



УКРАЇНА

(19) **UA** (11) **139300** (13) **U**
(51) МПК (2019.01)
A61K 31/00
A61P 3/10 (2006.01)

МІНІСТЕРСТВО РОЗВИТКУ
ЕКОНОМІКИ, ТОРГІВЛІ ТА
СІЛЬСЬКОГО ГОСПОДАРСТВА
УКРАЇНИ

(12) ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА КОРИСНУ МОДЕЛЬ

(21) Номер заявки: u 2019 07079	(72) Винахідник(и): Климець Галина Володимирівна (UA), Сушко Ольга Олександрівна (UA), Іскра Руслана Ярославівна (UA)
(22) Дата подання заявки: 25.06.2019	(73) Власник(и): ІНСТИТУТ БІОЛОГІЇ ТВАРИН НААН, вул. В. Стуса, 38, м. Львів-34, 79034 (UA)
(24) Дата, з якої є чинними права на корисну модель: 26.12.2019	
(46) Публікація відомостей про видачу патенту: 26.12.2019, Бюл.№ 24	

(54) СПОСІБ КОРЕКЦІЇ МЕТАБОЛІЧНИХ ПРОЦЕСІВ В ОРГАНІЗМІ ЗА ЦУКРОВОГО ДІАБЕТУ

(57) Реферат:

Спосіб корекції метаболічних процесів в організмі за цукрового діабету включає введення речовини із антиоксидантною та гіпоглікемічною дією. Додатково призначають біологічно активну добавку, як органічну сполуку - цитрат ванадію, синтезованого нанотехнологічним методом для нормалізації рівня глюкози, корекції вуглеводного обміну та стабілізації системи антиоксидантного захисту в організмі.

UA 139300 U

Корисна модель належить до біології, фізіології, біохімії та медицини, а саме - ендокринології, зокрема стосується способів корекції метаболізму в організмі за цукрового діабету.

5 Відомий спосіб використання препаратів для мінімізації ушкоджень органів і систем в організмі пацієнта, що страждає на цукровий діабет (патент № US 070196512A1 від 23.08.2007р. Fine S.A., Kinsella K.J. "Combinations of vanadium with antidiabetics for glucose metabolism disorders /Сполуки ванадію та антидіабетичні агенти, які використовують при розладах метаболізму глюкози").

10 Відомий спосіб для лікування і попередження розвитку цукрового діабету (патент №US 2008/0227809A1 від 18.09.2008р Exposito M.R., Clauzel L.M., Marti A.A., Vicente S.G., Ymbert X.T., Olarte A.Z., Prieto M.P., Palomera F.A., Font F.Y., Mian A. "Arylalkylamine vanadium (v) salts for the treatment and/or prevention of diabetes mellitus / Солі арилалкіламінванадію для лікування і/або профілактики цукрового діабету").

15 Недоліками вищенаведених способів є потреба у дороговартісному обладнанні та реактивах, необхідність таких навичок і вмінь від фахівця, як диспергування компонента в полімерній матриці або гелі, надання кристалічної форми речовині, створення ін'єкційних депо формуванням мікрокапсульних компонентів із полімерів та ін.

20 Також відомий "Спосіб профілактики цукрового діабету та його ускладнень" (патент України № 100403 від 27.07.2015 Сибірна Н.О., Бурда В.А., Люта М.Я.). Одним з недоліків цього способу є ін'єкційне внутрішньом'язове введення препарату агматину.

25 Найближчий аналогом є "Спосіб профілактики цукрового діабету та його ускладнень" (патент № 27600 від 12.11.2007 Федорович А.М., Сибірна Н.О., Бурда В.А.). Недоліком цього способу є щодобове 14-денне ін'єкційне введення препарату, як додатковий стресовий чинник для дослідних тварин.

В основі корисної моделі поставлена задача - удосконалити спосіб профілактики та лікування цукрового діабету, його розвитку та виникнення можливих ускладнень, завдяки призначенню біологічно-активної добавки, що сприяє корекції та мінімізації ускладнень, викликаних цукровим діабетом.

30 Поставлена задача вирішується тим, що спосіб корекції метаболічних процесів в організмі за цукрового діабету, який включає введення речовини із антиоксидантною та гіпоглікемічною дією, згідно з корисною моделлю, додатково призначають біологічно активну добавку, як органічну сполуку - цитрат ванадію, синтезованого нанотехнологічним методом для нормалізації рівня глюкози, корекції вуглеводного обміну та стабілізації системи антиоксидантного захисту в організмі.

35 До раціону щурів із алоксановим діабетом додають розчин цитрату ванадію у різних концентраціях 0,125, 0,5 і 2,0 мкг V/мл води. Ванадій має виражену нормоглікемічну дію, забезпечує корекцію активності показників вуглеводного обміну і стану антиоксидантної системи захисту за цукрового діабету. Цей мікроелемент діє як інсулінопідсилюючий та інсуліноміметичний засіб.

40 Про ефективність запропонованого способу та його переваги у порівнянні з найближчим аналогом свідчать проведені науково-лабораторні дослідження.

45 Дослідження було проведено на лабораторних щурах масою тіла 100-120 г. Тварини були розділені на п'ять груп: I група - контрольна, II, III, IV і V - дослідні. Щурам I та II груп давали пити чисту воду без домішок, а тваринам III, IV і V груп протягом місяця до питної води додавали розчин цитрату ванадію в кількостях 0,125, 0,5 і 2,0 мкг V/мл води. Через три тижні від початку постановки досліді, тваринам усіх дослідних груп на тлі 24-годинного голодування індукували експериментальний цукровий діабет (ЕЦД) за внутрішньочеревинного введення 5 % розчину алоксан моногідрату ("Синбіас") у кількості 150 мг/кг маси тіла. Динаміку змін рівня глюкози виявляли за допомогою глюкометра ("Gamma M»). На 40 добу досліджень проводили забиття

50 тварин за анестезії. Матеріалом для дослідження слугувала кров щурів.
Цукровий діабет - мультисистемний ендокринний розлад, який характеризується хронічною гіперглікемією, порушенням вуглеводного, протеїнового та ліпідного обміну, що доповнюється цілковитою або частковою недостатністю секреції інсуліну. При гіперглікемії активуються альтернативні шляхи окиснення глюкози, що супроводжується генеруванням активних форм

55 оксигену (АФО).
Отримані в експерименті результати свідчать про істотне підвищення вмісту глюкози в крові (2,4 разу) після моделювання алоксанового діабету (Табл. 1). Це можна пояснити тим, що алоксан виступає токсичним аналогом глюкози, який акумулюється в панкреатичних β-клітинах. В результаті зростання гіперглікемії в лізатах еритроцитів тварин II групи відбувається

60 інгібування активності глюкозо-6-фосфатдегідрогенази (Г-6-ФДГ) на 42 %, порівняно з I групою,

що призводить до зниження внутрішньоклітинних рівнів НАДФН, зростання АФО у щурів за алоксаніндукованого діабету. При додаванні до раціону щурів цитрату ванадію виявлено зростання активності Г-6-ФДГ у III та IV групах на 73 та 43 % відповідно, порівняно з активністю ензиму у тварин II групи.

5 Активність лактатдегідрогенази (ЛДГ) в еритроцитах крові щурів II групи достовірно зростала (Табл. 1) на 37 % ($p < 0,001$), порівняно з I групою (контрольною). Оскільки глюкоза є головним енергетичним субстратом еритроцитів, то зростання її кількості за діабету призводить до активації гліколізу та підвищення активності ЛДГ. Випоювання цитрату ванадію щурам з експериментальним діабетом сприяло достовірному зниженню активності ЛДГ в еритроцитах
10 крові тварин III-, IV- та V-ї дослідних груп, відповідно на 23 ($p < 0,001$), 34 ($p < 0,001$) та 45 % ($p < 0,001$), порівняно з II групою тварин з ЕЦД. Таке зниження активності ЛДГ може бути зумовлене властивістю Ванадію чинити сприятливий вплив на дозрівання червоних кров'яних клітин та компенсаторною активацією окисного шляху перетворення глюкози, що підтверджує активність Г-6-ФДГ.

15

Таблиця 1

Вміст глюкози та активність ензимів вуглеводного обміну в крові щурів з експериментальним діабетом та за дії цитрату ванадію ($M \pm m, n=8$)

Показники	Групи тварин				
	I	II	III	IV	V
Глюкоза, ммоль/л	6,08±0,51	15,14±0,64***	13,96±0,66***	13,26±0,35***##	14,38±0,54***
Глюкозо-6-фосфатдегідрогеназа, нмоль/хв × мг протеїну	1,845±0,208	1,072±0,133**	1,854±0,189##	1,529±0,091##	1,297±0,219
Лактатдегідрогеназа, мкмоль/хв × мг протеїну	6851,0±53,4	9365,0±102,7***	7209,33±157,8*###	6129,97±202,68*####	5146,40±258,2***###

Примітка: * - $p < 0,05$; ** - $p < 0,01$; *** - $p < 0,001$; # - статистично вірогідні різниці між тваринами I групи (контрольної) і тваринами II, III, IV та V груп (дослідних); # - $p < 0,05$; ## - $p < 0,01$; ### - $p < 0,001$ - статистично вірогідні різниці між тваринами II групи (з експериментальним діабетом) і тваринами III, IV та V груп (вживали розчини цитрату ванадію).

Пероксидне окиснення ліпідів (ПОЛ) є один із найважливіших окиснювальних процесів в організмі та вважається однією з основних причин пошкодження та загибелі клітини внаслідок дії АФО.

20

Вивчаючи вміст гідропероксидів, первинних продуктів ліпопероксидації, було встановлено, що їх вміст у плазмі крові щурів II групи зростав в 3,7 разу порівняно до рівня у тварин контрольної групи ($P < 0,05$). При внесенні до раціону діабетичним щурам цитрату ванадію вміст ГПЛ достовірно знижувався: у тварин III групи - на 75 %, IV групи - на 83 % та V групи - на 73 % порівняно до показника у тварин II групи (Табл. 2).

25

Таблиця 2

Вміст продуктів ПОЛ, відновленого глутатіону та активність ензимів АОС в крові тварин з експериментальним діабетом та за дії цитрату ванадію ($M \pm m, n=8$)

Показники	Групи тварин				
	I	II	III	IV	V
ГПЛ, о.о.г./мл	0,388±0,07	1,446±0,205*	0,355±0,034#	0,253±0,025#	0,394±0,06#
ТБК-активні продукти, нмоль/мл	2,029±0,15	3,364±0,446*	0,975±0,069**	1,701±0,085**	2,728±0,15*
СОД, У/мг протеїну	45,406±2,311	31,165±1,127	40,892±1,812	40,919±2,472	37,568±2,712
КТ, мкмоль/хв×мг протеїну	6,835±0,243	7,292±0,281	8,145±0,494	8,029±0,877	8,221±0,317
ВГ, мМ/л	0,358±0,031	0,331±0,041	0,324±0,018	0,384±0,036	0,446±0,034#
ГП, мкмоль/хв×мг протешу	65,947±3,181	86,127±7,068*	83,682±4,928*	59,473±6,374#	58,590±1,089**
ГР, мкмоль/хв×мг протеїну	4,359±0,478	1,375±0,287*	3,529±0,463#	3,937±0,495#	2,384±0,234**

30

Досліджуючи вміст вторинних продуктів ліпопероксидації було встановлено, що вміст ТБК-активних продуктів у плазмі за експериментального цукрового діабету зростав у тварин II групи на 65 % у порівнянні з показником у тварин I контрольної групи. Зростання вмісту ТБК-активних продуктів призводило до зшивання молекули ліпідів, зумовлюючи зниження плинності мембрани клітин крові. В результаті цього мембрана ставала більш крихкою і клітини втрачали функціональні властивості. За внесення до щоденного раціону діабетичним щурам цитрату

ванадію призводило до вірогідного зниження показника ТБК-активних продуктів у крові тварин III та IV груп на 52 та 16 % у порівнянні з I контрольною групою, та на 71 і 49 %, у порівнянні з показником II діабетичної групи. У плазмі тварин V групи цей показник був вищий відносно рівня у тварин контрольної групи на 34 % ($P < 0,05$).

5 Зміни вмісту продуктів ПОЛ зумовлювали зміни у функціонуванні АОС.

СОД активність в еритроцитах зменшувалась у всіх дослідних групах відносно I групи, однак дещо зростала відносно II групи, проте ці зміни були невірогідні. Каталазна активність зростала у всіх дослідних групах стосовно контрольної групи, однак зміни також були невірогідними (Табл. 2).

10 У дослідженнях виявлене поступове зниження вмісту ВГ в еритроцитах тварин II- і III-ої груп стосовно контрольної, що очевидно, свідчить про його інтенсивне споживання у реакціях детоксикації активних форм кисню за ЕЦД. Крім цього, підвищена секреція ФНО- α , яка виникає за діабету, може зумовлювати пригнічення синтезу відновленого глутатіону. Варто зазначити, що ВГ є основним антиоксидантом еритроцитів; він відіграє роль коферменту при

15 відновленні метгемоглобіну у функціонально активний гемоглобін. Таким чином ВГ відіграє важливу роль у збереженні функціональних характеристик мембран еритроцитів. За впливу цитрату ванадію у кількості 2,0 мкг V/мл води вміст ВГ зростав на 35 %, порівняно до показника у тварин з ЕЦД II групи.

20 Глутатіонредуктаза - є ферментом, залежним від НАДФН, активність якого пригнічується в разі накопичення окисненої форми нуклеотиду. Тому причиною зменшення глутатіонредуктазної активності в еритроцитах тварин II-ої групи на 68 % може бути зниження вмісту НАДФН, утвореного в Г-6-ФДГ-ній реакції. Причиною інактивації ферментів за ЕЦД може бути глікозилювання їх молекул. Нормальне функціонування у клітині НАДФН-залежної ГР є дуже важливим для запобігання окисному ушкодженню мембран, й тому залежить від інтенсивності

25 відновлення глутатіонредуктазою окисненого глутатіону та його надходження з цитозолу. Тому зростання активності ГР в еритроцитах тварин III - (на 157 %), IV - (186 %) і V-ої (на 73 %) груп, відносно II групи, свідчить про нормалізацію активності ферменту за дії цитрату ванадію при ЕЦД.

Не менш важливим ферментом глутатіонової системи є глутатіонпероксидаза, яка каталізує відновлення H_2O_2 або органічних гідропероксидів і внаслідок цього захищає клітини від дії реактивних форм кисню. Результати проведених досліджень показали, що активність ГП в еритроцитах тварин II і III груп зростала порівняно до контролю на 31 і 27 % відповідно, що можна пояснити інтенсивним використанням доступного пулу відновленого глутатіону за ЕЦД. За впливу цитрату ванадію активність ГП знижувалася в еритроцитах тварин IV і V груп, відповідно на 31 і 32 %, стосовно тварин II групи.

35 Загалом отримані результати проведених досліджень свідчать про дозозалежну корекцію показників глутатіонової ланки антиоксидантного захисту за впливу цитрату ванадію в еритроцитах щурів із цукровим діабетом.

40 ФОРМУЛА КОРИСНОЇ МОДЕЛІ

Спосіб корекції метаболічних процесів в організмі за цукрового діабету, який включає введення речовини із антиоксидантною та гіпоглікемічною дією, який **відрізняється** тим, що додатково призначають біологічно активну добавку, як органічну сполуку - цитрат ванадію, синтезованого нанотехнологічним методом для нормалізації рівня глюкози, корекції вуглеводного обміну та

45 стабілізації системи антиоксидантного захисту в організмі.

Комп'ютерна верстка Л. Бурлак

Міністерство розвитку економіки, торгівлі та сільського господарства України,
вул. М. Грушевського, 12/2, м. Київ, 01008, Україна

ДП "Український інститут інтелектуальної власності", вул. Глазунова, 1, м. Київ – 42, 01601