



УКРАЇНА

(19) **UA** (11) **99929** (13) **C2**  
(51) МПК  
**A61K 33/44** (2006.01)  
**A61P 1/16** (2006.01)

ДЕРЖАВНА СЛУЖБА  
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ  
ВЛАСНОСТІ  
УКРАЇНИ

**(12) ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА ВІНАХІД**

<p>(21) Номер заявки: <b>а 2010 04896</b></p> <p>(22) Дата подання заявки: <b>23.04.2010</b></p> <p>(24) Дата, з якої є чинними права на винахід: <b>25.10.2012</b></p> <p>(41) Публікація відомостей про заявку: <b>25.10.2011, Бюл.№ 20</b></p> <p>(46) Публікація відомостей про видачу патенту: <b>25.10.2012, Бюл.№ 20</b></p> <p>(72) Винахідник(и): <b>Гаврилюк Дмитро Федорович (UA), Деримедвідь Людмила Віталіївна (UA), Іващенко Володимир Миколайович (UA), Бородін Володимир Григорович (UA)</b></p> <p>(73) Власник(и): <b>Гаврилюк Дмитро Федорович, вул. 50-років СРСР, 159, кв. 49, м. Донецьк, 85100 (UA), Деримедвідь Людмила Віталіївна, Московський проспект, 96, кв. 70, м. Харків, 61068 (UA), Іващенко Володимир Миколайович, вул. Шкільна, 15, кв. 13, с. Кулиничі, Харківський р-н, Харківська обл., 62404 (UA), Бородін Володимир Григорович, вул. Блюхера, 11, кв. 114, м. Харків, 61168 (UA)</b></p>	<p>(56) Перелік документів, взятих до уваги експертизою: Dean Ho, editor Nanodiamonds: applications in biology and nanoscale medicine. - 2009. - Springer. - 286 p. Rafael A. Shimkunas, Erik Robinson, Robert Lam, Steven Lu, Xiaoyang Xu, Xue-Qing Zhang, Houjin Huang, Eiji Osawa, Dean Ho /*Nanodiamond-insulin complexes as pH-dependent protein delivery vehicles // Biomaterials 30. - 2009. - P. 5720-5728 Мамотюк Е.М., Гусакова В.А., Узленкова Н.Є., Ревенкова С.В., Ненюкова О.В., Іващенко В.Н., Циганок Р.Ю., Бородін В.Г. / Дослідження радіопротекторних властивостей наноалмазів в експерименті // Укр. радіол. ж. - 2009, N 17, С. 65-71 Mogilnaya O, Puzyr A, Baron A, Bondar V. / Hematological parameters and the state of liver cells of rats after oral administration of aflatoxin b1 alone and together with nanodiamonds // Nanoscale Res Lett. - 14.03.2010, 5(5). - P.908-912 Zhang X, Yin J, Kang C, Li J, Zhu Y, Li W, Huang Q, Zhu Z. / Biodistribution and toxicity of nanodiamonds in mice after intratracheal instillation // Toxicol Lett. - 05.10.2010, 198(2). - P.237-243 RU 2278671 C2, 10.01.2006 RU 2348416 C2, 27.01.2008</p>
---	---

**(54) СПОСІБ ЛІКУВАННЯ ГЕПАТИТІВ РІЗНОЇ ЕТИОЛОГІЇ АБО ЦИРОЗІВ ПЕЧІНКИ**

**(57) Реферат:**

Винахід належить до галузі медицини і стосується способу лікування гепатиту або цирозу печінки, що включає введення суспензії наноалмазів, необов'язково водної.

UA 99929 C2



Винахід належить до медицини, а саме до способів лікування гепатитів різної етіології та цирозів печінки.

У медичній практиці для лікування гепатитів різної етіології та цирозів печінки досить широко використовуються препарати з детоксикуючими та гепатозахисними властивостями [5].

5 Досить широко в гепатології з цією метою використовують ентеросорбенти на основі аморфного діоксиду кремнію - препарат полісорб, який застосовують при жовтяниці, яка виникла внаслідок гепатиту. До недоліків препарату слід віднести його закріплюючу дію [1].

10 Так, з цією метою застосовують препарати на основі метилкремнієвої кислоти - ентеросгель [5, 8]. Його використовують при гепатитах різної етіології, цирозі печінки, печінковій недостатності, холестазі різної етіології, гіпербілірубінемії.

До недоліків цього засобу можна віднести його спроможність викликати закріп. Крім того, перед кожним прийомом ентеросгелю (у формі гідрогелю) потрібно готувати свіжу суспензію препарату.

15 Авторами була вивчена дія препарату наноалмазів як носіїв інсуліну у діабетології [9], носії інших ліків [10], а також в онкології [8], радіології [4]. Але, відомостей щодо застосування суспензії наноалмазів для лікування гепатитів різної етіології знайдено не було.

20 В основу винаходу поставлено задачу удосконалення способу лікування гепатитів різної етіології та цирозів печінки за рахунок розширення препаратів із детоксикаційною та гепатопротективною дією, які підвищують ефективність та скорочення строку лікування, покращення функціонального стану печінки та виведенню з організму токсичних речовин й розширенню арсеналу засобів із гепатозахисною дією.

25 Поставлена задача досягається тим, що у відомому способі лікування гепатитів різної етіології та цирозів печінки, що включає введення лікарських препаратів, згідно з винаходом, як лікарський засіб використовують суспензії наноалмазів, наприклад водну (СНА), з детоксикаційною та гепатозахисною дією.

Винахід ілюструється прикладами.

Приклад 1

Як об'єкти дослідження використовували СНА, як об'єкт порівняння (прототип) використовували ентеросгель.

30 Досліди по встановленню гепатозахисної активності СНА проводились на моделі гострого тетрахлорметанового гепатиту у мишей [1]. Досліджувану речовину вводили внутрішньошлунково через металевий зонд у дозі 0,5 мг/кг у лікувально-профілактичному режимі (тобто за 1 годину до і через 2 години після введення 50 % олійного розчину тетрахлорметану (CCL<sub>4</sub>) із розрахунку 0,1 мл/10 г [1]. Препаратом порівняння був ентеросгель, який застосовували в дозі 1 г/кг внутрішньошлунково [1].

35 Вивчення біохімічних та функціональних показників стану печінки проводять через 24 год. після останнього введення тетрахлорметану [5]. По закінченні терміну моделювання патології визначали відсоток летальності тварин при лікуванні ентеросгелем та СНА. Отримані дані зведені в таблицю 1. Після чого тварин забивали в умовах евтаназії шляхом дислокації шийного відділу хребта. Робили забір крові й органів для подальших біохімічних досліджень. У сироватці крові визначали рівень маркерів цитолізу гепатоцитів - аланінамінотрансферази (АлАТ) і аспартатамінотрансферази (АсАТ) за методом [5]. У гомогенаті печінки оцінювали інтенсивність процесів вільно радикального окислення (ВРО) за рівнем ТБК-активного продукту (ТБК-АП) за методом Стальної Т.Г. [7]. Результати дослідів представлені в таблиці 2.

45

Таблиця 1

Умови дослідів	% летальності тварин
Інтактні тварини	0
Неліковані тварини з CCL <sub>4</sub> - гепатитом	50
СНА у дозі 0,5 мг/кг	10
Ентеросгель у дозі 1 г/кг	20

За результатами дослідів встановлено, що введення СНА приводить до збільшення виживаності тварин з гепатитом в 5 разів в порівнянні з нелікованими тваринами і в 2 рази в порівнянні з групою тварин, яких лікували ентеросгелем.

50

За результатами проведених досліджень встановлено, що інтоксикація тетрахлорметаном призводить до істотної активації вільнорадикальних процесів. Про це свідчить підвищення рівня ТБК-АП в 1,7 рази і рівня ДК у 1,8 разів у нелікованих тварин. Так само в цій групі спостерігався

значний цитоліз гепатоцитів, про що свідчить збільшення рівнів АсАТ у 1,5 разів і АлАТ у 1,64 рази.

5 Біохімічне вивчення ступеню пригнічення інтенсивності процесів вільнорадикального окислення і цитолізу під впливом СНА при тетрахлорметановому гепатиті у мишей ( $M \pm m$ ,  $n=10$ ) (табл. 2) показало, що рівень АсАТ знизився в 1,25 рази, АлАТ - у 1,45 рази, а рівень ТБК-АП - в 1,26 рази, що свідчить про зменшення проявів вільнорадикальної деструкції гепатоцитів на фоні використання СНА.

Таблиця 2

Умови досліджу	ТБК-АП, мкмоль/м	АсАТ, ммоль/г.л. 37 °С	АлАТ, ммоль/г.л. 37 °С
Інтактні тварини	69,7±2,5	0,92±0,06	1,1±0,1
Неліковані тварини з CCL <sub>4</sub> - гепатитом	117,3±4,3*	1,4±0,38*	1,81±0,1*
СНА у дозі 0,5 мг/кг	92,5±1,4	1,2±0,3**	1,24±0,2**
Ентеросгель у дозі 1 г/кг	89,4±1,4**	1,2±0,4**	1,3±0,24**

Примітки:

1. \* $p \leq 0,05$  вірогідно в порівнянні з інтактними тваринами;
2. \*\* $p \leq 0,05$  вірогідно в порівнянні з нелікованими тваринами;
3. n - кількість тварин у кожній групі.

10 Порівняльний аналіз антиоксидантної й антицитолітичної дії СНА і препарату порівняння ентеросгелю показав, що при даній модельній патології в досліджуваних дозах і режимі введення, СНА майже не поступався референс-препарату.

Приклад 2

15 Дослідження проведено на білих безпородних щурах - самцях вагою 150-180 г на моделі гострого тетрахлорметанового гепатиту, який викликали шляхом, підшкірного введення 50 % олійного розчину тетрахлорметану (CCL<sub>4</sub>) із розрахунку 0,8 мл/100 г ваги дослідних тварин протягом двох діб.

20 Досліджувану речовину СНА вводили перорально через металевий зонд у дозі 1 мл 0,01 % водної суспензії наноалмазів (0,5 мг/кг) у лікувально-профілактичному режимі (тобто за 1 годину до і через 2 години після введення 50 % олійного розчину тетрахлорметану (CCL<sub>4</sub>) [5] із розрахунку 0,1 мл/10 г). Препаратом порівняння був ентеросгель, який застосовували в дозі 1 г/кг внутрішньошлунково в аналогічному режимі.

25 По закінченні терміну моделювання патології проводили облік відсотку виживаності тварин, після чого їх забивали в умовах евтаназії під легким ефірним наркозом. Робили забір крові й органів для подальших біохімічних досліджень. Вивчення біохімічних та функціональних показників стану печінки проводили через 24 години після останнього введення тетрахлорметану [5].

30 Ефективність впливу досліджуваних препаратів на функціональний стан печінки визначали за активністю АлАТ, АсАТ; вмісту загального білку в сироватці крові [1]; рівню ТБК-АП у гомогенатах печінки [7], вмісту глікогену [3] і відновленого глутатіону (ВГ) у печінці [1]. Зовнішньосекреторну функцію печінки оцінювали за зміною інтенсивності жовчовиділення та рівню жовчних кислот й холестерину в жовчі [1]. Інтенсивність холестатичних процесів оцінювали за рівнем лужної фосфатази (ЛФ) [1]. Рівень ендогенної інтоксикації оцінювали, вивчаючи неспецифічну токсичність сироватки крові за вмістом молекул пептидів середньої маси (МСМ) [6].

35 Результати дослідів представлені в таблиці 3.

40 Як видно з таблиці, пошкодження печінки тетрахлоридом вуглецю супроводжувалося значним порушенням її функціонального стану. Так, підвищення активності ферменту АлАТ в 1,6 рази вказувало на розвиток цитолізу гепатоцитів. Поряд із цим, відзначалося підвищення рівня ЛФ у сироватці крові в 1,9 рази, що свідчить про розвиток холестази. Внаслідок пошкодження тетрахлорметаном показники швидкості секреції жовчі й вміст жовчних кислот знизилися в 1,7 і 1,5 рази відповідно. Зміни з боку холестериногенезу були менш виражені (табл. 3).

45 Дослідження гомогенатів печінки на вміст ТБК-АП у групі нелікованих тварин показало збільшення рівня ТБК-АП в 1,3 рази. При цьому істотно постраждала антиоксидантна система - рівень ВГ зменшилося в 1,4 рази (табл. 3). Також при гострому тетрахлорметановому гепатиті

спостерігалось збідніння печінки тварин глікогеном в 2,4 рази в порівнянні з його вмістом у печінці інтактних тварин. Рівень загального білку в сироватці крові нелікованих тварин знизився в 1,8 рази (табл. 3). Рівень МСМ у групі нелікованих тварин зріс в 1,7 рази порівняно з інтактними тваринами.

5 Як видно з отриманих результатів, застосування СНА і ентеросгелю позитивно вплинуло на перебіг експериментального гепатиту. Введення тваринам досліджуваних препаратів напевно нормалізувало білково-синтетичну й глікоген-синтетичну функції печінки, про що свідчить достовірне підвищення вмісту загального білка в сироватці крові й глікогену в тканині органа (табл. 3).

10 На тлі застосування препаратів, що досліджували, спостерігалось зниження інтенсивності процесів ВРО, про що свідчить зменшення рівня ТБК-АП при застосуванні СНА в 1,2 рази, ентеросгелю - в 1,2 рази (табл. 3).

15 При введенні СНА, у порівнянні з нелікованими тваринами, рівень АлАТ зменшився в 1,3 рази, АсАТ - в 1,2 рази, ЛФ - у 1,2 рази, а рівень МСМ зменшився в 1,4 рази; кількість загального білка зросла в 1,2 рази, глікогену печінки - в 1,8 рази, ВГ - в 1,1 рази. Паралельно із цим спостерігалось поліпшення стану жовчосекреторної функції печінки, про що свідчить у порівнянні з нелікованими тваринами покращення під впливом СНА швидкості секреції жовчі в 1,4 рази, збільшення кількості жовчних кислот у 1,2 рази, а збільшення вмісту холестерину жовчі в 1,1 рази. (табл. 3).

20 На тлі застосування ентеросгелю рівень АлАТ у порівнянні з нелікованими тваринами зменшився в 1,2 рази, АсАТ - в 1,1 рази, ЛФ в 1,3 рази; кількість загального білка зросла в 1,2 рази, глікогену печінки - в 1,6 рази, ВГ - в 1,1 рази. Покращився й стан жовчосекреторної функції печінки - швидкість секреції жовчі в групі тварин, яких лікували ентеросгелем зросла в 1,4 рази у порівнянні з нелікованими тваринами, кількість жовчних кислот збільшилась у 1,2 рази, а вміст холестерину жовчі збільшився в 1,1 рази. (табл. 3). Рівень МСМ зменшився в 1,3 рази порівняно з нелікованими тваринами.

Таблиця 3

Показник	Інтактні тварини	CCl <sub>4</sub> -гепатит	CCl <sub>4</sub> +СНА	CCl <sub>4</sub> + ентеросгель
АлАТ, ммоль/год. х л	0,60±0,07	0,97±0,11*	0,75±0,09**	0,82±0,1
АсАТ, ммоль/год. х л	0,66±0,11	0,89±0,05*	0,77±0,13	0,80±0,09
ЛФ, мкмоль/с/л	6,32±1,06	11,86±1,07*	9,34±1,56**	9,18±1,1
Загальний білок, г/л	68,20±3,70	51,40±2,50*	60,0±3,2**	60,1±1,1
Глікоген печінки, мг/г	38,49±4,77	16,37±2,80*	30,33±2,32**	25,8±3,4
ТБК-АП печінки, мкмоль/г	120,26±9,9	201,3±30,5*	164,9±24,5**	162,7±24,6**
ВГ печінки, умов, од	74,61±4,8	58,64±5,3	64,1±4,7	70,5±4,6
Рівень МСМ, умов, од	0,104±0,007	0,179±0,012	0,132±0,009	0,141±0,01
Швидкість секреції жовчі, мг/хв/100	5,29±0,83	3,09±0,36*	3,57±1,36	4,02±0,8
Жовчні кислоти, мг %	931,8±12,53	637,5±78,3*	786,84±52,2	783,4±34,6
Холестерин жовчі, мг %	30,80±3,67	22,90±2,85	25,80±2,47	27,1±3,4

Примітки:

- 1.\*p ≤ p ≤ 0,05 вірогідно в порівнянні з інтактними тваринами;
2. \*\*p ≤ 0,05 вірогідно в порівнянні з нелікованими тваринами;
3. n - кількість тварин у кожній групі.

30 Таким чином, застосування СНА виявляє виражений детоксикуючий та гепатозахисний ефект, за яким СНА не поступається препарату порівняння ентеросгелю і може бути застосований як ефективний засіб детоксикаційної та гепатозахисної дії, який можна рекомендувати для розширення способів лікування та профілактики токсичних уражень печінки.

35 Оцінка результатів запропонованих способів лікування за клінічною симптоматикою виявила позитивну динаміку у хворих обох груп, але при лікуванні СНА були одержані більш позитивні дані ніж при застосуванні ентеросгелю. Особливо переконливим фактом є зниження відсотку летальності тварин при лікуванні СНА.

Джерела інформації:

1. Доклінічні дослідження лікарських засобів: Методичні рекомендації /За ред.: член-кор. АМН України О.В. Стефанова. - К.: Авіценна, 2001.-528 с.

2. КОМПЕНДИУМ 2005 — лекарственные препараты / Под редакцией В.Н.Коваленко, А.П. Викторова. - Киев, из-во "Морион".-2005. - Л. 964.
3. Лабораторные методы исследования в клинике: Справочник / Меньшиков В.В., Делекторская Л.Н., Золотницкая Р.П. и др. // Под ред. В.В.Меньшикова. -М.: Медицина, 1987.- 368 с.
4. Мамотюк Є.М., Гусакова В.А., Узленкова Н.Є., Ревенкова С.І., Ненюкова О.В., Іващенко В.Н., Циганюк Р.Ю., Бородин В.Г. Дослідження радіопротекторних властивостей наноалмазів в експерименті // український радіологічний журнал.-2009.- № 17. - С 65-71.
5. Мороз Л.В., Палій І.Г., Ткаченко Т.В. Застосування препарату Ентеросгель у комплексній терапії хворих на гострі вірусні гепатити із супутнім дисбактеріозом кишківника // Нова медицина.-2005. - №1. - С 72-74.
6. Первушин Ю. В., Бондар Т. П. Лабораторные методы диагностики синдрома эндогенной интоксикации: Метод, рекомендации. - Ставрополь, 1993.-86 с.
7. Стальная И.Д. Метод определения диеновой конъюгации высших жирных кислот //Современные методы в биохимии. - М.: Медицина, 1977. -С.63-64.
8. Энтеросгель, энтеросорбционная технология в медицине. Сб. научн. работ научно-практической конференции.- Новосибирск-Москва, 1999.-60 с.
9. Ho, Dean (Ed.) Nanodiamonds. Applications in Biology and Nanoscale Medicine. 2009,- Springer.-286 p.
10. Shimkunas et al. Nanodiamond-insulin complexes as pH-dependent protein delivery vehicles. // Biomaterials, 2009; DOI.

#### ФОРМУЛА ВИНАХОДУ

- 25 Спосіб лікування гепатиту або цирозу печінки, що включає введення лікарських препаратів, який **відрізняється** тим, що як лікарський засіб використовують суспензію наноалмазів, необов'язково водну, з детоксикаційною та гепатозахисною дією.

---

Комп'ютерна верстка І. Мироненко

---

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