

Клиническая фармакология и лекарственные средства

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2017

УДК 615.23.036.8

Шахмарданова С.А.^{1, 2}, Галенко-Ярошевский П.А.², Паршина Л.Н.³, Трофимов Б.А.³,
Тарасов В.В.¹, Максимов М.Л.¹, Сологова С.С.¹

СРАВНИТЕЛЬНОЕ ИЗУЧЕНИЕ АНТИГИПОКСИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ КОМПЛЕКСОВ АЦЕТАТА ЦИНКА С N-ПРОПАРГИЛИМИДАЗОЛОМ И 3-ГИДРОКСИПИРИДИНОМ

¹ФГБОУ ВО «Первый Московский государственный медицинский университет им. И.М. Сеченова»

Минздрава России, 119991, г. Москва;

²ФГБОУ ВО «Кубанский государственный медицинский университет», 350063, г. Краснодар;

³ФГБНУ «Иркутский институт химии им. А.Е.Фаворского» СО РАН, 664033, г. Иркутск

♦ Фармакотерапия гипоксии является важной задачей современной экспериментальной и клинической фармакологии. Внедренные в клинику средства с антигипоксическим действием, к сожалению, не соответствуют требованиям врачей вследствие слабой эффективности, узкого диапазона активных доз и нежелательных побочных эффектов. Комплексы цинка с N-алкенилимидазолами продемонстрировали антигипоксическую активность на разных моделях острой гипоксии в широком диапазоне доз, поэтому дальнейшее изучение цинксодержащих соединений как возможных корректоров гипоксии представляет определенный интерес.

В экспериментах на белых нелинейных мышьях-самцах проведено сравнительное исследование антигипоксического действия комплексных соединений ацетата цинка с N-пропаргилимидазолом и 3-гидроксипиридином, в том числе комплексов, иммобилизованных на сульфатированном арабиногалактане, а также известных антигипоксантов и/или антиоксидантов: этомерзола, мексидола, нооглютила и гипоксена.

Показано, что противогипоксический эффект комплекса ацетата цинка с N-пропаргилимидазолом в условиях острой гипобарической гипоксии (ОГБГ), острой гипоксии с гиперкапнией (ОГГК), острой гемической гипоксии по широте действующих доз (1—100 мг/кг, внутривенно — в/в) и степени выраженности (19—317% по сравнению с контрольными группами животных) превосходит таковой у известных антигипоксантов и/или антиоксидантов: этомерзола (25—100 мг/кг, в/в), мексидола (100 мг/кг, в/в), нооглютила (25—100 мг/кг, в/в) и гипоксена (50—150 мг/кг, в/в). Защитное действие комплекса ацетата цинка с 3-гидроксипиридином по широте действующих доз (25—100 мг/кг, в/в) и степени выраженности (27—167% по сравнению с контрольными группами животных) в условиях экзогенной гипоксии (ОГБГ и ОГГК) превосходит таковое этомерзола и мексидола и сопоставимо с действием нооглютила и гипоксена. Иммобилизованные на сульфатированном арабиногалактане комплексы были неэффективны.

Ключевые слова: цинк; антигипоксическая активность; комплексы ацетата цинка с N-пропаргилимидазолом и 3-гидроксипиридином; сульфатированный арабиногалактан.

Для цитирования: Шахмарданова С.А., Галенко-Ярошевский П.А., Паршина Л.Н., Трофимов Б.А., Тарасов В.В., Максимов М.Л., Сологова С.С. Сравнительное изучение антигипоксической активности комплексов ацетата цинка с n-пропаргилимидазолом и 3-гидроксипиридином. *Российский медицинский журнал*. 2017; 23 (3): 148—151.
DOI <http://dx.doi.org/10.18821/0869-2106-2017-23-3-148-151>

Для корреспонденции: Шахмарданова Светлана Анатольевна, канд. биол. наук, доцент кафедры фармакологии ФГБОУ ВО «Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова» Минздрава России, 119991, Москва, E-mail: lebedeva502@yandex.ru

Shakhmardanova S.A.^{1,2}, Galenko-Yaroshevsky P.A.², Parshina L.N.³,
Trofimov B.A.³, Tarasov V.V.¹, Maksimov M.L.¹, Sologova S.S.¹

THE COMPARATIVE STUDYING OF ANTI-HYPOXEMIC ACTIVITY OF COMPLEX OF ZINC ACETATE WITH N-PROPARGYLIMIDAZOLE AND 3-HYDROXYPYRIDINE

¹The I.M. Sechenov first Moscow state medical university of Minzdrav of Russia, 119992, Moscow, Russian Federation;

²The Kubanskiy state medical university, 350063, Krasnodar, Russian Federation;

³The A.E. Favorskiy Irkutskiy institute of chemistry of the Siberian branch of the Russian academy of sciences, 664033, Irkutsk, Russian Federation

♦ The pharmacotherapy of hypoxia is an important task of modern experimental and clinical pharmacology. The medications with anti-hypoxic effect implemented into clinical practice unfortunately do not meet requirements of physicians due to poor efficiency, narrow range of active dosages and undesirable side effects. The complexes of zinc with N-alkenylimidazole demonstrated anti-hypoxic activity at various models of acute hypoxia within large range of dosage. Therefore, further studying of zinc-contained compounds as possible correctors of hypoxia is of particular interest.

The experiments with white nonlinear male mice were used for comparative investigation of anti-hypoxic effect of complex compounds of zinc acetate with N-propargylimidazole and 3-hydroxypyridine, including complexes immobilized on sulfated arabinogalactan and also well-known anti-hypoxants and/or anti-oxidants: etomerzol, mexidol, nooglutil and hypoxen.

It is demonstrated that anti-hypoxic effect of complex of zinc acetate with N-propargylimidazole in conditions of acute hypobaric hypoxia, acute hypoxia with hypercapnia acute hematic hypoxia by width of active dosages (1—100 mg/kg, intraperitoneally) and degree of expression (19—317% in comparison with control groups of animals) excels the similar effect in well-known anti-hypoxants and/or anti-oxidants: etomerzol (25—100 mg/kg, intraperitoneally), mexidol (100 mg per kg, intraperitoneally), nooglutil (25—100 mg/kg, intraperitoneally) and hypoxen (50—150 mg/kg, intraperitoneally). The protective effect of complex of zinc acetate with 3-hydroxypyridine by width of active dosages (25—100 mg/kg, intraperitoneally) and degree of expression

(27—167% in comparison with control groups of animals) in conditions of exogenous hypoxia (acute hypobaric hypoxia and acute hypoxia with hypercapnia) excels similar effect of etomerzol and mexidol ans is comparable with effect of nooglutil and hypoxen. The complexes immobilized on sulfated arabinogalactan were ineffective.

Keywords: zinc; anti-hypoxic activity; complexes of zinc acetate with N-propargylimidazole and 3-hydroxypyridine; sulfated arabinogalactan.

For citation: Shakhmardanova S.A., Galenko-Yaroshevsky P.A., Parshina L.N., Trofimov B.A., Tarasov V.V., Maksimov M.L., Sologova S.S. The comparative studying of anti-hypoxemic activity of complex of zinc acetate with N-propargylimidazole and 3-hydroxypyridine. *Rossiiskii meditsinskii zhurnal (Medical Journal of the Russian Federation, Russian journal)*. 2017; 23(3): 148-15. (In Russ.) DOI <http://dx.doi.org/10.18821/0869-2106-2017-23-3-148-151>

For correspondence: Svetlana A. Shakhmardanova, candidate of biological sciences, associate professor of the chair of pharmacology he I.M. Sechenov first Moscow state medical university of Minzdrav of Russia, 119992, Moscow, Russian Federation, E-mail: lebedeva502@yandex.ru

Conflict of interest. The authors declare no conflict of interest.

Acknowledgments. The study had no sponsorship.

Received 27.09.16

Accepted 25.10.16

Введение

Фармакотерапия гипоксии является важной проблемой для медицинской науки в целом и ее научно-практических областей: военной, космической, авиационной и спортивной медицины. Современные средства фармакологической коррекции кислородной недостаточности, к сожалению, не соответствуют требованиям врачей вследствие слабой эффективности, узкого диапазона активных доз и нежелательного побочного действия. Поиск и разработка новых высокоэффективных антигипоксических средств остаются важными задачами современной экспериментальной и клинической фармакологии.

Синтезированные в лаборатории акад. РАН Б.А. Трофимова Иркутского института химии им. А.Е. Фаворского СО РАН комплексы цинка с N-алкенилимидазолами продемонстрировали антигипоксическую активность на разных моделях острой гипоксии в широком диапазоне доз [1—3].

Цинк занимает особое место в ряду эссенциальных микроэлементов и перспективен для создания высокоэффективных металлокомплексных соединений. Существует около 3000 белков, взаимодействующих с этим элементом [4, 5], значительная часть которых — транскрипционные факторы типа «цинковый палец», необходимые для активации многих тысяч генов [6]. Цинк — единственный металл, представленный во всех классах ферментов. Известно более 300 ферментных систем, участвующих в различных видах обмена, где он необходим для реализации многих биохимических процессов [4, 7]. Цинк играет важную роль в выполнении функций ДНК- и РНК-полимераз, фермента ключевой реакции биосинтеза гема, цитохромов дыхательной цепи и P450, каталазы, миело- и тиреопероксидазы, цитохромоксидазы, карбоангидразы, карбоксипептидазы и др. [8, 9]. В составе супероксиддисмутазы цинк действует как мощный антиоксидант, предотвращая процесс перекисного окисления липидов и защищая мембраны клеток от повреждения, в том числе при воспалительных процессах [10, 11]. Цинк активирует синтез металлотioniонов, выполняя роль антиоксиданта репаративного действия [12, 13].

Цель настоящей работы — сравнительное изучение антигипоксического действия комплексных соединений ацетата цинка с N-пропаргилимидазолом и 3-гидрокси-пиридином [14, 15], в том числе комплексов, иммобилизованных на сульфатированном арабиногалактане, и известных антигипоксантов и/или антиоксидантов: этомерзола, мексидола, нооглютила и гипоксена.

Материал и методы

В сравнительном аспекте исследован защитный эффект в условиях острой гипоксии разного генеза комплексов ацетата цинка с N-пропаргилимидазолом под шифром БИС-N, 3-гидроксипиридином под шифром БИС-3 и данных комплексов, иммобилизованных на сульфатированном арабиногалактане (g-7 и g-8). Химические формулы исследованных соединений приведены в табл. 1.

В качестве лекарственных средств сравнения были взяты химически чистые субстанции этомерзола и нооглютила, а также лекарственные формы мексидола (ООО «НПК «Фармасофт», Россия) и гипоксена (ЗАО «Корпорация Олифен», Россия).

Опыты проведены на 1350 белых нелинейных мышак-самцах массой 18—23 г в соответствии со статьей 11-й Хельсинкской декларации Всемирной медицинской ассоциации (1964) и правилами лабораторной практики (Приказ Минздравсоцразвития РФ от 23.08.10 г. № 708н). Содержание, питание, уход за животными и выведение их из эксперимента осуществляли согласно требованиям ГОСТ Р от 02.12.09 53434-2009 "Принципы надлежащей лабораторной практики (GLP)" [16]. Животных доставляли из Центрального питомника лабораторных животных РАМН (Московская обл., пос. Андреевка) и содержали на стандартной диете в условиях свободного доступа к водопроводной очищенной воде. Эксперименты проводили после 20-дневной адаптации мышей в виварии. Животных содержали в соответствии с нормами группового размещения в вентилируемых клетках при температуре 18—20°C и относительной влажности воздуха 60—70% в естественных условиях освещенности. В каждой серии опытов были контрольная и опытная группы, включающие животных одинаковой массы.

Таблица 1

Химические формулы комплексов ацетата цинка с N-пропаргилимидазолом и 3-гидроксипиридином

Шифр соединения	Химическая формула
БИС-N	Бис(N-пропаргилимидазол)цинкдиацетат
БИС-3	Бис(3-гидроксипиридин)цинкдиацетат
g-7	Сульфо-АГ*-бис(N-пропаргилимидазол)цинкдиацетат
g-8	Сульфо-АГ*-бис(3-гидроксипиридин)-цинкдиацетат

Примечание. *Сульфо-АГ — сульфатированный арабиногалактан.

Таблица 2

Влияние комплексных соединений ацетата цинка с N-пропаргилимидазолом и 3-гидроксипиридином, препаратов сравнения на продолжительность жизни мышей при разных видах острой гипоксии (n = 10)

Шифр химических соединений и препараты сравнения	Доза, мг/кг						
	1	5	10	25	50	100	150
ОГБГ:							
БИС-N	177±9*	191±6*	262±7*	291±9*	417±9*	267±9*	—
БИС-3	—	—	82±3	235±16*	267±18*	212±10*	—
g-7	—	—	—	92±11	87±4	—	—
g-8	—	—	—	98±10	95±9	—	—
Этомерзол	—	—	—	98±10	108±11	157±9*	—
Мексидол	—	—	—	94±11	90±16	91±19	—
Нооглютил	—	—	—	174±8*	134±8*	137±7*	—
Гипоксен	—	—	—	110±5	244±9*	251±7*	267±8*
ОГГК:							
БИС-N	—	93±4	132±8*	153±9*	193±4*	103±4	—
БИС-3	—	—	115±5	127±3*	130±5*	184±5*	—
g-7	—	—	—	93±8	108±18	—	—
g-8	—	—	—	81±6	105±12	—	—
Этомерзол	—	—	—	96±8	99±9	132±3*	—
Мексидол	—	—	—	93±6	106±6	123±5*	—
Нооглютил	—	—	—	116±4*	122±4*	137±4*	—
Гипоксен	—	—	—	—	97±5	126±4*	129±4*
ОГГ:							
БИС-N	—	—	119±4*	125±7*	134±3*	121±6*	—
БИС-3	—	—	—	108±6	113±7	—	—
g-7	—	—	95±6	98±8	—	—	—
g-8	—	—	95±8	96±5	—	—	—
Этомерзол	—	—	—	125±7*	143±4*	106±8	—
Мексидол	—	—	—	94±9	99±5	114±2*	—
Нооглютил	—	—	—	116±3*	130±5*	123±5*	—
Гипоксен	—	—	—	—	—	112±2*	121±2*
ОГТГ:							
БИС-N	—	—	—	117±12	118±4	—	—
БИС-3	—	—	—	98±10	94±5	—	—
g-7	—	—	108±8	98±10	—	—	—
g-8	—	—	106±10	—	—	—	—
Этомерзол	—	—	—	114±4*	106±5	94±7	—
Мексидол	—	—	—	106±9	106±7	108±9	—
Нооглютил	—	—	—	107±5	106±3	120±3*	—
Гипоксен	—	—	—	104±4	143±3*	189±6*	119±3*

Примечание. * — статистически достоверные различия ($p < 0,05$) по сравнению с контролем, ** — данные представлены как $M \pm m$, где M — значение средней арифметической величины по отношению к контролю, принятому за 100%, m — стандартная ошибка средней арифметической величины, выраженная в % к M .

Исследуемые соединения вводили внутривенно (в/б) за 1 ч до начала эксперимента в диапазоне доз от не вызывающих эффекта до оказывающих токсическое действие. Лекарственные средства сравнения вводили тем же путем в дозах, которые, по данным литературы, проявляют эффект при той или иной патологии [1—3]. Животным контрольных групп тем же путем и в тот же срок вводили равный объем дистиллированной воды.

Острую токсичность определяли вычислением LD_{16} , LD_{50} , LD_{84} с использованием принятой методики

[17] и согласно классификации химических веществ [18].

Антигипоксическую активность соединений оценивали в условиях острой гипобарической гипоксии (ОГБГ), острой гипоксии с гиперкапнией (ОГГК), острой гемической гипоксии (ОГГ), острой гистотоксической гипоксии (ОГТГ)¹. Антигипоксическое действие веществ оценивали по длительности жизни животных в минутах.

Результаты исследования обрабатывали с помощью компьютерной программы Microsoft Excel XP в среде Windows XP и STATISTICA 6.0. Нормальность выборок проверяли с использованием критерия Шапиро—Уилка. Для вариационного ряда выборки определяли среднюю арифметическую величину (M) и ее ошибку (m). Выборки имели близкое к нормальному распределение, поэтому значимость различий между экспериментальными группами определяли с помощью одномерного дисперсионного анализа с дальнейшей обработкой методом множественных сравнений Стьюдента с поправкой Бонферрони.

Значение средней арифметической величины у животных опытной группы определяли по отношению к контролю, который принимали за 100%, а ее ошибку выражали в процентах к средней арифметической величине. При таких расчетах $M \pm m$ представлены в процентах.

Результаты исследований

Согласно оценке острой токсичности, исследованные комплексы цинка относятся к классу умеренно токсичных соединений. LD_{50} для мышей при внутривенном введении находится в диапазоне 113—160 мг/кг.

Установлено, что антигипоксический эффект исследуемых соединений и препаратов сравнения зависит от модели гипоксии и дозы вещества (табл. 2).

Результаты изучения антигипоксического действия препаратов сравнения коррелируют с данными, полученными ранее [1—3].

Обсуждение

Антигипоксический эффект Zn (II) комплекса N-пропаргилимидазола (БИС-N) проявлялся на трех моделях острой гипоксии (ОГБГ, ОГГК, ОГГ) в диапазоне доз 1—100 мг/кг и составил 19—317% по сравнению с контролем. Подобный комплекс с 3-гидроксипиридином (БИС-3) в условиях острой экзотической гипоксии (ОГБГ и ОГГК) в диапазоне доз 25—100 мг/кг увеличивал время жизни опытных мышей на 27—16%.

Эти же комплексы, иммобилизованные на сульфатированном арабиногалактане (g-7 и g-8), в диапазоне доз 10—100 мг/кг не оказывали выраженного антигипоксического действия в условиях острой гипоксии.

Препарат сравнения этомерзол в дозе 100 мг/кг был эффективен при ОГБГ и ОГГК, увеличивая продолжи-

¹ Медицинские рекомендации по экспериментальному изучению препаратов, предлагаемых в качестве антигипоксических средств. Лукьянова Л.Д., ред. М., 1990; 18 с.

тельность жизни мышей на 57 и 32%, при ОГГ в дозах 25 и 50 мг/кг — на 25 и 43%, при ОГТГ в дозе 25 мг/кг — на 14% по сравнению с контрольными значениями. Мексидол при ОГГК и ОГГ в дозе 100 мг/кг удлинял время жизни животных на 23 и 14% соответственно. Нооглютил на моделях ОГБГ, ОГГК, ОГГ был эффективен в дозах 25, 50, 100 мг/кг, при введении которых время жизни мышей значимо увеличивалось на 16—74%. В условиях ОГТГ нооглютил давал защитный эффект в дозе 100 мг/кг, при введении которой продолжительность жизни подопытных животных была больше контрольных показателей на 20% ($p < 0,05$). Положительное действие гипоксена в диапазоне доз 50—150 мг/кг проявлялось на всех моделях гипоксии, в результате продолжительность жизни мышей повышалась на 12—167% по сравнению с таковой в контрольных группах животных ($p < 0,05$).

Заключение

Таким образом, металлокомплексы ацетата цинка, содержащие в качестве лигандов N-пропаргилимидазол и 3-гидроксипиридин, проявляют антигипоксическое действие, величина которого зависит от химической структуры соединения, введенной дозы и вида гипоксии. Защитный эффект БИС-N в условиях ОГБГ, ОГГК, ОГГ по широте активных доз и степени выраженности превосходит действие этомерзола, мексидола, нооглютила и гипоксена. БИС-3 проявлял активность в условиях острой экзогенной гипоксии (ОГБГ и ОГГК) с эффектом, превосходящим действие этомерзола и мексидола и сопоставимым с действием нооглютила и гипоксена. Имобилизованные на сульфатированном арабиногалактане комплексы БИС-N и БИС-3 были неэффективны.

Финансирование. Исследование не имело спонсорской поддержки.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

ЛИТЕРАТУРА

(п.п. 4—7, 9—12 см. REFERENCES)

1. Самойлов Н.Н., Катунина Н.П., Лебедева С.А., Одринский П.Н., Бабаниязова З.Х., Петухова Н.Ф. и др. Изучение антигипоксической активности новых производных имидазола на модели гипоксии с гиперкапнией. *Кубанский научный медицинский вестник*. 2009; (8): 62—5.
2. Стратиенко Е.Н., Богус С.К., Катунина Н.П., Свиридонова С.В., Егорова С.Е., Аверьянова С.А. и др. Изучение антигипоксической активности новых металлокомплексных соединений производных алкенилимидазола. *Кубанский научный медицинский вестник*. 2009; (8): 76—8.
3. Шахмарданова С.А., Галенко-Ярошевский П.А. *Металлокомплексы производные 1-алкенилимидазола. Антигипоксические свойства, механизмы действия, перспективы клинического применения*. Краснодар: Просвещение-Юг; 2015.
4. Марри Р., Греннер Д., Мейес П., Родуэлл В. *Биохимия человека*. Т. 1. М.: Мир; 2004.
5. Прасад А.С. Цинк для человека: терапевтическое действие и токсичность. *Вопросы биологической, медицинской и фармацевтической химии*. 2011; 9 (6): 9—13.
6. Байкалова Л.В., Тарасова О.А., Зырянова И.А., Афонин А.В., Синеговская Л.М., Трофимов Б.А. Металлокомплексы 1-алкенилимидазолов. *Журнал общей химии*. 2002; 72 (8): 1378—82.
7. Зырянова И.А., Байкалова Л.В., Тарасова О.А., Афонин А.В., Кухарева В.А., Максимова М.А. и др. Комплексные соединения на основе 1-изопропенилимидазолов и пиразола. *Журнал общей химии*. 2005; 75 (8): 1353—9.
8. Каркищенко Н.Н., Грачев С.В., ред. *Руководство по лабораторным животным и альтернативным моделям в биомедицинских исследованиях*. М.: Профиль-2С; 2010.
9. Арзамасцев Е.В., Гуськова Т.А., Березовская И.В., Любимов Б.И., Либерман С.С., Верстакова О.Л. Методические указания

по изучению общетоксического действия фармакологических веществ. В кн.: Хабриев Р.У., ред. *Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ*. М.: Медицина; 2005: 41—54.

10. Березовская И.В. Классификация химических веществ по параметрам острой токсичности при парентеральных способах введения. *Химико-фармацевтический журнал*. 2003; 37 (3): 32—4.

REFERENCES

1. Samoylov N.N., Katunina N.P., Lebedeva S.A., Odrinskiy P.N., Babaniyazova Z.Kh., Petukhova N.F. et al. The study of antihypoxic activity of new imidazol derived compositions on the model of acute hypoxia with hypercapnia. *Kubanskiy nauchnyy meditsinskiy vestnik*. 2009; (8): 62—5. (in Russian)
2. Stratienko E.N., Bogus S.K., Katunina N.P., Sviridonova S.V., Egorova S.E., Aver'yanova S.A. et al. The study of antihypoxic activity of new complex metal alkenylimidazol derived compositions. *Kubanskiy nauchnyy meditsinskiy vestnik*. 2009; (8): 76—8. (in Russian)
3. Shakhmardanova S.A., Galenko-Yaroshevskiy P.A. *Metal Complexes Derivatives of 1-alkenylimidazol. Antihypoxic Properties, Mechanism of Action, Prospects of Clinical Application [Metallokompleksnyye proizvodnyye 1-alkenylimidazola. Antigipoksicheskie svoystva, mekhanizmy deystviya, perspektivy klinicheskogo primeneniya]*. Krasnodar: Prosveshchenie-Yug; 2015. (in Russian)
4. Kelleher S.L., McCormick N.H., Velasquez V., Lopez V. Zinc in specialized secretory tissues: roles in the pancreas, prostate and mammary gland. *Adv. Nutr.* 2011; 2 (2): 101—11.
5. Malhotra A., Dhawan D.K. Current view of zinc as a hepatoprotective agent in conditions of chlorpyrifos induced toxicity. *Pestic. Biochem. Physiol.* 2014; 112: 1—6.
6. Klug A. The discovery of zinc fingers and their development for practical applications in gene regulation and genome manipulation. *Q. Rev. Biophys.* 2010; 43 (1): 1—21.
7. Brocard A., Dréno B. Innate immunity: a crucial target for zinc in the treatment of inflammatory dermatosis. *J. Eur. Acad. Dermatol. Venereol.* 2011; 25 (10): 1146—52.
8. Murray R.K., Granner D.K., Mayes P.A., Rodwell V.W. *Harper's Biochemistry*. Norwalk, Connecticut/San Mateo, California: Appleton & Lange; 1988.
9. Harada T., Koyama I., Matsunaga T., Kikuno A., Kasahara T., Hassimoto M. et al. Characterization of structural and catalytic differences in rat intestinal alkaline phosphatase isozymes. *FEBS J.* 2005; 272 (10): 2477—86.
10. Powell S.R. The antioxidant properties of zinc. *J. Nutr.* 2000; 130 (5S, Suppl.): 1447S—54S.
11. Prasad A.S. Zinc in humans: health disorders and therapeutic effects. *Mikroelementy v meditsine*. 2014; 15 (1): 3—12.
12. Thirumoorthy N., Manisenthil Kumar K.T., ShyamSundar A., Panayappan L., Chatterjee M. Metallothionein: an overview. *World J. Gastroenterol.* 2007; 13 (7): 993—6.
13. Prasad A.S. Zinc for humans: therapeutic impact and toxicity. *Voprosy biologicheskoy, meditsinskoy i farmatsevticheskoy khimii*. 2011; 9 (6): 9—13. (in Russian)
14. Baykalova L.V., Tarasova O.A., Zyryanova I.A., Aфонin A.V., Sinegovskaya L.M., Trofimov B.A. Metal complexes 1-alkenylimidazole. *Zhurnal obshchey khimii*. 2002; 72 (8): 1378—82. (in Russian)
15. Zyryanova I.A., Baykalova L.V., Tarasova O.A., Aфонin A.V., Kukhareva V.A., Maksimova M.A. et al. Complex compounds based on 1-isopropenylimidazole and pyrazole. *Zhurnal obshchey khimii*. 2005; 75 (8): 1353—9. (in Russian)
16. Karkishchenko N.N., Grachev S.V., eds. *Guidance on Laboratory Animals and Alternative Models in Biomedical Research [Rukovodstvo po laboratornym zivotnym i al'ternativnym modelyam v biomeditsinskikh issledovaniyakh]*. Moscow: Profil'-2S; 2010. (in Russian)
17. Arzamastsev E.V., Gus'kova T.A., Berезovskaya I.V., Lyubimov B.I., Liberman S.S., Verstakova O.L. Guidelines for the study of general toxic effect of pharmacological substances. In.: Khabriev R.U., ed. *Manual on Experimental (Preclinical) Study of New Pharmacological Substances [Rukovodstvo po eksperimental'nomu (doklinicheskomu) izucheniyu novykh farmakologicheskikh veshchestv]*. Moscow: Meditsina; 2005: 41—54. (in Russian)
18. Berезovskaya I.V. Classification of chemical substances in the parameters of acute toxicity by parenteral injection methods. *Khimiko-farmatsevticheskij zhurnal*. 2003; 37 (3): 32—4. (in Russian)