена-Кейлса) та непараметричних методів аналізу (критерій Крускала-Волліса, Манна-Уїтні). Прийнятий рівень значущості  $p < 0,05$ . Для отримання статистичних висновків використовували стандартний пакет програм Statistica (версія 6).

Результати визначення впливу ФК, розчину для орального застосування, на БЕАС щурів за умови гострої асфіксії наведено в таблиці 27.

У таблиці 27 наведений вплив ФК, розчину для орального застосування, на тривалість біоелектричної активності серця (БЕАС) щурів за умови гострої асфіксії

Таблиця 27

Групи тварин	Доза, мл/кг	Тривалість життя (Me (Q25; Q75))	P
Позитивний контроль	—	11,1 (10,4; 11,4)	
Тест-зразок	1	14,5 (12,1; 17,4)	0,0259
	2	13,8 (13,2; 15,0)	0,0411
	3	11,9 (10,3; 12,5)	0,6991
	4	12,2 (11,1; 12,5)	0,3939

Примітки:

p - рівень статистичної значущості при порівнянні з групою позитивного контролю, критерій Манна-Уїтні;

n - кількість тварин у групі.

Відповідно до отриманих даних, введення досліджуваного засобу у дозах 1 та 2 мл/кг ваги статистично значуще підвищувало тривалість життя тварин на 31 % та 24 % відповідно (табл. 27). Збільшення дози тест-зразка не приводило до підвищення ефективності засобу: тривалість БЕАС, яким вводили ФК у дозах 3 і 4 мг/кг ваги, залишалася на рівні позитивного контролю. Отже, отримані дані свідчать, що профілактичне введення ФК, розчину для орального застосування позитивно впливає на БЕАС щурів.

Таким чином, за умови гострої асфіксії, викликаній перетисканням трахеї щурів, встановлено, що ФК підтримує БЕАС щурів, що віддзеркалюється підвищенням тривалості життя тварин за асфіксії. Імовірно, цей кардіопротекторний ефект пояснюється антигіпоксичною дією ФК в міокарді та провідній системі серця. Незважаючи на те, що у кількісному вираженні ефективність препарату в дозі 2 мл/кг ваги була дещо нижчою ніж у дозі 1 мл/кг ваги, статистично значущих відмінностей між групами не було. На підставі отриманих даних можна констатувати, що найбільшу, майже однакову, активність ФК виявляє у дозах 1 і 2 мл/кг ваги, які доцільно використати для подальших досліджень.

На підставі результатів дослідження можна зробити висновок, що ФК у моделі гострої асфіксії позитивно впливає на біоелектричну активність серця щурів, подовжуючи її на 24-31 %, найбільшу ефективність ФК виявляє у дозах 1 і 2 мл/кг ваги. Для визначення можливості застосування ФК для лікування захворювань, пов'язаних із порушеннями мозкового кровообігу, зокрема такого захворювання як хронічне порушення мозкового кровообігу, та доцільності такого застосування, було проведено клінічні дослідження.

Задачею клінічного дослідження було вивчення ефективності ФК, яка містить у 1 мл розчину 100 мг левокарнітину та 264 мг аргініну аспартату, у складі комплексної терапії такого захворювання як хронічне порушення мозкового кровообігу (ХПМК).

Дизайн дослідження був наступним.

Дослідження проводилось на 75 пацієнтах обох статей у віці від 55 до 75 років - які було поділено на три групи по 25 пацієнтів у кожній групі. Усі пацієнти були з діагнозом: хронічне порушення мозкового кровообігу 1-2-й стадії.

5 Пацієнти були поділені на три групи - перша група називається основна група, друга група називається перша контрольна група, третя група називається друга контрольна група.

10 Групи були статистично однорідні за статтю та віком, а також по супутнім захворюванням. Зокрема, у всіх обстежених пацієнтів в анамнезі була артеріальна гіпертензія, причому групи не відрізнялися за тривалістю цього захворювання, базового систолічного і діастолічного тиску, частотою серцевих скорочень. У всіх трьох групах приблизно рівне число хворих отримували гіпотензивну терапію. У всіх пацієнтів встановлено діагноз атеросклероз (кардіосклероз, ураження сонних артерій), з однаковою частотою зустрічалися ожиріння та порушення ліпідного спектра крові.

Пацієнтам основної групи було призначено:

15 - базисну терапію, яка включала статини, антиагреганти, антигіпертензивні лікарські засоби (за наявності супутньої гіпертонії);

20 - ФК, яка містить у 1 мл розчину 100 мг левокарнітину та 264 мг аргініну аспартату, внутрішньо по 10 мл тричі на день перед прийомом їжі, протягом 21 дня, ФК мала склад: 1 мл орального розчину містить 264 мг аргініну аспартату та 100 мг левокарнітину; допоміжні речовини - кислота яблучна, сахаринат натрію, метилпарагідроксибензоат (Е 218), пропілпарагідроксибензоат (Е 216), вода для ін'єкцій. Добова доза ФК складає 30 мл, добова доза аргініну аспартату складає 7,92 г, левокарнітину - 3 г.

Пацієнтам першої контрольної групи було призначено:

25 - базисну терапію, яка включала статини, антиагреганти, антигіпертензивні лікарські засоби (за наявності супутньої гіпертонії);

30 - розчин аргініну аспартату (препарат Тівортін аспартат) внутрішньо 10 мл 4 рази на день, протягом 21 дня. Склад препарату Тівортін аспартат - 1 мл орального розчину містить аргініну аспартату 200 мг; допоміжні речовини - сорбіт (Е 420), сахарин натрію (Е954), метилпарагідроксибензоат (Е 218), пропілпарагідроксибензоат (Е 216), ароматизатор харчовий "Карамель", вода для ін'єкцій. Добова доза аргініну аспартату складає 8 г.

Пацієнтам другої контрольної групи було призначено:

35 - базисну терапію, яка включала статини, антиагреганти, антигіпертензивні лікарські засоби (за наявності супутньої гіпертонії);

40 - розчин левокарнітину у формі розчину для перорального застосування по 5 мл 3 рази на день, протягом 21 дня. Розчин левокарнітину для перорального застосування має наступний склад: 1 мл розчину містить левокарнітину 200 мг; допоміжні речовини - метилпарабен (Е 218), пропілпарабен (Е 216), цукроза, сорбіт (Е 420), ароматизатор "банан", вода очищена. Добова доза левокарнітину складає 3 г.

Схема дизайну дослідження представлена в таблиці 28.

45 Всім хворим проводилося соматичне і неврологічне обстеження, яке доповнювалося клінічним і біохімічним аналізом крові, доплер судин головного мозку, електроенцефалограма (ЕЕГ), електрокардіограма (ЕКГ). Повне обстеження проводилося 2 рази - до лікування та по закінченню 21-денного курсу лікування. Використовувалися також ряд шкал: адаптована кількісна неврологічна шкала А.І. Федіна, коротка шкала оцінки психічного статусу (Mini Mental State Examination, MMSE), Монреальська шкала оцінки когнітивних порушень (MoCA) і Госпітальна Шкала тривоги і депресії (NADS).

Таблиця 28

Візит	День лікування	Мета візиту	Прийом ФК
Візит 1 - Скринінг	0	Повне обстеження пацієнта	
Візит 2	День 3±1 день	Контроль лікування	Прийом ФК
Візит 3	День 7±1 день	Контроль лікування	Прийом ФК
Візит 4 (телефонний візит)	День 14±1 день	Контроль лікування	Прийом ФК
Візит 5 Завершальний візит	День 22±1 день	Повне обстеження пацієнта	

Як свідчать результати, за період стаціонарного лікування у пацієнтів всіх трьох груп відзначена позитивна клінічна динаміка. Хворі пред'являли скарги, характерні для клінічних проявів ХПМК 1-2-й стадії. Після курсового лікування в усіх групах пацієнтів була виявлена позитивна динаміка у вигляді регресу більшості пропонованих до лікування скарг. У таблиці 29 наведені результати зміни скарг пацієнтів. Позитивна динаміка скарг спостерігається у всіх групах. На момент завершення курсу лікування достовірно зменшилася частота скарг на слабкість, швидку втомлюваність, погіршення пам'яті, головний біль ( $p < 0,05$ ). Суттєвої динаміки показників "шум в голові", "зміна настрою", "хиткість ходи" і "порушення сну" не було ( $p > 0,05$ ). Істотна відмінність в динаміці скарг основної і контрольних груп хворих була на наступні скарги - загальна слабкість, зниження працездатності, погіршенні пам'яті, головний біль, запаморочення, хиткість ходи ( $p < 0,05$ ). Динаміка інших скарг в основній і контрольних групах хворих істотно не відрізнялась ( $P > 0,05$ ).

У таблиці 29 наведена частота скарг пацієнтів трьох груп до і після лікування, у %

Таблиця 29

Скарга	Основна група					Перша контрольна група (аргініну аспартат)					Друга контрольна група (левокарнітин)				
	до лікування		після лікування		P	до лікування		після лікування		P	до лікування		після лікування		P
	N	%	N	%		N	%	N	%		N	%	N	%	
Загальна слабкість	20	80	2	8	0,01*	21	84	3	15	0,01*	20	80	5	20	0,01*
Швидка втомлюваність	23	92	3	15	0,01*	22	88	5	20	0,01*	24	96	16	64	0,01*
Погіршення пам'яті	25	100	3	15	0,01*	23	92	15	60	0,01*	24	96	5	20	0,01*
Шум в голові	15	60	7	30	0,6	17	68	10	40	0,75	16	64	8	32	0,6
Головний біль	25	100	5	20	0,01*	25	100	15	60	0,01*	24	96	12	48	0,01*
Хиткість ходи	12	48	4	17	0,1*	15	60	7	30	0,01*	14	56	6	24	0,01*
Зміна настрою	10	40	4	17	0,69	8	32	2	17	0,18	9	36	5	20	0,5
Порушення сну	15	60	6	24	0,6	16	64	8	32	0,2	13	52	8	32	0,2

Примітка. \* - достовірна ( $p < 0,05$ ) відмінність показників до і після лікування.

У ході дослідження було відзначено також ряд позитивних загально клінічних змін: в основній групі спостереження швидше відбувався зворотний розвиток неврологічних симптомів, ніж у контрольних. Аналіз динаміки неврологічних розладів після курсу лікування на підставі адаптованої кількісної неврологічної шкали А.І. Федіна показав позитивні зміни окремих неврологічних симптомів і синдромів у всіх трьох групах (таблиця 29). У таблиці 30 видно, що достовірні зміни показників спостерігалися в усіх групах за параметрами "загальноомозкові симптоми", "вегетативні розлади", "рухові порушення" і "загальний бал" ( $p < 0,05$ ). У порівнянні з першою контрольною групою і другою контрольною групою в основній групі була більш виражена динаміка загальноомозкових і вегетативних симптомів, а також загального бала ( $P < 0,05$ ). Загальне зниження бала неврологічних порушень в основній групі склало - 34 %, у першій контрольній групі - 15 %, у другій контрольній групі - 17 %.

У таблиці 30 наведена виразність неврологічних порушень у пацієнтів трьох груп за адаптованою кількісною неврологічною шкалою А.І. Федіна до і після лікування.



Таблиця 30

Неврологічні симптоми	Основна група			Перша контрольна група (аргініну аспартат)			Друга контрольна група (левокарнітин)		
	до лікування	після лікування	P	до лікування	після лікування	P	до лікування	після лікування	P
Загальномозкові симптоми	4,1+2,2	2,5+1,0*	0,01	3,7+2,3	3,1+1,7*	0,01	3,8+2,4	3,1+1,0*	0,01
Патологія черепних нервів	4,0+2,0	3,2+2,0	0,20	4,1+2,1	3,5+2,1	0,3	4,0+2,8	3,5+2,2	0,25
Рухові порушення	5,6+3,4	3,7+1,5*	0,01	5,5+2,9	4,8+1,7*	0,01	5,4+3,5	4,6+1,1*	0,01
Веgetативні розлади	1,7+0,5	0,8+0,2*	0,03	1,6+1,5	1,2+0,1*	0,01	1,5+0,8	1,1+0,7*	0,01
Загальний бал	15,4+6,5	10,2+3,2*	0,01	14,9+6,1	12,6+4,5*	0,01*	14,7+5,5	12,1+5,2*	0,01

Примітка. \* - достовірна ( $p < 0,05$ ) відмінність показників до і після лікування.

Дані нейропсихологічного обстеження пацієнтів за шкалою MMSE до і після лікування наведені в таблиці 31. Як видно з таблиці 31, в основній групі статистично достовірне поліпшення після лікування виявлено у загальному балі шкали MMSE та по підшкалам "увага і рахунок", "відтворення слів" та "мовні функції" ( $p < 0,05$ ). У першій контрольній групі достовірне поліпшення після лікування виявлено по загальному балу та по тесту "мовні функції" ( $p < 0,05$ ). У другій контрольній групі достовірне поліпшення після лікування виявлено по загальному балу та по тестам "увага і рахунок", "мовні функції" ( $p < 0,05$ ). Таким чином загальне покращення по тесту "мовні функції" в основній групі склало - 25 %, у першій контрольній групі - 10 %, у другій контрольній групі - 11 %, а по загальному балу в основній групі склало - 12 %, у першій контрольній групі - 5 %, у другій контрольній групі - 5 %.

Порівняння пацієнтів трьох груп за шкалою MMSE до і після лікування наведено у таблиці 31

Таблиця 31

Подшкали	Основна група		P	Перша контрольна група (аргініну аспартат)		P	Друга контрольна група (левокарнітин)		P
	до лікування	після лікування		до лікування	після лікування		до лікування	після лікування	
Орієнтування в часі	5,0+0,0	5,0+0,0	1	5,0+0,0	5,0+0,0	1	5,0+0,0	5,0+0,0	1
Орієнтування в місці	5,0+0,0	5,0+0,0	1	5,0+0,0	5,0+0,0	1	5,0+0,0	5,0+0,0	1
Негайна пам'ять	3,0+0,0	3,0+0,0	1	3,0+0,0	3,0+0,0	1	3,0+0,0	3,0+0,0	1
Увага і рахунок	3,8+0,6	4,9+0,6	0,01*	3,9+0,5	4,3+0,7	0,1	3,7+0,6	4,0+0,6	0,01*
Відтворення слів	2,6+2,3	2,9+0,5	0,01*	2,4+2,5	2,6+0,6	0,2	2,5+1,5	2,7+0,7	0,1
Мовні функції	7,0+0,6	8,8+0,5	0,01*	7,6+0,6	8,4+0,5	0,01*	7,9+0,6	8,8+0,5	0,01*
Загальний бал	26,4+2,7	29,6+1,8	0,01*	26,9+2,1	28,4+1,5	0,01*	27,1+2,5	28,5+1,2*	0,01*

Примітка. \* - достовірна ( $p < 0,05$ ) відмінність показників до і після лікування.

У трьох групах хворих проведено визначення рівня когнітивних порушень за Монреальською шкалою оцінки когнітивних порушень (MoCA) до та після лікування (таблиця 32). Шкала оцінює ряд когнітивних функцій: короткочасна пам'ять, згадування, увагу, робоча пам'ять, абстрактне мислення. На тлі лікування у пацієнтів усіх груп у порівнянні з вихідним рівнем покращився середній бал виконання завдань ( $p < 0,05$ ). При цьому більш виражена динаміка виконання завдань була у пацієнтів основної групи ( $p < 0,05$ ). У першій контрольній групі пацієнтів показник

зменшився найменше. Таким чином загальне покращення по таблиці 32 в основній групі склало - 38 %, у першій контрольній групі - 12 %, у другій контрольній групі - 23 %.

Порівняння пацієнтів трьох груп за Монреальською шкалою оцінки когнітивних порушень до і після лікування наведено у таблиці 32.

5

Таблиця 32

Швидкість виконання проб, с	Основна група			Перша контрольна група (аргініну аспартат)			Друга контрольна група (левокарнітин)		
	до лікування	після лікування	P	до лікування	після лікування	P	до лікування	після лікування	P
Кількість балів	18,9+2,2	26,1+2,1	0,05	19,3+2,0	21,8+2,3	0,06	19,8+2,0	24,5+1,8	0,05

Примітка: достовірна ( $p < 0,05$ ) відмінність показників до і після лікування.

Порівняння тривоги та депресії до і після лікування, що фіксуються за Госпітальною Шкалою тривоги і депресії (NADS) в трьох групах хворих, наведено у таблиці 33. У пацієнтів всіх груп відзначалося зменшення рівня тривоги та рівня депресії ( $p < 0,05$ ). Середня оцінка тривоги у всіх групах відповідає клінічно вираженим проявам. На тлі терапії загальний рівень тривоги зменшився до субклінічного рівня. Зменшення оцінки рівня тривоги за Шкалою NADS в основній групі - 42 %, у першій контрольній групі - 19 %, у другій контрольній групі - 21 %. Середній рівень депресії був значно менше у всіх групах і відповідає субклінічним вираженим проявам. На тлі терапії тільки в основній групі відзначається нормалізація середнього показника загального рівня депресії. У контрольних група він зменшився в межах субклінічного рівня. Зменшення оцінки рівня депресії в основній групі - 35 %, у першій контрольній групі - 13 %, у другій контрольній групі - 20 %.

Показники Госпітальної Шкали тривоги і депресії (NADS) до і після лікування у пацієнтів трьох груп наведено у таблиці 33.

Таблиця 33

Показник, бал	Основна група			Перша контрольна група (аргініну аспартат)			Друга контрольна група (левокарнітин)		
	до лікування	після лікування	P	до лікування	після лікування	P	до лікування	після лікування	P
Оцінка рівня тривоги	14,5+2,0	8,3+1,1	0,01*	13,8+1,5	11,1+1,1	0,01*	13,1+1,3	10,3+1,2	0,01*
Оцінка рівня депресії	10,8+1,4	7,0+1,1	0,01*	10,5+1,7	9,1+1,2	0,01*	10,4+1,6	8,4+1,9	0,01*

Примітка: \* - достовірна ( $p < 0,05$ ) відмінність показників до і після лікування

Досліджувана ФК показала хороший рівень безпеки та переносимості. Не було виявлено побічних реакцій на тлі прийому ФК. Лікування переносилося добре. Прихильність до терапії була висока. Ніхто з пацієнтів не вийшов з дослідження

Хронічне порушення мозкового кровообігу - грозний прояв, який розвивається і в середньому, і в літньому віці. Цей стан не має яскраво виражених симптомів і розвивається поступово, тому часто виявляється із запізненням, коли вже почалася деградація особистості. Фармакотерапевтичний вплив при будь-якій формі хронічного порушення мозкового кровообігу має бути максимально комплексним і спрямованим на відновлення нормального кровотоку в ураженій ділянці та активізації енергетичних процесів головного мозку людини, поліпшення розумової діяльності, пам'яті, нормалізації кровопостачання і стійкості клітин мозку до кисневого голодування.

У проведеному дослідженні симптомокомплекс клінічних проявів ХПМК включав характерні для цього захворювання загально-мозкові симптоми, вестибуло-кохлеарні розлади, пірамідну і кірково-нуклеарну недостатність, вегетативні і координаторні порушення. Характерним для всіх пацієнтів була наявність когнітивних порушень, у частини хворих виявлялися психоемоційні розлади у вигляді тривоги, у декількох пацієнтів - депресії. У всіх досліджених пацієнтів спостерігалася астенична симптоматика.

Проведене дослідження виявило вплив всіх досліджуваних препаратів на лікування ХПМК. Однак найбільшу ефективність продемонструвала запропонована ФК.

Основна неврологічна симптоматика 1-й та 2-й стадій ХПМК, по суті, виражається в астенічному синдромі та у вигляді тривоги. Головний біль, запаморочення, загальна слабкість, підвищена стомлюваність, емоційна лабільність, порушення сну, зниження працездатності - весь цей набір скарг характерний для початкових стадій ХПМК. Лікування ФК максимально збільшувало працездатність і щоденну активність хворих, покращувало пам'ять, зменшувало головний біль та тривожність в порівнянні з першою і другою контрольними групами прийому аргініну або левокарнітину.

Аналіз даних у таблиці 29-33 показує, що запропонований спосіб лікування фармацевтичною композицією у порівнянні із препаратами порівняння, що містять окремо тільки аргінін аспартат та левокарнітин, чинить більш виражену захисну дію та має неочікуваний технічний результат - в результаті аналізу даних, отриманих в ході досліджень, можна говорити що запропонована фармацевтична композиція проявляє несподіваний синергічний ефект.

У фармакології окремих випадок синергізму, при якому ефект від одночасного застосування двох і більше активних речовин перевищує сумарний ефект застосування кожної з цих речовин окремо, називають потенціюванням. Як буде показано далі розрахунками, використання в запропонованому способі фармацевтичної композиції разом таких компонентів як аргінін аспартат і левокарнітин, дає ефект потенціювання, відповідно фармацевтична композиція виявляє непередбачуваний синергічний ефект.

Оцінка динаміки неврологічного статусу за шкалою А.І. Федіна продемонструвала, що прийом фармацевтичної композиції приводив до більшого поліпшення загальнономозкових і вегетативних симптомів, а також загального бала. Загальне зниження ступеня неврологічних порушень в основній групі склало - 34 %, у першій контрольній групі - 15 %, у другій контрольній групі - 17 %. Очікуваний сумарний фармацевтичний ефект від застосування двох препаратів порівняння становить  $15\% + 17\% = 32\%$ . Фармацевтичний ефект для препарату, що є фармацевтичною композицією, становить 34 %, що перевищує очікуваний сумарний фармацевтичний ефект від застосування двох препаратів порівняння щодо зниження загального бала неврологічного статусу за шкалою А.І. Федіна:  $34\% - 32\% = 2\%$ .

Більш ефективна дія фармацевтичної композиції в порівнянні з терапією в 1-й та 2-й контрольних групах чітко простежувалася в значному поліпшенні когнітивних функцій (на підставі результатів шкали MMSE). При цьому встановлені статистично достовірні відмінності після лікування у загальному балі шкали MMSE і за субшкалою "мовні функції". Загальне покращення нейропсихологічного обстеження пацієнтів по тесту "мовні функції" за шкалою MMSE в основній групі склало - 25 %, у першій контрольній групі - 10 %, у другій контрольній групі - 11 %. Очікуваний сумарний фармацевтичний ефект від застосування двох препаратів порівняння становить  $10\% + 11\% = 21\%$ . Фармацевтичний ефект для препарату, що є фармацевтичною композицією, становить 25 %, що перевищує очікуваний сумарний фармацевтичний ефект від застосування двох препаратів порівняння по тесту "мовні функції" за шкалою MMSE:  $25\% - 21\% = 4\%$ . Покращення по загальному балу в основній групі склало - 12 %, у першій контрольній - 5 %, у другій контрольній групі - 5 %. Очікуваний сумарний фармацевтичний ефект від застосування двох препаратів порівняння становить  $5\% + 5\% = 10\%$ . Фармацевтичний ефект для препарату, що є фармацевтичною композицією, становить 12 %, що перевищує очікуваний сумарний фармацевтичний ефект від застосування двох препаратів порівняння по загальному балу за шкалою MMSE:  $12\% - 10\% = 2\%$ .

Динаміка когнітивних порушень за Монреальською шкалою оцінки когнітивних порушень (MoCA) продемонструвала більш виражену динаміку у пацієнтів які проходили лікування фармацевтичною композицією в порівнянні з монотерапією. Загальне покращення в основній групі склало - 38 %, у першій контрольній групі - 12 %, у другій контрольній групі - 23 %. Очікуваний сумарний фармацевтичний ефект від застосування двох препаратів порівняння становить  $12\% + 23\% = 35\%$ . Фармацевтичний ефект для препарату, що є фармацевтичною композицією, становить 38 %, що перевищує очікуваний сумарний фармацевтичний ефект від застосування двох препаратів порівняння по покращенню динаміки когнітивних порушень за Монреальською шкалою:  $38\% - 35\% = 3\%$ .

Динаміка тривоги та депресії за Госпітальною Шкалою тривоги і депресії (NADS) продемонструвала більш виражену динаміку у пацієнтів основної групи, які проходили лікування фармацевтичної композицією в порівнянні з монотерапією. Зменшення оцінки рівня тривоги за Шкалою NADS в основній групі - 42 %, у першій контрольній групі - 19 %, у другій контрольній групі - 21 %. Очікуваний сумарний фармацевтичний ефект від застосування двох препаратів порівняння становить  $19\% + 21\% = 40\%$ . Фармацевтичний ефект для препарату, що є

фармацевтичною композицією, становить 42 %, що перевищує очікуваний сумарний фармацевтичний ефект від застосування двох препаратів порівняння по зменшенню рівня тривоги за Шкалою NADS:  $42\% - 40\% = 2\%$ . Зменшення оцінки рівня депресії за Шкалою NADS в основній групі - 35 %, у першій контрольній групі - 13 %, у другій контрольній групі - 20 %.

5 Очікуваний сумарний фармацевтичний ефект від застосування двох препаратів порівняння становить  $13\% + 20\% = 33\%$ . Фармацевтичний ефект для препарату, що є фармацевтичною композицією, становить 35 %, що перевищує очікуваний сумарний фармацевтичний ефект від застосування двох препаратів порівняння по зменшенню рівня депресії за Шкалою NADS:  $35\% - 33\% = 2\%$ .

10 Подібні ефекти пов'язані з тим синергізмом дії аргініну аспартат та лівокарнітину в складі ФК. Лівокарнітин підвищує швидкість окислення жирів в мітохондріях і грає одну з ключових ролей у метаболізмі організму: забезпечує транспорт довголанцюгових жирних кислот в мітохондріальний матрикс, контролює і модулює внутрішньоклітинний пул коензиму в клітині, бере участь в дезінтоксикації органічних кислот і ксенобіотиків. В тканинах мозку лівокарнітин  
15 здійснює транспорт ацетильних залишків з мітохондрій в цитозоль, беручи участь таким чином у синтезі ацетилхоліну і ацетилкарнітину. Нейробіологічні ефекти ацетилкарнітину включають прямий вплив на енергетичний метаболізм і метаболізм фосфоліпідів, синоптичну морфологію і передачу численних нейротрансмітерів. Застосування аргініну аспартату, активного донора NO, покращує ендотелій залежну вазодилатацію, зменшує агрегацію тромбоцитів і зменшує  
20 ендотелій залежну адгезію моноцитів. Це сприяє відновленню мозкового кровотоку, нормалізації гемодинаміки, зменшенню оксидантного стресу в осередку ураження і відповідно зменшенню неврологічного дефіциту.

Підсумовуючи дані клінічних досліджень, можна зробити висновок, що фармацевтична композиція на основі двох діючих речовин - аргініну аспартату та лівокарнітину, підвищує  
25 ефективність комплексної терапії ХПМК - ФК в комплексному лікуванні ХПМК та продемонструвала значно більшу ефективність терапії, ніж застосування аргініну аспартату або лівокарнітину окремо один від одного.

Наведене вище свідчить про те, що запропонований спосіб лікування шляхом введення фармацевтичної композиції є високоефективним і перспективним для впровадження в медичну  
30 практику як засобу лікування гострих порушень мозкового кровообігу, хронічних порушень мозкового кровообігу у людини, дозволяє розширити арсенал і асортимент лікарських засобів для лікування гострих порушень мозкового кровообігу, хронічних порушень мозкового кровообігу у людини, дозволяє підвищити ефективність лікування гострих порушень мозкового кровообігу, хронічних порушень мозкового кровообігу у людини.

35 Наведені приклади здійснення корисної моделі лише ілюструють її і ніяк не обмежують.

#### ФОРМУЛА КОРИСНОЇ МОДЕЛІ

1. Спосіб лікування гострих порушень мозкового кровообігу, хронічних порушень мозкового  
40 кровообігу у людини, яка страждає гострими порушеннями мозкового кровообігу, хронічними порушеннями мозкового кровообігу, що включає введення згаданий людині фармацевтичної композиції, який **відрізняється** тим, що вводять фармацевтичну композицію, що має таку лікарську форму як оральний розчин, фармацевтична композиція містить як активні компоненти аргініну аспартат та лівокарнітин, фармацевтична композиція містить такі допоміжні  
45 компоненти, як коригент рН, який є підкислювачем, підсолоджувач, консервант та воду, при наступному співвідношенні компонентів, мг/мл:

аргініну аспартат	180-320
лівокарнітин	50-150
коригент рН, який є	1,5-6,0
підкислювачем	
підсолоджувач	0,4-1,2
консервант	0,5-2,0
вода	до 1 мл,

причому фармацевтичну композицію вводять у кількості, що є ефективною для лікування гострих порушень мозкового кровообігу, хронічних порушень мозкового кровообігу.

50 2. Спосіб за п. 1, який **відрізняється** тим, що вводять фармацевтичну композицію, яка містить аргініну аспартат, лівокарнітин, коригент рН, який є підкислювачем, підсолоджувач, консервант, воду, при наступному співвідношенні компонентів, мг/мл:

аргініну аспартат	240-300
лівокарнітин	80-120

коригент рН, який є	2,5-4,5
підкислювачем	
підсолоджувач	0,6-1,0
консервант	1,0-1,5
вода	до 1 мл.

3. Спосіб за п. 2, який **відрізняється** тим, що вводять фармацевтичну композицію, яка містить аргініну аспартат, левокарнітин, коригент рН, який є підкислювачем, підсолоджувач, консервант, воду, при наступному співвідношенні компонентів, мг/мл:

аргініну аспартат	264
левокарнітин	100
коригент рН, який є	
підкислювачем	3,5
підсолоджувач	0,8
консервант	1,25
вода	до 1 мл.

4. Спосіб за будь-яким із пп. 1-3, який **відрізняється** тим, що фармацевтична композиція містить як коригент рН, який є підкислювачем, яблучну кислоту.

5. Спосіб за будь-яким із пп. 1-4, який **відрізняється** тим, що фармацевтична композиція містить як підсолоджувач сахаринат натрію.

6. Спосіб за будь-яким із пп. 1-5, який **відрізняється** тим, що фармацевтична композиція містить як консервант метилпарагідроксибензоат або пропілпарагідроксибензоат або суміш метилпарагідроксибензоату та пропілпарагідроксибензоату.

7. Спосіб за будь-яким із пп. 1-6, який **відрізняється** тим, що фармацевтична композиція містить як воду - воду для ін'єкцій.

8. Спосіб за будь-яким із пп. 1-7, який **відрізняється** тим, що фармацевтична композиція має щільність 1,1 г/мл, рН розчину 5-6,5, динамічну в'язкість при 20 °С 2,5 сП.

9. Спосіб за будь-яким із пп. 1-8, який **відрізняється** тим, що введення фармацевтичної композиції здійснюють у складі комплексної терапії гострих порушень мозкового кровообігу, хронічних порушень мозкового кровообігу.

10. Спосіб за будь-яким із пп. 1-9, який **відрізняється** тим, що фармацевтичну композицію вводять у кількості 20-40 мл, що є добовою дозою.