



УКРАЇНА

(19) UA (11) 46411 (13) A

(51) B 6 A61K38/55, A61B10/00

МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ
І НАУКИ УКРАЇНИДЕРЖАВНИЙ ДЕПАРТАМЕНТ
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІОПИС
ДО ДЕКЛАРАЦІЙНОГО ПАТЕНТУ
НА ВИНАХІДвидається під
відповідальність
власника
патенту

(54) СПОСІБ ЗАПОБІГАННЯ СТРЕСОВОЇ РЕАКЦІЇ ОРГАНІЗМУ

1

2

(21) 2001074838

(22) 10 07 2001

(24) 15 05 2002

(46) 15 05 2002, Бюл. № 5, 2002 р.

(72) Самохіна Любов Михайлівна, Самохін Андрій
Олександрович

(73) ІНСТИТУТ ТЕРАПІЇ АМН УКРАЇНИ

(57) Спосіб запобігання стресової реакції організму
шляхом введення антистресового препарату для

корекції активності протеїназ, який відрізняється тим, що як антистресовий препарат використовують кверцетин, корегують активність протеїназ пригніченням ферментів альтернативних шляхів утворення ангіотензину II, а саме хімази та тоніну, і судять про ефективність запобігання стресової реакції організму за рівнем хімази та/або тоніну

Винахід відноситься до галузі біохімії та може бути використаний в медицині та ветеринарії, зокрема для пригнічення активації альтернативних шляхів утворення вазопресорного пептиду ангіотензину II (All), профілактики виникнення серцево-судинних захворювань, контролю терапії алергічних і запальних процесів, гострого інфаркту міокарда, коронарного атеросклерозу, бронхіальної астми

Відомий спосіб запобігання стресової реакції організму (див. Патент України №18035А, МПК А61К37/64, А61В10/00 /Л.М. Самохіна, Н.Ф. Стародуб // Промислова власність. Офіц. бюлетень - 1994 - №1 - с. 15), - прототип, який полягає у введенні у організм антистресового препарату, у якості якого використовують α -1-інгібітор протеїназ (α -1-ІП) або його аналоги, наприклад трасипол. Препарат вводять безпосередньо після дії стресового фактору. Судять про ефективність дії препарату за рівнем протеїназ і α -1-ІП у крові. У цьому способі здійснюють запобігання стресової реакції організму шляхом корекції загальної активності протеїназ, а взагалі корегують дефіцит α -1-ІП, що виникає в результаті розвитку стресової реакції.

Недоліком відомого рішення є те, що у цьому способі не враховується активація ферментів альтернативних шляхів утворення вазопресорного пептиду АП, що виникає в результаті стресової реакції.

В основу винаходу поставлена задача розробки такого способу запобігання стресової реакції організму, у якому буде пригнічуватись активність ферментів альтернативних шляхів утворення ва-

зопресорного пептиду АП

Ця задача вирішується тим, що вводять антистресовий препарат для корекції активності протеїназ. У якості антистресового препарату використовують кверцетин. Корегують активність протеїназ пригніченням ферментів альтернативних шляхів утворення All, а саме хімази та тоніну. Судять про ефективність запобігання стресової реакції організму за рівнем хімази та/або тоніну.

Використання антистресорного препарату кверцетину (3,3',4,5,7-пентагідроксифлавонолу) обумовлено його антизапальними та антиоксидантними властивостями, тому що окислювальний стрес призводить до зростання утворення і вивільнення клітинами організму цитокінів/медіаторів запалення, а саме інтерлейкіну-1, фактору некрозу пухлин- α і молекул міжклітинної адгезії-1, вони підвищують проникність судин і служать хемоатрантантами лейкоцитів. Більшу частину лейкоцитів становлять нейтрофіли, котрі при активації утворюють супероксид-аніони, що генерують такі токсичні похідні, як перекис водню, гідроксиперекис, хлораміни, гіпохлорна кислота, а також сприяють вивільненню протеїназ, таких як еластаза, колагеназа, протеїназа 3 і катепсину G, що є одним з ферментів альтернативних шляхів утворення All.

Вибір критерію ефективності запобігання стресової реакції рівня хімази обумовлено тим, що хімаза - один з основних ферментів альтернативного, незалежного від ангіотензинперетворюючого ферменту, шляху утворення вазоконстрикторного пептиду AI із All у серці людини, і є хемотаксичним

(19) UA (11) 46411 (13) A

чинником для нейтрофілів та інших клітин, які приймають участь у розвитку запальних процесів. Крім того, активація альтернативного шляху може спостерігатися в результаті навантаження, стресу, а серед ефектів АІІ - збільшення окислювального стресу.

Вибір критерію ефективності препарату рівня тоніну обумовлено тим, що в альтернативному шляху утворення АІІ також бере участь тонін, який каталізує (як і катепсин G) розщеплення не тільки АІ, але й ангіотензиногену. Перевага вибору між катепсином G і тоніном саме за тоніном обумовлена наявністю у катепсину G властивостей, які не мають відношення до утворення АП.

Вибір критерію ефективності препарату або рівня хімази, або тоніну обумовлено тим, що хімаза щурів, також собак, кроликів і мишей має меншу локальну активність у порівнянні з хімазою людини, крім того, хімаза утворює АІІ із АІ у людей, приматів, собак, тоді як у щурів і мишей вона розщеплює АІІ, тим самим підвищення активності тоніну на фоні відсутності змін рівня хімази свідчить про локальну активацію альтернативного шляху утворення АІІ.

Дослідження по запропонованому способу проведені в Інституті терапії АМН України, які показали що введення в організм кверцетину в дозі 100мг на 100г ваги експериментальним тваринам порівняно з дією α -токоферолу, пентоксифіліну за умов окислювального стресу запобігає активації альтернативних шляхів утворення АІІ.

Відтвореність - ступінь вірогідності відмінностей не перевищує 5%.

Запропонований спосіб здійснюють у такий послідовності:

1. Вводять антистресовий препарат, а саме кверцетин Борщаговського хімфармкомбінату внутрішньочеревинно в дозі 100мг на 100г ваги експериментальних тварин або людям, які часто зазнають нервових подразнень, з імуноопічними порушеннями чи хворим на серцево-судинну хворобу (з підвищеною активністю альтернативних шляхів утворення АП) у фармакопейно прийнятих дозах.

2. Судять про ефективність запобігання стресової реакції організму за рівнем хімази та/або тоніну, які визначають у біологічному матеріалі (сироватка крові, гомогенати тканин щурів та інш., останні попередньо центрифугують 10хв при 5000g на центрифугі типу PC-6 при 4°C і зберігають при необхідності за умов -20°C до аналізу). Визначення рівнів хімази та/або тоніну проводять відомим методом, наприклад згідно Пат. України № 34208 А або 32131 А, Заявки на винахід № 2000031815 від 31.03.2000 р., позитивне рішення від 19.01.2001 р. Відповідність активності хімази та/або тоніну нормальним значенням свідчить про відсутність активації альтернативних шляхів утворення АІІ і таким чином, про запобігання розвитку стресової реакції організму.

Можливість здійснення запропонованого способу підтверджується прикладами.

Приклад 1. Запобігання стресової реакції організму щурів за умов окислювального стресу, що викликано введенням хлориду кобальту.

Одній групі тварин вводили хлорид кобальту

($\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$) у дозі 3мг на 100г ваги тіла.

Згідно винаходу, другій групі за 2 год до ін'єкції хлориду кобальту вводили кверцетин Борщаговського хімфармкомбінату у дозі 100мг на 100г ваги тіла.

Контрольній групі тварин вводили фізіологічний розчин у відповідній дозі.

Щурів декапітували через 2 год після ін'єкції хлориду кобальту. Печінку перфузували охолодженим фізіологічним розчином. Тканини легень, серця, печінки і нирок (300мг) гомогенізували в 3мл Na-фосфатного буферу pH 7,4 - 7,6 при 4 - 6°C. Отримані гомогенати центрифугували 10хв при 5000g на центрифугі PC-6 при 4°C. Зберігали при -20°C до аналізу.

Досліджували ефективність запобігання стресової реакції за рівнем хімази та/або тоніну, який визначали відомим методом, наприклад згідно Пат. України № 34208 А, 32131 А, Заявки на винахід № 2000031815 від 31.03.2000 р.

Результати дослідження:

Активність хімази становить

- за умов введення хлориду кобальту

у легенях - 13,6% ($8,41 \pm 2,28$ у контролі),

у серці - 10,87% ($7,84 \pm 3,04$ у контролі),

у печінці - 12,08% ($9,01 \pm 3,08$ у контролі),

у нирках - 23,5% - значно зростає ($12,57 \pm 4,25$ у контролі),

- за умов попереднього введення кверцетину

у легенях - 6,72%,

у серці - 7,32%,

у печінці - 11,25%,

у нирках - 13,3% - наближається до норми,

Активність тоніну становить

- за умов введення хлориду кобальту

у легенях - 13,5% - не змінюється ($16,87 \pm 3,43$ у контролі),

у серці - 14,96% - зростає ($9,45 \pm 2,46$ у контролі),

у печінці - 15,79% - зростає ($7,46 \pm 2,62$ у контролі),

у нирках - 9,61% - не змінюється ($11,78 \pm 3,85$ у контролі),

- за умов попереднього введення кверцетину

у легенях - 6,72%,

у серці - 7,32% - нормалізується,

у печінці - 11,25% - наближається до норми,

у нирках - 13,3%.

Рівень хімази та тоніну за умов введення кверцетину відповідає нормальним значенням, що свідчить про запобігання розвитку стресової реакції організму, а саме активації альтернативних шляхів утворення АІІ.

Приклад 2. Запобігання стресової реакції організму у людей за умов дії нервових стимулів.

Згідно винаходу, людині, яка скаржиться на часті нервові збудження та розлад, вводили кверцетин Борщаговського хімфармкомбінату у фармакопейно прийнятих дозах (Для кращої впевненості у необхідності використання запропонованого способу до призначення кверцетину проводять визначення рівня хімази та/або тоніну у сироватці крові).

Досліджували ефективність запобігання стресової реакції за рівнем хімази та/або тоніну, який визначали відомим методом, наприклад згідно

Пат. України № 34208 А, 32131 А, Заявки на винахід № 2000031815 від 31.03.2000 р.

Результати дослідження

Активність хімази становить - 1,6%, що відповідає нормальному значенню ($1,13 \pm 0,52$ у контролі),

Активність тоніну становить - 5,1%, що близько до нормального значення ($3,22 \pm 1,21$ у контролі).

Вказані приклади підтверджують можливість запобігання стресовій реакції організму, що поля-

гає у пригніченні активації альтернативних шляхів утворення АІІ, і оцінки ефективності використання в якості антистресового препарату кверцетину за рівнем хімази та/або тоніну.

Використання запропонованого способу в медичній практиці дозволяє забезпечити пригнічення активності ферментів альтернативних шляхів утворення АІІ, сприяє профілактиці розвитку патологічного стану організму.

ДП «Український інститут промислової власності» (Укрпатент)

вул. Сим'ї Хохлових, 15, м. Київ, 04119, Україна

(044) 456 – 20 – 90

ТОВ «Міжнародний науковий комітет»

вул. Артема, 77, м. Київ, 04050, Україна

(044) 216 – 32 – 71