

93
УКРАЇНА



ПАТЕНТ

НА ВИНАХІД

№ 98731

**ЗАСТОСУВАННЯ N-СТЕАРОІЛЕТАНОЛАМІНУ ЯК ЗАСОБУ
В КОМПЛЕКСНІЙ ТЕРАПІЇ ТА ПРОФІЛАКТИЦІ РОЗЛАДІВ
ЧОЛОВІЧОЇ СТАТЕВОЇ СИСТЕМИ**

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

Зареєстровано в Державному реєстрі патентів України на винаходи
11.06.2012.

Голова Державної служби
інтелектуальної власності України

М.В. Паладій



(19) UA

(51) МПК

A61K 31/13 (2006.01)

A61P 5/24 (2006.01)

A61P 15/08 (2006.01)

A61P 15/10 (2006.01)

(21) Номер заявки: а 2011 03251

(22) Дата подання заявки: 21.03.2011

(24) Дата, з якої є чинними права на винахід: 11.06.2012

(41) Дата публікації відомостей про заявку та номер бюлетеня: 10.01.2012, Бюл.№ 1

(46) Дата публікації відомостей про видачу патенту та номер бюлетеня: 11.06.2012, Бюл. № 11

(72) Винахідники:

Гула Надія Максимівна, UA,
 Микоша Олексій Степанович, UA,
 Горідько Тетяна Миколаївна, UA,
 Косякова Галина Василівна, UA,
 Бердишев Андрій Геннадійович, UA,
 Шовкун Світлана Анатоліївна, UA,
 Клімашевський Віталій Мар'янович, UA,
 Комісаренко Сергій Васильович, UA

(73) Власник:

ІНСТИТУТ БІОХІМІЇ ІМ. О.В. ПАЛЛАДИНА НАЦІОНАЛЬНОЇ АКАДЕМІЇ НАУК УКРАЇНИ,
 вул. Леонтовича, 9, м. Київ, 01601, Україна, UA

(54) Назва винаходу:

ЗАСТОСУВАННЯ N-СТЕАРОЇЛЕТАНОЛАМІНУ ЯК ЗАСОБУ В КОМПЛЕКСНІЙ ТЕРАПІЇ ТА ПРОФІЛАКТИЦІ РОЗЛАДІВ ЧОЛОВІЧОЇ СТАТЕВОЇ СИСТЕМИ

(57) Формула винаходу:

1. Застосування N-стеароїлетаноламіну як засобу в комплексній терапії та профілактиці розладів чоловічої статевої системи при патологічних станах, пов'язаних із порушеннями структурно-функціонального стану сім'яників та зниженням рівня тестостерону.

2. Застосування за п. 1, яке відрізняється тим, що засіб виконано у вигляді твердих, рідких та м'яких лікарських форм для перорального ведення до, під час або після ушкоджуючого впливу.



УКРАЇНА

(19) UA (11) 98731 (13) C2
(51) МПК

A61K 31/13 (2006.01)
A61P 5/24 (2006.01)
A61P 15/08 (2006.01)
A61P 15/10 (2006.01)

ДЕРЖАВНА СЛУЖБА
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІ
УКРАЇНИ

(12) ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА ВИНАХІД

<p>(21) Номер заявки: а 2011 03251</p> <p>(22) Дата подання заявки: 21.03.2011</p> <p>(24) Дата, з якої є чинними права на винахід: 11.06.2012</p> <p>(41) Публікація відомостей про заяву: 10.01.2012, Бюл.№ 1</p> <p>(46) Публікація відомостей про видачу патенту: 11.06.2012, Бюл.№ 11</p>	<p>(72) Винахідник(и): Гула Надія Максимівна (UA), Микоша Олексій Степанович (UA), Горідько Тетяна Миколаївна (UA), Косякова Галина Василівна (UA), Бердишев Андрій Геннадійович (UA), Шовкун Світлана Анатоліївна (UA), Клімашевський Віталій Мар'янович (UA), Комісаренко Сергій Васильович (UA)</p> <p>(73) Власник(и): ІНСТИТУТ БІОХІМІЇ ІМ. О.В. ПАЛЛАДІНА НАЦІОНАЛЬНОЇ АКАДЕМІЇ НАУК УКРАЇНИ, вул. Леонтовича, 9, м. Київ, 01601, Україна (UA)</p> <p>(56) Перелік документів, взятих до уваги експертизою: UA 81861 C2, 11.02.2008 Маргітч В.М. Фосфоліпіди сперми при чоловічій неплідності з порушеннями функції гіпофізарно-гонадної системи. Автореферат дис. канд. мед. наук. - К. 1993. -20 с. Асмолкова В.С., Лавренчук Г.Й., Хмель Т.О. та іші. Вплив N-ацилетаноламінів на виживання культури ембріональних клітин за дії радіаційного опромінення, Укр. біохім. журн., 2009, т. 81, № 5, стор. 66-72</p>
--	---

UA 98731 C2

(54) ЗАСТОСУВАННЯ N-СТЕАРОЇЛЕТАНОЛАМІНУ ЯК ЗАСОБУ В КОМПЛЕКСНІЙ ТЕРАПІЇ ТА ПРОФІЛАКТИЦІ РОЗЛАДІВ ЧОЛОВІЧОЇ СТАТЕВОЇ СИСТЕМИ

(57) Реферат:
Винахід належить до біології, фармації та медицини, а саме, до застосування N-стеароїлетаноламіну (NSE) як засобу в комплексній терапії та профілактиці розладів чоловічої статеві системи, у патогенезі та лікувальних схемах яких розвиваються порушення структурно-функціонального стану сім'яників та зниження рівня тестостерону.

Винахід належить до біології, фармації та медицини, а саме, до застосування N-стеароїлетаноламіну (NSE) як засобу в комплексній терапії та профілактиці розладів чоловічої статеві системи, у патогенезі та лікувальних схемах яких можуть розвиватись порушення структурно-функціонального стану сім'яників та зниження рівня тестостерону.

5 Відомо, що розвиток неплідності тісно пов'язаний з рівнем чоловічого статеві гормону - тестостерону. Серед причин, що зумовлюють зниження продукції тестостерону є структурно-функціональні зміни сім'яників, що можуть виникнути за умов оксидативного стресу та підвищення рівня естрогенів в організмі чоловіків за ряду патологічних станів, як то цукровим діабетом 1-2 типів, ожиріння та ін. [1]. Високі дози естрогенів викликають гальмування секреції гонадотропінів гіпофізу. Зниження рівня гонадотропінів в організмі призводить до пригнічення утворення клітинами Лейдіга тестостерону, наявність якого необхідна практично на всіх стадіях сперматогенезу. Дефіцит тестостерону й обумовлені його недостатністю метаболічні порушення можуть виникнути в чоловіків різного віку. Зниження вмісту тестостерону описано у хворих на цукровий діабет 1 та 2 типів та за метаболічного синдрому. Тестостерон відіграє важливу роль у чутливості клітин до інсуліну та регуляції метаболізму ліпідів і ліпопротеїдів.

10 Зниження рівня тестостерону за ожиріння може бути обумовлено підвищенням швидкості перетворення тестостерону на естрадіол, що може спричиняти порушення андроген-естрогенного балансу [1].

Відомо, що в урологічній і андрологічній практиці з метою корекції структурно-функціональних порушень сім'яників призначають препарати з антиоксидантною та мембранотропною дією, як то вітамін Е, антиоксиданти та різного роду біостимулятори [2]. Поряд з антиоксидантною дією вітамін Е бере участь у регуляції балансу чоловічих статеві стероїдів за рахунок впливу на гонадотропну й адренотропну функцію аденогіпофізу. При неплідності, спричиненій розвитком оксидативного стресу в сім'яниках, пропонується застосування амідів N-ацетилцистеїну в вигляді солі або складного ефіру для зменшення утворення вільних радикалів та, відповідно, інтенсивності оксидативного стресу [3]. Проте слід зауважити, що застосування вітаміну Е у пацієнтів з гіперактивністю бронхів обмежене у зв'язку з можливістю виникнення бронхоспазму; існують протипоказання щодо застосування цього препарату у хворих з виразкою верхніх відділів системи травлення.

Відомо про спосіб застосування складних ефірів поліненасичених жирних кислот ω -3 та ω -6 ряду як біологічно активних сполук при розладах статеві системи різного ґенезу в чоловіків [4]. Проте існують обмеження їх застосування при цукровому діабеті 1 і 2 типу, а також при захворюванні на холецистит у зв'язку з вираженою жовчогінною дією.

Відомо, що за андрогенної недостатності або для підтримки статеві функції у випадку її порушення проводять стимулюючу або замісну гормонотерапію. Якщо у чоловіків зберігся гормональний резерв, їм показано призначення малих доз гонадотропінів (препарати, які підвищують продукцію власних гормонів - "Прегніл", "Луверіс"), і/або андрогенів, часто в поєднанні з антиестрогенами - "Кломідом" (кломіфен цитрат, блокатор естрогенових рецепторів) та "Арімідексом" (інгібітор ароматази тестостерону) [5, 6]. Якщо цей резерв вичерпаний - застосовується замісна терапія препаратами тестостерону.

Відомо, що для замісної терапії андрогенної недостатності використовують препарати хімічно модифікованого тестостерону, які вводять перорально (метилтестостерон "Андорал"), парентерально ("Сустанон") та трансдермально ("Тестогель") [6]. Проте кожний з наведених способів має свої недоліки. Пероральне введення тестостерону спричиняє гепатотоксичну дію та збільшує рівень ліпопротеїдів низької щільності, одночасно знижуючи концентрацію ліпопротеїдів високої щільності. Суттєвим недоліком парентерального введення препаратів тестостерону є різкий перепад рівня цього гормону в крові в проміжках між ін'єкціями, що негативно впливає на стан хворих. Щодо трансдермальних препаратів андрогенів, то з появою препаратів пролонгованої дії для внутрішньом'язового введення тестостерону вони практично втратили своє терапевтичне значення. Крім того, при застосуванні кломіфен цитрату можливі нудота, діарея, запаморочення, алергічні дерматози, психастенія, тромбоемболічне ускладнення, порушення зору. Протипоказане застосування препарату при новоутвореннях, органічних хворобах центральної нервової системи, захворюваннях печінки, кровотечах, схильності до тромбоемболічного. При застосуванні "Арімідексу" у хворих спостерігається цілий ряд побічних ефектів, в тому числі виявлено негативний вплив на щитовидну залозу та печінку.

Таким чином, сучасні засоби є недостатньо ефективними при лікуванні розладів репродуктивної системи у чоловіків, що спричиняються порушеннями функції сім'яників і, як наслідок, дефіцитом тестостерону.

В основу винаходу, що заявляється, поставлена задача розширення арсеналу засобів для лікування та профілактики розладів чоловічої статеві системи шляхом створення ефективного,

- недорогого засобу, що проявляє виражені антиоксидантні, мембранопротекторні властивості та здатний підвищувати адаптивний потенціал організму шляхом впливу на рівень сумарних 11-гідроксикортикостероїдів і запобігати порушенням репродуктивної функції організму через вплив на рівень тестостерону. Засіб, що заявляється, можна отримати з вітчизняної сировини, фізично та хімічно стійкого в зовнішньому та внутрішньому середовищах організму.
- 5 Задача вирішується шляхом застосування N-стеароїлетаноламіну (NSE) як засобу в комплексній терапії та профілактиці розладів чоловічої статеві системи, для корекції структурно-функціонального стану сім'яників та відновлення рівня тестостерону за різних патологічних станів.
- 10 Суть винаходу полягає у здатності NSE відновлювати стан про-антиоксидантної рівноваги та вміст оксиду азоту, нормалізувати ліпідний склад сім'яників за експериментального цукрового діабету (ЕЦД), а також запобігати різкому зниженню рівня тестостерону та зростанню вмісту 11-гідроксикортикостероїдів (11-ОКС) в плазмі крові щурів у відповідь на введення 17 β -естрадіолу (E₂).
- 15 N-стеароїлетаноламін - дрібнодисперсний кристалічний порошок білого кольору, масний на дотик, без специфічного запаху та смаку, розчинний у органічних розчинниках, нерозчинний у воді, не виділяє токсичних речовин і не створює вибухонебезпечних сумішей. Температура плавлення 98-101 °C [7].
- 20 Засіб, що заявляється, застосовується перорально у вигляді твердих, рідких та м'яких лікарських форм для внутрішнього вживання до, під час або після ушкоджуючого впливу. Реалізація зазначених вище ефектів NSE ілюструється наступними прикладами:
- Приклад 1. Вплив NSE на стан про-антиоксидантної рівноваги в сім'яниках щурів за ЕЦД. ЕЦД викликають одноразовим внутрішньочеревним введенням безпородним щурам-самцям розчину стрептозотоцину (фірми "Sigma" США) у Na⁺-цитратному буфері (рН 5,5) з розрахунку 25 50 мг/кг маси тіла. Розвиток ЕЦД контролюють за рівнем глюкози, яку визначають глюкозооксидазним методом [8]. Аналіз проводять з використанням стандартних наборів вітчизняного виробництва ("Філісіт Діагностика", Дніпропетровськ). У дослідження беруть тварин з рівнем глюкози 8-12 ммоль/л.
- Щурів після індукції ЕЦД поділяють на 2 групи: перша група - "ЕЦД", друга група - "ЕЦД + 30 NSE". У групі тварин "ЕЦД + NSE" через 1,5 місяці після індукції ЕЦД перорально вводять водну суспензію NSE в дозі 50 мг/кг ваги щурів протягом 10 днів, тоді як щури групи "ЕЦД" отримують воду. Окремо виділяють групи інтактних тварин "Контроль" та "NSE". Щурам групи "NSE" через 1,5 місяці після початку експерименту вводять перорально водну суспензію NSE в дозі 50 мг/кг ваги протягом 10 днів, тварини контрольної групи отримують воду як контроль на розчинник 35 NSE. Після закінчення експерименту тварин виводять з експерименту під нембуталовим наркозом (50 мг/кг ваги). Для досліджень відбирають сім'яники тварин та одразу поміщають їх у скраплений азот.
- Визначення інтенсивності процесів пероксидного окислення ліпідів (ПОЛ) проводять за 40 накопиченням продуктів, що реагують із тіобарбітуровою кислотою (ТБК-реагуючих продуктів - малоновий діальдегід (МДА) [9].
- Активність каталази (КАТ) визначають за методом [10]. Активність супероксиддисмутази (СОД) визначають за методом [11]. Активність глутатіонпероксидази (ГП) визначають за методом [12].
- 45 Дані, наведені в таблиці 1, свідчать про значне зниження активності СОД та КАТ у сім'яниках щурів групи "ЕЦД" вже на початкових стадіях розвитку захворювання, активність ГП при цьому не зазнає змін.

Вміст ТБК-реагуючих продуктів та активність ферментів антиоксидантного захисту в сім'яниках щурів (M±m; n=7-10)

Параметр	Групи тварин			
	"Інтактні"	"Інтактні +NSE"	"ЕЦД"	"ЕЦД + NSE"
ТБК-реагуючі продукти, нмоль МДА/г тканини	55,81±1,12	58,94±1,55	62,79±5,38	44,66±1,23 *#
Супероксид-дисмутаза, (ум.од) x (хв. x мг білка) ⁻¹	541,68±47,74	716,41±77,92	271,41±36,96*	328,17±52,38*
Каталаза, (нмоль) x (хв. x мг білка) ⁻¹	24,50±2,10	24,68±1,68	19,48±1,26*	23,13±1,04#
Глутатіонпероксидаза, (нмоль) x (хв. x мг білка) ⁻¹	141,75±11,46	175,11±17,30	159,13±12,21	172,80±13,78

Примітки: * - зміни вірогідні відносно до тварин групи "Інтактні", P<0,05;

- зміни вірогідні відносно до групи тварин "ЕЦД", P<0,05.

5

Введення NSE щурам із початковими стадіями ЕЦД сприяє нормалізації активності КАТ у сім'яниках тварин. Виявлені зміни активності КАТ у сім'яниках під впливом NSE обумовлюють істотне зменшення вмісту ТБК-реагуючих продуктів. Зменшення вмісту ТБК-реагуючих продуктів за дії NSE є свідченням пригнічення інтенсивності процесів ПОЛ в сім'яниках щурів із ЕЦД.

10

Таким чином, NSE сприяє відновленню стану про-антиоксидантної рівноваги в тканині сім'яників щурів із ЕЦД.

Приклад 2. Вплив NSE на вміст стабільних метаболітів оксиду азоту в сім'яниках щурів із ЕЦД.

Дослідження проводять за схемою, описаною в прикладі 1.

15

Вміст нітрит-аніону (NO₂⁻) визначають спектрофотометрично за методом [13].

Визначення вмісту нітрат-аніонів (NO₃⁻) проводять спектрофотометричним методом [14].

Відомо, що в патогенезі цукрового діабету 1 та 2 типів та його ускладнень важливу роль відіграє надлишкове утворення оксиду азоту на тлі оксидативного стресу. Надмірні кількості NO та його похідних спричиняють нітрозилування макромолекул (білки, нуклеїнові кислоти) та ліпідів, викликаючи зміни їх функціональної активності, що, в свою чергу, призводить до порушення структурної та функціональної цілісності мембранного апарату клітин [15].

20

Результати досліджень, наведені на фіг. 1, свідчать про істотне зростання вмісту нітрит-аніону в сім'яниках щурів вже на початкових стадіях ЕЦД. Вміст нітрат-аніону в сім'яниках щурів не набуває вірогідних змін за ЕЦД (дані не наведені). У групі тварин "ЕЦД + NSE" виявлено зниження вмісту нітрит-аніону в сім'яниках щурів (фіг. 1) та не виявлено істотних змін щодо вмісту нітратів у тканині сім'яників (дані не наведено).

25

Таким чином, застосування NSE на ранніх стадіях ЕЦД попереджає розвиток нітрозативного стресу в сім'яниках щурів.

Приклад 3. Вплив NSE на фосфоліпідний склад сім'яників щурів з ЕЦД.

30

Дослідження проводили за схемою, що описана в прикладі 1.

Вміст загальних та індивідуальних фосфоліпідів виражають за кількістю неорганічного фосфору в ліпідних екстрактах, який визначають, як описано в [16]. За інтенсивністю забарвлення фосфорно-молібденового комплексу при довжині хвилі 815 нм визначають кількість неорганічного фосфору (Pi) у складі загальних та індивідуальних фосфоліпідів. Вміст індивідуальних фосфоліпідів у ліпідному екстракті розраховують за кількістю неорганічного фосфору в ліпідних плямах після проведення двовимірної тонкошарової хроматографії та ідентифікації після проявлення сірчаною кислотою.

35

Відомо про існування тісного кореляційного зв'язку між порушеннями в ліпідному складі мембран статевих клітин і розвитком чоловічої неплідності [17].

40

На фіг. 2 показано значне зниження неорганічного фосфору загальних фосфоліпідів в сім'яниках щурів групи "ЕЦД". Введення тваринам із розвинутим ЕЦД суспензії NSE сприяє

нормалізації вмісту загальних фосфоліпідів в перерахунку на одиницю маси як тканини (фіг. 2), так і загальних ліпідів (фіг. 3).

Результати хроматографічного аналізу (табл. 2) показують, що ЕЦД спричиняє падіння вмісту неорганічного фосфору загальних фосфоліпідів сім'яників за рахунок значного зменшення вмісту всіх досліджуваних фосфоліпідів, а саме: фосфатидилхоліну, фосфатидилетаноламіну, дифосфатидилгліцеролу, фосфатидилінозиту, фосфатидилсерину.

Відомо, що зміни фосфоліпідного складу сім'яників разом із іншими метаболічними порушеннями складають передумови розвитку чоловічої неплідності за ЕЦД [18].

Таблиця 2

Вміст неорганічного фосфору індивідуальних фосфоліпідів в сім'яниках щурів, мкг P/g тканини (M±m; n=7-10)

Фосфоліпід	Групи тварин			
	"Інтактні"	"Інтактні + NSE"	"ЕЦД"	"ЕЦД + NSE"
Фосфатидилхолін	2,22±0,20	1,88±0,21	0,89±0,37*	2,58±0,53 #
Фосфатидилетаноламін	1,86±0,23	1,32±0,14	0,81±0,27*	1,79±0,27#
Дифосфатидилгліцерол	0,32±0,05	0,18±0,03*	0,15±0,04*	0,30±0,05 #
Сфінгомієлін	0,48±0,09	0,45±0,11	0,24±0,08	0,56±0,11 #
Фосфатидилінозитол	0,28±0,06	0,19±0,03	0,11±0,03*	0,27±0,06 #
Фосфатидилсерин	0,30±0,03	0,20±0,03*	0,11±0,04*	0,28±0,05 #
Лізофосфатидилхолін	0,06±0,03	0,06±0,009	0,03±0,01	0,16±0,04#
Неідентифіковані	0,08±0,04	0,05±0,02	0,01 ±0,005	0,12±0,04#
Стартова Зона	0,13±0,04	0,06±0,01	0,02±0,007*	0,11±0,02#

10

Примітки: * - зміни вірогідні відносно до тварин групи "Інтактні", P<0,05;
- зміни вірогідні відносно до групи тварин "ЕЦД", P<0,05.

15

Введення NSE щурам із початковими стадіями ЕЦД приводить до відновлення вмісту як загальних, так і індивідуальних фосфоліпідів вже через 10 днів після початку введення (табл. 2), що є свідченням здатності цієї сполуки здійснювати вплив на метаболізм фосфоліпідів і сприяти відновленню структури та функції мембран сім'яників.

Приклад 4. Вплив NSE на склад жирних кислот сім'яників щурів з ЕЦД.

20

Дослідження проводять за схемою, що описана в прикладі 1. З ліпідного екстракту сім'яників щурів виділяють метилові ефіри жирних кислот за модифікованим методом [17, 19]. Кількісний аналіз метилових ефірів жирних кислот проводять за допомогою газорідинної хроматографії на хроматографі Carlo Erba (Італія) з полум'яно-іонізаційним детектором на скляній колонці довжиною 2,5 м та внутрішнім діаметром 3 мм, заповненою на 10 % фазою Sp 2300 (Silar 5CP) на "Chromosorb W/HP" при програмованій температурі 140-250 °C та швидкості наростання температури 2 °C за хв.

25

Для калібрування колонки та ідентифікації жирних кислот застосовують стандарти метилових ефірів жирних кислот (Serva, ФРН). Відсотковий вміст жирних кислот в екстракті розраховують за площею піків на хроматограмі.

30

Результати вивчення жирнокислотного складу сім'яників щурів із ЕЦД показують зростання вмісту насичених ЖК та зменшення вмісту ненасичених ЖК як у пулі вільних ЖК, так і у складі фосфоліпідів (таблиці 3, 4), та відсутність змін вмісту ЖК у складі ефірів холестеролу.

Таблиця 3

Рівень насиченості жирних кислот фосфоліпідів в сім'яниках щурів, % від загальної кількості жирних кислот (M±m; n=7-10)

Жирні кислоти	Групи тварин			
	"Інтактні"	"Інтактні + NSE"	"ЕЦД"	"ЕЦД+ NSE"
Насичені, Σ	38,98±0,95	43,13±1,08*	42,44±1,01*	41,3±0,69
Ненасичені, Σ	59,77±1,05	55,47±1,05*	56,46±0,96*	57,27±0,71
Насичені/Ненасичені	0,60±0,06	0,78±0,04*	0,75±0,03*	0,72±0,02
Моноєнові, Σ	18,79±0,27	19,24±0,32	19,86±0,35*	19,73±0,36
Дієнові, Σ	6,68±0,45	5,17±0,19*	5,61±0,21	6,49±0,19#
Полієнові, Σ	34,29±1,05	31,05±0,91*	30,99±1,21	31,04±0,79*
Неідентифіковані, Σ	1,04±0,26	1,40±0,20	1,01±0,06	1,44±0,08#

Примітки: * - зміни вірогідні відносно тварин групи Інтактні, P<0,05;
- зміни вірогідні відносно тварин групи "ЕЦД", P<0,05.

5

Таблиця 4

Рівень насиченості вільних жирних кислот в сім'яниках щурів, % від загальної кількості жирних кислот, (M±m; n=7-10)

Жирні кислоти	Групи тварин			
	"Інтактні"	"Інтактні + NSE"	"ЕЦД"	"ЕЦД + NSE"
Насичені, Σ	29,85±0,41	29,78±0,45	44,60±3,25*	35,17±0,23*#
Ненасичені, Σ	68,98±0,47	69,20±0,45	53,75±2,99*	63,77±0,32*#
Насичені/Ненасичені	0,43±0,01	0,43±0,01	0,86±0,10*	0,55±0,006*#
Моноєнові, Σ	33,33±1,30	35,50±0,38	22,87±2,28*	29,77±0,38*#
Дієнові, Σ	22,46±0,60	22,29±0,51	11,43±1,29*	24,69±0,68*#
Полієнові, Σ	13,19±1,46	11,41±0,69	19,45±5,37	9,32±0,90*
Неідентифіковані, Σ	1,17±0,19	1,01±0,13	1,64±0,47	1,05±0,17

Примітки: * - зміни вірогідні відносно тварин групи "Інтактні", P<0,05;
- зміни вірогідні відносно тварин групи "ЕЦД", P<0,05.

- 10 При цьому зростає вміст таких насичених ЖК, як: капронової, тридеканової, ізостерінової, пентадеканової, пальмітинової та бегенової (таблиця 5, 6).
Такі зміни вмісту насичених та ненасичених ЖК обумовлюють вірогідне збільшення Індексу насиченості (величина співвідношення насичені/ненасичені ЖК).
- 15 Зміни вмісту ненасичених ЖК відбуваються, головним чином, за рахунок зниження вмісту моноєнових (лауролейнової, пальмітолейнової, олейнової, гондової), дієнових (ліноленої, докозатетраєнової) та окремих полієнових ЖК (таблиця 5, 6).
Так, у складі фосфоліпідів відбувається зменшення вмісту таких ω-6 кислот, як докозатетраєнова та докозопентаєнова. Крім того, відмічено значне зниження вмісту докозагексаєнової кислоти в складі пулу вільних ЖК сім'яників щурів із ЕЦД.

Таблиця 5

Вміст жирних кислот у складі фосфоліпідів сім'яників щурів, % від загальної кількості жирних кислот, (M±m, n=7-10)

Жирні кислоти	Групи тварин			
	"Інтактні"	"Інтактні + NSE"	"ЕЦД"	"ЕЦД + NSE"
Валеріанова	0,033±0,011	0,032 (n=1)	-	0,032 (n=1)
Капронова	0,041±0,006	0,032 (n=1)	0,064±0,006*	0,051±0,008
Енантова	0,057±0,013	0,073±0,006	0,047±0,016	0,053±0,012
Каприлова	0,039±0,011	0,054±0,006	0,058±0,006	0,043±0,005
Капринова	0,027±0,005	0,037±0,004	0,034±0,003	0,037±0,008
Ундецилова	0,024±0,004	0,031±0,003	0,028±0,002	0,039±0,008
Лауринова	0,045±0,005	0,056±0,007	0,061±0,006	0,089±0,018*
Ізолауринова	0,026±0,005	0,028±0,002	0,031±0,004	0,033±0,004
Лауролейнова	0,026±0,004	0,039±0,006	0,047±0,013	0,045±0,008
Тридеканова	0,067±0,008	0,104±0,011*	0,094±0,005*	0,110±0,024
Міристинова	0,280±0,032	0,280±0,026	0,340±0,026	0,365±0,037
Міристолейнова	0,172±0,023	0,185±0,015	0,208±0,018	0,245±0,046
Тетрадекадієнова	0,082±0,014	0,051±0,009	0,057±0,010	0,057±0,011
Пентадеканова	0,141±0,017	0,249±0,100	0,185±0,006*	0,252±0,036*
Пальмітинова	20,249±0,721	25,465±1,042*	23,267±1,153*	22,408±0,779
Ізопальмітинова	3,582±0,437	3,051±0,594	3,953±0,656	2,735±0,643
Пальмітолейнова	1,357±0,101	1,199±0,087	1,339±0,103	1,237±0,041
Маргарінова	0,387±0,020	0,295±0,013*	0,379±0,025	0,528±0,02*#
Гептадеценова	0,316±0,025	0,356±0,032	0,335±0,030	0,378±0,031
Стеаринова	12,453±0,246	11,604±0,269*	12,046±0,157	13,060±0,175 #
Ізостеаринова	1,097±0,120	0,854±0,152	1,103±0,177	0,907±0,218
Олейнова	15,635±0,252	15,860±0,336	16,689±0,447	16,519±0,315
Лінолева	6,136±0,490	4,683±0,163*	5,334±0,190	6,161±0,190 #
Ліноленова	0,051±0,008	0,091±0,022	0,053±0,018	0,083±0,019
Арахінова	0,216±0,013	0,236±0,023	0,157±0,017*	0,271±0,02*#
Гондова	0,537±0,045	0,557±0,028	0,491±0,024	0,624±0,030 #
Ейкозадієнова	0,104±0,058	0,039±0,005	0,043±0,009	0,035±0,003
Ейкозатриєнова	0,243±0,041	0,179±0,021	1,259±1,074	0,300±0,010
Арахідонова	15,916±0,910	15,872±0,537	15,835±0,520	14,940±0,233
Бегенова	0,378±0,049	0,802±0,053*	0,747±0,026*	0,332±0,026
Ерукова	0,760±0,098	1,048±0,055*	0,750±0,067	0,686±0,038
Докозадієнова	0,407±0,103	0,555±0,074	0,275±0,018	0,252±0,024
Докозатетраснова	0,327±0,029	0,402±0,041	0,233±0,016*	0,314±0,018 #
Докозапентаснова	16,407±0,615	13,845±0,601*	13,220±0,847*	15,211±1,200
Докозагексаснова	9,224±8,310	2,248±1,167	5,335±2,342	4,848±1,820
Неідентифіковані	0,149±0,032	0,175±0,031	0,125±0,023	0,180±0,027

Примітки: * - зміни вірогідні відносно тварин групи "Інтактні", P<0,05;
- зміни вірогідні відносно тварин групи "ЕЦД", P<0,05.

Таблиця 6

Вміст вільних жирних кислот в сім'яниках щурів, % від загальної кількості жирних кислот (M±m; n=7-10)

Жирні кислоти	Групи тварин			
	"Інтактні"	"Інтактні + NSE"	"ЕЦД"	"ЕЦД+NSE"
Лауринова	0,081±0,011	0,081±0,011	0,061±0,009	0,133±0,017*#
Ізолауринова	-	-	0,02 (n=1)	0,013±0,008
Лауролеїнова	0,018±0,003	0,018±0,002	0,048±0,012*	0,022±0,006
Тридеканова	0,009±0,0001	0,015±0,003	0,052±0,011*	0,014±0,002*#
Міристинова	1,242±0,099	1,501±0,15	1,312±0,064	1,104±0,107
Ізоміристинова	0,012±0,002	0,015±0,002	0,06±0,02*	0,022±0,011
Міристолеїнова	0,142±0,021	0,186±0,02	0,198±0,027	0,099±0,032#
Тридекадієнова	0,161±0,021	0,153±0,021	0,084±0	0,154±0,01
Пентадеканова	0,496±0,052	0,495±0,055	0,226±0,023*	0,494±0,05#
Пентадеценова	-	-	0,035 (n=1)	-
Пальмітинова	19,28±0,774	20,65±0,942	36,27±2,783*	19,94±0,886#
Ізопальмітинова	0,117±0,017	0,134±0,021	0,425±0,194	0,123±0,031
Пальмітолеїнова	7,094±0,77	8,923±0,547	2,569±0,425*	3,187±0,353*
Маргарінова	0,536±0,058	0,441±0,051	0,24±0,031*	0,803±0,066*#
Гептадеценова	0,477±0,037	0,501±0,051	0,559±0,112	0,347±0,075
Гептадекадієнова	0,168±0,019	0,194±0,016	0,093±0	0,142±0,015
Стеаринова	6,986±0,827	5,458±0,434	4,625±0,532*	11,38±0,668*#
Ізостеаринова	-	-	0,033 (n=1)	0,029 (n=1)
Олеїнова	23,64±0,89	24,4±0,786	18,7±1,792*	23,92±0,806#
Лінолева	17,13±2,808	19,7±1,633	11,1±1,322	15,8±3,286
Ліноленова	0,789±0,118	0,796±0,112	0,258±0,15*	0,935±0,138#
Арахідова	0,251±0,034	0,166±0,013	0,185±0,045	0,464±0,031*#
Гондова	1,499±0,164	1,295±0,128	0,67±0,076*	1,638±0,198#
Ейкозадієнова	-	-	0,214±0,08	-
Ейкозатриєнова	0,575±0,084	0,48±0,056	0,472±0,179	0,672±0,098
Арахідонова	5,082±0,75	3,848±0,364	11,11±4,582	3,282±0,23*
Генеїкозанонова	0,843±0,106	0,816±0,102	0,27±0,063*	0,624±0,076#
Бегенова	-	0,233 (n=1)	0,874±0,177	0,585 (n=1)
Ерукова	0,455±0,039	0,218±0,047	0,468±0,069	0,552±0,098
Докозадієнова	0,64±0,062	0,591±0,165	0,122±0,019*	0,754±0,093#
Докозатетраєнова	0,037±0,004	0,063±0,008	0,201±0,055*	0,063±0,024#
Докозапентаєнова	3,013±0,704	2,797±0,502	3,747±1,096	1,828±0,416
Докозагексаєнова	0,46±0,085	0,407±0,071	0,121±0,021*	0,377±0,088#
Неідентифіковані	0,348±0,061	0,357±0,05	0,658±0,146	0,247±0,036#

Примітки: * - зміни вірогідні відносно тварин групи "Інтактні", P<0,05;

- зміни вірогідні відносно тварин групи "ЕЦД", P<0,05.

5

Індекс насиченості жирних кислот відображає функціональні властивості мембран і слугує діагностичним показником багатьох патологічних процесів, а зниження вмісту докозагексаєнової кислоти в еякуляті тісно корелює з розвитком різних видів неплідності в чоловіків, як то: екскреторно-токсичної, секреторної та поєднаної [20].

10

ЕЦД спричиняє збільшення величини співвідношення олеїнової кислоти до стеаринової кислоти, що є свідченням змін активності Δ9-десатурази (табл. 7). Виявлене зростання активності цього ферменту є наслідком зворотної регуляції його активності при зменшенні вмісту моноєнових жирних кислот як у пулі вільних жирних кислот, так і в складі фосфоліпідів.

Співвідношення деяких жирних кислот в сім'яниках щурів, (M+m; n=7-10)

Жирні кислоти	Групи тварин			
	"Інтактні"	"Інтактні +NSE"	"ЕЦД"	"ЕЦД + NSE"
Жирні кислоти в складі фосфоліпідів				
ліноленова/лінолева	0,007±0,001	0,019±0,005*	0,010±0,003	0,013±0,003
олеїнова/стеаринова	1,258±0,026	1,371±0,032*	1,385±0,032*	1,265±0,020#
Вільні жирні кислоти				
ліноленова/лінолева	0,038±0,006	0,039±0,007	0,027±0,021	0,042±0,007
олеїнова/стеаринова	3,916±0,664	4,947±0,585	4,183±0,475*	2,200±0,240#

Примітки: * - зміни вірогідні відносно тварин групи "Інтактні", P<0,05;

- зміни вірогідні відносно тварин групи "ЕЦД", P<0,05.

5

Отже, виявлене зростання індексу насиченості жирні кислоти та зниження вмісту основних фосфоліпідів, є свідченням ущільнення клітинних мембран сім'яників щурів за ЕЦД, що може бути причиною порушення їх функціональної активності.

10 N-ацилгетаноламіни є групою мінорних ліпідів, складовими клітинних мембран, дія яких спрямована на захист та репарацію мембран за дії різних патологічних чинників [21]. Введення N-стеароїлетаноламіну щурам із ЕЦД приводить до відновлення вмісту загальних та індивідуальних насичених, ненасичених жирних кислот та індексу насиченості як вільних жирних кислот, так і жирних кислот у складі фосфоліпідів у сім'яниках тварин (таблиці 3-6). Під впливом NSE відбувається зростання вмісту докозагексаєнової кислоти в складі вільних жирних кислот.

15 Крім того, введення NSE щурам групи "ЕЦД" спричиняє відновлення розрахункової активності Δ9-десатурази (таблиця 7). Виявлений корегуючий вплив NSE на ліпідний склад сім'яників сприяє відновленню їх функціональної активності.

20 Таким чином, застосування NSE в дозі 50 мг/кг маси тіла протягом 10 днів на початкових етапах розвитку ЕЦД в щурів приводить до відновлення про-антиоксидантної рівноваги та зниження рівня пероксидного окислення ліпідів, нормалізації вмісту стабільних метаболітів оксиду азоту в сім'яниках, відновлення вмісту фосфоліпідів, нормалізації вмісту жирнокислотного складу пулу вільних жирних кислот, відновлення вмісту окремих дієвих та полієнових жирних кислот у складі фосфоліпідів сім'яників.

25 Отже, засіб, що заявляється, може бути використаний на ранніх стадіях розвитку ЕЦД в комплексній терапії та профілактиці розладів чоловічої статевої системи, у патогенезі та лікувальних схемах яких розвиваються порушення структурно-функціонального стану сім'яників.

Приклад 5. Вплив NSE на масу гіпоталамуса, аденогіпофіза, сім'яників та надниркових залоз щурів-самців за дії 17β-естрадіолу.

30 Експерименти проводять на білих статевозрілих щурах-самцях із середньою масою тіла 250 г. Щурів розподіляють на сім груп: 1 група - інтактні тварини; 2 група - щури, які отримують перорально водну суспензію NSE в дозі 50 мг/кг маси тіла протягом 7 діб, 3 група - щури, яким вводять внутрішньом'язово 0,1 мл олії мигдалю протягом 3 діб, 4 група - щури, яким вводять внутрішньом'язово протягом 3 діб перед виведенням тварин з експерименту розчин 17β-естрадіолу в олії мигдалю в дозі 400 мкг/кг маси тіла, 5 група - щури, яким вводять 17β-естрадіол на фоні NSE протягом останніх 3 діб перед закінченням експерименту.

35

Ефект естрадіолу реалізується як на рівні аденогіпофізу, так і на рівні сім'яників. Представлені в табл. 8 дані свідчать, що 17β-естрадіол викликає збільшення маси сім'яників на 16 %. Пероральне введення самцям щурів NSE перешкоджає цьому підвищенню. Маса аденогіпофізу після триразового введення 17β-естрадіолу зменшується на 18 % порівняно з інтактними тваринами, тоді як застосування NSE повністю попереджає це зниження, більш того, маса аденогіпофіза тварин цієї групи перевищує масу залоз контрольних тварин (табл. 8).

40

Вплив NSE на вагу окремих органів щурів за дії 17 β -естрадіолу, (M \pm m, n = 7-8)

Назва органу	Групи тварин				
	Інтактні тварини	NSE	Мигдалева олія, в/м	17 β -естрадіол, в/м	NSE + 17 β -естрадіол
гіпоталамус, мг	57,8 \pm 3,9	63,5 \pm 3,3	61,8 \pm 2,3	62,8 \pm 3,2	64,8 \pm 3,1
аденогіпофіз, мг	6,8 \pm 0,4	6,5 \pm 0,8	7,7 \pm 0,5	5,6 \pm 0,2*	9,9 \pm 0,4*#
сім'яники, г	2,6 \pm 0,1	2,7 \pm 0,1	2,9 \pm 0,1	3,1 \pm 0,1*	2,6 \pm 0,1*
надниркові залози, мг	153,9 \pm 9,3	147,0 \pm 5,6	142,4 \pm 9,7	168,8 \pm 11,8	156,0 \pm 6,0

Примітки: * - зміни вірогідні відносно групи "Інтактні тварини", $p < 0,01$;

- зміни вірогідні відносно групи "17 β -естрадіол в/м", $p < 0,01$.

5

Приклад 6. Вплив NSE на рівень тестостерону в плазмі крові щурів за дії 17 β -естрадіолу. Дослідження проводять за схемою, що описана в прикладі 5.

Кількісне визначення тестостерону в плазмі крові щурів проводять методом високоефективної рідинної хроматографії [22]. Внутрішньом'язове введення 17 β -естрадіолу самцям щурів протягом 3 днів викликає різке зниження рівня тестостерону в крові щурів. Введення NSE істотно зменшує гальмуючий вплив 17 β -естрадіолу на утворення тестостерону клітинами Лейдига сім'яників щурів (фіг. 3).

Приклад 7. Вплив NSE на рівень сумарних 11-гідроксикортикостероїдів в плазмі крові щурів за дії 17 β -естрадіолу.

Дослідження проводять за схемою, описаною в прикладі 5.

Вміст сумарних 11-гідроксикортикостероїдів у плазмі крові щурів, які отримують 17 β -естрадіол, збільшується більше, ніж в два рази порівняно з контролем, що є наслідком прямого впливу естрогену на кору надниркових залоз (фіг. 4). Пероральне введення NSE щурам, які отримують 17 β -естрадіол, попереджає підвищення рівня 11-ОКС в плазмі крові порівняно з групою "17 β -естрадіол", що є однією з причин нормалізації синтезу тестостерону клітинами Лейдига сім'яників.

Таким чином, наведені вище приклади, свідчать про ефективність застосування N-стеароїлетаноламіну як засобу в комплексній терапії та профілактиці розладів чоловічої статеві системи, для корекції структурно-функціонального стану сім'яників та відновлення рівня тестостерону за різних патологічних станів.

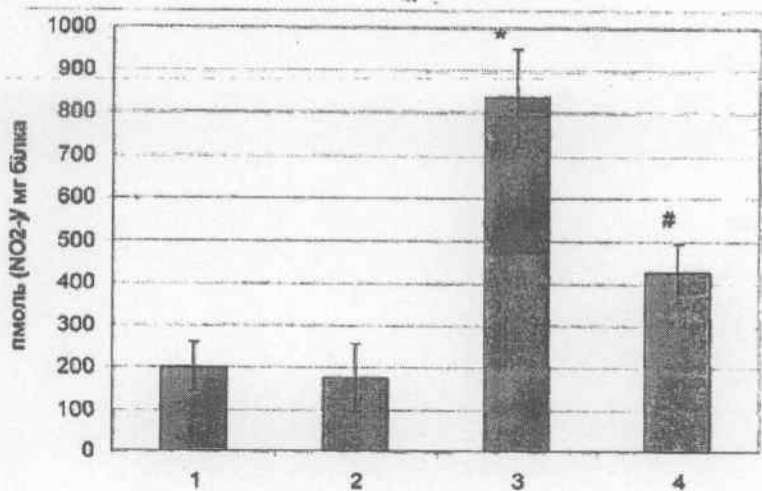
Перелік посилань

1. А.Л. Загайко, Л.М. Вороніна, К.В. Стрельченко Метаболічний синдром: механізми розвитку та перспективи антиоксидантної терапії. - Х.: Вид-во НФаУ: Золоті сторінки, 2007. - 16 с
2. Машковский М.Д. Лекарственные средства: В 2 т. - 14-е изд., перераб., испр. и доп. - М.: ООО «Издательство Новая Волна», 2000. - 540 с.
3. Пат. № 2007143058 А RU, 27.05.2009.
4. Пат. № 97119627 А RU, 27.08.1999.
5. Медицинский справочник лекарств [Электронный ресурс] / Режим доступа: <http://www.ros-nied.info/reestr-ls/short.php?id=G&action=ath>.
6. Компендиум 2010. Справочное издание о лекарственных препаратах/ Под ред. В.Н. Коваленко, А.П. Викторова. - К.: Морион, 2010. - 1000 с.
7. Пат. № 81861 UA, 11.02.2008.
8. Колб В. Г., Калашникова В. С. Клиническая биохимия - Минск: Беларусь, 1976. - 311 с.
9. Владимиров Ю.А., Арчаков А.И. Перекисное окисление липидов в биологических мембранах - М.: Наука. 1972. - 252 с.
10. Королюк М.Л., Иванова Л.И., Майорова И.Г., Токарев В.Е. Метод определения активности каталазы // Лаб. дело. - 1988. - №1. - С. 16-18.
11. Чевари С., Андял Т., Штрингер Я. Определение антиоксидантных параметров крови и их диагностическое значение в пожилом возрасте // Лаб. дело. - 1991. - № 10. - С.9-13.

12. Переслегина И.А. Активность антиоксидантных ферментов слюны здоровых детей // Лаб. дело. - 1989. - №11. - С. 20-23.
13. Green L. C., David A. W., Glogowski J. et al. Analysis of nitrate, nitrite and [15N] nitrate in biological fluids// Anal. Biochem. - 1982. - V. 126, № 1. - P. 131-138.
- 5 14. Bank N. R. Role of EDRF (nitric oxide) in diabetic renal hyperfiltration // Kidney Int. - 1993. - V. 43. - P. 1306-1312.
15. Nagareddy P.R., Xia Z., McNeill J., MacLeod K. Increased expression of iNOS is associated with endothelial dysfunction and impaired pressor responsiveness in streptozotocin-induced diabetes // Am.J.Physiol.Heart. Circ.Physiol. - 2005. - V. 289. P. H2144-H2152.
- 10 16. Vaskovsky V. E., Kostetsky E. V., Vasendin I. M. Universal reagent for phospholipid analysis // J. Chromatogr. - 1975. - V. 114. - P. 129-141.
17. Маргітч В.М. Фосфоліпіди сперми при чоловічій неплідності з порушеннями функції гіпофізарно-гонадної системи. Автореферат дис. канд. мед. наук. - К. 1993. - 20 с.
- 15 18. Kurup R. K., Kurup P.A. Isoprenoid pathway dysfunction in human male infertility // Arch. Androl. - 2003. - V. 49(2). - P. 117-127.
19. Carreau I.D., Dubaco I.P. Adaptation of a macro-scale method to the micro-scale for fatty acid methyl transesterification of a biological lipid extraction // J. Chromatogr. - 1978. - Vol. 151, №3. - P. 384-390.
- 20 20. Маргітч В.М. Фосфоліпіди сперми при чоловічій неплідності з порушеннями функції гіпофізарно-гонадної системи. Автореферат дис. канд. мед. наук. - К. 1993. - 20 с.
21. Горідько Т. М. Дія насичених N-ацилетаноламінів на ліпіди тканин печінки та серця щурів за умов ішемічного ушкодження. Автореф. дис. на здобуття наукового ступеня канд. біол. наук. - К. 2002. - 18 с.
- 25 22. Количественный анализ хроматографическими методами / Под ред. Э. Кэца. М.: Мир, 1990. - 76 с.

ФОРМУЛА ВИНАХОДУ

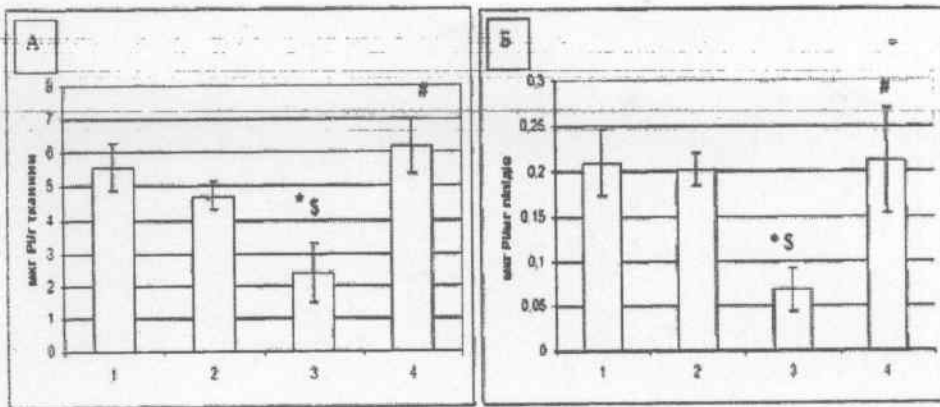
- 30 1. Застосування N-стеароїлетаноламіну як засобу в комплексній терапії та профілактиці розладів чоловічої статеві системи при патологічних станах, пов'язаних із порушеннями структурно-функціонального стану сім'яників та зниженням рівня тестостерону.
2. Застосування за п. 1, яке відрізняється тим, що засіб виконано у вигляді твердих, рідких та м'яких лікарських форм для перорального ведення до, під час або після ушкоджуючого впливу.



Вміст нітрит-аніону в сім'яниках шурів.

Примітки: 1. 1 – “Інтактні”; 2 - “Інтактні+ NSE”; 3 – “ЕЦД”; 4 – “ЕЦД + NSE”. * - зміни вірогідні відносно до тварин групи “Інтактні”, $P < 0,05$; # - зміни вірогідні відносно до групи тварин „ЕЦД”, $P < 0,05$.

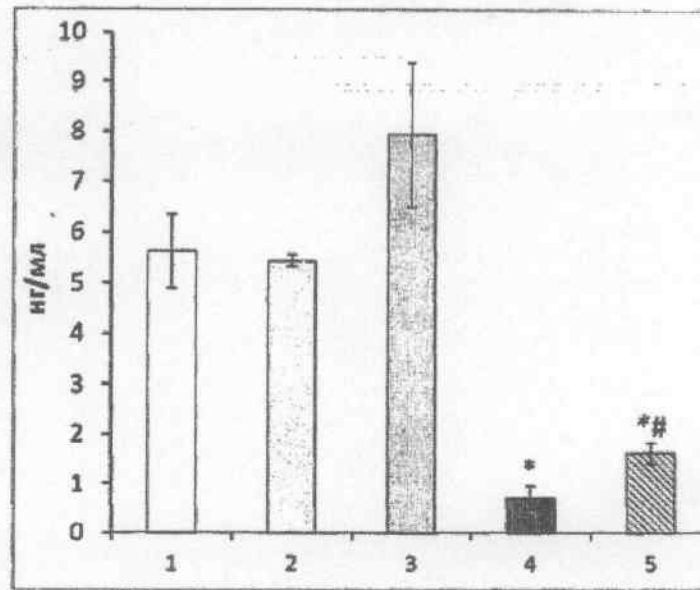
Фиг. 1



Вміст неорганічного фосфору загальних фосфоліпідів (А – мкгРi/г тканини; Б – мкг Рi/мг ліпідів) в сім'яниках шурів за ЕЦД та під впливом N-стеароїлетаноламіну ($M \pm m$; $n=7-10$).

Примітки: 1. 1 – "Інтактні"; 2 – "Інтактні + NSE"; 3 – "ЕЦД"; 4 – "ЕЦД + NSE". 2. * – зміни вірогідні відносно до тварин групи "Інтактні", $P < 0,05$; # – зміни вірогідні відносно до групи тварин „ЕЦД”, $P < 0,05$; \$ – зміни вірогідні відносно тварин групи «Інтактні + NSE», $P < 0,05$.

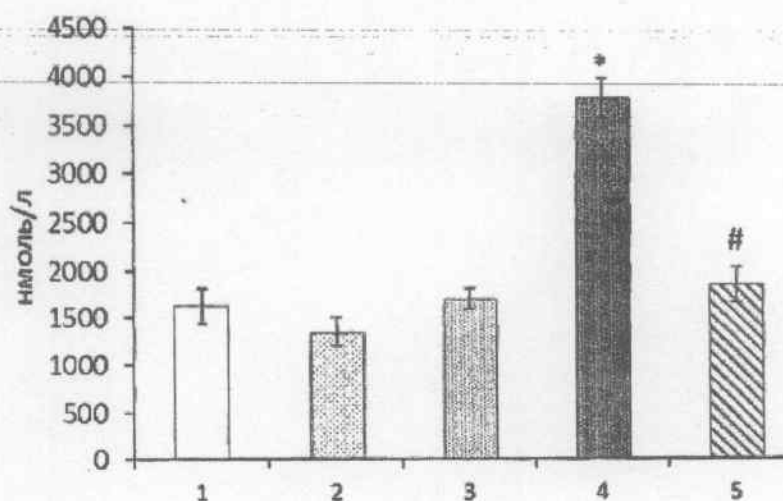
Фіг. 2



Вплив NSE на рівень тестостерону в плазмі крові щурів за дії 17 β -естрадіолу, (n = 5-9).

Примітки: 1. 1 – “Інтактні”; 2 – “NSE”; 3 – “Мигдалева олія, в/м”; 4 – “E₂”; 5 – “NSE + E₂.” 2. * – зміни вірогідні відносно інтактних тварин, P<0,05; # – зміни вірогідні відносно тварин групи E₂, P<0,05.

Фіг. 3



Вплив NSE на рівень сумарних 11-гідрокортикостероїдів у плазмі крові щурів за дії 17 β -естрадіолу, (n = 7-8).

Примітки: 1. 1 - "Інтактні" 2 - "NSE"; 3 - "Мигдалева олія, в/м"; 4 - "E₂"; 5 - "NSE + E₂". * - зміни вірогідні відносно інтактних тварин, P<0,05; # - зміни вірогідні відносно тварин групи E₂, P<0,05.

Фіг. 4

Комп'ютерна верстка А. Крулевський

Державна служба інтелектуальної власності України, вул. Урицького, 45, м. Київ, МСП, 03680, Україна

ДП "Український інститут промислової власності", вул. Глазунова, 1, м. Київ - 42, 01601