

УКРАЇНА



ПАТЕНТ

НА ВИНАХІД

№ 122252

N-СТЕАРОЇЛЕТАНОЛАМІН ЯК ЗАСІБ З КОМПЛЕКСНОЮ ДІЄЮ ДЛЯ ЛІКУВАННЯ ЗАХВОРЮВАНЬ, ЩО СУПРОВОДЖУЮТЬСЯ НЕЙРОЗАПАЛЕННЯМ ТА ПОРУШЕННЯМ КОГНІТИВНИХ ФУНКЦІЙ

Видано відповідно до Закону України "Про охорону прав на винаходи і корисні моделі".

Зареєстровано в Державному реєстрі України винаходів **12.10.2020.**

Заступник Міністра розвитку економіки, торгівлі та сільського господарства України

О.В. Романішин



Застосування N-стеароїлетаноламіну як засобу з комплексною дією для лікування захворювань, що супроводжуються нейрозпаленням і порушенням когнітивних функцій.

(57) Формула винаходу:

N-СТЕАРОІЛЕТАНОЛАМІН ЯК ЗАСІБ З КОМПЛЕКСНОЮ ДІЄЮ ДЛЯ ЛІКУВАННЯ ЗАХВОРЮВАНЬ, ЩО СУПРОВОДЖУЮТЬСЯ НЕЙРОЗАПАЛЕННЯМ ТА ПОРУШЕННЯМ КОГНІТИВНИХ ФУНКЦІЙ

(54) Назва винаходу:

(73) Володілець:
 ІНСТИТУТ БІОХІМІЇ ІМ. О.В.
 ПАЛАДІНА НАЦІОНАЛЬНОЇ
 АКАДЕМІЇ НАУК УКРАЇНИ,
 вул. Леонтовича, 9, м. Київ,
 01030, UA

(72) Винахідники:
 Гула Надія Максимівна, UA,
 Горіцько Тетяна Миколаївна,
 UA,
 Косякова Галина Василівна,
 UA,
 Бердিশев Андрій
 Геннадійович, UA,
 Мередь Олена Федорівна,
 UA,
 Сок Марина
 Володимирівна, UA,
 Лихмус Олена Юрївна, UA,
 Комісаренко Сергій
 Васильович, UA,
 Холін Віктор
 Олександрович, UA,
 Печана Катерина Олександрівна,
 UA

(21) Номер заявки: а 2018 06306
 (22) Дата подання заявки: 06.06.2018
 (24) Дата, з якої є чинними права інтелектуальної власності: 13.10.2020
 (41) Дата публікації в відомостях про заявку та номер бюлетеня: 10.12.2019, Бюл. № 23
 (46) Дата публікації в відомостях про державну реєстрацію та номер бюлетеня: 12.10.2020, Бюл. № 19

(51) МПК (2020.01)
 A61K 31/164 (2006.01)
 A61P 29/00

(19) UA

(11) 122252

Державне підприємство
«Український інститут інтелектуальної власності»
(Укрпатент)

Цей паперовий документ ідентичний за документарною інформацією та реквізитами електронному документу з електронним підписом уповноваженої особи Міністерства розвитку економіки, торгівлі та сільського господарства України.

Паперовий документ містить 2 арк., які пронумеровані та прошиті металевими люверсами.

Для доступу до електронного примірника цього документа з ідентифікатором 0708081020 необхідно:

1. Перейти за посиланням <https://sis.ukrpatent.org>.
2. Обрати пункт меню Сервіси – Отримати оригінал документу.
3. Вказати ідентифікатор електронного примірника цього документа та натиснути «Завантажити».

Уповноважена особа Укрпатенту



І.Є. Матусевич

13.10.2020



УКРАЇНА

(19) **UA** (11) **122252** (13) **C2**
(51) МПК (2020.01)
A61K 31/164 (2006.01)
A61P 29/00

МІНІСТЕРСТВО РОЗВИТКУ
ЕКОНОМІКИ, ТОРГІВЛІ ТА
СІЛЬСЬКОГО ГОСПОДАРСТВА
УКРАЇНИ

(12) ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА ВИНАХІД

<p>(21) Номер заявки: а 2018 06306</p> <p>(22) Дата подання заявки: 06.06.2018</p> <p>(24) Дата, з якої є чинними права інтелектуальної власності: 13.10.2020</p> <p>(41) Публікація відомостей про заяву: 10.12.2019, Бюл.№ 23</p> <p>(46) Публікація відомостей про державну реєстрацію: 12.10.2020, Бюл.№ 19</p>	<p>(72) Винахідник(и): Гула Надія Максимівна (UA), Горідько Тетяна Миколаївна (UA), Косякова Галина Василівна (UA), Бердишев Андрій Геннадійович (UA), Мегедь Олена Федорівна (UA), Скок Марина Володимирівна (UA), Лихмус Олена Юрївна (UA), Комісаренко Сергій Васильович (UA), Холін Віктор Олександрович (UA), Песчана Катерина Олегівна (UA)</p> <p>(73) Володілець (володільці): ІНСТИТУТ БІОХІМІЇ ІМ. О.В. ПАЛЛАДИНА НАЦІОНАЛЬНОЇ АКАДЕМІЇ НАУК УКРАЇНИ, вул. Леонтовича, 9, м. Київ, 01030 (UA)</p> <p>(56) Перелік документів, взятих до уваги експертизою: UA 77182 C2, 15.11.2006 UA 85523 C2, 26.01.2009 UA 85522 C2, 26.01.2009 UA 98731 C2, 11.06.2012 UA 104650 C2, 25.02.2014</p>
--	--

(54) N-СТЕАРОЇЛЕТАНОЛАМІН ЯК ЗАСІБ З КОМПЛЕКСНОЮ ДІЄЮ ДЛЯ ЛІКУВАННЯ ЗАХВОРЮВАНЬ, ЩО СУПРОВОДЖУЮТЬСЯ НЕЙРОЗАПАЛЕННЯМ ТА ПОРУШЕННЯМ КОГНІТИВНИХ ФУНКЦІЙ

(57) Реферат:

Винахід стосується застосування N-стеароїлетаноламіну (NSE) як ефективного та безпечного засобу з комплексною дією для лікування захворювань, що супроводжуються нейрозапаленням та порушенням когнітивних функцій.

UA 122252 C2



Фиг. 1

Винахід належить до біології, фармакології та медицини, а саме, до засобів з комплексною дією для лікування захворювань, які супроводжуються нейрозапаленням та порушенням когнітивних функцій.

5 Розвиток нейрозапалення та порушення когнітивних функцій є найбільш актуальною медичною та соціальною проблемою сьогодення, яка суттєво знижує якість і тривалість життя, збільшує витрати на лікування.

Найчастіше нейрозапалення та порушення когнітивних функцій супроводжують такі нейродегенеративні захворювання головного мозку як хвороба Альцгеймера, деменція з тільцями Леві, хвороба Паркінсона, хорея Гентінгтона, які становлять понад 70 % усіх випадків деменції. Цереброваскулярні захворювання в 10-15 % випадків також призводять до різних варіантів судинної деменції. Розлади когнітивних функцій виникають у 50 % випадків гострого ішемічного інсульту та практично в 100 % випадків за хронічної ішемії головного мозку. Крім зазначених вище захворювань, розвиток нейрозапалення та когнітивні розлади можуть бути наслідком черепно-мозкової травми, нейроінфекції, демієлінізуючих захворювань, злоякісних новоутворень у головному мозку, нормотензивної гідроцефалії, часто мають дисметаболічну природу, пов'язану з соматичними, ендокринними захворюваннями, зовнішніми інтоксикаціями, гіпоксичною та гіпоглікемічною енцефалопатією, гіпоксемією при дихальній недостатності, печінкової і ниркової енцефалопатії, гіпотиреозі, дефіциті вітамінів B1, B12, фолієвої кислоти, протеїнів, інтоксикації солями металів (алюмінію, цинку, міді), інтоксикації лікарськими препаратами (холінолітиками, барбітуратами, бензодіазепінами, нейролептиками), гепатолентикулярній дегенерації та ін. Факторами ризику, які сприяють розвитку нейрозапалень і когнітивних розладів, є ожиріння, серцева недостатність, артеріальна гіпертензія, артеріальна гіпотензія, цукровий діабет, гіперглікемія, вік (фактор, що не коригується), куріння, алкоголь, проживання в самотності [1, 2, 3, 4, 5].

25 Для лікування та профілактики захворювань, які супроводжуються нейрозапаленням і порушенням когнітивних функцій, рекомендується застосовувати препарати різних фармакологічних і хімічних груп для запобігання розвитку або пригнічення патофізіологічних процесів, що призводять до уражень центральної нервової системи: нестероїдні протизапальні засоби (наприклад, диклофенак, дексалгін, напроксен, целекоксиб, німесулід); антихолінергічні препарати (аміридин, ривастигмін, галантамін, донепезил); антагоністи NMDA (N-метил-D-аспартат)-рецепторів (мемантин, неомідантан); препарати на основі Гінкго Білоба (танакан); гідролізати і деривати тканин (цереброролізін); інгібітори моноаміноксидази (MAO) (селегілін, юмекс); блокатори кальцієвих каналів (німодипін, цинаризин, флюнаризин); альфа-адреноблокатори (ніцерголін); ноотропи (пірацетам, прамірацетам, піритинол); нейрпептиди (актовегін, солкосерил); вазоактивні препарати (інстенон, вінпоцетин, пентоксифілін); засоби, що впливають на систему ГАМК (аміналон, ноофен, пантогам); агоністи D2/D3 дофамінових рецепторів (проноран); антиоксиданти (вітаміни С, Е, каротиноїди, флавоноїди) та інші [1, 4-7].

40 Відомо про застосування нестероїдних протизапальних засобів "Дексалгін", "Диклофенак", "Напрофф" (Напроксен), "Целебрекс" (Целекоксиб), "Ібупрофен", "Моваліс" та ін. при нейрозапаленнях і порушеннях когнітивних функцій. Недоліком нестероїдних протизапальних засобів є досить широкий спектр побічних ефектів і протипоказань: апатія, сонливість, нудота, блювання, біль в епігастральній ділянці, діарея, запаморочення, дезорієнтація, кома, збудження, шум у вухах або судоми, головний біль. Можливі побічні реакції з боку серцево-судинної системи, гостра ниркова недостатність, ураження печінки. Найбільш частими та небезпечними побічними ефектами є шлунково-кишкові ускладнення (наприклад, шлунково-кишкові кровотечі). Є застереження щодо застосування препаратів нестероїдних протизапальних лікарських засобів: "Дексалгін", "Диклофенак", "Напрофф" (Напроксен), "Целебрекс" (Целекоксиб), "Ібупрофен", "Моваліс" та ін. нестероїдних протизапальних засобів при гіперчутливості до активних речовин і складових лікарського засобу, у період вагітності або годування груддю, обмеження за віком, виразковому коліті та/або ентероколіті, виразці шлунка та дванадцятипалої кишки, серцевій, нирковій та печінковій недостатності, не застосовувати одночасно з іншими препаратами, що потенційно можуть бути причиною гепатотоксичних реакцій, при одночасному прийомі з антибактеріальними засобами може підвищуватися ризик виникнення судом, ризик шкірних реакцій, нейротоксичність та ін. [6-8].

55 Відомо про застосування інгібіторів холінергічних ферментів: донепезил ("Алзамед", "Алзепіл", "Альмер", "Сервонекс", "Аризил", "Яснал") - селективний, оборотний інгібітор ацетилхолінергічного ферменту (ензим, що відповідає за деградацію ацетилхоліну - нейромедіатора, який бере безпосередню участь у процесах навчання та пам'яті), галантамін ("Нівалін") - селективний оборотний конкурентний інгібітор ацетилхолінергічного ферменту та алостеричний ліганд нікотинних

ацетилхолінових рецепторів альфа 4/бета 2 субтипу), ривастигмін "Екселон" (інгібітор ацетил- і бутирилхолінестераз), які уповільнюють деградацію ацетилхоліну, що вивільняється з холінергічних нейронів з непорушеною функцією, і у такий спосіб сприяють холінергічній передачі в центральній нервовій системі та зменшують вираженість порушень когнітивних функцій. Недоліком цих препаратів є низка застережень і протипоказань до їх застосування, а саме: підвищена чутливість до компонентів препарату, синдром слабкості синусового вузла, порушення ритму серця (аритмія, брадикардія), бронхіальна астма або обструктивні захворювання легень, тяжка серцева, печінкова та ниркова недостатності, виразкова хвороба шлунка, вагітність і період годування груддю. Крім того, препарати мають низку побічних ефектів, серед яких нудота, блювання, діарея, слиновиділення, підвищена пітливість, брадикардія, артеріальна гіпотензія, пригнічення дихання, колапс та судоми, втомлюваність, запаморочення, м'язові спазми, порушення зору, безсоння, головні болі, висипання, свербіж та ін. Здатність пацієнтів, які отримують препарати донепезил, галантамін, ривастигмін, продовжувати керувати автотранспортом або працювати зі складними механізмами, повинна регулярно оцінюватися лікарем [6].

Відомо, що застосування протидіабетичних засобів - "Метформін (Глюкофаж)", "Діакамф" запобігає таким ускладненням цукрового діабету як нейрозапалення та розвиток порушень когнітивних функцій. Так, наприклад, застосування препарату "Метформін (Глюкофаж)" запобігає прогресуванню діабетичних церебральних порушень, забезпечує ноотропний ефект, знижує активність ацетилхолінестерази, гальмує утворення пероксинітриту, пригнічує утворення р-амілоїду, розвиток та прогресування хвороби Альцгеймера та ін. Загалом, застосування "Метформіну (Глюкофаж)" асоціюється із зниженням частоти деменції та покращенням пізнавальних функцій у літніх людей, хворих на цукровий діабет. Проте ці засоби протипоказані при будь-якому типі гострого метаболічного ацидозу, ниркової, печінкової і серцевої недостатності, захворюваннях, що можуть призводити до розвитку гіпоксії тканин, підвищеній чутливості до діючої речовини або компонентів препарату, вагітність та в період годування груддю. Також слід з обережністю застосовувати їх дітям до 10-12 років, разом із нестероїдними протизапальними засобами, здійснюючи ретельний контроль функції нирок та ін. Недоліком застосування цих препаратів є також наявність побічних ефектів - нудоти, блювання, діареї, болю в животі, порушення смаку, відсутності апетиту, шкірних реакцій, що включають еритему, свербіж, кропив'янку, порушення показників функції печінки та ін. [5, 6].

Відомо про застосування психостимулюючих і ноотропних засобів, як "Церебролізин" (нейротрофічний препарат мультимодальної дії, який в основу винаходу, що заявляється, поставлена задача створення нового ефективного та безпечного засобу з комплексною дією для лікування захворювань, які супроводжуються нейрозапаленням і порушенням когнітивних функцій.

Задачу вирішують шляхом застосування N-стеароїлетаноламіну (NSE) як ефективного та безпечного засобу з комплексною дією для лікування захворювань, які супроводжуються нейрозапаленням і порушенням когнітивних функцій.

NSE - етаноламід стеаринової кислоти - кристалічна речовина білого кольору з брутто-формулою - $C_{20}H_{41}NO_2$, масна на дотик, без специфічного запаху та смаку, розчинна в неполярних розчинниках і нерозчинна в воді, фізично та хімічно стійка в зовнішньому та внутрішньому середовищі, не виділяє токсичних речовин і не створює вибухонебезпечних сумішей, молекулярна маса 327,545, щільність $0,9 \pm 0,1$ г/см³, температура займання $247,7 \pm 24,0$ °C, температура кипіння $486,0 \pm 28,0$ °C при 760 мм рт. ст. NSE входить до складу біологічних мембран клітин [9, 10].

NSE - біологічно активний компонент мембран клітин, проявляє мембранопротекторну, антиоксидантну, адаптогенну, антиалергічну, антизапальну дії, має гіпоглікемічні та ангіопротекторні властивості, не зв'язується з канабіноїдними рецепторами, є нетоксичною речовиною в діапазоні концентрацій, що застосовуються, не чинить побічної дії на організм у разі його застосування [11, 12, 13, 14, 15].

Ефективність засобу, що заявляється, для лікування захворювань, які супроводжуються нейрозапаленням та порушенням когнітивних функцій, підтверджують визначенням наступних параметрів: холіноміметичної дії NSE - за рівнем активності ацетилхолінестерази (АХЕ) в гіпокампі та фронтальній корі головного мозку щурів із експериментальним холінергічним дефіцитом, протизапальної дії NSE - за вмістом прозапального цитокіну TNF α в гіпокампі щурів із індукованим нейрозапаленням, нейропротекторної дії NSE - за рівнем проникності гематоенцефалічного бар'єру головного мозку мишей із експериментальним нейрозапаленням, антиамнестичної дії NSE - за поведінковими тестами розпізнавання "нового" об'єкта та умовного рефлексу пасивного уникнення.

Приклад 1. Холіноміметична дія NSE за умов експериментального холінергічного дефіциту в щурів.

Для моделювання експериментального холінергічного дефіциту в щурів застосовують скополамін, який проявляє центральну холіноблокуючу дію та є "золотим стандартом" для індукції порушень пам'яті в експерименті [16]. Формують 3 експериментальні групи щурів: 1 група - контрольна (7 щурів); 2 група - щури, яким для моделювання холінергічного дефіциту та когнітивної патології протягом 20 днів внутрішньочеревинно вводять скополамін 1 раз на день із розрахунку 1 мг/кг маси тіла (7 щурів); 3 група - щури, яким протягом 20 днів вводять скополамін 1 раз на день із розрахунку 1 мг/кг маси тіла, а потім протягом 10 днів вводять водну суспензію NSE per os в дозі 5 мг/кг маси тіла (7 щурів). Холіноміметичну дію NSE оцінюють за активністю AXE у гіпокампі та фронтальній корі головного мозку щурів. Для цього використовують набір реактивів Acetylcholinesterase Activity Assay Kit (Cat. No MAK 119-1KT, Sigma, USA). За експериментального холінергічного дефіциту виявлено вірогідне зростання активності AXE в гіпокампі та фронтальній корі головного мозку щурів (фіг. 1). Застосування NSE в щурів із експериментальним холінергічним дефіцитом вірогідно нормалізує активність AXE (фіг.1), що свідчить про здатність NSE в дозі 5 мг/кг маси тіла щурів відновлювати рівень ацетилхоліну в структурах мозку щурів, які відповідають за когнітивну функцію за умов холінергічного дефіциту.

Приклад 2: Протизапальна дія NSE за експериментального нейрозапалення в щурів.

Експериментальне нейрозапалення у щурів викликають шляхом одноразового внутрішньочеревинного введення ліпополісахариду (ЛПС) бактерій *Escherichia coli* 055:B5, L4005 (Sigma-Aldrich, USA) у дозі 2 мг/кг маси тіла [17]. Формують 3 експериментальні групи тварин: 1 група - контрольна (7 щурів); 2 група - "ЛПС": щури, яким для моделювання нейрозапалення вводять ЛПС у дозі 2 мг/кг маси тіла (14 щурів); 3 група - щури, яким 4 дні перед та 5 днів після ЛПС вводять per os водну суспензію NSE в дозі 50 мг/кг маси тіла (14 щурів). По 7 щурів із груп "ЛПС" та "NSE+ЛПС" виводять із експерименту через 3 год. та через 7 днів після введення ЛПС. Вміст TNF α в лізатах гіпокампу мозку щурів визначають імуноензимним методом із застосуванням добірки реактивів TNF alpha ELISA Kit, Rat, 96 лунок, Novex, USA. За експериментального нейрозапалення виявлено вірогідне зростання більш ніж на 50 % вмісту TNF α в лізатах гіпокампу мозку щурів як через 3 год., так і через 7 діб після введення ЛПС (фіг.2). Застосування NSE нормалізує вміст прозапального цитокіну TNF α в гіпокампі щурів як через 3 год., так і через 7 діб після введення ЛПС (фіг. 2). Це свідчить про здатність NSE в дозі 50 мг/кг маси тіла щурів зменшувати прояви запального процесу в гіпокампі щурів за умов експериментального системного запалення.

Приклад 3: Проникність гематоенцефалічного бар'єру (ГЕБ) мишей із експериментальним нейрозапаленням за дії NSE.

Експериментальне нейрозапалення в мишей викликають шляхом одноразового внутрішньочеревинного введення ЛПС бактерій *Escherichia coli* 055:B5, L4005 (Sigma-Aldrich, USA) в дозі 2 мг/кг маси тіла [17]. Проникність ГЕБ визначають за проникненням у мозок біотинильованих α 7(1-208)-специфічних антитіл кроля, які вводять у хвостову вену інтактних мишей і мишей, яким за день до цього попередньо вводять ЛПС. Формують 3 експериментальні групи мишей: 1 група - миші, яким у хвостову вену вводять біотинильовані α 7(1-208)-специфічні антитіла кроля, 200 мкг на мишу (6 мишей); 2 група - миші, яким для моделювання нейрозапалення вводять ЛПС у дозі 2 мг/кг маси тіла, а наступного дня вводять біотинильовані α 7(1-208)-специфічні антитіла кроля, 200 мкг на мишу (6 мишей); 3 група - миші, яким протягом 9 днів (протягом 4 днів перед та 5 днів після введення ЛПС) вводять per os водну суспензію NSE в дозі 50 мг/кг маси тіла миші, а наступного дня після введення ЛПС у дозі 2 мг/кг маси тіла вводять біотинильовані α 7(1-208) - специфічні антитіла кроля, 200 мкг на мишу (6 мишей). По 3 миші з кожної сформованої групи виводять з експерименту через 15 хв та через 3 год. після введення антитіл. Наявність біотинильованих антитіл у мозку мишей визначають методом прямого імуноензимного аналізу з використанням α 7(1-208) як антигену. За експериментального нейрозапалення виявлено вірогідне зростання (майже в 5 разів) вмісту біотинильованих антитіл через 15 хв після їх введення мишам у фракції розчинних протеїнів мозку, яка містить також антитіла з мікросудинного русла (фіг. 3). Подібне зростання (у 3 рази) цих антитіл було виявлено у лізаті клітин мозку через 3 год. після введення біотинильованих антитіл (фіг. 3). Застосування NSE в дозі 50 мг/кг маси тіла миші вірогідно знижує рівень α 7(1-208)-специфічних антитіл у мозку мишей (фіг. 3), що свідчить про здатність NSE запобігати їх проникненню в мозок, тобто порушенню ГЕБ за умов експериментального нейрозапалення.

Приклад 4: Антиамнестична дія NSE.

Антиамнестичну дію NSE визначають на трьох експериментальних моделях: 1) холінергічного дефіциту, 2) нейрозапалення, 3) інсулінорезистентного стану. Для кожної експериментальної моделі формують експериментальні групи тварин.

Для моделювання експериментального холінергічного дефіциту в щурів застосовують скополамін (протягом 20 днів внутрішньочеревно вводять щурам скополамін 1 раз на день із розрахунку 1 мг/кг маси тіла) [16]. Формують 3 групи експериментальних щурів: 1 група - контрольні щури (7 щурів); 2 група - щури, яким для моделювання холінергічного дефіциту та когнітивної патології протягом 20 днів внутрішньочеревинно вводять скополамін 1 раз на день із розрахунку 1 мг/кг маси тіла (7 щурів); 3 група - щури, яким протягом 20 днів вводять скополамін 1 раз на день із розрахунку 1 мг/кг маси тіла, а потім протягом 10 днів вводять водну суспензію NSE per os у дозі 5 мг/кг маси тіла (7 щурів). Антиамнестичні властивості NSE за експериментального холінергічного дефіциту в щурів визначають за тестом умовного рефлексу пасивного уникнення (УРПУ), оснований на виробленні страху перед небезпекою покарання [18, 19]. Основним критерієм ефективності антиамнестичної дії NSE є відсоток щурів у групі, у яких зберігся рефлекс пасивного уникнення (пам'ять про отримання удару електричним струмом у темній камері в перший день тестувань). За експериментального холінергічного дефіциту в щурів виявлено значне погіршення пам'яті (фіг. 4). Через 24 год. у 44 % щурів із групи "Скополамін" не зберігається рефлекс пасивного уникнення. Введення щурам із експериментальним холінергічним дефіцитом NSE у дозі 50 мг/кг маси тіла щура сприяє покращенню стану пам'яті в тварин (через 24 год. рефлекс пасивного уникнення зберігається у 71,4 % щурів) (фіг.4), що свідчить про антиамнестичну дію NSE.

Експериментальне нейрозапалення в мишей викликають введенням ЛПС (внутрішньочеревно, 2 мг/кг маси тіла) [17]. Формують 3 групи експериментальних мишей: 1 група - контрольні миші, без введення ЛПС або NSE (9 мишей); 2 група - миші, яким внутрішньочеревинно вводять ЛПС у дозі 2 мг/кг маси тіла (9 мишей); 3 група - миші, які отримують водну суспензію NSE per os у дозі 50 мг/кг маси тіла протягом 4 днів щодня перед і 5 днів після введення ЛПС (9 мишей).

Інсулінорезистентний стан (IP-стан) у щурів індукують довготривалим навантаженням жирною дієтою (відсоток жиру в загальному раціоні складає 58 %) протягом 6 місяців [20]. Формують 3 групи експериментальних щурів: 1 група - контрольні щури, яких утримують на стандартному раціоні віварію (7 щурів); 2 група - щури, яких протягом 6 міс. утримують на високожировій дієті (відсоток жиру в загальному раціоні складає 58 %) (10 щурів); 3 група - щури, яким після 6 міс. утримання на високожировій дієті вводять водну суспензію NSE per os протягом 14 днів у дозі 50 мг/кг маси тіла (10 щурів).

Для моделей експериментального нейрозапалення в мишей та IP-стану у щурів визначають антиамнестичні властивості NSE за станом епізодичної пам'яті в поведінковому тесті "розпізнавання нового об'єкта" [21]. Результати тесту представляють як індекс дискримінації (ІД), який розраховують за різницею між кількістю досліджень "нового" та "знайомого" об'єктів поділеного на загальну кількість досліджень "нового" та "знайомого" об'єктів за формулою:

$$ID = (n-m)/(n+m),$$

де: n - кількість досліджень "нового" об'єкта;
m - кількість досліджень "знайомого" об'єкта.

За експериментального нейрозапалення в мишей, спричиненого внутрішньочеревним введенням ЛПС, виявлено суттєве погіршення епізодичної пам'яті, величина коефіцієнта ІД зменшується майже в 5 разів (фіг. 5). Застосування NSE мишам протягом 4 днів щодня до та 5 днів після введення ЛПС запобігає погіршенню стану епізодичної пам'яті в тварин (фіг. 5), що свідчить про антиамнестичну дію NSE.

За експериментального IP-стану в щурів виявлено істотне погіршення стану епізодичної пам'яті, величина коефіцієнта ІД зменшується майже в 4 рази (фіг. 6). Застосування NSE щурам із IP сприяє відновленню у них епізодичної пам'яті (фіг. 6), що свідчить про антиамнестичну дію NSE.

Таким чином, розроблено засіб з комплексною дією для лікування захворювань, які супроводжуються нейрозапаленням і порушенням когнітивних функцій. Експериментально доведено, що NSE, який є активною діючою речовиною засобу, що заявляється, проявляє наступні лікувальні ефекти на організм щурів та мишей за умов когнітивних порушень та нейрозапалення:

- у гіпокампі та фронтальній корі головного мозку щурів проявляє виражену холіноміметичну дію;
- знижує вміст прозапального цитокіну TNF α у гіпокампі щурів за нейрозапалення;
- зменшує проникність гематоенцефалічного бар'єру мишей із нейрозапаленням;

має виражену антиамнестичну дію за різних експериментальних моделей когнітивних порушень у мишей та щурів.

Завдяки своїм потужним фармакологічним і біологічним властивостям, засіб, що заявляється, має ряд переваг, які виділяють його серед аналогів: відсутність звикання, залежності, токсичної дії в дозах, які пропонуються, що дозволяє його застосування для лікування захворювань, які супроводжуються нейрозапаленням і порушенням когнітивних функцій у різних вікових групах.

Засіб, що заявляється, рекомендовано застосовувати для лікування захворювань, які супроводжуються нейрозапаленням і порушенням когнітивних функцій перорально у вигляді твердих і рідких лікарських форм для внутрішнього вживання в дозах 5-50 мг/кг маси тіла.

Засіб, що заявляється, розроблено та апробовано в відділі біохімії ліпідів Інституту біохімії ім. О. В. Палладіна НАН України спільно з лабораторією імунології клітинних рецепторів відділу молекулярної імунології Інституту біохімії ім. О. В. Палладіна НАН України та ДУ "Інститут геронтології імені Д. Ф. Чеботарьова НАМН України, м. Київ.

Підписи до фігур креслення

Фіг. 1. Активність ацетилхолінестерази у гіпокампі (1) та фронтальній корі (2) головного мозку щурів за експериментального холінергічного дефіциту та застосуванні NSE в дозі 50 мг/кг маси тіла.

Примітки: * - зміни вірогідні відносно значень у тварин групи "Контроль", $P < 0,05$; # - зміни вірогідні відносно значень у тварин групи "Скополамін", $P < 0,05$.

Фіг. 2. Вміст TNF α у гіпокампі щурів за експериментального нейрозапалення та застосуванні NSE у дозі 50 мг/кг маси тіла. Примітки: 1 - "Контроль", 2 - "ЛПС", 3 - "NSE + ЛПС"; * - зміни вірогідні відносно значень у тварин групи "Контроль", $P < 0,05$; # - зміни вірогідні відносно значень у тварин групи "ЛПС", які були виведені з експерименту через 3 год. після введення ЛПС, $P < 0,05$; @ - зміни вірогідні відносно значень у тварин групи "ЛПС", які були виведені з експерименту через 7 днів після введення ЛПС, $P < 0,05$;

Фіг. 3. Проникність у мозок мишей біотинильованих а7(1-208)-специфічних антитіл кроля за експериментального нейрозапалення та застосуванні NSE у дозі 50 мг/кг маси тіла.

Примітки: * - зміни вірогідні відносно значень у тварин групи "Ab α 7 (1-208)", $P < 0,05$; # - зміни вірогідні відносно значень у тварин групи "Ab α 7 (1-208) + LPS", $P < 0,05$.

Фіг. 4. Антиамнестична дія NSE у дозі 5 мг/кг маси тіла за експериментального холінергічного дефіциту у щурів.

Фіг. 5. Вплив NSE в дозі 50 мг/кг маси тіла на стан епізодичної пам'яті в мишей із експериментальним нейрозапаленням.

Примітки: * - зміни вірогідні відносно значень у тварин групи "Контроль", $P < 0,05$; # - зміни вірогідні відносно значень у тварин групи "ЛПС", $P < 0,05$.

Фіг. 6. Вплив NSE на стан епізодичної пам'яті в щурів з експериментальним IP-станом.

Примітки: * - зміни вірогідні відносно значень у тварин групи "Контроль", $P < 0,05$; # - зміни вірогідні відносно значень у тварин групи "IP", $P < 0,05$.

Джерела інформації:

1. Пурденко Т.Й. Проблема когнітивних розладів у неврологічній практиці. Буковинський медичний вісник. 2014; 18, № 4 (72): 216-221.

2. Приходько В.Ю., Мікропуло І.Р., Кашковський Д.О., Кононенко О.А., Волощук Т.Р., Приходько В.М. Проблема когнітивних порушень у практиці сімейного лікаря. Роль факторів серцево-судинного ризику. Ліки України. 2014; № 7-8 (183-184): 23-28.

3. Wang J., Tan L., Wang H.F., Tan C.C., Meng X.F., Wang C, Tang S.W., Yu J.T. Anti-inflammatory drugs and risk, °F Alzheimer's disease: an updated systematic review and meta-analysis. J Alzheimers Dis. 2015; 44(2):385-96.

4. Cunningham C. Skelly D.T. Non-steroidal anti-inflammatory drugs and cognitive function: are prostaglandins at the heart of cognitive impairment in dementia and delirium? J Neuroimmune Pharmacol. 2012; 7(1):60-73.

5. Пашковська Н.В. Когнітивні порушення при цукровому діабеті типу 2: роль гіпоглікемізуючої терапії. Міжнародний ендокринологічний журнал. 2018; 14(1):76-85.

6. Довідник Лікарських Засобів зареєстрованих в Україні станом на 11.01.2018 [Електронний ресурс]. Доступ: //https://medhub.info/31246dcb.

7. Фармакологія: підручник для студ. мед. ф-тів / Чекман І.С., Горчакова Н.О., Казак Л.І., [та ін.]; за ред. проф. І.С. Чекмана. - Вид. 4-те. - Вінниця: Нова книга, 2017.-784с.

8. Naeem S., Dr. Najam R., Dr. Akhter S.W. Does Diclofenac improve cognition and daily living functioning in Parkinson patients? International Journal of Scientific & Engineering Research. 2015; 6(1):1069-1075.

9. N-(2-Hydroxyethyl)octadecanamide. Compound Summary for CID 27902 // PubChem Open chemistry database [Електронний ресурс]. Доступ: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/27902#section=Top>.

10. Пат. 81861 UA. Опубл. 11.02.2008. Бюл. № 3.

5 11. Пат. 77182 UA. Опубл. 15.11.2006., Бюл. № 11, з виправл. 2007. Бюл. № 7 та 2007. Бюл. № 13.

12. Пат. 77278 UA. Опубл. 15.11.2006., Бюл. № 11.

13. Пат. 74117 UA. Опубл. 25.10.2012., Бюл. № 20.

10 14. Maccarrone M, Cartoni A, Parolaro D, Margonelli A, Massi P, Bari M, Battista N, Finazzi-Agro A. Cannabimimetic activity, binding, and degradation of stearyl ethanolamide within the mouse central nervous system. *Mol Cell Neurosci*. 2002; 21(1): 126-140.

15. Пат. 85523 UA. Опубл. 26.01.2009., Бюл. № 2.

16. A comparison of scopolamine and biperiden as a rodent model for cholinergic cognitive impairment. *Psychopharmacology*. 2011; 215: 549-566.

15 17. Fu H.Q., Yang T., Xiao W., Fan L., Wu Y., Terrando N., Wang T.L. Prolonged Neuroinflammation after Lipopolysaccharide Exposure in Aged Rats. *PLOS ONE*. 2014; 9(8): e106331.

18. Пошивалов В.П. Этологический атлас для фармакологических исследований на лабораторных грызунах. М.: Деп. В ВИНТИ. 1978: 3164-3178.

20 19. Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств. Часть первая. - М.: Гриф и К, 2012.-944 с.

20 20. Онопченко О.В., Косякова Г.В., Горідько Т.М., Бердишев А.Г., Мегедь О.Ф., Гула. Н.М. Вплив N-стеароїлетаноламіну на активність ензимів антиоксидантного захисту, вміст продуктів ПОЛ і нітрит-аніона в плазмі крові та печінці щурів з індукованою інсулінорезистентністю. *Укр. біохім. журн*. 2013; 85(5): 88-96.

25 21. Antunes M., Biala G. The novel object recognition memory: neurobiology, test procedure, and its modifications. *Cogn Process*. 2012; 13(2): 93-110.

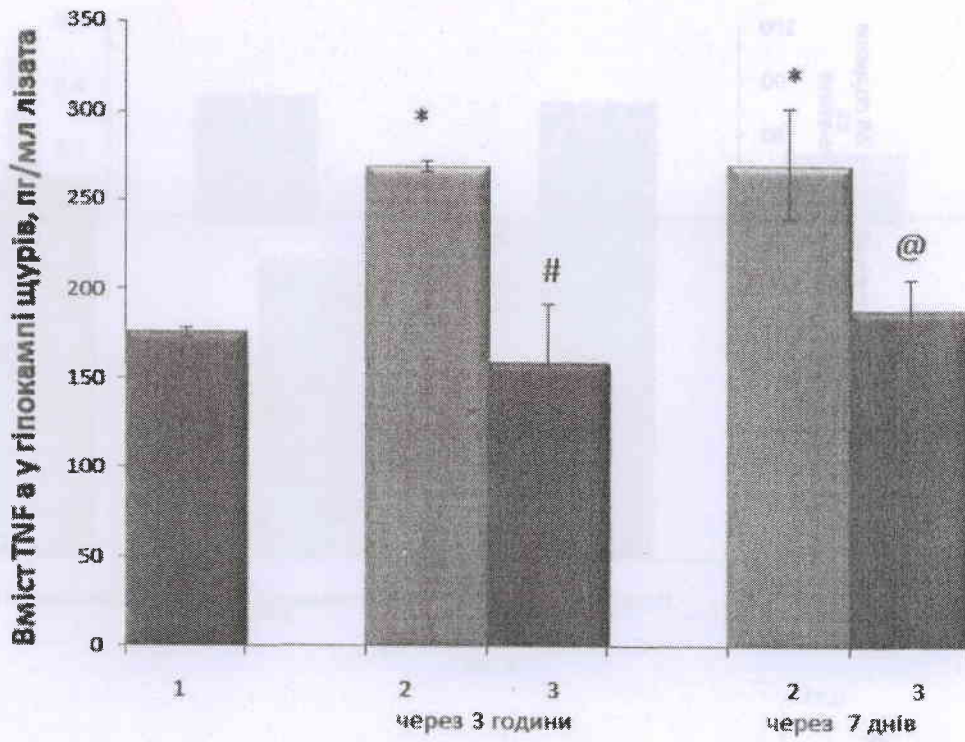
ФОРМУЛА ВИНАХОДУ

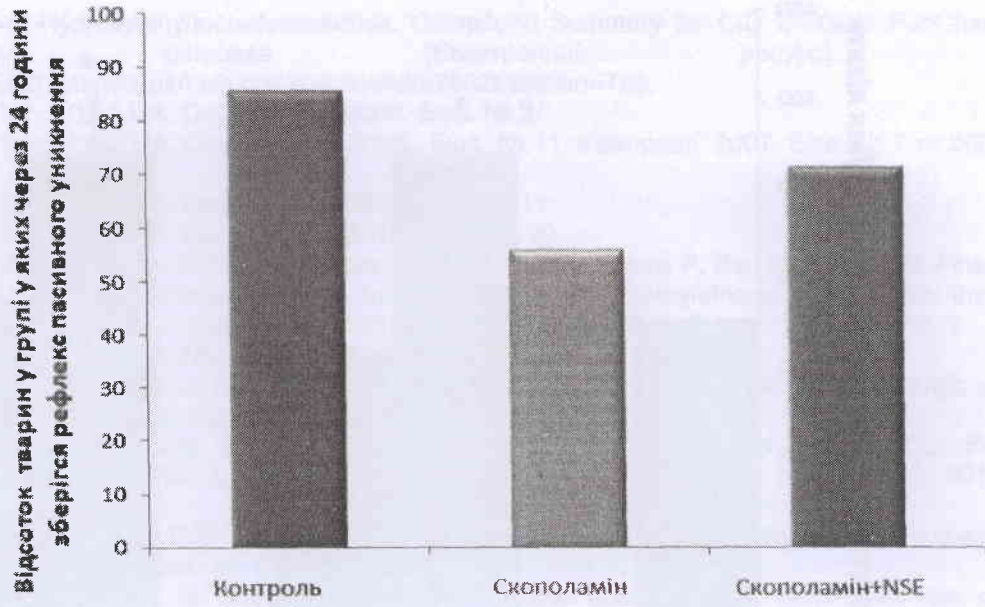
30

Застосування N-стеароїлетаноламіну як засобу з комплексною дією для лікування захворювань, що супроводжуються нейрозапаленням і порушенням когнітивних функцій.

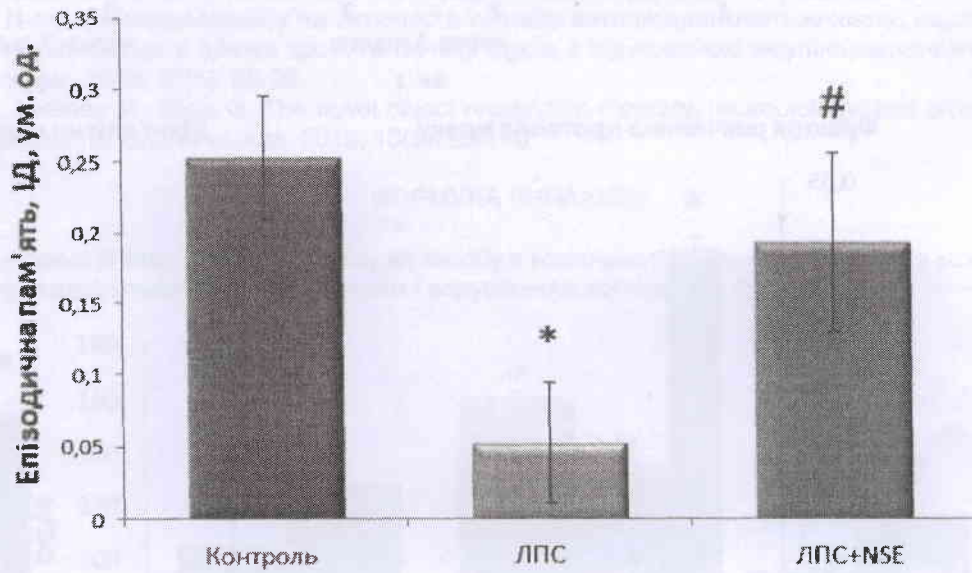


Fig. 1

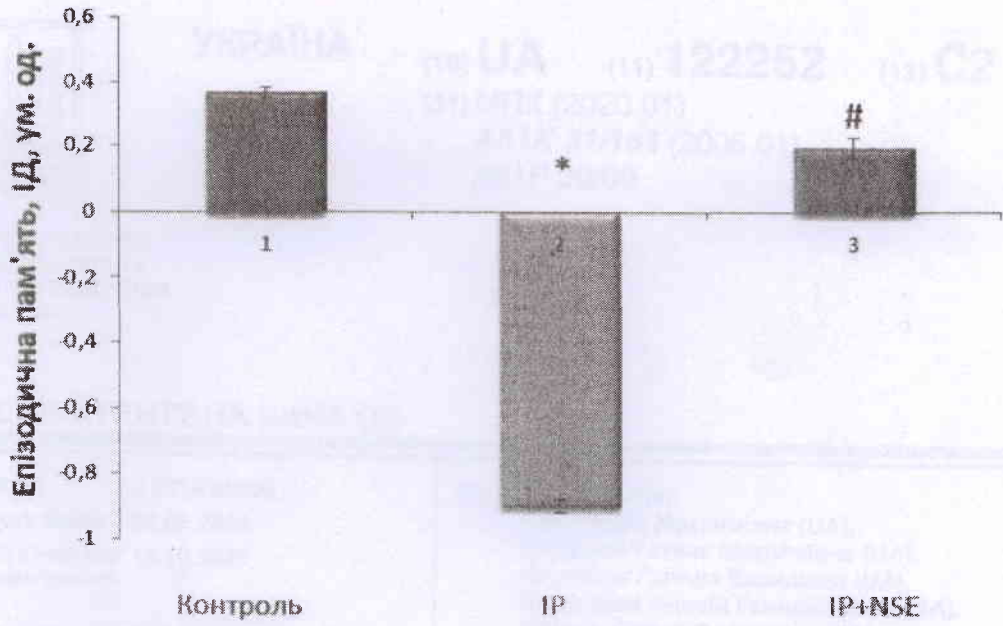




Фіг. 4



Фіг. 5



Фіг. 6

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