



(51) МПК  
*A61K 31/722* (2006.01)  
*A61K 31/194* (2006.01)  
*A61K 31/375* (2006.01)  
*A61P 3/00* (2006.01)  
*A61P 39/06* (2006.01)

**ФЕДЕРАЛЬНАЯ СЛУЖБА  
 ПО ИНТЕЛЛЕКТУАЛЬНОЙ СОБСТВЕННОСТИ,  
 ПАТЕНТАМ И ТОВАРНЫМ ЗНАКАМ**

**(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ПАТЕНТУ**

(21), (22) Заявка: 2008114994/15, 16.04.2008

(24) Дата начала отсчета срока действия патента:  
 16.04.2008

(45) Опубликовано: 10.07.2009 Бюл. № 19

(56) Список документов, цитированных в отчете о  
 поиске: RU 2290185 C1, 27.12.2006. RU 2185806 C1,  
 27.07.2002. RU 2270585 C2, 27.02.2006.

Адрес для переписки:

690022, г.Владивосток, пр-т 100-летия  
 Владивостоку, 159, Тихоокеанский институт  
 биорганической химии ДВО РАН, зав.  
 патентным отделом Н.И. Стадниченко

(72) Автор(ы):

Артюков Александр Алексеевич (RU),  
 Козловская Эмма Павловна (RU),  
 Попов Александр Михайлович (RU),  
 Глазунов Валерий Петрович (RU),  
 Козловский Алексей Стефанович (RU),  
 Купера Елена Владимировна (RU),  
 Руцкова Татьяна Анатольевна (RU),  
 Курика Александр Васильевич (RU),  
 Балаганский Александр Петрович (RU)

(73) Патентообладатель(и):

ТИХООКЕАНСКИЙ ИНСТИТУТ  
 БИОРГАНИЧЕСКОЙ ХИМИИ  
 ДАЛЬНЕВОСТОЧНОГО ОТДЕЛЕНИЯ  
 РОССИЙСКОЙ АКАДЕМИИ НАУК  
 (ТИБОХ ДВО РАН) (RU)

**(54) КОМПОЗИЦИЯ ДЛЯ КОРРЕКЦИИ ПАТОЛОГИЧЕСКИХ НАРУШЕНИЙ УГЛЕВОДНОГО,  
 ЛИПИДНОГО ОБМЕНА И АНТИОКСИДАНТНОГО СТАТУСА ОРГАНИЗМА**

(57) Реферат:

Изобретение относится к фармацевтической и пищевой промышленности, в частности к композиции для коррекции патологических нарушений липидного, углеводного обмена и антиоксидантного статуса организма. Композиция для коррекции патологических нарушений липидного, углеводного обмена и антиоксидантного статуса организма, представляющая собой комплекс хитозана с

эхинохромом А, витаминами и органическими кислотами, получаемая при добавлении к обезвоженному и обработанному спиртом хитозану эхинохрома А, аскорбиновой (витамин С), липоевой (витамин N), лимонной и янтарной кислот в спиртовом растворе, эффективна для коррекции патологических нарушений липидного, углеводного обмена и антиоксидантного статуса организма. 2 з.п. ф-лы, 6 табл.



FEDERAL SERVICE  
FOR INTELLECTUAL PROPERTY,  
PATENTS AND TRADEMARKS

(51) Int. Cl.

*A61K 31/722* (2006.01)*A61K 31/194* (2006.01)*A61K 31/375* (2006.01)*A61P 3/00* (2006.01)*A61P 39/06* (2006.01)**(12) ABSTRACT OF INVENTION**(21), (22) Application: **2008114994/15, 16.04.2008**(24) Effective date for property rights:  
**16.04.2008**(45) Date of publication: **10.07.2009 Bull. 19**

Mail address:

**690022, g. Vladivostok, pr-t 100-letija  
Vladivostoku, 159, Tikhookeanskij institut  
bioorganicheskoj khimii DVO RAN, zav.  
patentnym otdelom N.I. Stadnichenko**

(72) Inventor(s):

**Artjukov Aleksandr Alekseevich (RU),  
Kozlovskaja Ehmma Pavlovna (RU),  
Popov Aleksandr Mikhajlovich (RU),  
Glazunov Valerij Petrovich (RU),  
Kozlovskij Aleksej Stefanovich (RU),  
Kupera Elena Vladimirovna (RU),  
Rutskova Tat'jana Anatol'evna (RU),  
Kurika Aleksandr Vasil'evich (RU),  
Balaganskij Aleksandr Petrovich (RU)**

(73) Proprietor(s):

**TIKHOKEANSKIJ INSTITUT  
BIOORGANICHESKOJ KhIMII  
DAL'NEVOSTOCHNOGO OTDELENIJa  
ROSSIJSKOJ AKADEMII NAUK (TIBOKh  
DVO RAN) (RU)**

**(54) CORRECTIVE COMPOSITION FOR PATHOLOGIC CARBOHYDRATE, LIPID DISBOLISM AND ANTIOXIDANT ORGANISM STATE INVOLVEMENT**

(57) Abstract:

FIELD: medicine.

SUBSTANCE: invention refers to pharmaceutical and food industry, particularly a corrective composition for pathologic lipid, carbohydrate disbolism and antioxidant organism state disorder. The corrective composition for pathologic lipid, carbohydrate disbolism and antioxidant organism state involvement representing chitosan and ecinochrome A complex, vitamins and organic acids

produced from addition to dehydrated and alcohol-processed chitosan of echinochrome A, ascorbic (vitamin C), lipoic (vitamin N), citric and succinic acids in spirit.

EFFECT: composition described above is effective for correction of pathologic lipid, carbohydrate disbolism and antioxidant organism state disorder.

3 cl, 6 tbl, 5 ex

Изобретение относится к пищевой промышленности, а именно к производству биологически активных пищевых добавок (БАД) парафармацевтического ряда.

Анализ механизмов развития стресс-повреждающих эффектов при действии неблагоприятных факторов среды и условий профессиональной деятельности показал, что одним из основных механизмов в развитии нарушений гомеостаза является активация перекисного окисления липидов (ПОЛ) и снижение потенциала антиоксидантной системы (АОС). Внимание к этим процессам не случайно, поскольку активизация свободно-радикальных и перекисных процессов и, так называемый, синдром пероксидации лежат в основе патогенеза многих заболеваний. В частности, установлено, что синдром пероксидации как фактор патогенеза лежит в основе развития нарушений липидного и углеводного обмена (метаболический синдром), которые в свою очередь приводят к развитию атеросклероза, ишемической болезни сердца, инфаркта, инсульта, язвенной болезни, сахарного диабета и т.д. [Сидоренко Б.А., Ревенко В.Н. Психоэмоциональное напряжение и сердечно-сосудистые заболевания. // Кишинев: Штинкца. 1988. 194 с.; Барабой В.А., Брехман И.И., Голотин В.Г. и др Перекисное окисление и стресс // Спб.: Наука. 1992. С.148]

Лекарственное корректирование нарушений, вызванных оксидативным стрессом, антиоксидантная терапия, стало в последние 10-15 лет одним из ведущих направлений в современных фармакологических и клинических исследованиях. Однако нерациональное использование пищевых синтетических антиоксидантов привело, в конечном счете, к острейшему кризису. Достоверно были установлены тяжелые отдаленные последствия хронического потребления повышенных доз основных из них - ионола и бутилгидроксианола. Возникла необходимость замены синтетических антиоксидантов, используемых в пищевой промышленности и медицине, природными соединениями - компонентами диеты человека. Поиски такого рода соединений в широких масштабах ведутся в Японии, США, Финляндии, Швейцарии и др. странах. Кроме того, следует отметить, что использование в качестве лекарств или пищевых добавок микробных или животных антирадикальных ферментов - супероксиддисмутазы (СОД), каталазы и др., вызывает неизбежный отклик иммунной системы человека, а потребление такого универсального природного антиоксиданта, как токоферол, ограничено его Е-витаминными свойствами. Одним из наиболее реальных подходов к профилактике нарушений гомостаза организма, в основе которых лежит синдром пероксидации, является использование БАД на основе природных антиоксидантов и энтеросорбентов.

Известно средство восстановительной терапии «Хитовит», содержащее пергу, хитозан, порошок плодов шиповника, порошок фукуса и наполнитель. Средство способствует оптимальному функционированию и полноценному питанию органов и тканей человека на клеточном уровне, нормализует обменные процессы [RU 2254871 C1, 2005.06.27].

Известна биологически активная добавка к пище для профилактики и вспомогательной терапии инфекционных заболеваний, содержащая хитозан полифракционного состава и сухие экстракты фитосборов в форме комплекса, образуемого растительными лектинами. БАД к пище обладает антибактериальными свойствами, иммунокорректирующим действием и обеспечивает пролонгирующее действие фитокомпонентов [RU 2270585 C2, 2006.02.27].

Наиболее близким аналогом предлагаемого изобретения, как по назначению, так и по составу, является композиция для нормализации липидного обмена и снижения массы тела, представляющая собой комплекс, включающий эквимолекулярную

водорастворимую соль хитозана с аскорбиновой, янтарной и липоевой кислотами, вещества полигидроксинафтохиноновой природы из морских иглокожих, полифенольные соединения из гребней винограда, ионы трехвалентного хрома и фруктозу [RU 2290185 C1, 2006.12.27]. Для получения этой композиции хитозан  
5 смешивают с водным раствором аскорбиновой и янтарной кислот, смесь выдерживают при перемешивании до растворения хитозана, к полученному гомогенному раствору добавляют водно-спиртовой экстракт иглокожих, содержащий полигидроксинафтохиноны и липоевую кислоту, к полученной смеси добавляют  
10 экстракт гребней винограда, содержащий полифенольные соединения, подсластитель и водный раствор трехвалентного хрома.

Однако водно-спиртовой экстракт пищевых промысловых ежей, входящий в состав добавки, не стандартизован. Он содержит, в основном, вещества липидной природы и лишь незначительное количество природных полигидроксинафтохинонов,  
15 биологическая активность которых практически не исследована. Кроме того, не имеется достоверных данных об их совместимости с другими компонентами БАД. Следует также отметить, что большое количество фруктозы (до 80%) в ее составе не ставит данный продукт в разряд диетических продуктов, способствующих  
20 метаболической коррекции. Водно-фруктозный сироп необходимо стерилизовать или пастеризовать, при этом срок годности таких продуктов по принятым в РФ нормативам ограничен 6 месяцами.

Задачей изобретения является расширение ассортимента парафармацевтиков на основе хитозана и биологически активных веществ морских гидробионтов, получение  
25 биологически активной добавки пролонгированного действия, предназначенной для коррекции нарушений углеводного, липидного обмена и антиоксидантного статуса организма.

В результате решения поставленной задачи была создана композиция,  
30 представляющая собой комплекс хитозана с эхинохромом А, витаминами и органическими кислотами, получаемая при добавлении к обезвоженному и обработанному спиртом хитозану эхинохрома А, аскорбиновой (витамин С), липоевой (витамин N), лимонной и янтарной кислот в спиртовом растворе.

Содержание эхинохрома А в конечном продукте составляет не менее 0,035 мас.%.  
35 Технический результат, обеспечиваемый изобретением, заключается в получении композиции, которая обеспечивает коррекцию патологических нарушений углеводного, липидного обмена и антиоксидантного статуса организма. Исследования показали, что заявляемая композиция обладает антиульцерогенной и  
40 кардиопротекторной активностью. Поэтому она может быть использована для профилактики и дополнительной терапии сердечно-сосудистых заболеваний и язвенной болезни желудка, вызываемых нейрогенным стрессом.

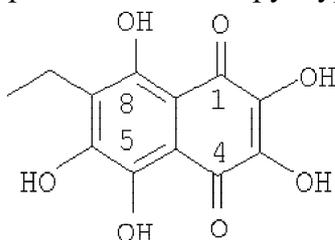
В отличие от прототипа заявляемая композиция содержит стандартизованный полигидроксинафтохинон морских ежей - эхинохром А, физиологическое действие  
45 которого хорошо изучено (на его основе созданы лекарственные препараты серии «Гистохром», широко используемые в практической медицине). Экспериментально показана совместимость эхинохрома А с другими компонентами БАД и сохранение биологической активности всех ингредиентов в составе композиции. Кроме того,  
50 заявляемый продукт получают в сухом состоянии со сроком годности не менее двух лет.

Использование в композиции стандартизованного эхинохрома А, относящегося к группе витаминов К, для которого есть рекомендованная ВОЗ доза для человека - не

более 80-140 мкг/сутки, позволяет осуществить стандартизацию конечного продукта по требованиям GMP и гарантировать его безопасность при приеме внутрь.

Заявляемую композицию получают следующим способом: к обезвоженному хитозану добавляют 96% этиловый спирт и выдерживают до его полного набухания. Лимонную, янтарную, аскорбиновую, липоевую кислоты и эхинохром А растворяют в 96% этиловом спирте. Смесь кислот и эхинохрома А заливают в реакционную емкость с хитозаном, перемешивают в течение 30-60 мин. Спирт удаляют декантацией с последующей продувкой паром. Полученный препарат высушивают.

Эхинохром А (2,3,5,6,8-пентагидрокси-7-этил-1,4-нафтохинон, витамин группы К) - один из пигментов морских ежей, является многофункциональным природным антиоксидантом [Лебедев А.В., Иванова М.В., Красновид Н.И. и др. Кислотные свойства и взаимодействие с супероксид анион-радикалом эхинохрома А и его структурных аналогов. // Вопросы медицинской химии. 1999. Т.45. С.123-130] и обладает высокой антирадикальной активностью, исполняя роль перехватчика активных форм кислорода [Лебедев А.В., Левицкая Е.Л., Тихонова Е.В. и др. Антиоксидантные свойства, автоокисление и мутагенная активность эхинохрома А в сравнении с его структурными аналогами. // Биохимия. 2001. Т.66. С.885-893].



Эхинохром А (ЭХА) образует прочные нерастворимые комплексы с ионами переменного-валентных металлов (медь, железо), подавляя их действие как инициаторов процессов перекисидации [Lebedev A.V., Ivanova M.V. How do calcium ions induce free radical oxidation of hydroxyl-1,4-naphthoquinone Ca<sup>2+</sup> stabilized the naphthoquinone anion-radical of echinochrome A // Arch. Biochem. Biophys. 2003. V.413. P.191-198]. Установлено, что эхинохром А действует на ферментные системы, участвующие в развитии окислительного стресса (липокиназы, циклокиназы), а также при некоторых патологических осложнениях на альдозоредуктазы. На его основе созданы лекарственные препараты для кардиологии и офтальмологии, которые внедрены в медицинскую практику под названием «Гистохром» [RU 2137472 C1, 1999.09.20; RU 2134107 C1, 1999.08.10].

Для введения эхинохрома А в организм через желудочно-кишечный тракт авторы предлагаемого изобретения выбрали хитозан. Этот выбор был сделан исходя из следующих соображений. Во-первых, эхинохром А прекрасно взаимодействует с хитозаном с образованием комплекса, что позволяет избежать сорбции эхинохрома А на слизистых пищеварительного тракта. Во-вторых, сам хитозан является эффективным лечебно-профилактическим средством, используемым в качестве адсорбента для лечения многих заболеваний. Для введения эхинохрома А в комплекс с хитозаном авторы используют аскорбиновую кислоту.

Аскорбиновая кислота (витамин С) (АК)

Аскорбиновая кислота относится к числу наиболее широко распространенных в природе водорастворимых витаминов и обнаруживается во всех органах, тканях, биологических жидкостях организма, особенно в большом количестве - в коре надпочечников, где участвует в осуществлении метаболических процессов, связанных с синтезом кортикоидов [Лифшиц В.М., Сидельникова В.И. «Биохимические анализы в

клинике». Справочник. // «Медицина» М. 1993; «Пищевые добавки». Справочник. // С.-Петербург. 1996]. Она принимает участие в осуществлении окислительно-восстановительных процессов (транспорте электронов), в формировании основного вещества соединительной ткани (в частности, в гидроксигировании пролина - главного аминокислотного компонента ее волокнистых структур), оказывает влияние на метаболизм железа, липидов (прежде всего стероидов), углеводно-фосфорный обмен, проявляет антиокислительное действие.

Аскорбиновая кислота поступает в организм человека только с пищей, так как в отличие от других организмов у человека, приматов и морской свинки она не синтезируется. Суточная потребность взрослого человека в витамине С составляет 50-100 мг. Недостаточность поступления витамина С в организм с пищей в течение 1-3 месяцев ведет к начальным проявлениям гиповитаминоза, через 3-6 месяцев такого же питания - к отчетливому гипо- и авитаминозу, что проявляется нарушениями обмена многих веществ, дисфункцией центральной нервной и эндокринной систем (слабость, раздражительность, боли в конечностях), снижением резистентности к инфекциям, нарушением регенеративных процессов и развитием цинги (скорбута). Дефицит витамина С сопровождается, как правило, дефицитом витамина Р.

В медицинской практике аскорбиновую кислоту применяют для лечения гиповитаминозов, стимуляции кроветворения вместе с фолиевой кислотой, витамином В и железом, для укрепления капилляров при повышенной их кровоточивости при различных заболеваниях, стимуляции регенеративных процессов, поражениях соединительной ткани, при заболеваниях дыхательных путей и т.д.

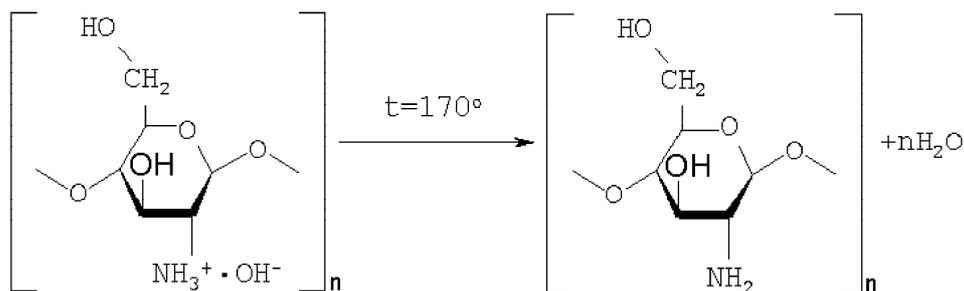
Витамин N (липоевая кислота) (ЛК) содержится во многих растительных и животных организмах в форме  $\epsilon$ -липоеллизина, связанного с белком, и является коферментом мультиферментных комплексов-пируватдегидрогеназы,  $\alpha$ -кетоглутаратгидрогеназы, осуществляющих окислительное декарбоксилирование  $\alpha$ -кетокислот и построение ацильных производных кофермента А. Она участвует в регулировании белкового, липидного и углеводного обмена, проявляет липотропный эффект, влияет на обмен холестерина, улучшает функцию печени, обладает антидотными свойствами, нормализует энергетические процессы [«Пищевые добавки». Справочник. // С.-Петербург. 1996; Пилат Т.Л., Иванов А.А. БАД к пище. // Москва. 2002 г.]. Липоевая кислота находит широкое применение в медицине для нормализации липидного обмена, лечения некоторых болезней печени (цирроза, болезни Боткина), сахарного диабета, атеросклероза, некоторых отравлений, а также в педиатрии и при нарушении зрительных функций. Липоевая кислота предохраняет печень от токсического действия алкоголя. Она также может быть использована в качестве хелатного агента, особенно для выведения из организма избытка меди. Потребность в липоевой кислоте ориентировочно составляет 0,5-2,0 г в сутки. Специфические проявления дефицита не описаны.

Лимонная кислота (Е330) (ЛМК) - известный регулятор кислотности, антиокислитель и синергист антиокислителей, комплексообразователь, диспергатор и разрыхлитель [«Пищевые добавки». Справочник. // С.-Петербург. 1996]. Лимонная кислота наиболее мягкая по сравнению с другими пищевыми кислотами по вкусу. Обладает приятным кислым вкусом, благодаря чему находит широкое применение в пищевой промышленности. В наибольшей степени лимонная кислота используется в кондитерской промышленности и в производстве безалкогольных напитков, а также при производстве некоторых видов рыбных консервов. Преимуществом лимонной кислоты является отсутствие раздражающего действия на слизистые

пищеварительного тракта.

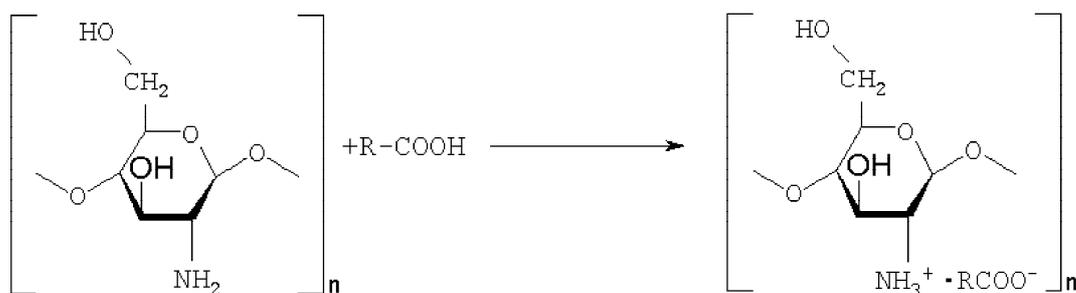
Янтарная кислота (ЯК) улучшает процессы энергетического обмена в клетках головного мозга, миокарда, печени и почек. Она оказывает выраженное антигипоксическое и дезинтоксическое действие, ускоряет процессы восстановления энергетике клеток [«Пищевые добавки». Справочник. // С-Петербург. 1996]. В качестве пищевой кислоты (регулятор кислотности) она разрешена во всех странах - E363.

Хитозан, получаемый из природного полисахарида хитина щелочным дезацетилизированием, представляет собой полисахарид, состоящий из остатков D-глюкозамина, связанных β-1,4-гликозидными связями [Хитозан per os (перевод с английского) // Под редакцией Риккардо А.А. Муццарелли. Нижний Новгород. Изд-во «Вектор - ТиС», 2002 г. - 372 с]. Прокаливание хитозана при 170°C приводит к удалению молекул воды и образованию свободных аминогрупп.

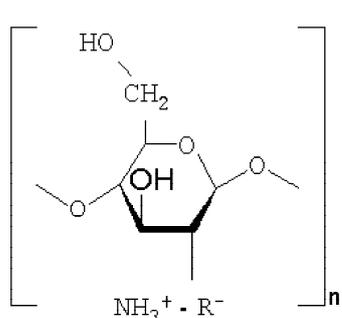


Хитозан является прекрасным поликатионным адсорбентом. Благодаря этому свойству он нашел широкое применение в медицине как в качестве энтеросорбента, так и носителя для доставки лекарственных средств. Аминогруппы хитозана легко образуют соли с минеральными и органическими кислотами и другими веществами, имеющими кислотную функцию, например, с витамином С.

При производстве заявляемой композиции реакцию хитозана с эхинохромом А и вышеперечисленными ингредиентами (органическими кислотами и витаминами) проводят в гетерогенной фазе по следующей схеме:



В результате реакции получают комплекс, имеющий следующую структуру:



где R<sup>-</sup>=ЭХА<sup>-</sup>, АК<sup>-</sup>, ЛК<sup>-</sup>, ЛМК<sup>-</sup> и ЯК<sup>-</sup>

Изобретение иллюстрируется следующими примерами.

### ПРИМЕР 1

600 г пищевого или медицинского хитозана обезвоживают прокаливанием в сушильном шкафу при температуре 170°C в течение 15-20 часов и помещают в круглодонную колбу роторного испарителя. К хитозану добавляют 1-2 л свежеперегнанного этилового спирта 96° до полного набухания хитозана и получения спиртового «зеркала» над хитозаном. Выбранные органические кислоты (150 г лимонной кислоты, 100 г янтарной кислоты), витамины (45 г аскорбиновой кислоты, 75 г липоевой кислоты и 0,35 г эхинохрома А) растворяют в свежеперегнанном этиловом спирте 96° и заливают в реакционную колбу с хитозаном и перемешивают в течение 30 мин. Колбу со смесью помещают на роторный испаритель, удаляют полностью этиловый спирт из реакционной смеси в вакууме при температуре не выше 60°C. Получают сухой порошок, который капсулируют в желатиновые капсулы по 1,5 мл или таблетуют по 0,25 и 0,5 г.

Композиция содержит, мас. %: хитозана - 60,0; аскорбиновой кислоты - 4,5; эхинохрома А - 0,035; липоевой кислоты - 7,5; янтарной кислоты - 10,0; лимонной кислоты - 15,0; остаточная влага - 4,0.

### ПРИМЕР 2

6,2 кг пищевого или медицинского хитозана обезвоживают прокаливанием в сушильном шкафу при температуре 170°C в течение 15-20 часов и помещают в реактор с мешалкой. К хитозану добавляют 15-20 л свежеперегнанного этилового спирта 96° до полного набухания хитозана и получения спиртового «зеркала» над хитозаном. Органические кислоты (1,5 кг лимонной кислоты, 1 кг янтарной кислоты) и витамины (430 г аскорбиновой кислоты, 770 г липоевой кислоты и 4,0 г эхинохрома А) растворяют в отдельной емкости в свежеперегнанном этиловом спирте 96°, заливают в реакционную емкость с хитозаном и перемешивают в течение 60 мин. Спирт из реактора удаляют декантацией с последующей продувкой паром. Полученный препарат высушивают в сушильном шкафу полочного типа в течение 12-24 часов при температуре не выше 110°C. БАД фасуют в стеклянные банки по 250-500 г или таблетуют по 0,25 и 0,5 г.

Композиция содержит, мас. %: хитозана - 62,0; аскорбиновой кислоты - 4,3; эхинохрома А - 0,04; липоевой кислоты - 7,7; янтарной кислот - 10,0; лимонной кислоты - 15,0; остаточная влага-1,0.

### ПРИМЕР 3

Изучение корректирующей активности БАД на модели алиментарной гиперлипопроteinемии (ГЛП)

Модель алиментарной ГЛП воспроизводили разбалансированием рациона питания по содержанию белков, углеводов, жиров, холестерина - в результате у животных, находящихся на экспериментальном рационе, развивалась гиперхолестеринемия (ГХС), гипертриглицеридемия (ГТГ). Более чем в два раза увеличивалось содержание в крови атерогенных липопротеидов - фракций липопротеидов низкой и очень низкой плотности (ЛПНП, ЛПОНП). Изменения липидного фона можно было охарактеризовать как проявление одного из наиболее распространенных типов ГЛП - IV типа по классификации ВОЗ.

Известно, что при ГЛП усиливаются процессы перекисного окисления липидов (ПОЛ). Избыточное поступление калорийных продуктов и несбалансированность питания способствуют интенсификации процессов ПОЛ в крови, о чем можно было судить по увеличению на 60% ( $p < 0,01$ ) содержания малонового диальдегида (МДА) в эритроцитах. Ответная реакция системы антиоксидантной защиты (АОЗ) выражалась

в усилении активности фермента глутатионредуктазы (ГР), более чем в три раза, в результате чего возрастало содержание восстановленной формы глутатиона (ГЛ), необходимого для нейтрализации перекисей. О мобилизации всех составляющих систему АОЗ в ответ на усиление процессов ПОЛ при ГЛП доказывает и снижение интегрального показателя состояния АОЗ - уровень антиоксидантной активности (АОА) крови.

Усиление процессов ПОЛ в печени подтверждалось увеличением содержания его продуктов на всех стадиях перекисного каскада (таблицы 1, 2). Отмечаемое угнетение активности глутатионпероксидазы (ГП), ГР, снижение уровня восстановленного ГЛ и витаминов-антиоксидантов свидетельствовало о сокращении резервов АОЗ в ответ на усиление ПОЛ. Активация процессов ПОЛ в печени сопровождается подавлением катаболизма холестерина (ХС) в гепатоцитах, что, в свою очередь, способствует поддержанию повышенного уровня ХС в плазме крови. Включение в рацион средств, усиливающих резервы АОЗ организма, может препятствовать развитию ГЛП и корректировать возникающие нарушения липидного обмена [Ланкин В.З., Вихерт А.М., Тихадзе А.К. и др. // Вопр мед химии. 1989. №3. С.18-24; Riccvti G., Mazzone A., Pasotti D., Deservi S., Specchia G.I. // Atherosclerosis. 1991. V.91. P.1.; Авцин А.П., Жаворонков А.А., Риш М.А., Строчкова Л.С. // «Микроэлементозы человека». «Медицина» М. 1991; Семёнов Н.В. // «Биохимические компоненты и константы жидких сред тканей человека». «Медицина». М. 1971].

При интрагастральном введении животным заявляемой композиции выявлено снижение интенсивности образования липоперекисей в печени, возрастание активности глутатионзависимых ферментов, увеличение содержания витамина А и  $\alpha$ -токоферола со статистической достоверностью изменений по сравнению с нелечеными животными с ГЛП (таблицы 1, 2).

Улучшение состояния липидного фона крови подтверждалось снижением общего холестерина (ОХС) на 55% ( $p<0,01$ ) и триглицеридов (ТГ) на 61% ( $p<0,01$ ). Существенно снижалось содержание ЛПОНП и ЛПНП (на 63% и 35%, соответственно,  $p<0,01$ ).

Положительным моментом явилось увеличение содержания холестерина (ХС) в липопротеидах высокой плотности (ЛПВП). Значительное возрастание активности глутатионпероксидазы (ГП) на фоне снижения восстановленного глутатиона (ГЛ) свидетельствует об активном протекании реакций по нейтрализации перекисей в эритроцитах, что защищает их от гемолитического распада.

Показатели липидного обмена и системы ПОЛ - АОЗ крови животных с ГЛП, получавших заявляемую композицию (M $\pm$ m)			
Показатели	1-я группа контрольная	2-я группа ГЛП	3-я группа ГЛП + БАД
ОХС, ммоль/л	1,27 $\pm$ 0,02	2,92 $\pm$ 0,06*	1,30 $\pm$ 0,12**
ХС ЛПОНП, ммоль/л	0,24 $\pm$ 0,01	0,59 $\pm$ 0,02**	0,22 $\pm$ 0,01**
ХСЛПНП, ммоль/л	0,91 $\pm$ 0,02	2,17 $\pm$ 0,08**	1,40 $\pm$ 0,07**
ХС ЛПВП, ммоль/л	0,11 $\pm$ 0,04	0,16 $\pm$ 0,03	0,36 $\pm$ 0,05**
ТГ, ммоль/л	0,56 $\pm$ 0,01	1,29 $\pm$ 0,09**	0,50 $\pm$ 0,02**
ГЛ, ммоль/г белка	4,58 $\pm$ 0,46	9,40 $\pm$ 2,15*	4,61 $\pm$ 0,44*
ГР, ммоль НАДФ/мин/г Нб	26,64 $\pm$ 4,66	92,97 $\pm$ 21,89*	40,13 $\pm$ 7,84
ГП, мкмоль/мин/мг Нб	49,95 $\pm$ 6,02	39,96 $\pm$ 4,75	99,32 $\pm$ 4,88**
МДА, ммоль/г белка	7,85 $\pm$ 0,89	12,55 $\pm$ 0,57**	8,96 $\pm$ 0,99
АОА, %	62,50 $\pm$ 9,22	59,23 $\pm$ 5,21*	83,32 $\pm$ 4,81*

Примечание. Оценка достоверности различий между группами: 1/2, 3/2 \* - $p<0,05$ , \*\* - $p<0,01$

Таблица 2

Показатели системы ПОЛ-АОЗ в печени животных с ГЛП, получавших заявляемую композицию (M $\pm$ t)

Показатели	1-я группа контрольная	2-я группа ГЛП	3-я группа ГЛП + БАД
ГЛ, нмоль/мг общего белка	62,32±1,02	42,86±1,03	58,20±0,82
ГР, нмоль НАДФ/мг белка/мин	1,79±0,14	0,77±0,04	1,12±0,01
ГП, нмоль ГЛ/час/мг белка	76,17±1,92	56,00±0,98	65,26±1,02
ДК, нмоль/мг липидов	4,95±0,08	9,66±0,25	6,83±0,24
МДА, нмоль/мг белка	1,77±0,09	4,76±0,22	3,20±0,15
Витамин А, нг/мг липидов	71,05±2,78	54,40±2,73	63,33±2,2*
α-токоферол, нг/мг липидов	173,15±4,06	67,50±2,30	97,03±2,25

Примечание. Оценка достоверности различий между группами: 1/2, 3/2 p<0,01; \*p<0,05

10 О повышении резервов системы АОЗ говорит и возрастание на 40% антиоксидантной активности (АОА) крови (таблица 1).

15 Таким образом, гиполипидемическое и антиоксидантное действие заявляемой композиции позволяет рекомендовать ее в качестве профилактического средства при нарушениях липидного обмена, характеризующегося развитием гиперлипопроteinемии (ГЛП), гиперхолестеринемии (ГХС) и гипертриглицеридемии (ГТГ).

#### ПРИМЕР 4

20 Оценка антигипергликемической активности БАД на модели аллоксанового диабета

25 Фармакологические исследования на экспериментальной модели аллоксанового диабета проводили на белых мышах-самках линии CD-1 массой 20-22 г. Животных предварительно оставляли без пищи в течение 15 ч. Аллоксановый диабет вызывали однократным внутривентральным введением аллоксана в дозе 120 мг/кг в изотоническом растворе. Заявляемую композицию вводили перорально при 10-кратном разбавлении в течение 4-х дней до и 4-х дней после индукции диабета. Лечебно-профилактический эффект определяли на 10 день после начала эксперимента, используя глюкозо-толерантный тест. С этой целью животным натошак перорально вводили 4 г/кг водного раствора глюкозы и через 60 мин осуществляли забор крови. Для анализа концентрации глюкозы в крови использовали глюкометр OneTouch Ultra (Германия), а для определения ферментативной активности аспартатаминотрансферазы (АсАТ), аланинаминотрансферазы (АлАТ) в плазме крови - диагностический набор Новоглюк-К, М («Вектор-Бест», Россия). Кроме опытных групп леченных животных в эксперимент включали группу интактных животных и группу нелеченного отрицательного контроля с индуцированным по общей схеме аллоксановым диабетом. Состояние антиоксидантной системы защиты у диабетических животных определяли по уровню продуктов ПОЛ [Карпищенко А.И. Медицинские лабораторные технологии. - СПб.: Интер-Медика, 1999].

40 Аллоксановый диабет у лабораторных животных является моделью инсулинзависимого сахарного диабета, в патогенезе которого ключевую роль играет прогрессирующая гибель β-клеток поджелудочной железы. Причиной этой гибели является индуцированный на клеточном и молекулярном уровне «окислительный стресс» и, как следствие этого, недостаточный синтез инсулина. Одним из ярких проявлений расстройств реакций тканевого метаболизма при диабете является интенсификация процессов свободнорадикального окисления липидов, поддерживаемая в физиологически метаболизирующем организме в пределах строго лимитированных границ, что обеспечивается благодаря активно регулируемому балансу в норме двух контрсистем - механизмов про- и антиоксидантного действия. Существенная роль при этом отводится компонентам эндогенной системы антиоксидантной защиты клетки [Бурлакова Е.Б., Джалыбова М.И. В кн.: Биоантиокислители в регуляции метаболизма в норме и патологии. М. 1982. С.113-141].

При проведении экспериментальных работ антидиабетический препарат «Метформин» (Berlin-Chemie, Германия) использовали в качестве препарата сравнения. Результаты представлены в таблице 3

5

Таблица 3

Влияние заявляемой композиции и «Метформина» на клинично-диагностические показатели поджелудочной железы и плазмы крови экспериментальных животных при аллоксановом диабете

№ п/п	Группа животных	Содержание глюкозы в плазме крови, ммоль/л	ТБК-реактивные продукты, мкмоль/г ткани	Диеновые конъюгаты, мкмоль/г ткани	АлАТ, мкмоль/л час	АсАТ, мкмоль/л час	Билирубин, мкмоль/л
10	1	3,8±0,3	1,1±0,1	5,5±0,5	2,9±0,2	3,5±0,3	56,7±4,2
	2	10,5±0,8	3,8±0,4	15,4±1,4	4,9±0,4	5,3±0,5	86,6±6,8
15	3	5,2±0,5	1,6±0,1	7,4±0,7	3,3±0,3	4,1±0,4	64,8±6,1
	4	4,5±0,4	2,1±0,2	12,6±1,1	3,4±0,3	4,1±0,4	62,4±6,4

Примечание: Результаты представлены как среднее ± стандартное отклонение (p < 0,05).

20

Как видно из полученных результатов, представленных в таблице 3, аллоксановый диабет сопровождался гипергликемией - 10,5±0,8 ммоль/л (в интактном контроле - 3,8±0,3 ммоль/л; p<0,05), что можно рассматривать как проявление дефицита инсулина и активации глюконеогенеза.

25

Проведение на фоне аллоксанового диабета лечебно-профилактического курса заявляемой композицией (10-кратное разбавление) и Метформином в дозе 10 мг/кг приводило в обоих случаях к заметному (примерно в 2 раза) уменьшению содержания глюкозы по сравнению с отрицательным контролем. Таким образом, заявляемая композиция на модели аллоксанового диабета проявляет выраженную

30

корректирующую активность. «Окислительный стресс», вызванный аллоксаном, приводит к заметному увеличению в плазме крови аминотрансфераз и билирубина, а также к выраженному росту уровня ТБК-реактивных продуктов и диеновых конъюгатов в поджелудочной железе. Проведение лечебного курса заявляемой композицией на фоне аллоксанового

35

диабета приводит к значительному восстановлению функции поджелудочной железы и окислительно-восстановительных процессов в ее тканях и к выраженной нормализации биохимических параметров крови (таблица 3).

#### ПРИМЕР 5

40

Исследование антиульцерогенной и кардиопротекторной активности БАД Выраженные антиоксидантные свойства заявляемой композиции позволили предположить, что она будет оказывать профилактическое действие при развитии заболеваний, вызванных нейрогенным стрессом. Поэтому нами были изучены на экспериментальной модели нейрогенного стресса ее антиульцерогенные и

45

кардиопротекторные свойства. Противоязвенное действие заявляемой композиции изучали на белых беспородных мышцах массой 20±2 г. Острый стресс моделировали путем подвешивания животных за шейную складку на 22 часа. Исследуемый препарат вводили per os с помощью зонда в течение 6 дней и на седьмой день за 1 час до подвешивания в 5-, 10- и 20-кратном разведениях исходного препарата в объеме 200 мкл. Контрольным животным вводили эквивалентный объем растворителя. Противоязвенный эффект заявляемой композиции оценивали согласно [Зуева Е.П., Крылова С.Г., Турецкова В.Ф. и др. Экспериментальное изучение противоязвенных свойств экстракта коры осины. //

50

Экспериментальная и клиническая фармакология. 1997. Т.60. С.38-41].

Кардиопротекторное действие заявляемой композиции изучали на модели нейрогенного стресса, как описано выше. Для биохимических анализов у животных осуществляли забор крови путем декапитации в суборбитальной области.

Деструктивное поражение сердечной мышцы определяли путем измерения активности ферментов аспартатаминотрансферазы (АсАТ) и аланинаминотрансферазы (АлАТ) в сыворотке крови с помощью диагностических наборов фирмы «Вектор-Бест» (Новосибирск).

Для оценки общего защитного действия БАД определяли отношение массы лимфоидных органов селезенки и тимуса к массе тела животных и выражали в процентах к норме (интактные животные).

Антиоксидантный статус организма животных оценивали по активности каталазы в эритроцитах крови и уровню конечного продукта ПОЛ малонового диальдегиду (МДА). Оптическую плотность определяли на спектрофотометре СЕСІL 1011 (BRUKER, Германия).

В таблице 4 представлены данные о противовоспалительной активности заявляемой композиции на фоне повреждений слизистой оболочки желудка экспериментальных животных, индуцированных острым стрессом. Гастрозащитное действие препарата проявилось в снижении числа животных с язвами и уменьшением среднего количества язв на одно животное. Если в контрольной группе 100% животных имели поражения слизистой желудка, то введение заявляемой композиции снижало этот показатель до 60%, 0% и 25% при 5, 10 и 20-кратном разведении препарата, при этом среднее количество язв на одно животное по сравнению с контролем уменьшалось на 54%, 100% и 10% соответственно.

Таблица 4				
Влияние заявляемой композиции на развитие язвенных деструкций нейрогенного происхождения				
Группы животных	Разведение препарата	Количество животных в группе	Количество животных с деструкциями слизистой, %	Среднее количество язв на одно животное
I	-	5	0	0
II	-	5	100	8,8
III	5	5	60	6,8
IV	10	5	0	0
V	20	4	25	8,0

Обозначения: I - интактные животные, II - контрольная группа животных, III-V - опытные группы животных, получавшие заявляемую композицию с 5-, 10- и 20-кратным разведением соответственно.

Заявляемая композиция обладает выраженным антиульцерогенным действием. У всех животных опытной группы (отрицательный контроль) наблюдали уменьшение геморрагического воспаления и понижение интенсивности язвенного поражения. Наиболее выраженный эффект был показан при 10-кратном разведении препарата, при котором у животных наблюдали полное отсутствие язвообразования.

Известно, что содержание аминотрансфераз в плазме крови резко возрастает при некоторых патологических состояниях, в частности, сопровождающихся деструктивными процессами в паренхиматозных органах. Несмотря на отсутствие органной специфичности определение аспартатаминотрансферазы (АсАТ) и аланинаминотрансферазы (АлАТ) при заболеваниях сердца имеет большую диагностическую ценность [Меньшиков В.В., Делекторская Л.Н., Золотницкая Р.П. // Лабораторные методы исследования в клинике: Справочник. М.: Медицина. 1987. С.368-370]. Результаты представлены в таблице 5.

Таблица 5

Определение ферментативной активности АсАТ и АлАТ у интактных животных и животных, подвергшихся нейрогенному стрессу

Группа наблюдения	Разведение препарата	АлАТ, мкмоль/л·ч	АсАТ, мкмоль/л·ч
I	-	4,28	7,64
II	-	6,58	9,38
III	5	3,9	6,56
IV	10	4,2	6,54
V	20	4,76	4,04

Обозначения. I - интактные животные, II - контрольная группа животных (отрицательный контроль), III-V - опытные группы животных, получавшие заявляемую композицию с 5-, 10- и 20-кратным разведением соответственно. АлАТ - аланинаминотрансфераза, АсАТ - аспергатаминотрансфераза.

Как следует из таблицы 5, средний уровень активности АсАТ в сыворотке крови контрольных животных в результате стресса возрастает в 1,2 раза по сравнению с активностью АлАТ. Преобладающий подъем активности АсАТ по сравнению с АлАТ отражает деструктивное поражение мышечной ткани сердца. Отчетливая тенденция к нормализации активности аминотрансфераз в сыворотке крови животных, получавших препарат в профилактических целях (до воздействия стрессом), позволяет говорить о его кардиопротекторном действии. Наибольший протективный эффект заявляемой композиции наблюдается при ее применении в 10-кратном разведении.

В процессе экспериментальной работы также было изучено влияние заявляемого препарата на антиоксидантный статус животных, подвергшихся действию нейрогенного стресса. Кроме того, была исследована динамика изменения массы лимфоидных органов иммунной системы - тимуса и селезенки, для оценки общего защитного действия БАД. Результаты представлены в таблице 6.

Таблица 6

Экспериментальное исследование антиоксидантного защитного действия заявляемой композиции

Группа животных	Разведение препарата	МДА, %	Каталаза, %	Тимический индекс	Селезеночный индекс
I	-	32	47	2,32	7,18
II	-	44	34	0,91	2,55
III	50	35	47	1,02	4,06
IV	100	24	46	1,42	4,21
V	200	24	51	1,31	3,87

Обозначения: I - интактные животные, II - группа, отрицательного контроля, III-V - опытные группы животных, получавшие заявляемую композицию с 5-, 10- и 20-кратным разведением соответственно. МДА - малоновый диальдегид.

Как видно из таблицы 6, профилактическое применение этой композиции на экспериментальной модели нейрогенного стресса частично ингибирует инволюцию тимуса и селезенки, что может говорить о ее защитном действии на иммунную систему.

В сыворотке крови интактных мышей имеется определенный уровень конечных продуктов свободнорадикального окисления, в частности МДА. У подвергшихся нейрогенному стрессу нелеченных животных уровень МДА возрастает в 1,4 раза, что свидетельствует об индуцировании образования свободных радикалов в результате стресса.

Профилактическое применение заявляемой композиции на экспериментальной модели нейрогенного стресса дает не только выраженный терапевтический эффект, но и сопровождается снижением продуктов перекисного окисления в плазме крови экспериментальных животных по сравнению с контролем. Отчетливая тенденция к нормализации уровня активности каталазы прослеживается у животных всех групп, получавших композицию. Нормализация свободнорадикальных процессов у леченных

животных может быть обусловлена прямым антиоксидантным действием (способностью отдельных компонентов заявляемой композиции захватывать и обезвреживать свободные радикалы, образующиеся в процессе поражения желудка, сердца и других органов) и/или путем воздействия на клеточном уровне на активность ферментов антиоксидантной защиты этих органов и опосредована общим ростом сопротивляемости организма.

Анализ полученных результатов позволяет выявить прямую корреляцию между позитивным кардиопротекторным действием заявляемой композиции и ее антиоксидантными свойствами.

#### Формула изобретения

1. Композиция для коррекции патологических нарушений липидного, углеводного обмена и антиоксидантного статуса организма, представляющая собой комплекс хитозана с эхинохромом А, витаминами и органическими кислотами, получаемая при добавлении к обезвоженному и обработанному спиртом хитозану эхинохрома А, аскорбиновой (витамин С), липоевой (витамин N), лимонной и янтарной кислот в спиртовом растворе.

2. Композиция по п.1, где содержание эхинохрома А в конечном продукте составляет не менее 0,035 мас. %.

3. Композиция по п.1 или 2, которая может быть использована для профилактики и дополнительной терапии сердечно-сосудистых заболеваний и язвенной болезни желудка, вызываемых нейрогенным стрессом.