



УКРАЇНА

(19) **UA** (11) **43232** (13) **U**
(51) МПК (2009)
A61K 36/00МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ
І НАУКИ УКРАЇНИДЕРЖАВНИЙ ДЕПАРТАМЕНТ
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІ**ОПИС
ДО ПАТЕНТУ
НА КОРИСНУ МОДЕЛЬ**видається під
відповідальність
власника
патенту**(54) СПОСІБ КОРЕКЦІЇ ПРООКСИДАНТНОЇ СИСТЕМИ В НИРКАХ ПРИ ТОКСИЧНОМУ ГЕПАТИТІ**

1

(21) u200902057

(22) 10.03.2009

(24) 10.08.2009

(46) 10.08.2009, Бюл.№ 15, 2009 р.

(72) МАЦЬОПА ІННА ВОЛОДИМИРІВНА, МЕЩИ-
ШЕН ІВАН ФЕДОРОВИЧ(73) БУКОВИНСЬКИЙ ДЕРЖАВНИЙ МЕДИЧНИЙ
УНІВЕРСИТЕТ МОЗ УКРАЇНИ

2

(57) Спосіб корекції прооксидантної системи в нирках при токсичному гепатиті шляхом використання біооксидантів, який **відрізняється** тим, що після інтоксикації тетрахлорметаном проводять біохімічну оцінку прооксидантного стану нирок за вмістом окисномодифікованих білків та малонового альдегіду з наступною корекцією порушень шляхом застосування настоянки ехінацеї пурпурової та мелатоніну.

Корисна модель належить до біохімії та медицини і може бути використана для біохімічної діагностики та корекції порушень нирок, які беруть участь у дезінтоксикації та виведенні різних ксенобіотиків.

Біохімічна оцінка прооксидантного стану нирок з використанням різних методик дослідження тканини дозволяє зі значною достовірністю виявити ступінь відхилення біохімічних показників від значень норми досліджуваного органу, а також передбачити можливий кінець хвороби. Відомо, що вільнорадикальні процеси та ступінь їх інтенсифікації є одним з провідних патогенетичних факторів розвитку більшості патологій шлунково-кишкового тракту. В нормі генерація активних форм кисню та радикальних продуктів регулюється антиоксидантною системою (АОС). За умов патології порушується збалансоване співвідношення між активністю про- та антиоксидантних систем в бік виснаження останньої. Саме тому виникає необхідність пошуку засобів корекції порушень окиснювальних процесів організму. Такими засобами корекції є антиоксиданти. Антиоксиданти - це сполуки, які перешкоджають утворенню вільних радикалів та попереджують розвиток хвороб, які викликані пошкодженням структур організму вільними радикалами (Барабой В.А. Механизм антистрессового и противолучевого действия растительных фенольных соединений / Барабой В.А., Хомчук Ю.В. // Укр. биохим. журнал. - 1998. - Т.70, №6. - С.13-23.) До біоантиоксидантів належать речовини біогенного походження, які здатні при хімічній взаємодії гальмувати вільнорадикальне окиснення незалежно від механізму дії, але без

незворотної інактивації ферментних і генетичних систем.

Дослідження вираженості процесів пероксидації біомолекул (у даному випадку за вмістом окисно-модифікованих білків (ОМБ) та малонового альдегіду (МА) в тканині нирок може бути основним критерієм при виборі лікарських препаратів, визначенні способу їх прийому, терапевтичних доз та тривалості курсу лікування.

Аналогом став спосіб "Застосування настоянки арніки гірської як засобу корекції оксидантно-антиоксидантного гомеостазу" запропонований Мецишеним І.Ф., Тефтьєвою Н.Б., Яремій І.М. (Пат. 4656 Україна, МПК 7: А61К35/78 Застосування настоянки арніки гірської як засобу корекції оксидантно-антиоксидантного гомеостазу / Мецишен І.Ф., Тефтьєва Н.Б., Яремій І.М.; заявник та власник патенту Буковинський державний медичний університет. - №20040705684; заявл. 12.07.2004; опубл.17.01.2005. - Бюл. "Промислова власність" №1). Недоліком аналогу є те, що не досліджувалися біохімічні зміни у нирках при інтоксикації.

Прототипом корисної моделі є спосіб впливу тетрахлорметану на мембранні структури гепатоцитів та посилення процесів пероксидації біополімерів клітин, що порушує як структуру, так і функції печінки та корекція фітопрепаратами (Пат. 4655 Україна, МПК 7: А61К35/78 Застосування настоянки перстачу прямоостоячого як антиоксидантного засобу / Мецишен І.Ф., Тефтьєва Н.Б., Яремій І.М.; заявник та власник патенту Буковинський державний медичний університет. - №20040705650; заявл.12.07.2004;

(19) **UA** (11) **43232** (13) **U**

опубл.17.01.2005. - Бюл. "Промислова власність" №1).

В основу способу-прототипу покладено визначення вмісту прооксидантів та антиоксидантів в крові та печінці щурів за умов токсичного гепатиту.

Недоліком прототипу є те, що не вивчено процес впливу тетрахлорметану на перекисне окиснення. В той же час для оцінки збільшення окислювальної модифікації білків насправді найбільш принципово вияснити співвідношення між карбонільними та аміногрупами протеїнів у тканинах нирок. В прототипі досліджували лише кров та печінку. Недоліком вищезгаданого методу також є те, що спосіб-прототип для інших органів, окрім печінки, не апробований, тому може бути для них неадекватним.

Нами пропонується спосіб, який усуває вказані недоліки, тобто дозволяє провести біохімічний аналіз тканин нирок щурів і визначити вміст окисно-модифікованих білків та малонового альдегіду, а, отже, і судити про інтенсивність утворення активних форм кисню в даній тканині.

В основу корисної моделі поставлене завдання покращення прооксидантного стану тканин нирок при їх пошкодженні шляхом внутрішньошлункового введення тетрахлорметану щурам. Поставлена задача вирішується шляхом використання настоянки ехінацеї пурпурової та мелатоніну, згідно корисної моделі, які впливають на прооксидантний стан нирок щурів, який оцінювали за допомогою визначення вмісту окисномодифікованих білків в реакції з динітрофенілгідразином, з наступним виявленням останнього, та малонового альдегіду в реакції з тіобарбітуровою кислотою.

Спільними ознаками прототипу та корисної моделі, що пропонується є використання фітопрепарату при експериментальному пошкодженні органів щурів тетрахлорметаном.

Відмінність корисної моделі та прототипу полягає у визначенні вмісту окисно-модифікованих білків та малонового альдегіду для виявлення інтенсивності утворення активних форм кисню в нирках та їх корекція.

Таблиця

Ознаки	Прототип	Винахід
Експериментальна модель	Токсичний гепатит	Токсичний гепатит
Об'єкт дослідження	Печінка, кров	Нирки
Препарат	Настоянки перстачу прямостоячого	1 .Настоянка ехінацеї пурпурової 2.Мелатонін
Що досліджували	Прооксидантний та антиоксидантний стан печінки та крові	Прооксидантний стан нирок

Теретичною передумовою здійснення корисної моделі є експериментальна інтоксикація тетрахлорметаном, який є сильною гепатотропною отрутою за рахунок безпосереднього впливу на мембранні структури гепатоцитів та посилення процесів пероксидації біополімерів клітин, що порушує як структуру, так і функції печінки з послідовним вивченням прооксидантної системи нирок та корекцією мелатоніном, який є гормоном епіфізу, що синтезується з амінокислоти триптофану переважно у темновий період доби та проявляє виражені біоритморегуючі, а також прями і непрямі антиоксидантні властивості та настоянкою ехінацеї пурпурової.

Спосіб, що заявляється, здійснюється наступним чином. В 5% супернатантах нирок щурів, які готують на трис-НСІ буфері (рН=7,4) визначають вираженість процесів пероксидації біомолекул за вмістом окисно-модифікованих білків та малонового альдегіду після внутрішньошлункового введення (з добовим інтервалом) тетрахлорметану в дозі 0,25мл 50% олійного (оливкове масло) розчину на 100г маси тварини. На фоні інтоксикації тетрахлорметаном вводиться розчин мелатоніну ("Sigma", США) виготовлений на 0,9% розчині NaCl у дозі 3мг/кг маси тварини, інтрагастрально, у ранкові години (8.00) та настоянки ехінацеї пурпурової в дозі 0,25мл/кг маси тварини в той же час. Використання способу пояснюється конкретними прикладами.

Приклад використання способу №1. Отримано супернатанти нирок щурів, яких за 5 днів до початку

ку та впродовж всього експерименту утримували в умовах штучного освітлення з відношенням тривалості світлого та темного періодів (12 год світла : 12 год темряви). Для відтворення токсичного гепатиту (експериментальна модель патології мембран) вводили тетрахлорметан інтрагастрально дворазово (з добовим інтервалом) в дозі 0,25 мл 50 % олійного (оливкове масло) розчину на 100 г маси тварини. Паралельно була відібрана група тварин, які утримувались за таких же умов освітлення, без інтоксикації тетрахлорметаном. На шосту добу після останньої затравки проводили евтаназію контрольних та інтоксикованих тварин (декапітація під легкою інгаляційною ефірною анестезією). В 5% супернатантах нирок, які готують на трис-НСІ буфері (рН=7,4) визначають вміст окисно-модифікованих білків та малонового альдегіду.

В не інтоксикованій групі тварин вміст ОМБ становив - $24,8 \pm 1,07$ о.г./г.тканини, а в гепатитній - $32,9 \pm 1,21$ о.г./г.тканини. Поруч з цим, вміст МА - $43,2 \pm 1,46$ мкмоль/г.тканини, в нирках тварин з токсичним гепатитом - $61,6 \pm 2,76$ мкмоль/г.тканини.

Приклад використання способу №2. Отримані супернатанти нирок від двох груп тварин, яких утримували в умовах освітлення та моделювали гепатит за описаною вище методикою, а також від тварин третьої групи, яким на фоні токсичного гепатиту вводили розчин мелатоніну. Визначають вміст окисно-модифікованих білків та малонового альдегіду проводили як описано в прикладі №1. Визначено, що у групі тварин яким вводили мелатонін на фоні тетрахлорметанового токсичного

гепатиту знизився вміст ОМБ і становив - $26,6 \pm 1,60$ о.о.г./г.тканини, а МА на - $47,8 \pm 1,89$ мкмоль/г.тканини. Це свідчить про зменшення процесів пероксидації біополімерів, а також ще раз підтверджує потужні антиоксидантні можливості гормону пінеальної залози - мелатоніну. Також можна рекомендувати застосування даної речовини в комплексній терапії токсичних уражень нирок різного ґенезу.

Приклад використання способу №3. Отримані нирки тварин, яких утримували в умовах штучного освітлення (12 год світла : 12 год темряви) за 5 днів до та впродовж всього експерименту. Затравку тварин тетрахлорметаном провели за описаною вище методикою. На наступний день після останнього введення токсину тваринам впродовж наступних 5-ти діб внутрішньошлунково вводили настоянку ехінацеї пурпурової. Для порівняння використали тканину нирок тварин з токсичним гепатитом, яких утримували в попередньо описа-

них умовах експерименту. Після евтаназії тварин отримали зразки нирок, з яких готували 5% супернатанти на трис-НСІ буфері (7,4) В отриманому матеріалі визначають вміст окисно-модифікованих білків та малонового альдегіду проводили як описано в прикладі №1. Визначили, що застосування даного лікарського препарату знижує рівень окиснювальної модифікації білків до значення $27,1 \pm 1,43$ о.о.г./г.тканини, а малонового альдегіду - до $\pm 48,8 \pm 2,55$ мкмоль/г.тканини. Це ще раз засвідчує, що настоянка ехінацеї пурпурової володіє вираженими антиоксидантними властивостями і її п'ятиденне застосування є ефективним у лікуванні уражень даного органу.

Технічний результат: вищеописаний спосіб дозволяє визначити вміст окиснювальної модифікації білків та малонового альдегіду в нирках на фоні тетрахлорметанового токсичного гепатиту та корегувати показники за допомогою настоянки ехінацеї пурпурової та мелатоніну.