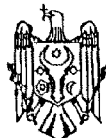




MD 1180 Z 2018.03.31

REPUBLICA MOLDOVA



(19) Agenția de Stat
pentru Proprietatea Intelectuală

(11) **1180** (13) **Z**
(51) Int.Cl.: *A61K 35/74* (2006.01)

(12) BREVET DE INVENȚIE DE SCURTĂ DURATĂ

(21) Nr. depozit: s 2017 0030 (22) Data depozit: 2017.03.02	(45) Data publicării hotărârii de acordare a brevetului: 2017.08.31, BOPI nr. 8/2017
(71) Solicitant: INSTITUTUL DE FIZIOLOGIE ȘI SANOCREATOLOGIE AL ACADEMIEI DE ȘTIINȚE A MOLDOVEI, MD (72) Inventatori: ȘEPTIȚCHI Vladimir, MD; BEREZIUC Iulia, MD; BURȚEVA Svetlana, MD (73) Titular: INSTITUTUL DE FIZIOLOGIE ȘI SANOCREATOLOGIE AL ACADEMIEI DE ȘTIINȚE A MOLDOVEI, MD	

(54) Procedeu de stimulare a formării reflexelor condiționate în perioada diminuării funcțiilor

(57) Rezumat:

1
Invenția se referă la fiziologia experimentală, medicina experimentală și farmacologie, în special la procedee de stimulare a formării reflexelor condiționate în perioada diminuării funcțiilor.

Conform invenției, procedeul include administrarea în calitate de aditiv alimentar a

2
metaboliților biomasei tulpinii de *Streptomyces fradiae* CNMN-Ac-11, în doză de 250 mg/kg masă corporală pe zi, timp de 90 zile până la formarea și în perioada de formare a reflexelor condiționate.

Revendicări: 1

MD 1180 Z 2018.03.31

(54) Method for stimulating the formation of conditioned reflexes in the period of diminution of functions

(57) Abstract:

1
The invention relates to experimental physiology, experimental medicine and pharmacology, in particular to methods for stimulating the formation of conditioned reflexes in the period of diminution of functions.

According to the invention, the method comprises the administration as a food additive

2
of *Streptomyces fradiae* CNMN-Ac-11 strain biomass metabolites, in a dose of 250 mg/kg body weight per day, for 90 days prior to the formation and in the period of formation of conditioned reflexes.

Claims: 1

(54) Способ стимулирования формирования условных рефлексов в период снижения функций

(57) Реферат:

1
Изобретение относится к экспериментальной физиологии, экспериментальной медицине и фармакологии, в частности к способам стимулирования формирования условных рефлексов в период снижения функций.

Согласно изобретению, способ включает введение в качестве пищевой добавки

2
метаболитов биомассы штамма *Streptomyces fradiae* CNMN-Ac-11, в дозе 250 мг/кг массы тела в сутки, в течение 90 суток до формирования и в период формирования условных рефлексов.

П. формулы: 1

Descriere:

5 Invenția se referă la fiziologia experimentală, medicina experimentală și farmacologie, în special la procedee de stimulare a formării reflexelor condiționate în perioada diminuării funcțiilor.

Este cunoscută aplicarea metaboliților biologic activi din biomasa unor tulpini de streptomicete, de exemplu a estifoeninelor A și B, produse de *Streptomyces purpeofuscus* [1], benzostatinelor H și I, separate din biomasa *Streptomyces nitrosporeus* [2], mescengricinei extrase din biomasa *Streptomyces griseoflavus* 2853-SVS4 [3] cu scopul stimulării activității nervoase, acțiunii asupra activității celulelor nervoase, cât și a structurilor encefalului, responsabile de procesele de memorare, învățare și neuroprotecție.

15 Cea mai apropiată soluție a invenției propuse este procedeul de stimulare a formării reflexelor condiționate la șobolanii albi, care include utilizarea metaboliților din biomasa și mediul nutritiv al tulpinii *Streptomyces messasporeus* CNMN-Ac-36 în doză de 250 mg/kg și 1...2 ml/kg de mediu nutritiv. Tulpina este eliminată din solurile Moldovei și depozitată în Colecția Națională a Microorganismelor Nepatogene a AȘM [4].

20 Totuși, în cea mai apropiată soluție, nu au fost realizate investigații referitor la influența metaboliților *Streptomyces messasporeus* CNMN-36 asupra formării reflexelor condiționate la animalele senile (în perioada diminuării funcțiilor).

Problema tehnică pe care o soluționează invenția constă în elaborarea unui procedeu de stimulare a formării reflexelor condiționate în perioada diminuării funcțiilor, care ar permite optimizarea procesului de formare a reflexelor condiționate la animale, 25 îndeosebi în perioada diminuării funcțiilor.

Conform invenției, procedeul include administrarea în calitate de aditiv alimentar a metaboliților biomasei tulpinii de *Streptomyces fradiae* CNMN-Ac-11, în doză de 250 mg/kg masă corporală pe zi, timp de 90 zile până la formarea și în perioada de formare a 30 reflexelor condiționate.

Tulpina este eliminată din solurile Moldovei și depozitată în Colecția Națională a Microorganismelor Nepatogene a AȘM.

Analiza compoziției biomasei tulpinii *Streptomyces fradiae* CNMN-Ac-11 denotă că conținutul aminoacizilor și al lipidelor diferă de biomasa tulpinii *Streptomyces messasporeus* CNMN-Ac-36 (soluția apropiată). Astfel, conținutul acizilor glutamic și aspartic, glicinei, prolinei, care îndeplinesc funcția de neuromediatorii și neuromodulatorii în diferite structuri cerebrale și participă în mecanismele neuroplasticității în cazul învățării, este mai mare decât în biomasa tulpinii *Streptomyces messasporeus* CNMN-Ac-36. În special conținutul acidului glutamic este mai sporit cu 40 126%, al prolinei cu 83%, al glicinei cu 24,8%, iar al acidului aspartic cu 8,4% (Гараева С.Н., Редкозубова Г.В., Постолатий Г.В. Аминокислоты в живом организме. Кишинев, Издательство АНМ, 2009, 552 с). Totodată, în biomasa tulpinii *Streptomyces fradiae* CNMN-Ac-11 este mai mare conținutul fosfolipidelor și sterinelor, iar conținutul trigliceridelor este mai mic comparativ cu biomasa tulpinii 45 *Streptomyces messasporeus* CNMN-Ac-36 (Постолакий О.М., Братухина А.А., Бурцева С.А. Липидный состав биомассы стрептомицетов после воздействия электромагнитного излучения миллиметрового диапазона низкой интенсивности. Электронная обработка материалов. 2015, т. 51, № 4, с. 84-89). Luând în considerare că trigliceridele au, în general, un rol energetic, iar fosfolipidele și sterinele asigură 50 plasticitatea membranei celulelor nervoase, manifestă proprietăți antioxidante, datorită cărora scade expresivitatea reacțiilor de peroxidare a lipidelor, în stare de stres acut, utilizarea biomasei tulpinii *Streptomyces fradiae* CNMN-Ac-11 permite de a majora numărul de reacții condiționate-reflexoare, reduce numărul de combinații ale excitanților necondiționați și condiționați pentru atingerea nivelului de 100% de formare a reflexelor 55 condiționate.

Investigațiile experimentale au fost realizate pe șobolani albi linia Wistar, întreținuți în condiții de vivariu. În experiențe a fost aplicată metoda formării reflexului artificial exteroreceptor, și anume a reacției condiționate de evitare activă a excitației nociceptive. Învățarea șobolanilor a fost realizată conform metodei de evitare activă

dublă în camere „shuttle box” după adaptarea timp de 5 min la condițiile experimentale (Зарайская И.Ю. Системный анализ оборонительного поведения крыс Вистар при обучении двустороннему активному избеганию. Журнал высшей нервной деятельности. 1995, Т. 45, Вып. 3, с. 472-478). Excitarea electrică cutanată (4 mA, 5 kHz) a fost aplicată peste 5 s după semnalul luminos prin podeaua metalică a camerei, conectată la electrostimulator. Zilnic se efectuau câte 10 combinații cu un interval de 40±10 s. Reflex condiționat se consideră trecerea șobolanului într-un compartiment mai sigur, fără întărirea cu un stimul negativ, adică realizarea unui act comportamental anumit. În baza investigațiilor efectuate se calculează cota reacțiilor condiționate reflectoare din numărul total de treceri ale fiecărui animal.

Exemplul 1

A fost studiată activitatea condiționat reflectoare a șobolanilor tineri (4...4,5 luni). Investigațiile au fost realizate pe 16 șobolani masculi linia Wistar. La vârsta de o lună animalele au fost arbitrar împărțite în 2 grupe a câte 8 șobolani: grupa martor și experimentală. Animalele grupei experimentale au primit odată cu hrana timp de 90 zile un preparat ce conține metaboliți ai tulpinii *Streptomyces fradiae* CNMN-Ac-11 (biomasă uscată BM-11) în doză de 250 mg/kg masă corporală. Preparatul a fost amestecat cu hrana. Grupul martor a fost hrănit cu aceeași rație alimentară și în același timp cu animalele experimentale. Doza utilizată considerându-se optimală, dozele mai mici de 150 mg/kg nu au efect, iar cele mai mari de 300 mg/kg nu sunt indicate, deoarece creșterea dozei nu asigură un efect major. După 90 zile, pe parcursul a 15 zile s-au format reflexele condiționate la animalele grupului martor și celui experimental. Pe tot parcursul experienței (15 zile) animalele au primit odată cu hrana preparatul BM-11 în doză de 250 mg/kg.

Exemplul 2

A fost studiată activitatea condiționat reflectoare a șobolanilor senili (16...16,5 luni). Investigațiile au fost realizate pe 16 șobolani masculi linia Wistar. La vârsta de 13 luni animalele au fost arbitrar împărțite în 2 grupe a câte 8 șobolani: grupa martor și experimentală. Animalele grupei experimentale au primit odată cu hrana timp de 90 zile un preparat ce conține metaboliți ai tulpinii *Streptomyces fradiae* CNMN-Ac-11 (biomasă uscată BM-11) în doză de 250 mg/kg masă corporală. Preparatul a fost amestecat cu hrana. Grupul martor a fost hrănit cu aceeași rație alimentară și în același timp cu animalele experimentale. Doza utilizată considerându-se optimală, dozele mai mici de 150 mg/kg nu au efect, iar cele mai mari de 300 mg/kg nu sunt indicate, deoarece creșterea dozei nu asigură un efect major. După 90 zile, pe parcursul a 15 zile s-au format reflexele condiționate la animalele grupului martor și celui experimental. Pe tot parcursul experienței (15 zile) animalele au primit odată cu hrana preparatul BM-11 în doză de 250 mg/kg.

Datele obținute sunt incluse în tabel.

Tabel

Dinamica formării reflexelor condiționate la șobolanii albi sub influența metaboliților biomasei tulpinii *Streptomyces fradiae* CNMN-Ac-11 (BM-11)

Zile experimentale	Cota reflexelor condiționate din numărul total de treceri (%)			
	Animale tinere		Animale senile	
	martor	experiment	martor	experiment
1	0	0	0	0
2	2,0±0,2	6,0±0,7*	0	0
3	5,0±0,4	27,6±1,6*	2,0±0,16	5,0±0,48
4	12,2±0,8	35,7±2,1*	4,0±0,2	12,5±0,9*

5	38,3±2,0	72,1±2,8*	5,0±0,4	26,8±2,4*
6	48,6±2,2	87,2±3,1*	6,8±0,39	28,3±2,8*
7	62,5±2,5	89,0±3,4*	10,8±1,0	38,1±2,9*
8	75,0±2,8	90,6±3,4*	18,2±1,4	39,7±2,9*
9	80,2±3,3	92,0±3,2*	25,7±1,8	52,3±3,1*
10	84,4±3,3	100,0±3,8*	32,6±1,8	65,9±3,5*
11	90,6±3,7	100,0±3,7*	46,3±2,0	72,7±3,8*
12	94,0±3,6	100,0±3,9	48,4±2,2	68,9±3,4*
13	97,4±3,8	100,0±3,6	50,7±2,1	74,4±3,8*
14	100,0±3,8	100,0±3,6	54,7±2,4	75,1±3,9*
15	100,0±3,9	100,0±3,9	60,4±2,4	82,8±3,9*

În urma investigațiilor realizate s-a constatat că la șobolanii care au primit odată cu hrana standardă preparatul ce conținea metaboliți ai tulpinii *Streptomyces fradiae* CNMN-Ac-11, numărul reacțiilor condiționat-refletoare era mult mai mare, comparativ cu animalele grupelor de control. Astfel, în prima grupă experimentală cota reflexelor condiționate din numărul total de treceri, exprimată în procente, este veridic mai mare la animalele grupei experimentale de la a 2-a până la a 11-a zi, iar în grupa a doua experimentală – de la a 2-a zi și până la sfârșitul experienței.

Deci, utilizarea biomasei *Streptomyces fradiae* CNMN-Ac-11 reduce veridic numărul combinațiilor excitantilor condiționați și necondiționați aplicați pentru asigurarea nivelului de formare de 100% a reflexelor condiționate. Analiza rezultatelor obținute la animalele tinere și senile demonstrează că la animalele senile acțiunea preparatului BM-11 este mai exprimată, ceea ce denotă despre mecanismul neuroprotector al efectului stimulator al metaboliților biomasei *Streptomyces fradiae* CNMN-Ac-11 în formarea reflexelor condiționate. Prin urmare, preparatul BM-11 stimulează formarea reflexelor condiționate într-o măsură mai mare la animalele senile, decât la animalele tinere, ceea ce permite de a utiliza acest preparat în perioada diminuării funcțiilor.

Procedeul propus asigură, comparativ cu cea mai apropiată soluție, formarea mai rapidă a reflexelor condiționate, creșterea efectului de stimulare a activității condiționat-refletoare la animalele experimentale, îndeosebi la cele senile.

(56) Referințe bibliografice citate în descriere:

1. Shin-Ya K. et al. Novel neuronal cell protecting substances, aestivophoenins A and B, produced by *Streptomyces purpeofuscus*. In: J. Antibiotics, 1995, vol. 48, is. 11, p. 1378-1381
2. Kim W.G. et al. Benzastatins H and I, new benzastatin derivatives with neuronal cell protecting activity from *Streptomyces nitrosporeus*. In: J. Antibiotics, 2001, vol. 54, p. 513-516
3. Shin-Ya K. et al. A novel neuronal cell protecting substance mescengricin produced by *Streptomyces griseoflavus*. In: J. Asian Natural Products Research, 2000, vol. 2, p. 121-132
4. Шептицкий В.А., Братухина А.А., Бурцева С.А. Условнорефлекторная деятельность белых крыс при длительном потреблении биопрепаратов на основе метаболитов *Streptomyces massasporeus*. In: Buletinul AȘM. Științele vieții, 2007, nr. 2 (302), p. 7-12

(57) Revendicări:

Procedeu de stimulare a formării reflexelor condiționate în perioada diminuării funcțiilor, care include administrarea în calitate de aditiv alimentar a metaboliților biomasei tulpinii de *Streptomyces fradiae* CNMN-Ac-11, în doză de 250 mg/kg masă corporală pe zi, timp de 90 zile până la formarea și în perioada de formare a reflexelor condiționate.

RAPORT DE DOCUMENTARE

I. Datele de identificare a cererii		
(21) Nr. depozit: s 2017 0030 (22) Data depozit: 2017.03.02 (71) Solicitant: INSTITUTUL DE FIZIOLOGIE ȘI SANOCREATOLOGIE AL ACADEMIEI DE ȘTIINȚE A MOLDOVEI, MD (54) Titlul: Procedeu de stimulare a formării reflexelor condiționate în perioada diminuării funcțiilor		
II. Clasificarea obiectului invenției:		
(51) Int.Cl: A61K 35/74 (2006.01)		
III. Colecții și Baze de date de brevete cercetate (denumirea, termeni caracteristici, ecuații de căutare reprezentative)		
MD - Intern « Documentare Invenții » (inclusiv cereri nepublicate; trunchiere automată stanga/dreapta): Int.Cl: A61K 35/74 (2006.01) <i>Streptomyces fradiae</i> EA, CIS (Eapatis): Int.Cl: A61K 35/74 (2006.01) <i>Streptomyces fradiae</i> SU (nonpublic): Int.Cl: A61K 35/74 (2006.01) <i>Streptomyces fradiae</i>		
IV. Baze de date și colecții de literatură nonbrevet cercetate		
1. Shin-Ya K. et al. Novel neuronal cell protecting substances, aestivophoenins A and B, produced by <i>Streptomyces purpeofuscus</i>. In: J. Antibiotics, 1995, vol. 48, is. 11, p. 1378-1381. 2. Kim W.G. et al. Benzastatins H and I, new benzastatin derivatives with neuronal cell protecting activity from <i>Streptomyces nitrosporeus</i>. In: J. Antibiotics, 2001, vol. 54, p. 513-516. 3. Shin-Ya K. et al. A novel neuronal cell protecting substance mescengricin produced by <i>Streptomyces griseoflavus</i>. In: J. Asian Natural Products Research, 2000. V. 2. p. 121-132. 4. Шептицкий В.А., Братухина А.А., Бурцева С.А. Условнорефлекторная деятельность белых крыс при длительном потреблении биопрепаратов на основе метаболитов <i>Streptomyces massasporeus</i>. In: Buletinul AȘM. Științele vieții, 2007, nr. 2 (302), p. 7-12.		
V. Documente considerate a fi relevante		
Categorია*	Date de identificare ale documentelor citate si, unde este cazul, indicarea pasajelor pertinente	Numărul revendicării vizate
A, D	Shin-Ya K. et al. Novel neuronal cell protecting substances, aestivophoenins A and B, produced by <i>Streptomyces purpeofuscus</i> . In: J. Antibiotics, 1995, vol. 48, is. 11, p. 1378-1381	1

A, D	Kim W.G. et al. Benzastatins H and I, new benzastatin derivatives with neuronal cell protecting activity from Streptomyces nitrosporeus. In: J. Antibiotics, 2001, vol. 54, p. 513-516	1
A, D	Shin-Ya K. et al. A novel neuronal cell protecting substance mescengricin produced by Streptomyces griseoflavus. In: J. Asian Natural Products Research, 2000, vol. 2, p. 121-132	1
A	SU 1645300 A1 1991-04-30	1
A	SU 1069631 A3 1984-01-23	1
A, D, C	Шептицкий В.А., Братухина А.А., Бурцева С.А. Условнорефлекторная деятельность белых крыс при длительном потреблении биопрепаратов на основе метаболитов Streptomyces massasporeus. In: Buletinul AȘM. Științele vieții, 2007, nr. 2 (302), p. 7-12	1

*** categoriile speciale ale documentelor citate:**

A – document care definește stadiul anterior general	T – document publicat după data depozitului sau a priorității invocate, care nu aparține stadiului pertinent al tehnicii, dar care este citat pentru a pune în evidență principiul sau teoria pe care se bazează invenția
X – document de relevanță deosebită: invenția revendicată nu poate fi considerată nouă sau implicând activitate inventivă când documentul este luat în considerație de unul singur	E – document anterior dar publicat la data depozit național reglementar sau după aceasta dată
Y – document de relevanță deosebită: invenția revendicată nu poate fi considerată ca implicând activitate inventivă când documentul este asociat cu unul sau mai multe documente de aceeași categorie	D – document menționat în descrierea cererii de brevet
O - document referitor la o divulgare orală, un act de folosire, la o expoziție sau la orice alte mijloace de divulgare	C – document considerat ca cea mai apropiată soluție
	& – document, care face parte din aceeași familie de brevete
P - document publicat înainte de data de depozit, dar după data priorității invocate	L – document citat cu alte scopuri

Data finalizării documentării 2017.06.09

Examinator GROSU Petru