



MD 4641 B1 2019.08.31

## REPUBLICA MOLDOVA



(19) Agenția de Stat  
pentru Proprietatea Intelectuală

(11) **4641** (13) **B1**  
(51) Int.Cl: *A23L 33/10* (2016.01)  
*A23L 33/16* (2016.01)  
*C12N 1/20* (2006.01)  
*A61P 5/14* (2006.01)  
*C01B 19/00* (2006.01)  
*C12R 1/01* (2006.01)

### (12) BREVET DE INVENȚIE

|  |   |
|--|---|
| <b>In termen de 6 luni de la data publicării mențiunii privind hotărârea de acordare a brevetului de invenție, orice persoană poate face opoziție la acordarea brevetului</b>  |   |
| (21) Nr. depozit: a 2018 0028<br>(22) Data depozit: 2018.04.19   | (45) Data publicării hotărârii de acordare a brevetului:<br>2019.08.31, BOPI nr. 8/2019 |
| (71) Solicitant: UNIVERSITATEA DE STAT DIN MOLDOVA, MD<br>(72) Inventatori: ZOSIM Liliana, MD; BULIMAGA Valentina, MD; BACALOV Iurie, MD;<br>CRIVOI Aurelia, MD<br>(73) Titular: UNIVERSITATEA DE STAT DIN MOLDOVA, MD |   |

#### (54) Supliment alimentar în hipotiroidie la șobolani

##### (57) Rezumat:

1  
Invenția se referă la biotehnologie și la fiziologia animalelor, în special la un supliment alimentar cu conținut de seleniu și alte substanțe bioactive în calitate de reglator al nivelului hormonilor tiroidieni în hipotiroidie la șobolani.

Suplimentul alimentar, conform invenției, conține o suspensie apoasă de 20 mg/ml de biomasă liofilizată de spirulină îmbogățită cu

2  
seleniu, totodată biomasă liofilizată de spirulină conține: proteine 59,16%, glucide 18,58%, lipide 15,02% și seleniu 49,05 mg%, recalculate la biomasă absolut uscată și este obținută la cultivarea tulpinii de spirulină pe mediu nutritiv modificat Zarrouk, cu adăugarea în mediu, în primele 3 zile de cultivare, a selenitului de sodiu.

Revendicări: 2

MD 4641 B1 2019.08.31

**(54) Food additive for hypothyroidism in rats****(57) Abstract:**

1

The invention relates to biotechnology and animal physiology, in particular to a food additive containing selenium and other bioactive substances as a regulator of thyroid hormone level for hypothyroidism in rats.

The food additive, according to the invention, comprises an aqueous 20 mg/ml suspension of lyophilized biomass of spirulina enriched in selenium, at the same time the

2

lyophilized biomass of spirulina comprises: proteins 59.16%, carbohydrates 18.58%, fats 15.02% and selenium 49.05 mg%, recalculated to absolutely dry biomass and is obtained during cultivation of spirulina strain on a modified Zarrouk nutrient medium, with the addition to the medium, in the first 3 days of cultivation, of sodium selenite.

Claims: 2

**(54) Пищевая добавка при гипотиреозе у крыс****(57) Реферат:**

1

Изобретение относится к биотехнологии и к физиологии животных, в частности к пищевой добавке с содержанием селена и других биоактивных веществ, в качестве регулятора уровня гормонов щитовидной железы в гипотиреозе у крыс.

Пищевая добавка, согласно изобретению, содержит водную, 20 мг/мл суспензию лиофилизированной биомассы спирулины обогащенной селеном, при этом

2

лиофилизированная биомасса спирулины содержит: белки 59,16%, углеводы 18,58%, жиры 15,02% и селен 49,05 мг%, в пересчете на абсолютно сухую биомассу и получена при культивировании штамма спирулины на модифицированной питательной среде Заррука, с добавлением в среду, в первые 3 дня культивирования, селенита натрия.

П. формулы: 2

**Descriere:**

Invenția se referă la biotehnologie și la fiziologia animalelor, în special la un supliment alimentar cu conținut de seleniu și alte substanțe bioactive în calitate de regulator al nivelului hormonilor tiroidieni în hipotiroidie la șobolani.

Seleniul este un element important cu proprietăți antioxidante care protejează de bolile maligne, ajută la menținerea elasticității țesuturilor, la regenerarea mușchiului inimii, la reglarea ritmului cardiac, la menținerea funcției pancreasului și, în special, a glandei tiroide prin includerea lui în componența enzimelor responsabile de conversia tiroxinei în triiodotironină. Ca parte componentă a glutatation peroxidazei (GSH-Px) seleniul aparține primului și celui de-al doilea nivel de protecție antioxidantă a celulei. Seleniul este o componentă a enzimelor deiodinazice, care transformă T4 în T3. Tiroxina (T4) este principalul hormon secretat de glanda tiroidă ce deține un rol important în sistemul hipotalamo-hipofizar de reglare a tiroidei și are influență asupra metabolismului general. Concentrația serică de T3 (triiodotironina) reflectă mai mult starea funcțională a țesuturilor periferice, decât performanța secretorie a glandei tiroide.

Seleniul are acțiune dublă: compușii seleniului, printre care selenitul de sodiu, au acțiune pro-oxidantă directă, conducând la toxicitate acută, dar și acțiune antioxidantă, prin înglobarea în selenoproteine și participarea la reglarea diferitelor procese biologice din organism. Deoarece compușii anorganici cu conținut de seleniu manifestă acțiune toxică asupra organismelor vii, pentru lichidarea disfuncției tiroidei și tratarea bolilor legate de hipofuncția glandei tiroide, este necesară elaborarea unor noi produse ce conțin seleniu metabolizat în compuși organici. Cultivarea spirulinei pe un mediu nutritiv cu adaos de seleniu și alte elemente permite obținerea unui supliment alimentar ce va reprezenta un complex indispensabil în macro- și microelemente sub formă de compuși organici ușor asimilabili de către organism. O largă gamă de substanțe bioactive pe care le conține suplimentul obținut în baza biomasei de spirulină ar contribui la reglarea nivelului hormonilor tiroidieni, precum și a metabolismului glucidic, lipidic și la sporirea imunității.

Este cunoscut fitoextractul apos SNCM-4 cu acțiune de reglare a nivelului hormonilor T3 și T4 în hipotiroidie la șobolani [1].

Compoziția fitopreparatului, modul de obținere și administrare este descris în sursa de informație: Crivoi A., Chirița E., Bacalov I., Mărjinenu A., Bodrug T., Prodan M., Pozdneacova I. Studiul administrării extractului din plante medicinale autohtone asupra modificărilor indicilor hematologici în dereglările ioddeficitare. STUDIA UNIVERSITATIS MOLDAVIAE, Seria Științe reale și ale naturii, 2014, nr. 6(76) p. 3-9.

Dezavantajul acestui preparat constă în faptul că pentru atingerea efectului regulator asupra nivelului T3 și T4 este necesară administrarea lui la șobolani o perioadă îndelungată (40 zile).

Problema pe care o rezolvă prezenta invenție constă în elaborarea unui supliment alimentar care ar asigura o eficiență mai sporită în reglarea nivelului hormonilor T3 și T4 pe fondal de hipotiroidism la șobolani și obținerea unor efecte reglatoare similare într-o perioadă mai scurtă față de soluția cunoscută.

Problema este soluționată prin aceea că se propune un supliment alimentar, care conține o suspensie apoasă de 20 mg/ml de biomasă liofilizată de tulpină de spirulină îmbogățită cu seleniu.

Rezultatul tehnic al invenției constă în faptul că suplimentul alimentar propus are o acțiune evidentă asupra stării funcționale a tiroidei la șobolani, ce se exprimă printr-o tendință de normalizare a statutului hormonal tiroidian manifestată prin nivelul mai crescut al hormonului T4, și obținerea unui efect regulator într-o durată mai scurtă de timp 20 de zile față de 40 de zile.

Rezultatul tehnic se datorează prezenței în suplimentul alimentar a seleniului metabolizat în compuși organici bioactivi, care este parte componentă activă a enzimelor responsabile de conversia T4 în T3 și restabilirea nivelului hormonal normal.

Exemplu de realizare a invenției

Suplimentul alimentar a fost obținut la cultivarea tulpinii de cianobacterie *Spirulina platensis* CNM-CB-02 pe mediul nutritiv modificat Zarrouk cu următoarea compoziție, în g/L: NaNO<sub>3</sub> 2,5, NaHCO<sub>3</sub> 2,0, K<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 1,0, NaCl 1,0, MgSO<sub>4</sub> ·7H<sub>2</sub>O 0,2, Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> 0,2, CaCl<sub>2</sub> ·2H<sub>2</sub>O 0,04 și 1ml/L microelemente, ce conțin, în g/L: MnCl<sub>2</sub>·4H<sub>2</sub>O 1,81, CuSO<sub>4</sub>·5H<sub>2</sub>O 0,07, ZnSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O 0,22, MoO<sub>3</sub> 0,015, H<sub>3</sub>BO<sub>3</sub> 2,86. În mediul nutritiv se inoculează biomasa de spirulină în cantitate de 0,40 g/L, recalculată la biomasa absolut uscată (BAU), care se toarnă

# MD 4641 B1 2019.08.31

5 in retorte de 0,5 L in cantitate de 250 ml suspensie. In primele trei zile de cultivare se adaugă porționat câte 0,015 g/L de selenit de sodiu (în total 0,045 g/L) și cultivarea se efectuează în decurs de 10 zile la temperatura de 30±2°C, cu o iluminare de 3500 lux. In ziua a 10-a, biomasa îmbogățită cu seleniu se separă de lichidul cultural prin filtrare, se desalinizează, se resuspendează în apă distilată și se liofilizează. Din biomasa liofilizată se prepară suplimentul alimentar cu conținut de seleniu, constituit din suspensie de spirulină cu concentrația de 20 mg/mL.

Compoziția biochimică a biomasei de spirulină, recalculată la BAU, este prezentată în tabelul 1.

10 Aceasta include un conținut înalt de proteine (59,16%, inclusiv ficobiliproteine 19,93% ), un conținut echilibrat de glucide (18,58%) și lipide (15,02), precum și un conținut înalt de seleniu (49,05mg%).

Tabelul 1

| Proteine, % | Ficobiliproteine, % |      |       | Glucide, % | Lipide, % | Se, mg% |
|-------------|---------------------|------|-------|------------|-----------|---------|
|             | PC                  | APC  | Total |            |           |         |
| 59,16       | 12,77               | 7,16 | 19,93 | 18,58      | 15,02     | 49,05   |

p≤0,05

15

Evaluarea nivelului de hormoni T3 și T4 în sânge la șobolani după administrarea suplimentelor alimentare conform celei mai apropiate soluții și conform invenției.

20 Studiile experimentale au fost efectuate pe șobolani albi de laborator cu masa corporală 220...250 g divizați în 4 loturi: unul de control (martor) și trei experimentale. Administrarea preparatului cunoscut a fost efectuată timp de 40 zile, câte 50 ml de infuzie per șobolan în 24 ore. Inducerea hipotiroidismului a fost obținută prin administrarea suspensiei apoase de KSCN 20 mg/100 g masă corporală.

25 La finele acestei perioade a fost determinat nivelul de T3 și T4 în sânge la 4 loturi de șobolani: lotul 1– martor, lotul 2– cu suplimentarea cianurii, loturile 3 și 4 cu suplimentarea fitoextractului SNCM-4 cu și fără adaos de cianură.

30 Administrarea suplimentului alimentar, conform invenției, cu concentrația de 20 mg/L, în cantitate de 1ml de suspensie/șobolan în 24 ore, ca adaos la hrană, a fost efectuată timp de 20 zile. Studiile experimentale au fost efectuate pe șobolani albi de laborator cu masa corporală 220...250 g divizați în 4 loturi a câte 15 animale: lotul 1 – martor, lotul 2 – șobolani la care li s-a administrat suspensie apoasă de KSCN 20 mg/100 g masă corporală, lotul 3 – supliment alimentar cu Se și lotul 4 – animale hrănite cu KSCN și supliment alimentar cu Se.

În final a fost determinat nivelul de T3 și T4 în sânge la toate loturile de șobolani (tabelul 2)

Tabelul 2

Nivelul hormonilor T3 și T4 în rezultatul administrării suplimentelor alimentare

| Suplimentul alimentar utilizat   | Nivelul hormonului T3, nmol/g |                  |                  |                  | Nivelul hormonului T4, nmol/g |                  |                   |                  |
|--|-------------------------------|------------------|------------------|------------------|-------------------------------|------------------|-------------------|------------------|
|  | Lot 1                         | Lot 2            | Lot 3            | Lot 4            | Lot 1                         | Lot 2            | Lot 3             | Lot 4            |
| Conform celei mai apropiate soluții: fitoextractul apos SNCM-4 administrat 40 zile | 1,43<br>(100%)*               | 2,22<br>(155,2%) | 1,35<br>(94,4%)  | 2,04<br>(142,7%) | 15,07<br>(100%)               | 11,11<br>(73,7%) | 16,89<br>(112,1%) | 14,21<br>(94,3%) |
| Conform invenției: suplimentul alimentar cu Se, administrat 20 zile                | 1,50<br>(100%)                | 2,42<br>(160,9%) | 1,58<br>(109,7%) | 2,2<br>(152,2%)  | 15,57<br>(100%)               | 11,30<br>(79,6%) | 17,79<br>(114,7%) | 14,47<br>(92,7%) |

\*Nivelul hormonilor T3 și T4 a fost calculat și în %, considerând valoarea lotului martor - 100%

5 Din rezultatele obținute se observă că conform soluției propuse în invenție, suplimentul cu seleniu administrat la șobolani timp de 20 zile manifestă o acțiune evidentă asupra stării funcționale a tiroidei, ce se exprimă printr-o tendință de normalizare a statutului hormonal tiroidian. Astfel se observă o creștere a nivelului hormonului T4 (14,47 nmol/g) în lotul 4, la adăugarea în rație a suplimentului alimentar cu seleniu concomitent cu KSCN și care  
10 diminuează efectul rodanurii (KSCN), comparativ cu lotul 2 (11,30 nmol/g) la care s-a administrat doar KSCN. Este mai majorată și valoarea hormonului T4 în lotul 3 (17,79 nmol/g), unde a fost administrat doar suplimentul alimentar, față de lotul martor (15,57 nmol/g). Astfel administrarea suplimentului are ca urmare majorarea protecției țesutului tiroidian. Efecte similare se observă și în soluția cea mai apropiată la administrarea fitoextractului SNCM-4, doar că efectul dat a fost observat la administrarea fitoextractului într-o  
15 perioadă mai îndelungată (40 zile) față de invenția propusă (20 zile).

Concentrația serică de T3 reflectă mai mult starea funcțională a țesuturilor periferice, decât performanța secretorie a glandei tiroide. Prin aceasta se explică creșterea nivelului de T3 în cazul hipotiroidismului modelat (administrarea KSCN), însă această creștere este temporală și se produce până la epuizarea secretorie a T4. La administrarea concomitentă a suplimentului cu  
20 seleniu și KSCN (lotul 4) valorile cantitative ale hormonului T3 sunt mai diminuate cu 0,22 nmol/g față de lotul 2. Acest fapt confirmă acțiunea evidentă a suplimentului cu seleniu asupra stării funcționale a tiroidei, ce se exprimă prin tendința de normalizare a statutului hormonal tiroidian.

## (56) Referințe bibliografice citate în descriere:

1. Gherman I. Starea funcțională a glandei tiroide în dereglările ioddeficitare la administrarea extrasului din plante medicinale autohtone. Materialele Congresului VII al fiziologilor din Republica Moldova. Fiziologia și Sănătatea. 22-28 septembrie 2012, p. 243-247

## (57) Revendicări:

1. Supliment alimentar în hipotiroidie la șobolani care conține o suspensie apoasă de 20 mg/ml de biomasă liofilizată de spirulină îmbogățită cu seleniu, totodată biomasă liofilizată de spirulină conține: proteine 59,16%, glucide 18,58%, lipide 15,02% și seleniu 49,05 mg%, recalculate la biomasa absolut uscată.

2. Supliment, conform revendicării 1, în care se utilizează biomasă liofilizată de cianobacterie obținută la cultivarea tulpinii de cianobacterie *Spirulina platensis* CNMN-CB-02 pe un mediu nutritiv care conține, în g/L: NaNO<sub>3</sub> 2,5, NaHCO<sub>3</sub> 2,0, K<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 1,0, NaCl 1,0, MgSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O 0,2, Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> 0,2, CaCl<sub>2</sub>·2H<sub>2</sub>O 0,04 precum și 1 ml/L de soluție de microelemente care conține, în g/L: MnCl<sub>2</sub>·4H<sub>2</sub>O 1,81, CuSO<sub>4</sub>·5H<sub>2</sub>O 0,07, ZnSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O 0,22, MoO<sub>3</sub> 0,015, H<sub>3</sub>BO<sub>3</sub> 2,86, în decurs de 10 zile, la temperatura de 30±2°C și iluminarea de 3500 lux, cu adăugarea în mediu, în primele 3 zile de cultivare, a câte 0,015 g/L de selenit de sodiu, separarea biomasei prin filtrare, desalinizarea acesteia, resuspendarea în apă distilată și liofilizarea.