

ФЕДЕРАЛЬНАЯ СЛУЖБА  
ПО ИНТЕЛЛЕКТУАЛЬНОЙ СОБСТВЕННОСТИ

## (12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ПАТЕНТУ

(52) СПК  
G09B 23/28 (2020.05); A61K 38/14 (2020.05)

(21)(22) Заявка: 2020111940, 24.03.2020

(24) Дата начала отсчета срока действия патента:  
24.03.2020Дата регистрации:  
11.09.2020Приоритет(ы):  
(22) Дата подачи заявки: 24.03.2020

(45) Опубликовано: 11.09.2020 Бюл. № 26

Адрес для переписки:  
308015, Белгородская обл., г. Белгород, ул.  
Победы, 85, НИУ "БелГУ" ОИС Цуриковой  
Н.Д.(72) Автор(ы):  
Гуреев Владимир Владимирович (RU),  
Голубев Иван Владимирович (RU),  
Солдатов Владислав Олегович (RU),  
Покровский Михаил Владимирович (RU),  
Покровская Татьяна Григорьевна (RU),  
Пересыпкина Анна Александровна (RU),  
Корокин Михаил Викторович (RU),  
Гудырев Олег Сергеевич (RU),  
Затолюкина Мария Алексеевна (RU),  
Победа Анна Сергеевна (RU),  
Якушев Владимир Иванович (RU),  
Корокина Лилия Викторовна (RU),  
Лазарева Галина Анатольевна (RU),  
Гуреева Елена Геннадиевна (RU)(73) Патентообладатель(и):  
федеральное государственное автономное  
образовательное учреждение высшего  
образования "Белгородский государственный  
национальный исследовательский  
университет" (НИУ "БелГУ") (RU)(56) Список документов, цитированных в отчете  
о поиске: RU 2700563 C1, 17.09.2019. RU  
2707060 C1, 21.11.2019. Л. В. КОРОКИНА и  
др. ФАРМАКОЛОГИЧЕСКАЯ  
КОРРЕКЦИЯ L-NAME  
ИНДУЦИРОВАННОГО ДЕФИЦИТА  
ОКСИДА АЗОТА РЕКОМБИНАНТНЫМ  
ЭРИТРОПОЭТИНОМ / Кубанский научный  
медицинский вестник, 2009, N 9 (114), стр. 66-  
70. М. В. ПОКРОВСКИЙ и др.  
ИССЛЕДОВАНИЕ  
ЭНДОТЕЛИОПРОТЕКТИВНЫХ  
ЭФФЕКТОВ ЛЕКАРСТВЕННЫХ  
СРЕДСТВ РАЗЛИЧНЫХ (см. прод.)

(54) Способ коррекции эндотелиальной дисфункции пептидом, имитирующим альфа-спираль В эритропоэтина, при ADMA-подобной модели преэклампсии

(57) Реферат:  
Изобретение относится к медицине, в частности к экспериментальной фармакологии,

и может быть использовано для коррекции эндотелиальной дисфункции у беременных. Способ коррекции эндотелиальной дисфункции при ADMA-подобной модели преэклампсии включает воспроизведение модели преэклампсии у крыс линии Wistar ежедневным с 14 по 20 день беременности внутривбрюшным введением L-нитро-аргинин-метилового эфира в дозе 25 мг/кг,

коррекцию моделируемой патологии путем внутривбрюшного введения пептида, имитирующего  $\alpha$ -спираль В эритропоэтина (P- $\alpha$ B), в дозе 50 мкг/кг/сут с 10-х по 20-е сутки беременности. Способ приводит к выраженной коррекции эндотелиальной дисфункции при моделируемой патологии. 1 табл., 1 пр.

(56) (продолжение):

**ГРУПП НА МОДЕЛИ L-NAME-ИНДУЦИРОВАННОГО ДЕФИЦИТА ОКСИДА АЗОТА / Вестник ВолГМУ, 2010, N 3 (35), стр. 52-55.**

RU 2732107 C1

RU 2732107 C1



FEDERAL SERVICE  
FOR INTELLECTUAL PROPERTY

(51) Int. Cl.  
*G09B 23/28* (2006.01)  
*A61K 38/14* (2006.01)  
*A61P 15/00* (2006.01)

(12) **ABSTRACT OF INVENTION**

(52) CPC  
*G09B 23/28 (2020.05); A61K 38/14 (2020.05)*

(21)(22) Application: **2020111940, 24.03.2020**

(24) Effective date for property rights:  
**24.03.2020**

Registration date:  
**11.09.2020**

Priority:

(22) Date of filing: **24.03.2020**

(45) Date of publication: **11.09.2020 Bull. № 26**

Mail address:

**308015, Belgorodskaya obl., g. Belgorod, ul.  
Pobedy, 85, NIU "BelGU" OIS Tsurikovoj N.D.**

(72) Inventor(s):

**Gureev Vladimir Vladimirovich (RU),  
Golubev Ivan Vladimirovich (RU),  
Soldatov Vladislav Olegovich (RU),  
Pokrovskij Mikhail Vladimirovich (RU),  
Pokrovskaya Tatyana Grigorevna (RU),  
Peresypkina Anna Aleksandrovna (RU),  
Korokin Mikhail Viktorovich (RU),  
Gudyrev Oleg Sergeevich (RU),  
Zatolokina Mariya Alekseevna (RU),  
Pobeda Anna Sergeevna (RU),  
Yakushev Vladimir Ivanovich (RU),  
Korokina Liliya Viktorovna (RU),  
Lazareva Galina Anatolevna (RU),  
Gureeva Elena Gennadievna (RU)**

(73) Proprietor(s):

**federalnoe gosudarstvennoe avtonomnoe  
obrazovatelnoe uchrezhdenie vysshego  
obrazovaniya "Belgorodskij gosudarstvennyj  
natsionalnyj issledovatel'skij universitet" (NIU  
"BelGU") (RU)**

(54) **METHOD OF ENDOTHELIAL DYSFUNCTION CORRECTION BY A PEPTIDE IMITATING ALPHA-HELIX B ERYTHROPOIETIN, WITH AN ADMA-LIKE MODEL OF PREECLAMPSIA**

(57) Abstract:

FIELD: medicine.

SUBSTANCE: invention refers to medicine, particularly to experimental pharmacology, and can be used for correction of endothelial dysfunction in pregnant women. A method of correcting endothelial dysfunction in an ADMA-like pre-eclampsia model involves reproducing a pre-eclampsia model in Wistar rats daily from 14th to 20th day of pregnancy by

intraperitoneal administration of L-nitro-arginine-methyl ester 25 mg/kg, correction of simulated pathology by intraperitoneal introduction of a peptide imitating  $\alpha$ -helix B of erythropoietin (P- $\alpha$ B) in dose of 50 mcg/kg/day from 10th to 20th day of pregnancy.

EFFECT: method results in pronounced endothelial dysfunction correction in simulated pathology.

1 cl, 1 tbl, 1 ex

RU 2 732 107 C1

RU 2 732 107 C1

Изобретение относится к медицине, в частности к экспериментальной фармакологии и может быть использовано для коррекции эндотелиальной дисфункции при ADMA-подобной модели преэклампсии.

Наиболее близким к заявленному решению является способ коррекции эндотелиальной дисфункции у беременных животных с помощью асиалированного эритропоэтина (RU № 2707060, публ. 21.11.2019, Бюл. № 33), при котором осуществляют воспроизведение модели преэклампсии у крыс линии Wistar путём ежедневного с 14 по 20 день беременности внутривнутрибрюшинного введения L-нитро-аргинин-метилового эфира в дозе 25 мг/кг. Коррекцию моделируемой патологии проводят путём подкожного введения асиалированного эритропоэтина с 10 по 20 сутки беременности в дозе 2,4 мкг/кг 1 раз в день.

Недостатком указанного способа является то, что асиалированный эритропоэтин по сравнению с рекомбинантным эритропоэтином хоть и лишен остатков сиаловых кислот, но полипептидная цепь состоит так же из 165 аминокислоты. (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3790672/>)

Это оставляет его высокую стоимость и относительно большой размер молекулы, что затрудняет его проникновения в ткани.

Поэтому результаты коррекции эндотелиальной дисфункции при ADMA-подобной модели патологии у беременных животных с использованием асиалированного эритропоэтина неудовлетворительны.

Одним из направлений устранения этого недостатка, является создание производных состоящих из более короткой полипептидной цепи, но повторяющих его активный центр для связывания с рецептором. Таким решением является пептид, имитирующий  $\alpha$ -спираль В эритропоэтина со следующей аминокислотной последовательностью: Pyl-Glu-Gln-Leu-Glu-Arg-Ala-Leu-Asn-Ser-Ser.

Однако, не смотря на очевидные предпосылки, вопрос об эффективности исследуемого производного в связи с изменением его времени жизни остается неоднозначным. Это связано с тем, что в различных тканях и органах метаболические, регуляторные и другие процессы имеют свои не только временные, но и другие особенности. Плацента представляет собой динамично развивающийся орган со сложным сочетанием процессов органогенеза и апоптоза. Кроме этого изменение пространственной структуры, массы и заряда так же оставляют вопрос о проницаемости его через тканевые барьеры и в частности через фетоплацентарный открытым.

В связи с выше изложенным, задачей изобретения является создание способа коррекции эндотелиальной дисфункции при ADMA-подобной модели преэклампсии, включающего использование пептида, имитирующего  $\alpha$ -спираль В эритропоэтина (P- $\alpha$ B) имеющим следующую последовательность аминокислот - Pyl-Glu-Gln-Leu-Glu-Arg-Ala-Leu-Asn-Ser-Ser), обладающего меньшими размерами по сравнению с эритропоэтинами.

Задача достигается тем, что на фоне моделирования преэклампсии в эксперименте внутривнутрибрюшинным введением беременным самкам крыс линии Wistar в течение 7 суток ADMA-подобного блокатора эндотелиальной NO-синтазы - N-нитро-L-аргинин-метилового эфира (L-NAME) в дозе 25 мг/кг проводится коррекция эндотелиальной дисфункции пептидом, имитирующим  $\alpha$ -спираль В эритропоэтина (P- $\alpha$ B), внутривнутрибрюшинным введением в дозировке 50 мкг/кг/сут с 10 по 20 сутки беременности. Это приводит к выраженной коррекции эндотелиальной дисфункции при моделируемой патологии. Данный эффект связан с цитопротективным и антиоксидантным действием пептида, имитирующего  $\alpha$ -спираль В эритропоэтина (P- $\alpha$ B).

## СПОСОБ ОСУЩЕСТВЛЯЕТСЯ СЛЕДУЮЩИМ ОБРАЗОМ

Опыты проводят на белых беременных крысах самках линии Wistar массой 250-300 г. N-нитро-L-аргинин метиловый эфир (L-NAME) вводится внутривенно в дозе 25 мг/кг/сут в течение 7 дней (с 14 по 20 день беременности). Инновационный пептид, имитирующий альфа-спираль b-эритропоэтина (P- $\alpha$ V) вводится с 10 по 20 сутки беременности внутривенно в дозировке 50 мкг/кг/сут. На 21 день беременности под наркозом (хлоралгидрат 300 мг/кг) вводят катетер в правую сонную артерию для регистрации показателей артериального давления (АД), болюсное введение фармакологических агентов осуществляют в правую бедренную вену. Проводят сосудистые пробы на эндотелийзависимую вазодилатацию (ЭЗВ)- внутривенное введение ацетилхолина (АХ) в дозе 40 мкг/кг, и эндотелийнезависимую вазодилатацию (ЭНЗВ) – внутривенное введение нитропруссид натрия (НП) в дозе 30 мкг/кг с расчетом коэффициента эндотелиальной дисфункции (КЭД) – патент №2301015 от 20.06.2007 г. (Бюл. №17).

Для всех данных была применена описательная статистика: данные проверены на нормальность распределения. Тип распределения определялся критерием Шапиро-Уилка. В случае нормального распределения были подсчитаны среднее значение (M) и стандартная ошибка среднего (m). Для анализа межгрупповых различий использовали t-критерий Стьюдента.

## ПРИМЕР КОНКРЕТНОГО ВЫПОЛНЕНИЯ.

Блокада NO-синтазы, вызванная 7-дневным введением L-NAME беременным крысам, приводила к нарушению взаимоотношений вазодилатирующих и вазоконстрикторных механизмов регуляции сосудистого тонуса, о чем свидетельствуют результаты сосудистых проб на эндотелийзависимое расслабление (ацетилхолин) и эндотелийнезависимое (нитропруссид натрия) и увеличение КЭД с  $1,25 \pm 0,04$  у контрольной группы беременных животных до  $3,11 \pm 0,20$  ( $p < 0,05$ ). Кроме этого, наблюдался значительный подъем систолического и диастолического артериального давления с  $128,8 \pm 2,61$  мм рт.ст и  $80,8 \pm 2,10$  мм рт.ст. до  $202,8 \pm 6,28$  мм рт.ст. и  $138,40 \pm 2,95$  мм рт. ст. соответственно. Внутривенное введение пептида, имитирующего  $\alpha$ -спираль В эритропоэтина (P- $\alpha$ V) 1р/сутки (50 мкг/кг) с 10 по 20 сутки беременности приводило к достоверному снижению КЭД до  $2,0 \pm 0,06$ , что меньше, чем в группе животных с введением L-NAME ( $p < 0,05$ ), а так же к снижению систолического и диастолического артериального давления –  $142,80 \pm 1,98$  и  $90,40 \pm 5,21$  мм рт. ст. соответственно. Результаты приведены в таблице 1.

Таблица 1

Группа	САД, мм рт. ст.	ДАД, мм рт. ст.	КЭД, усл. ед.
Беременные (Интактные)	$128,8 \pm 2,61^y$	$80,8 \pm 2,10^y$	$1,25 \pm 0,04^y$
Беременные + L-NAME (25 мг/кг)	$202,8 \pm 6,28^*$	$138,40 \pm 2,95^*$	$3,11 \pm 0,20^*$
Беременные + L-NAME (25 мг/кг) + P- $\alpha$ V (50 мкг/кг)	$142,8 \pm 1,98^{*y}$	$90,4 \pm 5,21^{*y}$	$2,0 \pm 0,06^{*y}$

Примечания: САД, ДАД – систолическое и диастолическое артериальное давление (мм рт. ст.); КЭД – коэффициент эндотелиальной дисфункции; \* -  $p < 0,05$  в сравнении с группой интактных животных; <sup>y</sup> -  $p < 0,05$  в сравнении с группой L-NAME.

Таким образом, полученные результаты убедительно свидетельствуют о выраженной коррекции эндотелиальной дисфункции в условиях воспроизводимой нами ADMA подобной модели преэклампсии у беременных крыс пептидом, имитирующим  $\alpha$ -спираль В эритропоэтина (P- $\alpha$ V) при внутривенном введении с указанной выше дозировкой.

## (57) Формула изобретения

Способ коррекции эндотелиальной дисфункции при АДМА-подобной модели преэклампсии, включающий воспроизведение модели преэклампсии у крыс линии Wistar ежедневным с 14 по 20 день беременности внутрибрюшным введением L-нитро-аргинин-метилового эфира в дозе 25 мг/кг, отличающийся тем, что для коррекции моделируемой патологии внутрибрюшинно вводят пептид, имитирующий  $\alpha$ -спираль В эритропоэтина (P- $\alpha$ B), в дозе 50 мкг/кг/сут с 10-х по 20-е сутки беременности.

10

15

20

25

30

35

40

45