



УКРАЇНА

(19) UA (11) 39228 (13) C2

(51) 7 A61K33/30, A61K31/197,
A61K31/355, A61K31/455,
A61K31/51, A61P3/02МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ
І НАУКИ УКРАЇНИДЕРЖАВНИЙ ДЕПАРТАМЕНТ
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІОПИС
ДО ПАТЕНТУ НА ВИНАХІД

(54) ПРЕПАРАТ ДЛЯ ПІДВИЩЕННЯ ЖИТТЄСТІЙКОСТІ ОРГАНІЗМУ

(21) 98073888

(22) 17.07.1998

(24) 15.06.2001

(46) 15.06.2001, Бюл. № 5, 2001 р.

(72) Донченко Георгій Вікторович, Пархоменко
Юлія Михайлівна, Протасова Зоя Степанівна, Ко-
валенко Валентина Миколаївна, Даневич Олек-
сандр Ілліч, Кожакіна Інга Петрівна, Черниш Ірина
Юріївна, Федосеева-Бородіна Лариса Олек-
сандрівна(73) ІНСТИТУТ БІОХІМІЇ ІМ. О.В.ПАЛЛАДІНА НАН
УКРАЇНИ(56) 1. DE, 3542309, A61K 31/355, 31/375, 31/44,
02.08.1989.

2. WO, 9533486, A61K45/06, 14.12.1995.

3. WO, 9617584, A61K7/06, 13.06.1996.

4. Машковский М.Д. "Лекарственные средства",
ч. 2. – Москва, "Медицина", 1993, с. 48, 113–114.(57) Препарат для підвищення життєстійкості ор-
ганізму, який містить вітаміни Е, В₁ (як
тіамінхлорид або тіамінбромід), РР (як нікотинамід,
нікотинова кислота або інша його похідна) і
метіонін, який **відрізняється** тим, що додатково
містить цинк у вигляді хлористої, сірчаноокислої
або оцтовокислої солі при такому співвідношенні
компонентів, мас. % :

Вітамін Е (альфа- токоферолацетат)	2,25-2,75
Вітамін РР (нікотинамід, нікотинова кислота або інша його похідна)	0,15-0,30
Вітамін В ₁ (тіамінхлорид або тіамінбромід)	0,20-0,40
Сіль цинку (цинк хлористий, оцтовокислий або сірчаноокислий)	0,008-0,012
Метіонін	Решта

Винахід відноситься до хіміко-фармацевтичної промисловості, а саме до лікарських препаратів, що впливають переважно на процеси тканинного обміну.

Розширення та ускладнення сфери діяльності людини все частіше призводить до виникнення ситуацій (стреси, використання синтетичних та неякісних продуктів харчування, дефіцит білків в раціоні людей, поширене використання ліків і, насамперед, катастрофічне зростання забруднення навколишнього середовища), що сприяють зростанню "стертих", важко ідентифікованих форм вітамінної недостатності. Наслідком є порушення клітинного метаболізму, ослаблення імунної системи, порушення процесів біосинтезу біологічно активних сполук, зниження процесів детоксикації чужерідних сполук і накопичення в тканинах гідроліпо-перекисей.

Але введення у раціон людини того чи іншого вітаміну або повного набору усіх вітамінів не завжди може скорегувати порушені ланки обміну. Навіть при достатньому надходженні вітаміну в організм нестача в тканинах білку, що приймає участь у його транспортуванні, або порушення процесів перетворення вітаміну на біологічно ак-

тивні похідні можуть мати такий же наслідок для організму, як і нестача вітаміну.

Серед препаратів, призначених для корекції та активації тканинного метаболізму, відомі препарати, до складу яких входять вітаміни і амінокислоти, вітаміни і мікроелементи. За прототип взято відомий препарат "Декамевіт", до складу якого входить комплекс вітамінів і метіонін (Див. Машковский М.Д. Лекарственные средства, часть I. – Москва: Медицина. – 1997. – С. 513) та препарат "Метіонін" (Див. Там же, часть II. – С. 54).

Препарат "Декамевіт" випускається у вигляді таблеток, покритих оболонкою, які містять: ретинол (вітамін А) – 0,002 г (6600 МО), вітамін Е (токоферол ацетат) – 0,01 г, тіамін хлорид (бромід) – 0,02 г (0,0258 г), вітамін В₂ (рибофлавін – 0,01 г), вітамін В₆ (піридоксин хлорид – 0,02 г), вітамін В₁₂ (ціанкобаламін) – 0,0001 г, вітамін С (аскорбінова кислота) – 0,2 г, фолієва кислота – 0,002 г, вітамін РР (нікотинамід) – 0,05 г, вітамін Р (рутін) – 0,02 г, метіонін – 0,2 г.

Він досить складний за вмістом. Принцип дії – компенсація вітамінної недостатності по 10 основним вітамінам і метіоніну. Не враховуються конкурентні співвідношення між вітамінами на рівні

транспортних та ферментних систем і необхідність активації процесів перетворення вітамінів, що поступають в організм з препаратом, на їх біологічно активні похідні.

Препарат "Метіонін", який використовується для активації процесів детоксикації, не компенсує порушень в обміні вітамінів.

В основі ідеї створення даного медичного препарату лежать багаторічні фундаментальні дослідження регулюючого впливу вітамінів і коферментів на ключові реакції клітинного обміну, які показали, зокрема, підвищення синтезу глутатіону із метіоніну під впливом вітаміну Е та активацію в цих умовах декількох біохімічних реакцій (Штутман Ц.М. и др. Витамины. вып. 8, К.: Наукова думка, 1975). Природний пептид глутатіон є вузловою сполукою в обміні речовин. Оскільки лімітуючими ланками в його біосинтезі є реакції транссульфування та трансметилування, для стабілізації клітинного обміну важливим було підібрати умови для їх активації.

Завданням винаходу є створення комплексного лікарського засобу, призначеного для стабілізації найбільш уразливих ланок клітинного метаболізму, інтенсифікації тканинного обміну, зокрема процесів детоксикації чужерідних сполук, завдяки активації процесів транссульфування та трансметилування. Завдання вирішується шляхом введення до складу препарату разом з метіоніном декількох сполук, а саме, вітамінів Е, РР, В₁ та солі цинку в таких співвідношеннях (мас.%):

Вітамін Е (альфа-токоферолцетат)	2,25–2,75
Вітамін РР (нікотинамід, нікотина кислота або інше його похідне)	0,15–0,30
Вітамін В ₁ (тіамінхлорид або тіамінбромід)	0,20–0,40
Сіль цинку (цинк хлористий, оцтовокислий або сульфат)	0,008–0,012
Метіонін	Залишок.

Препарат містить п'ять компонентів, діючих синергічно на вузькі ланки клітинного метаболізму і активуючих клітинний обмін таким чином, що підвищується ефективність перетворення метіоніну по шляху транссульфування і трансметилування, підвищується синтез глутатіону, синтез біологічно активних форм вітамінів як тих, що входять до його складу, так і інших ендогенних вітамінів, що містяться в тканинах, а також підвищується засвоєння екзогенних вітамінів із шлунку за рахунок активації транспортних систем.

Ефективність різних композицій препарату перевірялась на трьох моделях: гіпоксична гіпоксія, фізичне навантаження і отруєння парацетамолом (ПАА). Було виготовлено 6 композицій препарату, що заявляється. Для одержання порівняльних даних випробували також дію препарату "Декамет" (прототип в дослідках на першій та другій моделях) та препарату "Метіонін" (прототип в останній моделі). Склад композицій приведено в табл. 1.

В першій серії дослідів аналізували зміни активності декількох ферментів системи антиоксидантного захисту організму та термін виживання щурів в умовах гіпоксичної гіпоксії (підняти на умовну висоту 11 тис. м над рівнем моря, тиск –

230 мм рт. стовбця, після введення тваринам препаратів протягом 7 днів і підняти їх на умовну висоту 9 тис. м над рівнем моря за допомогою барокамери.

Щурів масою 120–150 г поділяли на 8 груп по 8 осіб в кожній (табл. 2):

Група 1. Щури утримувались на раціоні віварію, протягом 7 днів до підняття на умовну висоту їм за допомогою зонду *per os* вводили фізрозчин (контроль).

Група 2. Щури утримувались на раціоні віварію, протягом 7 днів до підняття на умовну висоту тваринам за допомогою зонду *per os* вводили у фізрозчин суспензію розтертого препарату "Декамет" (Прототип 1).

Групи 3, 4, 5, 6, 7, 8. Щури утримувались на дієті віварію, протягом 7 днів до підняття на умовну висоту їм за допомогою зонду *per os* вводили у фізрозчин суспензію композицій компонентів препарату за № 3, 4, 5, 6, 7, 8, відповідно.

Аналізували активність супероксиддисмугази, каталази, глутатіонредуктази і вміст малонового діальдегіду у цитоплазматичній фракції клітин мозку та термін виживання тварин. Дані випробування приведені в табл. 2.

Як свідчать дані, приведені в таблиці 2, введення щурам композицій препарату № 5 (склад, мас.%: метіонін – 97,392, вітамін В₁ – 0,20, вітамін Е – 2,25, вітамін РР – 0,15, цинк хлористий – 0,008), № 6 (склад, мас.%: метіонін – 96,538, вітамін В₁ – 0,40, вітамін Е – 2,75, вітамін РР – 0,30, цинк сірчанокислий – 0,012) та № 7 (склад, мас.%: метіонін – 96,97, вітамін В₁ – 0,30, вітамін Е – 2,50, вітамін РР – 0,22, цинк сірчанокислий – 0,010) дає найкращий ефект майже по всім дослідженим в даній серії показникам: підвищується активність ферментів антиоксидантного захисту (СОД та КАТ), знижується вміст продукту переокислення – МДА. Всі вищевказані зміни сприяють підвищенню терміну виживання тварин в умовах гіпоксії майже в 1,5 рази.

В другій серії досліджували актопротекторну дію препарату. Щурів вагою 120–150 г ділили на 7 груп по 6 тварин в кожній. Препарати вводили внутрішньошлунково в дозі 50 мг/кг по метіоніну в 1,5% розчині крохмалю, контрольній групі тварин вводиться відповідний об'єм 1,5% розчину крохмалю. Препарат вводився протягом 7 днів. Актопротекторні властивості комбінацій препарату вивчали на апараті "третбан". Білих мишей попередньо тренували на третбані. Тренування проводили двічі з інтервалом два дні по 30 хвилин перед контрольним примусовим забігом. Закінченням забігу вважали неможливість миші бігти, коли її викидало з третбану. Швидкість руху третбану під час контрольного забігу:

Час бігу з	0 по 2 хв.	0,7 км/год
	2–5 хв.	1,0 км/год
	5–60 хв.	1,5 км/год
	60–65 хв.	1,6 км/год
	вище 65 хв.	1,7 км/год

Група 1. Щури утримувались на раціоні віварію, протягом 7 днів до початку випробування їм вводили внутрішньошлунково за допомогою зонду 1,5% розчин крохмалю (контроль).

Група 2. Щури утримувались на раціоні віварію, протягом 7 днів до початку випробування

їм вводили внутрішньошлунково за допомогою зонду суспензію розтертого Декамевіту у 1,5% розчині крохмалю із розрахунку 70 мг на 1 кг маси (по метіоніну – 50 мг на 1 кг маси) табл. 1 композиція № 2 (Прототип 1).

Групи 3, 4, 5, 6, 7. Щури утримувались на раціоні віварію, протягом 7 днів до початку випробування їм вводили внутрішньошлунково за допомогою зонду суспензію суміші вітаміну Е, вітаміну РР, вітаміну В₁, солі цинку та метіонін у 1,5% розчині крохмалю у співвідношенні вказаному, відповідно, для композиції № 3, 4, 5, 6, 7 у таблиці 1.

Аналізували термін утримання миші на третій бані, що визначалось як "Тривалість контрольного забігу".

Як свідчать дані, наведені в таблиці 3, по середнім даним найвищий протекторний ефект мають композиції № 5 (склад, мас. %: метіонін – 97,392, вітамін В₁ – 0,20, вітамін Е – 2,25, вітамін РР – 0,15, цинк хлористий – 0,008), № 6 (склад, мас. %: метіонін – 96,538, вітамін В₁ – 0,40, вітамін Е – 2,75, вітамін РР – 0,30, цинк сірчаноокислий – 0,012) та № 7 (склад, мас. %: метіонін – 96,97, вітамін В₁ – 0,30, вітамін Е – 2,50, вітамін РР – 0,22, цинк сірчаноокислий – 0,010). Саме при цих співвідношеннях компонентів спостерігалась максимальна активація ферментів системи антиоксидантного захисту, приймаючих участь у детоксикації ендогенних гідро- та ліпо-перекисей, що накопичуються в процесі фізичної роботи. Наслідком є підвищення працездатності тварин.

В третій серії визначали детоксикуючу ефективність означених варіантів препарату та прототипу (Декамевіт) при експериментальному отруєнні білих мишей тетрахлорметаном (CCl₄), який вводили одноразово перорально (через зонд) в середній летальній дозі (50 мг/кг) у вигляді 50%-ного олійного розчину в об'ємі 0,2 мл/20 г маси тіла. В цій серії дослідів використано 7 груп мишей по 6 в кожній, яким за 30 хв. до та через 1 год. після введення CCl₄ перорально вводили варіанти препарату.

Група 1. Мишам, які утримувались на раціоні віварію, за допомогою зонду за 30 хв. до та через 1 год. після введення CCl₄ перорально вводили 2%-ний розчин крохмалю з розрахунку 0,3 мл/кг маси тіла мишей, табл. 4, колонка 2 (контроль).

Група 2. Мишам, які утримувались на раціоні віварію, за допомогою зонду за 30 хв. до та через 1 год. після введення CCl₄ перорально вводили суспензію Декамевіту у 2%-ному розчині крохмалю із розрахунку 50 мг/кг маси тіла, табл. 4, колонка 3 (прототип).

Групи 3, 4, 5, 6, 7. Мишам, які утримувались на раціоні віварію, за допомогою зонду за 30 хв. до та через 1 год. після введення CCl₄ перорально вводили суспензію суміші вітамінів Е, РР, (як нікотина кислота), вітаміну В₁, цинку сірчаноокислого

та метіоніну у 2%-ному розчині крохмалю у співвідношенні, вказаному в табл. 1 для композицій № 4, 5, 6, 7, 8. Дані приведені в табл. 4.

Дані табл. 4 свідчать, що при введенні препаратів у варіантах, вказаних в табл. 1 за № 5 (склад, мас. %: метіонін – 97,392; вітамін В₁ – 0,20; вітамін Е – 2,25; вітамін РР – 0,15; цинк хлористий – 0,008); № 6 (склад, мас. %: метіонін – 96,538, вітамін В₁ – 0,40, вітамін Е – 2,75, вітамін РР – 0,30, цинк сірчаноокислий – 0,012) та № 7 (склад, мас. %: метіонін – 96,97; вітамін В₁ – 0,30; вітамін Е – 2,5; вітамін РР – 0,22; цинк сірчаноокислий – 0,010) збільшується процент виживаємості мишей, отруєних CCl₄ у всіх групах відповідно цього ж показника у групі тварин, яким вводили прототип (Декамевіт). Відомо, що в детоксикації тетрахлорметану, важливу роль відіграє глутатіон, відповідальний за процеси кон'югації та виведення з організму токсичних метаболітів та продуктів активації перекисного окислення ліпідів. Саме вплив композицій №№ 5–7 зумовлює активацію реакцій трансметилування з утворенням глутатіону і сприяє зменшенню токсичної дії тетрахлорметану на експериментальних тварин.

Слід відмітити, що при виключенні солі цинку із складу препарату при оптимальному співвідношенні інших компонентів (композиція № 8, склад, мас. %: метіонін – 96,98, вітамін В₁ – 0,30, вітамін Е – 2,50, вітамін РР – 0,22) показники ефективності препарату дещо нижче. Це видно із даних таблиці 2: в групі щурів, які одержували композицію № 8 активність СОД нижче, а вміст МДА підвищений відповідно групи, яка одержувала композицію № 7 (склад, мас. %: метіонін – 96,97, вітамін В₁ – 0,30, вітамін Е – 2,50, вітамін РР – 0,22, цинк сірчаноокислий – 0,10), що взагалі приводить до зниження терміну виживання тварин в умовах гіпоксії. Необхідність введення до композиції цинку підтверджується і даними таблиці 4: при виключенні солі цинку із складу препарату (група тварин 7, композиція № 8) спостерігається відносно більша загибель тварин при отруєнні тетрахлорметаном.

Дані таблиць 3–4 свідчать, що при співвідношенні складових компонентів в препараті в межах, вказаних в формулі винаходу, композиція дає хороший ефект. При вмісті компонентів в кількостях вище меж, вказаних у формулі, ефективність композиції далі не збільшується, а при вмісті компонентів в кількостях нижче вказаних меж ефективність композиції вірогідно знижується. При використанні масляної форми вітаміну Е для його солюбілізації при приготуванні розчину вітамінів, яким імпрегнується метіонін, або готових форм препарату у вигляді розчинів, зокрема, водних, використовується солюбілізатор, наприклад – ТвінХ80. У разі використання сипучого препарату вітаміну Е немає необхідності в цьому компоненті для виготовлення готових форм: таблетки з плівчатим покриттям, капсули, драже.

Таблиця 1

№ композиції	Склад композиції, ваг. %							
	Декамет	Метіонін	Вітамін В ₁	Вітамін Е	Вітамін РР		Цинк	
					нікотинамід	нікотинова кислота	сірчано-кислий	хлористий
1	100	–	–	–	–	–	–	–
2	–	100	–	–	–	–	–	–
3	–	97,946	0,15	1,8	–	0,10	0,004	–
4	–	95,88	0,50	3,2	0,40	–	–	0,020
5	–	97,392	0,20	2,25	–	0,15	–	0,008
6	–	96,538	0,40	2,75	0,30	–	0,012	–
7	–	96,97	0,30	2,50	0,22	–	0,010	–
8	–	96,98	0,30	2,50	0,22	–	–	–

Таблиця 2

Активність супероксиддисмутази (СОД, од. за хв. на 1 мг Н, норма – $79,6 \pm 2,1$), каталази (КАТ, мкмоль за хв. на 1 мг білку, норма – $85,5 \pm 4,2$) і вміст малонового діальдегіду (МДА, мкмоль на 1 мг білку, норма – $0,6 \pm 0,1$ в цитоплазматичній фракції мозку. Знаком * відзначено показник, що вірогідно відрізняється від такого ж для групи прототипу

№ композиції	Досліджувані параметри			
	Активність СОД	Активність КАТ	Вміст МДА	Термін виживання, хв
1 (контроль)	15,2 \pm 1,1	58,6 \pm 3,0	2,7 \pm 0,2	23,0 \pm 1,5
2 (Декамет)	44,1 \pm 3,2	68,7 \pm 3,1	1,8 \pm 0,2	30,2 \pm 1,9
3	49,8 \pm 5,1	68,4 \pm 2,9	1,6 \pm 0,2	32,4 \pm 1,4
4	53,7 \pm 3,9	72,9 \pm 2,7	1,7 \pm 0,1	33,0 \pm 1,5
5	68,7 \pm 5,0*	79,8 \pm 2,5*	1,3 \pm 0,1	35,0 \pm 1,3*
6	72,0 \pm 4,7*	80,3 \pm 3,2*	1,1 \pm 0,1*	35,8 \pm 2,0
7	75,2 \pm 3,5*	83,2 \pm 2,1*	0,9 \pm 0,1*	36,0 \pm 2,1*
8	65,3 \pm 4,8	79,5 \pm 3,8*	1,6 \pm 0,3	34,2 \pm 1,8

Таблиця 3

Тривалість контрольного забігу, хвилини

№№	№ групи						
	1 (контроль)	2 (прототип)	3	4	5	6	7
1	31,47	72,43	87,87	82,12	92,16	91,89	94,17
2	31,87	68,91	92,47	91,40	118,31	116,23	117,12
3	73,57	81,50	105,00	99,17	119,89	119,11	120,24
4	75,67	89,63	98,18	92,25	121,75	119,81	120,90
5	87,62	95,71	110,40	108,76	128,69	132,17	130,50
6	95,62	108,25	119,8	115,35	141,00	139,98	140,78
M \pm	65,97	86,07	102,45	98,18	120,30	119,86	120,60
	\pm 25,34	\pm 13,53	\pm 10,80	\pm 11,16	\pm 14,70	\pm 15,01	\pm 14,24

Вживаємість мишей при отруєнні CCl_4 та лікувально-профілактичному введенні різних варіантів нового препарату та прототипу

Показник	Групи						
	1 контроль	2 прототип	3	4	5	6	7
Загибло (всього в групі)	4/6	4/6	3/6	2/6	2/6	1/6	3/6
Вживаємість, %	66,7	66,7	50	33,3	33,3	16,7	50

Тираж 50 екз.

Відкрите акціонерне товариство «Патент»
Україна, 88000, м. Ужгород, вул. Гагаріна, 101
(03122) 3 – 72 – 89 (03122) 2 – 57 – 03
