



УКРАЇНА

(19) **UA**(11) **123730**(13) **C2**

(51) МПК

A61K 31/375 (2006.01)**A61K 31/4415** (2006.01)**A61K 31/51** (2006.01)**A61P 25/24** (2006.01)

НАЦІОНАЛЬНИЙ ОРГАН
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІ
ДЕРЖАВНЕ ПІДПРИЄМСТВО
"УКРАЇНСЬКИЙ ІНСТИТУТ
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІ"

(12) ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА ВИНАХІД

(21) Номер заявки: **а 2018 05730**
(22) Дата подання заявки: **10.10.2016**
(24) Дата, з якої є чинними права інтелектуальної власності: **27.05.2021**
(31) Номер попередньої заявки відповідно до Паризької конвенції: **2015145777**
(32) Дата подання попередньої заявки відповідно до Паризької конвенції: **23.10.2015**
(33) Код держави-учасниці Паризької конвенції, до якої подано попередню заявку: **RU**
(41) Публікація відомостей про заявку: **10.10.2018, Бюл.№ 19**
(46) Публікація відомостей про державну реєстрацію: **26.05.2021, Бюл.№ 21**
(86) Номер та дата подання міжнародної заявки, поданої відповідно до Договору РСТ: **PCT/RU2016/050049, 10.10.2016**
(72) Винахідник(и):
Расташанський Вячеслав Валерієвіч (RU),
Остренко Константін Сергєєвіч (RU)
(73) Володілець (володільці):
ОБЩЕСТВО С ОГРАНИЧЕННОЙ
ОТВЕТСТВЕННОСТЬЮ "НОРМОФАРМ",
ул. Ленина, д. 3, п. 1Н, г. Абаза, Республика Хакасия, 655012, Российская Федерация (RU)

(74) Представник:
Павлович Наталія Володимирівна,
реєстр. №195
(56) Перелік документів, взятих до уваги експертизою:
CN 103896891 A, 02.07.2014
Ascorbic acid administration produces an antidepressant-like effect: Evidence for the involvement of monoaminergic neurotransmission / Ricardo W. Binfaré et al. // Progress in Neuro-Psychopharmacology & Biological Psychiatry 33. – 2009. – P. 530-540
Effects of Oral Vitamin C Supplementation on Anxiety in Students: A Double-Blind, Randomized, Placebo-Controlled Trial / Ivaldo Jesus Lima de Oliveira et al. // Pakistan Journal of Biological Sciences. – 2015. – Vol. 18(1). – P. 11-18
Smagin D., Kudryavtseva N. Anxiogenic and Anxiolytic Effects of Lithium Chloride under Preventive and Therapeutic Treatments of Male Mice with Repeated Experience of Aggression / D. Smagin, N. Kudryavtseva // Zhurnal vysshei nervnoi deiatelnosti. - 2014. – Vol. 64 (6). – P. 1-14
Нормотим - устойчивость к стрессам. газета "На здоровье". - 2015. - № 10 октябрь. – стор 6. (Знайдено в інтернет) URL: <https://medgazeta-tomsk.ru/files/issue/10-2015.pdf>;
Биологически активная добавка к пище "НОРМОТИМ" (таблетки для рассасывания массой 0,48 г со вкусом или апельсина, или мяты) Номер свидетельства: RU.77.99.11.003. E.005286.02.11, видано 18.02.2011 (Знайдено в інтернет 18.01.2017) URL: <https://e-ecolog.ru/reestr/evrazes/> RU.77.99.11.003.%D0%95.005286.02.11

(54) ЗАСІБ З АНТИСТРЕСОВОЮ, АНКсіОЛІТИЧНОЮ ТА АНТИДЕПРЕСИВНОЮ АКТИВНІСТЮ І КОМПОЗИЦІЯ НА ЙОГО ОСНОВІ

(57) Реферат:

UA 123730 C2

Винахід стосується засобу на основі аскорбату літію, що має антистресову, анксіолітичну та антидепресивну активністю і композицію на його основі, яка містить додатково піридоксину гідрохлорид та тіаміну мононітрат.

Область техніки

Винахід відноситься до області фармацевтики, зокрема, до хімічних сполук на основі солей літію, власне до речовин з антистресовою, анксиолітичною та антидепресивною активністю і може бути використаний у медицині, ветеринарії, фармацевтичній промисловості.

Заявлений засіб може бути використаний для створення на його основі комплексних препаратів, а також може використовуватись як складова частина у різноманітних лікарських і фармацевтичних формах: бальзамах, розчинах і пігулках.

Рівень техніки

Відомо застосування аскорбату літію у складі композиції, що виявляє антиоксидантну та імуностимулюючу активність (RU № 2444358 C1, 10.03.2012), у якості засобу для підвищення ефективності нейтрофілів (RU № 2226391 C2, 10.01.2004), у якості гематопротекторного засобу (RU № 2351326 10.04.2009).

Загальним недоліком вищезазначених засобів є відсутність виявленої антистресової, анксиолітичної та антидепресивної активності у аскорбату літію.

Відомі композиції на основі солей літію, які мають ноотропну активність.

Відома літієва сіль n-(4-ацетоксибензоїл) гліцину (RU 2505294, 27.01.2014), яка відноситься до нових водорозчинних літієвих солей похідного гліцину (амінооцетова кислота) з 4-гідроксибензойною кислотою.

Зазначений засіб дозволяє отримати високоефективне водорозчинне похідне гліцину та 4-гідроксибензойної кислоти, що поєднує основні ефекти, притаманні транквілізуючим та ноотропним засобам.

Із джерела відомостей (RU 2322240 C1, 20.04.2008) відома фармацевтична композиція, яка має ноотропну активність і включає активну речовину димефосфон. Лікарський засіб у вигляді водного розчину додатково містить лимонну кислоту і карбонат літію при наступному співвідношенні компонентів, мас. %: димефосфон 15,0-30,0; карбонат літію 0,5-5,0; лимонна кислота 3,0-4,0; вода деіонізована – до 100.

Недоліком даного засобу є значна токсичність через використання солі літію (карбонату літію), яка є високотоксичною.

Із патенту (RU 2428992 C1, 20.09.2011) відомий препарат для корекції стресових станів у сільськогосподарських тварин, що включає літію оксибат, натрію селеніт, кислоту аскорбінову та воду для ін'єкцій при наступному співвідношенні компонентів у мас. %: літію оксибат – 4,0-7,0; натрію селеніт – 0,2-0,05; кислота аскорбінова – 3,0-12,0; вода для ін'єкцій – все інше. Засіб має виражену ноотропну активність та імуностимулюючу дію, а також зручний для введення.

Недоліком даного засобу є використання у композиції оксибату літію, який має багато побічних ефектів, таких як загальне нездужання, запаморочення, сонливість, м'язова слабкість, тремор верхніх кінцівок, синусова тахікардія, екстрасистолія, диспептичні явища, діарея, тремор, тік, розвиток дифузного нетоксичного зобу, алергічні реакції.

Із патенту (RU 2477722 C1, 20.03.2013) відома літієва сіль коенової кислоти і застосування її у якості антиоксидантного, стрес- і нейропротекторного засобу.

Із вказаного патенту виходить, що літієва сіль коенової кислоти отримана змішуванням розчину коенової кислоти, підігрітого до температури не більш $80 \pm 2^\circ\text{C}$, з розчином карбонату або гідроксиду літію при обсягах, що взяті із розрахунку, виведеного стехіометрично, та пофарбування розчину в жовтий колір, і значення рН розчину, рівного 4,6 або 10,0 відповідно, та виділенням літієвої солі коенової кислоти із розчину відгоном води під вакуумом. Літієва сіль коенової кислоти відноситься до засобів для профілактики і лікування нейродегенеративних захворювань, що викликані оксидативним пошкодженням мозку. Для цього пропонується літієву сіль коенової кислоти застосовувати у кількості 2 мг на 1 кг маси тіла одноразово щоденно протягом 3-х діб.

Недоліком даного винаходу є вузька спрямованість тільки на профілактику та лікування нейродегенеративних захворювань, що викликані оксидативним пошкодженням мозку.

Відомий засіб, що містить літій, для профілактики та лікування цереброваскулярних захворювань (RU 2367427 C1, 20.09.2009).

Вказаний засіб для профілактики та лікування цереброваскулярних захворювань містить сіль літію, у якій катіон літію пов'язаний з аніоном органічної кислоти, обраному з групи: адипат, аспартат, бензоат, гамалінолеат, гліцинат, глюконат, никотинат, оротат, саліцилати, цитрат.

Засіб, що містить літій, для профілактики та лікування цереброваскулярних захворювань дозволяє забезпечити ефективність лікування при малих дозах вказаного засобу.

Однак, даний засіб спрямований лише для профілактики та лікування інсульту.

Найбільш близьким до заявленої композиції є засіб з використанням карбонату літію, що застосовується у якості лікарського засобу у маніакальній фазі та профілактики загострень

біполярного афективного розладу, шизоафективні розлади, маніакальні стани різного ґенезу, афективні розлади при хронічному алкоголізмі, лікарська залежність, сексуальні відхилення, синдром Мен'єра, мігрень [Машковский, М.Д. Лекарственные средства: пособие для врачей. – Т.1. М.: Новая волна. – 2002. С.108]. Головним недоліком даного засобу є низька біодоступність і, як наслідок, необхідність застосування високих дозувань, а також висока токсичність (LD50=531 мг/кг), що призводить до численних побічних ефектів: тремор, сонливість, адинамія, порушення серцевого ритму, міастенія, підвищена спрага, поліурія та дисфункція нирок. Це значно звужує терапевтичний коридор, з високим ризиком передозування.

Розкриття винаходу

Завданням, на вирішення якого спрямована заявлена група винаходів, є розширення арсеналу засобів, які мають антистресову, анксиолітичну та антидепресивну дію.

Технічний результат – реалізація призначення заявлених засобів з антистресовою, анксиолітичною та антидепресивною дією.

При цьому заявлений засіб і композиція на його основі мають підвищену ефективність у малих дозах і низьку токсичність у порівнянні з відомим засобом.

Для вирішення вказаного завдання пропонується використання аскорбату літію у якості засобу з антистресовою, анксиолітичною та антидепресивною активністю.

Окрім того, поставлене завдання вирішується тим, що у відомій композиції, яка використовує сіль літію, у якості солі літію застосовують аскорбат літію, причому у склад композиції входить також піридоксину гідрохлорид, і тіаміну мононітрат.

Краще використовувати в композиції аскорбат літію, піридоксину гідрохлорид, і тіаміну мононітрат при наступному співвідношенні мас. %:

аскорбат літію	10-90 %;
піридоксину гідрохлорид	6-50 %;
тіаміну мононітрат	4-40 %.

Заявлений засіб і композиція на його основі розширюють арсенал засобів, які застосовуються для підвищення стресостійкості, зниження підвищеної тривожності, занепокоєння, порушення емоційного фону, а також у якості антидепресивного засобу. При цьому аскорбат літію виявляє протистресову, протитривожну та антидепресивну активність, а тіаміну мононітрат і піридоксину гідрохлорид також сприятливо діють на центральну та периферичну нервову системи. Тіамін активізує пізнавальну активність і функції мозку. Піридоксину гідрохлорид грає важливу роль в обміні речовин і приймає участь у синтезі нейромедіаторів. При цьому виникає синергетичний ефект посилення протистресової, анксиолітичної та антидепресивної активності у композиції, що дозволяє використати заявлену композицію на основі аскорбату літію з високою ефективністю навіть у малих дозах.

Заявлені в одному з кращих варіантів реалізації композиції на основі аскорбату літію діапазони речовин забезпечують протистресову, анксиолітичну та антидепресивну активність при різних співвідношеннях компонентів у заявлених діапазонах. При цьому у заявленій композиції вказані діапазони компонентів не є суттєвими, оскільки при фармацевтично прийнятних складах компонентів - аскорбату літію, піридоксину гідрохлориду і тіаміну мононітрату заявлений засіб і композиція будуть досить ефективними засобами, які здійснюють протистресову, анксиолітичну та антидепресивну активність.

Здійснення винаходу

Визначення антистресової, анксиолітичної та антидепресивної активності заявленого засобу та композиції на його основі здійснювалося наступним чином.

Для підтвердження застосування аскорбату літію у якості засобу, що має антистресову, анксиолітичну та антидепресивну дію, і композиції на його основі проводилися стандартні стрес-тести на білих щурах лінії Вістар – розповсюдженій породі, яка застосовується для доклінічного та клінічного дослідження нових лікарських речовин:

1. Тест на підвищування. Використали 5 тварин з кожної групи. Тварина підвішувалась на 24 години. Після цього проводився відбір цільної крові з під'язикових судів. Далі тварина розташовувалась в ексікаторі з діетиловим ефіром. По закінченні 60 хвилин здійснювали спинальну декапітацію тварини. Здійснювався розтин черевної порожнини і підраховувалась кількість виразок на внутрішній поверхні шлунку. Отриману цільну кров розміщували у двох пробірках. Для дослідження кількості еозинофілів за методом Дункера використовували цільну кров. Для визначення біохімічного складу крові використовувалась сироватка. У якості біохімічних показників визначились адреналін, норадреналін. Дані показники є специфічними маркерами виявлення впливу стрес-факторів різної етіології.

2. Тест на імітацію транспортного стресу. Проводився відбір 5 тварин з кожної групи. Тварини поміщались у клітки, закріплені на лабораторному шуттері. Тривалість тесту складала

240 хвилин. По закінченні тесту на підставі методик, зазначених у пункті 1, відбувається вивчення стану тварин. Проводився відбір цільної крові для дослідження кількості еозинофілів за методом Дункера. Визначалися ферменти у сироватці крові: аланінамінотрансфераза (АЛТ), аспартатамінотрансфераза (АСТ), креатинін.

5 В ході дослідження відбувався відбір тварин із сформованих груп по 10 голів для участі в стрес-тестах по 5 голів на кожний тест. Відбір проводився на 7-у, 14-у, 21-у добу введення препарату. Тварини важилися щотижнево безпосередньо перед участю у досліді. Отримані дані обробили статистичними методами математичної статистики.

10 Тести проводилися на двомісячних щурах лінії Вістар. Групи були підібрані за принципом парних аналогів. Для цього було сформовано 6 груп тварин по 30 штук у кожній:

1 група - контрольна (щури отримують воду);

2 група - експериментальна, дозування аскорбату літію 120 мг/кг ваги тварини;

3 група - експериментальна, дозування аскорбату літію 60 мг/кг ваги тварини;

4 група - експериментальна, дозування аскорбату літію 30 мг/кг ваги тварини;

15 5 група - інтактні щури (не приймають участі у тестах, йде природний розвиток за однакових умов утримання у віварії);

6 група - експериментальна, аскорбат літію вводився у вигляді пігулок, дозування 60 мг/кг ваги тварини. Пігулки загальною масою 0,2-0,25 г. У якості формоутворювача використовувалося какао-масло.

20 Препарат вводився тваринам з 2-ї по 4-у групи у вигляді розчину через шлунковий зонд. У якості розчинника використовувалась вода для ін'єкцій "Буфус Новосібіхмфарм". Обсяг введення складав 1,5 мл. Розчин вводився в один і той самий час через 2 години після ранішнього годування. Першій групі вводилася вода для ін'єкцій. Обсяг введення 1,5 мл.

25 Ефективність аскорбату літію у якості антистресового, анксиолітичного та антидепресивного засобу підтверджується наступними прикладами:

Приклад 1. Метод вивчення антистресової та анксиолітичної активності – тест на підвішування.

В ході тесту спостерігали зміни реакції тварин при тривалому введенні препарату. Були проведені три послідовні експерименти з періодичністю 7 днів. Препарат вводили з першого дня дослідження безперервно. Таким чином, відбувалося накопичення препарату в організмі тварин. В періодичності використовували 5 тварин з кожної групи (тварини підвішувались на 24 години). Після цього відбувався відбір проб крові з під'язикових судин. Надалі тварина усиплялася діетиловим ефіром. Проводилася декапітація та розтин черевної порожнини і для підрахунку виразок на внутрішній поверхні шлунку. Щури як об'єкти для досліджень психотропних препаратів є вдалою моделлю. Вони швидко реагують на різні стрес-фактори. Оцінювати активність препаратів дуже зручно завдяки різним факторам. Починаючи від фізіологічних, поведінкових, біохімічних та інших параметрів. В тесті на підвішування, крім фізичної витривалості, можна визначити загальний психоемоційний стан тварини.

40 Тест на підвішування дозволяє визначити здатність організму швидко адаптуватися до тривалого несприятливого впливу, визначити фізичну витривалість, вивчити поведінковий стан і виявити здатність пристосовуватися (виявляти психостимуляторну активність). Під час дослідження було встановлено, що застосування аскорбату літію підвищує фізичну витривалість. Піддослідні тварини, у порівнянні з контролем, при однаково несприятливих умовах намагалися швидше та ефективніше пристосуватися до них. Тварини, що отримували аскорбат літію, намагалися передніми кінцівками дістатися до місця кріплення (у районі холки) та передніми лапами зафіксувати так своє положення тіла. Деякі тварини намагалися визволитися, здійснюючи поступальні коливання. Таким чином у тварин проявляється протистресова і анксиолітична активність аскорбату літію, яка зменшує вплив стрес-фактору. Тварини контрольної групи, навпаки, на першому етапі звиваються всім тілом, безсистемно махають кінцівками, а після наступу втоми висять, не здійснюючи ніяких рухових дій. Кількість актів дефекації у контрольних тварин у порівнянні з контролем у 3-4 рази більше.

50 Використовувались фізіологічні, морфологічні та біохімічні показники, такі як визначення виразок у шлунку, еозинофіли у цільній крові, адреналін і норадреналін у сироватці, які є основними і найбільш інформативними індикаторами проявлення стресового стану у живого організму та рівня впливу на організм. Частина цільної крові використовувалась для підрахунку еозинофілів за Дункером. Другу частину крові використали для отримання сироватки для визначення адреналіну та норадреналіну. Дані наведені у таблицях 1, 2, 3.

60 На підставі сукупності даних, отриманих в результаті перевірки антистресової ефективності аскорбату літію, можна зробити висновок, що при пероральному введенні водних розчинів достовірно відбувається швидка адаптація організму до стресу. Перший тест, проведений через

7 днів, дав результати, які незначно перевищують показники інтактної групи (5), але, починаючи з другого тесту (14 днів), були отримані дані, близькі до інтактної групи практично на всіх дозуваннях. Також потрібно відзначити, що всі показники у всіх тестах у 2,5-3,5 рази, а у випадку контролю виявлених виразок більш ніж у 10 разів, були кращими, чим показники контрольної групи. Зниження рівня гормонів страху – адреналіну і норадреналіну в 3,5-4 рази свідчить про виражену анксиолітичну дію аскорбату літію. Отримані дані дозволяють зробити однозначний висновок про високу антистресову та анксиолітичну активність аскорбату літію.

Приклад 2. Метод вивчення антистресової, анксиолітичної та антидепресивної активності – імітація транспортного засобу.

У якості моделі для імітації транспортного стресу використали Шейкер обертовий універсальний Unimax 1010. Швидкість оберту була обрана в 120 обертів за хвилину протягом 240 хвилин. На майданчику закріплювалась клітка, в яку поміщалися 5 голів тварин. Щури знаходилися у клітці у вільному стані. Спостерігали зміни реакції тварин при тривалому введенні препарату. Процес відбору проб і декапітації описаний у Прикладі 1.

У якості маркерів впливу стресу на тварин визначались фізіологічні, морфологічні та біохімічні показники крові, індивідуальна і групова поведінка тварин, кількість актів енурезу, кількість актів дефекації, і вівся підрахунок болюсів екскрементів; еозинофіли у цільній крові за Дункером; у сироватці крові визначали ферменти АЛТ, АСТ, креатиніну.

Транспортний стрес є яскраво вираженим прикладом технологічного впливу на організм тварин і людини. За короткий період його впливу тварини не встигли виробити адаптивні властивості для компенсації даного впливу. Таким чином, у якості показника для спостереження класичного прикладу розвитку адаптивного синдрому за Сельє він підходить якомога краще. У експерименті створювали імітацію транспортного впливу на щурів за допомогою лабораторного шуттера. Поступальні кругові коливання протягом 4 годин негативно впливали на тварин. Щури у контрольній групі весь час рухались, стикалися між собою, намагаючись зосередитись по кутах, де амплітуда коливання найбільша. При цьому актів дефекації було значно більше. Тварини поводитись агресивно. Сильніші тварини намагалися виштовхнути з кута слабшу. Дані наведені в таблиці 4.

Поведінка тварин дослідних груп була іншою. Була яскраво виражена соціальна взаємодія і здатність тварин швидше адекватно реагувати на змінний вплив. Тварини намагалися знайти точку з найменшим впливом коливань. При цьому збиралися в групи, ставали на задні лапи і намагалися коливатися разом з платформою. Дана поведінка свідчить, що у тварин відсутній страх та тривожність. Намагаючись пристосуватися до даних умов, тварини менше пересувалися на майданчику і групувалися для зменшення негативного впливу. Кількість енурезів і актів дефекації була значно меншою. Дана поведінка тварин, а також морфологічні показники цільної крові, такі як еозинофіли, говорять про яскраво виражений анксиолітичний ефект аскорбату літію. Еозинопенія характерна при впливі стрес-факторів різної етіології, що підтверджується інформацією з джерела відомостей "Стресс-индуцированные нарушения в системе крови и их коррекция медиаторами и метаболитами стресс-лимитирующих систем", тема дисертації і автореферат по ВАК 14.00.16, кандидат біологічних наук О.А.Макарова, 2003 р. Гематологічні дослідження після стресорного впливу показали, що у контрольній групі кількість еозинофілів зменшилась більше ніж у 2 рази у порівнянні з інтактними тваринами. В експериментальних групах зниження було менш вираженим і залежало від доз застосування аскорбату літію. Дані дослідження наведені нижче в таблицях 4; 5; 6.

Антидепресивний ефект аскорбату літію яскраво спостерігався у стані і поведінці дослідних і контрольних тварин. При тривалому шутулюванні у щурів контрольної групи спостерігалась повна байдужість і апатія до будь-яких дій, що відбуваються. Після зупинки експерименту тварина була байдужою і нічого не робила на свій захист. Акти дефекації ставали безладними, калові маси не яскраво вираженими. Тварина ходила під себе і не намагалась знайти більш зручне місце. Щури, які отримували аскорбат літію, після закінчення експерименту виявляли рухову активність, незважаючи на нестабільне положення їхнього тіла. Намагались у клітці припасти до поїльника, при цьому не виявляли агресії, але зберігали домінування. При спробі взяти тварину, вона пручалась і намагалась сховатись. Таким чином, у тварин не були пригнічені інстинкти голоду та самозбереження.

На підставі проведених досліджень можна стверджувати, що аскорбат літію є препаратом антистресового ряду. Результати, отримані в даному тесті, підтверджують висновки, зроблені раніше у Прикладі 1 про високу антистресову та анксиолітичну активність аскорбату літію, а також доповнені даними, що дозволяють встановити антидепресивну дію аскорбату літію.

Приклад 3. Ефективність аскорбату літію у малих дозах.

В період накопичення аскорбату літію в організмі дослідних тварин відповідь організму на стрес мало залежала від дози введення. Доза 30 мг/кг ваги незначно переважає за ефективністю дозу 60 мг/кг. Доза 120 мг/кг діяла менш ефективно. Але на 2-у і 3-у тестах (14-й і 21-й день) була помітна суттєва різниця між результатами, отриманими на дозуваннях 30 мг/кг і 120 мг/кг, в середньому від 3 % до 10 %. Таким чином, можна стверджувати, що аскорбат літію більш ефективний у малих дозуваннях.

Приклад 4. Ефективність пролонгованих форм аскорбату літію.

При проведенні досліджень однієї з груп препарат вводився у вигляді пігулок (какао-масло у вигляді формоутворювача) у дозуванні 60 мг/кг. Даний варіант передбачав менш стресогінний вид ведення і пролонгований вид засвоєння літію. Отримані результати (таб.1-5) свідчать про те, що швидкість накопичення літію була нижча, ніж при пероральному введенні водного розчину того ж дозування. Активність даної форми введення на 7-у добу була мала. Але на 14-у і 21-у добу введення стан тварин, що отримували аскорбат літію у вигляді болюсів з какао-маслом, був порівнянний з інтактними тваринами і у ряді випадків перебільшував результати, отримані при пероральному введенні розчину аскорбату літію. Таким чином, можна вважати, що дія пролонгованих форм ефективна при тривалому впливі, характеризується ефектом накопичення аскорбату літію, тривалим благотворним впливом на обмін речовин. Підвищення ваги у тварин 6 групи та збільшення креатиніну в крові свідчить про підвищення м'язової маси. Не відбувалося виснаження організму, що призводило б до дистрофії. Адекватна реакція організму на стреси різної етіології, накопичення енергетичного запасу організму приводило до підвищеного збільшення м'язової тканини, без різкого збільшення підшкірної клітковини (жирової тканини). Таким чином, тварина росла і розвивалась, незважаючи на дію стресу.

Приклад 5. Визначення гострої токсичності аскорбату літію.

Проведено вивчення параметрів гострої токсичності аскорбату літію у вигляді розчину. Досліди були поставлені на 4-хмісячних щурах-самцях лінії Вістар масою 180,0-200,0 г. Тварини були підібрані і розподілені по групах за принципом парних аналогів, утримувались в ідентичних умовах годування і утримання.

Перед початком досліджень тварин витримували на карантині протягом 12 днів, до введення препарату вони проходили крізь добову депривацію. У кожній серії дослідів було сформовано 8 груп тварин по 6 голів в групі.

У першій серії дослідів гостра токсичність аскорбату літію визначалась при пероральному способі введення. LD50 (середньолетальна доза, тобто доза, при якій 50 % щурів гинуло) розраховувалась за методом Кербера. Субстанцію вводили одноразово всередину в дозах 1000, 2000, 3000, 4000, 5000, 6000, 7000, 8000 мг/кг маси тіла. Обсяг введення складав 2,0 мл на щура (دوزи є гранично допустимими за обсягом для перорального введення) внутрішньошлунково спеціальним металевим зондом. Обсяг аскорбату літію, що вводили тваринам, доводили водою для ін'єкцій. Критеріями оцінювання токсичності були летальний результат і характер клінічної картини. Дані, отримані в ході дослідів на лабораторних тваринах, представлені у таблицях 7, 8.

Порівнюючи результати двох методів визначення LD50, можна підтвердити можливість використання будь-якого з них, так як відмінності не перевищують 0,1 % в залежності від методу, взятого за еталон.

Отримані дані дозволили визначити параметри гострої токсичності аскорбату літію. Так, для білих щурів лінії Вістар вони складали: LD50 – 6334 мг/кг, LD100 – 8000 мг/кг. Таким чином, за таблицею розподілу лікарських засобів аскорбат літію відноситься до 5 класу "практично нетоксичних" LD50 $\geq$ 5000 мг/кг.

Із порівняння доз від 30 мг/кг до 120 мг/кг, в яких аскорбат літію виявляв антистресовий і анксиолітичний ефект, і враховуючи високий рівень параметру LD50 в 6334 мг/кг – (LD50 карбонату літію - 531 мг/кг (Бадман А.Л., Гудзовский Г.А., Дубейковская Л.С. и др. Вредные химические вещества. Неорг.соед.элементов I-IV групп. Спр.изд. под ред. В.А.Филова и др. Л.: Химия, 1988. 512 с.) можна стверджувати, що аскорбат літію має широкий діапазон терапевтичної активності і низьку токсичність.

Нижче, у таблицях, наведені статистичні дані, отримані у вищезазначених прикладах реалізації.

Таблиця 1

Кількість виявлених виразок у шлунку при проведенні тесту на фізичну витривалість (підвішування)

№ груп	Кількість виразок у шлунку		
	7 день введення	14 день введення	21 день введення
1	23,5±0,9	21,2±0,2	21,2±0,2*
2	4,0±0,5*	2,5±1,1*	2,1±0,7
3	4,1±0,8	2,6±0,4	2,4±0,5
4	4,5±0,9	2,4±0,2*	1,9±0,4
5	1,0±0,1	1,5±0,5	1,0±0,5
6	8,7±1,2	1,6±0,9	1,5±0,6*

(*p<0,05 при порівнянні по t-критерію з контролем) 1 - контрольна група; 2 - 120 мг/кг аскорбату літію; 3 - 60 мг/кг аскорбату літію; 4 - 30 мг/кг аскорбату літію; 5 - інтактна група; 6 - 60 мг/кг у вигляді болюсів.

Таблиця 2

Визначення еозинофілів в цільній крові за Дункером (тест на підвішування)

№ груп	Кількість еозинофілів в цільній крові		
	7 день введення	14 день введення	21 день введення
1	311,6±5,8	285±1,5	291±0,2
2	768±6,7	885±3,8	911±8,2
3	791±1,2*	866±9,4	910±4,1*
4	764±6,5	897±7,2	954±9,7
5	953±2,9	975±0,5	981±5,4
6	653±9,2	913±0,9*	954±3,6

(*p < 0,05 при порівнянні по t-критерію з контролем) 1- контрольна група; 2 – 120 мг/кг аскорбату літію; 3 – 60 мг/кг аскорбату літію; 4 – 30 мг/кг аскорбату літію; 5 – інтактна група; 6- 60 мг/кг у вигляді болюсів

Таблиця 3

Визначення адреналіну і норадреналіну у сироватці крові (тест на підвішування)

№ груп	Кількість адреналіну і норадреналіну у сироватці крові					
	7 день введення		14 день введення		21 день введення	
	Адреналін мкг/л	Норадреналін мкг/л	Адреналін мкг/л	Норадреналін мкг/л	Адреналін мкг/л	Норадреналін мкг/л
1	27,1±3,91	68,6±1,52	28,3±1,27	68,9±9,41	27,7±2,46	70,5±3,54
2	7,6±0,38	20,2±5,67	8,7±3,82	20,3±4,83	9,6±3,28	18,4±5,27
3	7,9±0,21*	22,1±1,98	7,1±1,19	20,3±3,49	7,3±2,14*	19,3±6,13
4	8,1±0,52	24,3±2,2	6,9±2,77	18,2±5,28	6,9±0,97*	17,9±0,95*
5	6,7±0,65	18,6±1,95	6,1±0,51	17,9±0,85	6,4±2,42	17,2±0,56
6	22,6±4,27	54,8±10,4	6,7±0,96*	18,4±0,49	7,9±3,61	17,8±0,98*

(*p < 0,05 при порівнянні по t-критерію з контролем) 1 - контрольна група; 2 - 120 мг/кг аскорбату літію; 3 - 60 мг/кг аскорбату літію; 4 - 30 мг/кг аскорбату літію; 5 - інтактна група; 6 - 60 мг/кг у вигляді болюсів

Таблиця 4

Вплив різних доз аскорбату літію на кількість болюсів в акті дефекації

№ груп	7 день введення	14 день введення	21 день введення
	Кількість болюсів	Кількість болюсів	Кількість болюсів
1	8,6±1,4	10,1±2,7*	11,6±1,9
2	5,0±1,1*	4,1±1,1	4,0±1,0
3	4,6±0,4	3,9±0,4*	3,7±0,7
4	4,2±0,4	3,9±0,4*	3,5±0,3*
5	3,6±0,7	3,8±0,4	3,5±0,7
6	7,2±1,5*	5,2±0,9	3,7±0,3

(*p < 0,05 при порівнянні по t-критерію з контролем) 1 - контрольна група; 2 - 120 мг/кг аскорбату літію; 3 - 60 мг/кг аскорбату літію; 4 - 30 мг/кг аскорбату літію; 5 - інтактна група; 6 - 60 мг/кг у вигляді болюсів

Таблиця 5

Визначення еозинофілів в цільній крові за Дункером
(тест на імітацію транспортного засобу)

№ груп	Кількість еозинофілів в цільній крові		
	7 день введення	14 день введення	21 день введення
1	428±11,2	401±8,1	425±6,9
2	856±4,2*	901±16,8	907±4,3*
3	822±8,7	919±4,1*	922±9,3
4	794±6,9	921±9,1	928±10,7
5	978±5,1	991±0,6	979±3,8
6	528±5,8	938±11,7	947±12,4

(*p < 0,05 при порівнянні по t-критерію з контролем) 1 - контрольна група; 2 - 120 мг/кг аскорбату літію; 3 - 60 мг/кг аскорбату літію; 4 - 30 мг/кг аскорбату літію; 5 - інтактна група; 6 - 60 мг/кг у вигляді болюсів.

Таблиця 6

Вплив аскорбату літію на активність амінотрансфераз і креатиніна в крові (тест на імітацію транспортного засобу)

№ груп	Кількість амінотрансфераз і креатиніна в сироватці крові								
	7 день введення			14 день введення			21 день введення		
	АСТ	АЛТ	Креатинін	АСТ	АЛТ	Креатинін	АСТ	АЛТ	Креатинін
1	41,3± 3,10	13,2± 5,97	19,4± 2,45	40,9± 4,92	13,5± 4,84	17,9± 5,31	42,0± 6,17	14,0± 4,91	19,1± 2,12
2	107,1± 6,20	32,4± 7,75	39,8± 6,13*	110,3± 7,41*	31,7± 7,32	47,8± 1,46	118,7± 4,48*	30,1± 7,42	42,1± 2,97*
3	97,9± 5,04*	31,0± 3,15*	39,6± 7,98	112,4± 6,23	33,1± 2,84*	48,3± 8,27*	115,5± 8,97	32,4± 6,37	45,6± 2,73*
4	91,7± 7,29	29,8± 8,45	36,5± 3,84*	109,9± 9,67	32,1± 9,10	48,1± 3,82	121,2± 7,21	31,7± 3,14*	46,3± 3,26
5	129,5± 7,33	36,3± 2,64	48,8± 4,50	131,3± 7,48	38,1± 1,49	50,1± 4,86	128,7± 3,26	36,9± 3,87	49,2± 4,61

Таблиця 6 (продовження)

№ груп	Кількість амінотрансфераз і креатиніна в сироватці крові								
	7 день введення			14 день введення			21 день введення		
	АСТ	АЛТ	Креатинін	АСТ	АЛТ	Креатинін	АСТ	АЛТ	Креатинін
6	68,8± 4,72*	22,7± 8,19	25,7± 4,30	119,7± 6,21*	34,8± 6,83	56,7± 6,44*	121,0± 4,29*	35,0± 4,29	58,4± 9,30*

(*p < 0,05 при порівнянні по t-критерію з контролем) 1 - контрольна група; 2 - 120 мг/кг аскорбату літію; 3 - 60 мг/кг аскорбату літію; 4 - 30 мг/кг аскорбату літію; 5 - інтактна група; 6 - 60 мг/кг у вигляді болюсів

Таблиця 7

Визначення середньосмертельної дози аскорбату літію для щурів
(за Кербером)

Доза мг/кг	1000	2000	3000	4000	5000	6000	7000	8000
Вижило	6	6	6	6	5	3	3	0
Загинуло	0	0	0	0	1	3	3	6
Z	0	0	0	0,5	2	3	3	4,5
D	1000	1000	1000	1000	1000	1000	1000	1000
z·d	0	0	0	500	2000	3000	3000	4500

$$\Sigma z \cdot d = 10000$$

$$LD_{50} = LD_{100} - \frac{\Sigma (Z \cdot D)}{n} = 8000 - \frac{1667}{1} = 6333$$

LD₅₀ = LD₁₀₀ - $\Sigma (z \cdot d) / n$, де LD₁₀₀ - доза препарату, яка викликала ефект у всіх тест-об'єктів в групі; D - інтервал між двома суміжними дозами; Z - середнє арифметичне з двох значень числа тест-об'єктів, у яких проявився позитивний ефект при взаємодії кожної з двох суміжних доз; n - число тест-об'єктів в групі.

Таблиця 8

Визначення середньосмертельної дози аскорбату літію для щурів лінії Вістар (за Першиним)

Доза мг/кг	1000	2000	3000	4000	5000	6000	7000	8000
Загинуло/Вижило	0/6	0/6	0/6	0/6	1/5	3/3	3/3	6/0
% загинувших	0	0	0	0	16,6	50	50	100
Сума доз, що стоять поруч	3000	5000	7000	9000	11000	13000	15000	
Різниця % померлих, B	0	0	0	16,6	33,4	0	50	
(A·B)	0	0	0	149400	367400	0	750000	
$\Sigma (A \cdot B) = 1266840$								

$$LD_{50} = 1266840 / 200 = 6334 \text{ мг/кг}$$

Нижче наведені приклади реалізації композиції на основі аскорбату літію.

Наведені приклади не обмежують застосовність даного винаходу, а тільки ілюструють варіанти його реалізації.

Приклад 1.

Була використана композиція, що містить аскорбат літію й вітаміни: піридоксину гідрохлорид – B6 і тіаміну мононітрат – B1 у вигляді водного розчину в різних відсоткових співвідношеннях.

У ході дослідження був встановлений вплив композицій з різними співвідношеннями аскорбату літію й вітамінів групи B1 і B6 на протистресову, анксиолітичну та антидепресивну ефективність композиції.

Було сформовано 4 групи тварин. Композицію вводили перорально у вигляді водного розчину. Концентрація співвідношень була наступна:

1. Група – 10 % аскорбату літію, 55 % вітаміну B6 і 35 % вітаміну B1.

2. Група – 50 % аскорбату літію, 30 % вітаміну B6 і 20 % вітаміну B1.
3. Група – 65 % аскорбату літію, 20 % вітаміну B6 і 15 % вітаміну B1.
4. Група – 90 % аскорбату літію, 6 % вітаміну B6 і 4 % вітаміну B1.
5. Група контрольна, отримувала тільки воду для ін'єкцій.

Під нервово-психічним збудженням мається на увазі характер та інтенсивність пересування тварини у манежі. Вона залежить від дії різних факторів стресу (наприклад, незвичне для тварини оточення) у поєднанні з природною дослідницькою активністю й використовується для діагностики функціонального стану нервової системи при впливі природних та експериментальних факторів зовнішнього середовища. Індикаторами підвищеної тривожності, стресу служать кількість болюсів і активів грумінгу, рівень дослідницької активності, жвавість, а рівень допитливості або загальної апатії корелює з рівнем депресії. Проведені випробування продемонстрували, що досліджувані показники корелюють з результатами інших поведінкових тестів.

У якості модельного об'єкту були використані самці білих щурів лінії Вістар масою 130-170 г. Тварин утримувались в однакових кімнатах в клітках по 10 щурів у кожній, при температурі 19-21°C. Тварин щоденно годували комбікормом із розрахунку 30-40 г на особину. Вода була доступна без обмежень. У досліді приймали участь 40 тварин. Тварини розбивалися на чотири групи по 10 голів у кожній. Композиція вводилася протягом 5 днів. Поведінка тварин досліджувалась у тесті "Відкрите поле". Тварини поміщались у відкрите поле (експериментальний майданчик) через 5 днів після введення. Тварину поміщали в один і той самий квадрат, розміщений біля стінки. Час експозиції кожної тварини у моделі складав 5 хвилин.

Таблиця 9

Вплив композиції на поведінку щурів у тесті "Відкрите поле" після 5 днів введення

Група	Вертикальна рухова активність	Горизонтальна рухова активність	Кількість заглядань у отвір	Число активів грумінгу	Кількість виходів у центральну зону	Кількість болюсів
1	17,24±4,86*	5,56±1,24	4,76±2,41	17,25±3,61	1,21±1,82	5,14±0,23
2	27,32±2,87	6,18±0,42	9,32±3,13	9,43±4,12	3,12±2,17	2,12±0,48
3	29,46±3,74	6,75±0,68	9,98±0,96*	8,44±4,76	2,84±0,14	2,54±0,68
4	21,09±1,95	7,78±0,46	5,85±0,96*	11,68±4,76	1,69±0,14	4,83±0,24
5	7,21±2,75	3,48±0,75	2,96±0,42	23,47±2,38	0,9±0,42	6,46±0,16

Отримані результати свідчать про те, що:

- композиція виявляє вказану активність при співставленні результатів експериментальних й контрольної груп;
- ефективний діапазон співвідношень діючих речовин в композиції досить широкий, але максимальна ефективність композиції досягається при співвідношенні 65 % аскорбату літію, 20 % вітаміну B6 і 15 % вітаміну B1;
- ефективність композиції знижується при збільшенні долі аскорбату літію і зниженні долі вітамінів, а також при збільшенні долі вітамінів і зниженні долі аскорбату літію, що говорить про існування синергетичного ефекту речовин, застосованих у композиції.

Таким чином, використання аскорбату літію як літіймісткої речовини у якості засобу, що має антистресову, анксиолітичну та антидепресивну дію і композиція на його основі, дозволяє розширити асортимент засобів вказаного призначення. При цьому заявлені засоби мають низьку токсичність і високу ефективність.

ФОРМУЛА ВИНАХОДУ

1. Застосування аскорбату літію як засобу з антистресовою, анксиолітичною та антидепресивною активністю.
2. Композиція з антистресовою, анксиолітичною та антидепресивною активністю, яка містить солі літію, яка **відрізняється** тим, що вона містить додатково піридоксину гідрохлорид, тіаміну мононітрат, а як сіль літію містить аскорбат літію.
3. Композиція за п. 2, яка **відрізняється** тим, що містить аскорбат літію, піридоксину гідрохлорид, тіаміну мононітрат, при наступному співвідношенні, мас. %:

аскорбат літію	10-90
піридоксину гідрохлорид	6-50
тіаміну мононітрат	4-40

4. Композиція за п. 3, яка **відрізняється** тим, що виконана у формі, яка забезпечує уповільнене вивільнення аскорбату літію протягом 8-24 годин.

5. Композиція за п. 3, яка **відрізняється** тим, що як допоміжні речовини може містити сорбітол або мальтодекстрин, або тальк, або кафос.

5