



(51) МПК
G09B 23/28 (2006.01)
A61K 31/195 (2006.01)
A61P 9/08 (2006.01)
A61P 15/06 (2006.01)

ФЕДЕРАЛЬНАЯ СЛУЖБА
 ПО ИНТЕЛЛЕКТУАЛЬНОЙ СОБСТВЕННОСТИ

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ПАТЕНТУ

(52) СПК
G09B 23/28 (2006.01); *A61K 31/195* (2006.01)

(21)(22) Заявка: 2016139284, 06.10.2016

(24) Дата начала отсчета срока действия патента:
 06.10.2016

Дата регистрации:
 21.12.2017

Приоритет(ы):
 (22) Дата подачи заявки: 06.10.2016

(45) Опубликовано: 21.12.2017 Бюл. № 36

Адрес для переписки:
 308015, Белгородская обл., г. Белгород, ул.
 Победы, 85, НИУ "БелГУ", ОИС, Цуриковой
 Н.Д.

(72) Автор(ы):
 Покровский Михаил Владимирович (RU),
 Кудрявцев Константин Викторович (RU),
 Покровская Татьяна Григорьевна (RU),
 Корокин Михаил Викторович (RU),
 Пересыпкина Анна Александровна (RU),
 Гуреев Владимир Владимирович (RU),
 Никитина Владислава Александровна (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 2449381 C1, 27.04.2012. RU
 2479872 C1, 20.04.2013. US 6359007 B1,
 19.03.2002. ЯКУШЕВ В.И. и др.
 Эндотелиопротективная и
 кардиопротективная активность
 селективного ингибитора аргиназы II в
 эксперименте. Кубанский научный
 медицинский вестник, 2015, N 3, с. 139-142.
 IYER R. K. et al. Mouse model for human
 arginase deficiency. Mol. Cell. Biol. (см.
 прод.)

(54) СПОСОБ ЭНДОТЕЛИОПРОТЕКЦИИ ПРИ АДМА-ПОДОБНОЙ МОДЕЛИ ГЕСТОЗА
 ИНГИБИТОРОМ АРГИНАЗЫ II

(57) Реферат:

Изобретение относится к медицине, в частности к экспериментальной фармакологии, и может быть использовано для коррекции эндотелиальной дисфункции при АДМА-подобной модели гестоза. Способ включает воспроизведение гестоза у лабораторных беременных крыс линии Wistar ежедневным внутрибрюшинным введением с 14 по 20 день беременности ингибитора NO-синтазы L-NAME в дозе 25 мг/кг/сутки. При этом коррекцию

эндотелиальной дисфункции проводят ежедневным внутрижелудочным введением селективного ингибитора аргиназы II -KUD975. Введение ингибитора осуществляют за 30 минут до введения L-NAME в дозе 1 мг/кг массы тела животного. Способ приводит к выраженной коррекции дисфункции в условиях специфических механизмов протекания патологического процесса у беременных при исключении побочных эффектов, характерных для мало- и

неселективных ингибиторов аргиназ.1 пр.

(56) (продолжение):

2002, Vol. 22, N 13, P. 4491-4498. TOPAL G et al. Mitochondrial arginase II modulates nitric-oxide synthesis through nonfreely exchangeable L-arginine pools in human endothelial cells. J Pharmacol Exp Ther. 2006 Sep; 318(3):1368-74.

R U 2 6 3 9 4 1 5 C 1

R U 2 6 3 9 4 1 5 C 1



FEDERAL SERVICE
FOR INTELLECTUAL PROPERTY

(51) Int. Cl.
G09B 23/28 (2006.01)
A61K 31/195 (2006.01)
A61P 9/08 (2006.01)
A61P 15/06 (2006.01)

(12) **ABSTRACT OF INVENTION**

(52) CPC
G09B 23/28 (2006.01); *A61K 31/195* (2006.01)

(21)(22) Application: **2016139284, 06.10.2016**

(24) Effective date for property rights:
06.10.2016

Registration date:
21.12.2017

Priority:

(22) Date of filing: **06.10.2016**

(45) Date of publication: **21.12.2017** Bull. № 36

Mail address:
**308015, Belgorodskaya obl., g. Belgorod, ul. Pobedy,
85, NIU "BelGU", OIS, Tsurikovej N.D.**

(72) Inventor(s):

**Nikitina Vladislava Aleksandrovna (RU),
Pokrovskij Mikhail Vladimirovich (RU),
Kudryavtsev Konstantin Viktorovich (RU),
Pokrovskaya Tatyana Grigorevna (RU),
Korokin Mikhail Viktorovich (RU),
Peresykina Anna Aleksandrovna (RU),
Gureev Vladimir Vladimirovich (RU)**

(73) Proprietor(s):

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

(54) **METHOD FOR ENDOTHELIOPROTECTION IN ADMA-SIMILAR GESTOSIS MODEL BY ARGINASE II INHIBITOR**

(57) Abstract:

FIELD: pharmacology.

SUBSTANCE: method involves reproduction of gestosis in laboratory pregnant Wistar rats by daily intraperitoneal administration of the NO-synthase inhibitor L-NAME from day 14 to day 20 of pregnancy at a dose of 25 mg/kg/day. At that, correction of endothelial dysfunction is performed daily by intragastric administration of a selective inhibitor of arginase II-KUD975. Inhibitor administration is

performed 30 minutes prior to the administration of L-NAME at a dose of 1 mg/kg of animal body weight.

EFFECT: pronounced correction of dysfunction under the conditions of specific mechanisms of the pathological process in pregnant women, with elimination of side effects typical for low- and nonselective arginase inhibitors.

1 ex

Изобретение относится к медицине, в частности к экспериментальной фармакологии.

По известным литературным источникам описанные на сегодняшний день ингибиторы аргиназы являются малоселективными либо неселективными и подавляют активность как аргиназы II, так и аргиназы I. Снижение активности аргиназы I сопряжено с рядом нежелательных эффектов. В экспериментах с нокаутом гена аргиназы I у мышей наблюдались тяжелые симптомы гипераммониемии. Все животные погибали в срок от 10 до 14 дней постнатального развития (Mouse model for human arginase deficiency [Text] / R. K. Iyer, P. K. Yoo, R. M. Kern [et al.] // Mol. Cell. Biol. – 2002. – Vol. 22, № 13. – P. 4491-4498). Актуальным на сегодняшний день является поиск селективных ингибиторов аргиназы II и изучение их протективных свойств.

Известен способ коррекции эндотелиальной дисфункции L-норвалином при ADMA-подобной модели гестоза (RU 2449381 C1, опубл. 27.04.2012), который характеризуется тем, что моделируют ADMA-подобный гестоз у лабораторных беременных крыс линии Wistar ежедневным внутрибрюшинным введением с 14 по 20 день беременности ингибитора NO-синтазы L-нитро-аргинин-метилового эфира (L-NAME) в дозе 25 мг/кг массы тела животного. Коррекцию эндотелиальной дисфункции обеспечивают L-норвалином, который на фоне моделирования вводят внутривентрикулярно ежедневно в течение 7 суток в дозе 10 мг/кг однократно в сутки. Способ приводит к выраженной коррекции дисфункции в условиях специфических механизмов протекания патологического процесса у беременных.

Степень развития эндотелиальной дисфункции и активизацию ее коррекции с помощью указанного средства оценивают по соотношению эндотелийнезависимой (ЭНЗВ) и эндотелийзависимой вазодилатации (ЭЗВ).

Основным недостатком способа является то, что в эксперименте для коррекции эндотелиальной дисфункции при ADMA-подобной модели гестоза применяют L-норвалин - неселективный ингибитор аргиназы, который снижает активность как аргиназы II, так и аргиназы I. Вследствие подавления активности аргиназы I у животных могут наблюдаться такие побочные эффекты, как гипераммониемия, проявляющаяся в недостаточности цикла ферментов мочевины и приводящая к отравлению организма аммиаком.

Наиболее близким к заявленному решению является способ коррекции эндотелиальной дисфункции селективным ингибитором фермента аргиназы II, веществом под шифром ZB49-0010C, на модели L-NAME-индуцированного дефицита оксида азота в эксперименте (Эндотелиопротективная и кардиопротективная активность селективного ингибитора аргиназы II в эксперименте [Текст] / В.И. Якушев, В.В. Гуреев, М.В. Покровский [и др.] // Кубанский научный медицинский вестник. – 2015. – № 3. – С. 139-142), который характеризуется тем, что моделируют дисфункцию эндотелия ежедневным в течение 7 суток внутрибрюшинным введением крысам L-аргинин-метилового эфира в дозе 25 мг/кг. В эксперименте были использованы следующие группы животных: 1) интактные (n=10); 2) контрольные – с L-NAME (n=10); 3) селективный ингибитор фермента аргиназы II, вещество ZB49-0010C, - внутривентрикулярно в дозе 1 мг/кг 1 раз в сутки в течение 7 дней подряд; 4) вещество ZB49-0010C - внутривентрикулярно в дозе 5 мг/кг 1 раз в сутки в течение 7 дней подряд; 5) вещество ZB49-0010C - внутривентрикулярно в дозе 10 мг/кг 1 раз в сутки в течение 7 дней подряд. ZB49-0010C вводилось за 30 минут до введения L-NAME.

Способ обеспечивает эффективную коррекцию эндотелиальной дисфункции в специфических условиях эксперимента. ZB49-0010C обладает выраженной дозозависимой эндотелиопротективной активностью, которая проявляется в предотвращении

нарушений взаимоотношения эндотелиозависимой и эндотелионезависимой вазодилатации и улучшения NO-синтезирующей функции эндотелия на ADMA-подобной модели патологии. При этом данные эффекты наиболее выражены в дозе 10 мг/кг.

Основным недостатком способа является то, что в данном эксперименте не были дополнительно изучены эндотелиопротективные свойства при ADMA-подобной модели гестоза в условиях специфических механизмов протекания патологического процесса у беременных.

Изучаемое вещество ZB49-0010C (2-{1-[3-(3-хлороизоксазол-5-ил)пропил]пиперидин-4-ил}-6-(дигидроксиборил) норлейцин дигидрохлорид) (Якушев, В. И. КАРДИОВАСКУЛЯРНАЯ АКТИВНОСТЬ СЕЛЕКТИВНОГО ИНГИБИТОРА АРГИНАЗЫ II [Текст] : дис. ... к-та мед. наук : 14.03.06 / В. И. Якушев. – Белгород, 2016. – С.55) представляет собой производное норлейцинамида. Исследуемое нами вещество KUD975 представляет собой синтезированное соединение фенольной природы - метиловый эфир (2-((1-гидроксинафталин-2-ил)тио)ацетил)-D-пролина.

Задачей предлагаемого изобретения является способ эндотелиопротекции при ADMA-подобной модели гестоза ингибитором аргиназы II KUD975, представляющего собой соединение фенольной природы.

Задача достигается тем, что на фоне моделирования ADMA-подобного гестоза в эксперименте у лабораторных беременных крыс линии Wistar ежедневным внутрибрюшинным введением с 14 по 20 день беременности ингибитора NO-синтазы L-NAME в дозе 25 мг/кг массы тела животного проводится коррекция эндотелиальной дисфункции селективным ингибитором аргиназы II KUD975, который на фоне моделирования вводят внутривенно, через зонд, ежедневно, за 30 мин до введения L-NAME, в дозе 1 мг/кг массы тела животного один раз в день в течение 7 сут.

Основным преимуществом предлагаемого способа является то, что в данном эксперименте впервые были изучены эндотелиопротективные свойства при ADMA-подобной модели гестоза селективного ингибитора аргиназы II KUD975 в условиях специфических механизмов протекания патологического процесса у беременных.

Способ осуществляется следующим образом. Эксперимент выполнен на беременных белых крысах-самках линии Wistar массой 250–300 г. ADMA-подобный агент - неселективный блокатор NO-синтазы L-NAME вводили внутрибрюшинно в дозе 25 мг/кг/сут в течение 7 дней (14-20 сутки беременности). На 21-е сутки беременности под наркозом (хлоралгидрат 300 мг/кг) вводили катетер в левую сонную артерию для регистрации показателей гемодинамики, болюсное введение фармакологических агентов осуществляли в правую бедренную вену. Показатели гемодинамики: систолическое артериальное давление (САД), диастолическое артериальное давление (ДАД) и частоту сердечных сокращений (ЧСС) измеряли непрерывно посредством датчика и аппаратного комплекса для инвазивного измерения показателей гемодинамики Biopac (USA) и компьютерной программы AsqKnowledge 3.8.1.

Проводили 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)

$$КЭД = S_{АД\ НП} / S_{АД\ АХ},$$

где КЭД - коэффициент эндотелиальной дисфункции; $S_{АД\ НП}$ - площадь треугольника над кривой восстановления АД при проведении функциональной пробы с введением нитропруссид натрия; $S_{АД\ АХ}$ - площадь треугольника над кривой восстановления

АД при проведении функциональной пробы с введением ацетилхолина в дозе 40 мкг/кг (патент №2301015 от 20.06.2007 г. Бюл. №17).

При статистической обработке данных рассчитывается среднее значение, величину стандартного отклонения. Различия считаются достоверными при $p < 0,05$.

5 Пример конкретного выполнения

Блокада NO-синтазы, вызванная 7-дневным введением L-NAME лабораторным беременным крысам-самкам (14-20 сутки беременности), приводила к нарушению взаимоотношений вазодилатирующих и вазоконстрикторных механизмов регуляции сосудистого тонуса, о чем свидетельствуют результаты сосудистых проб на эндотелийзависимое (ацетилхолин) и эндотелийнезависимое (нитропруссид натрия) расслабление сосудов и увеличение КЭД с $1,04 \pm 0,11$ у интактных животных до $3,32 \pm 0,21$ ($p < 0,05$).

Ежедневное, в течение 7 суток (14-20 сутки беременности), внутрижелудочное, через зонд, введение KUD975 за 30 мин до L-NAME однократно в сутки на фоне ADMA-подобного гестоза приводило к достоверному снижению КЭД до $1,46 \pm 0,15$, что достоверно меньше, чем в группе животных с введением L-NAME ($p < 0,05$).

Артериальное давление у интактных животных составляло: систолическое (САД) – 131 ± 2 мм рт. ст., диастолическое (ДАД) – 92 ± 2 мм рт. ст. При введении L-NAME происходило увеличение артериального давления до 178 ± 5 мм рт. ст. и 143 ± 4 мм рт. ст. соответственно. Введение исследуемого вещества KUD975 на фоне L-NAME снижало артериальное давление до 157 ± 4 мм рт. ст. и 113 ± 5 мм рт.ст. соответственно ($p < 0,05$).

Таким образом, полученные результаты свидетельствуют о выраженной коррекции эндотелиальной дисфункции в условиях ADMA-подобной модели гестоза у беременных крыс селективным ингибитором аргиназы II KUD975.

25

(57) Формула изобретения

Способ эндотелиопротекции при ADMA-подобной модели гестоза ингибитором аргиназы II, включающий воспроизведение ADMA-подобного гестоза в эксперименте у лабораторных беременных крыс линии Wistar ежедневным внутрибрюшинным введением с 14 по 20 день беременности ингибитора NO-синтазы L-NAME в дозе 25 мг/кг массы тела животного и проведение его коррекции, отличающийся тем, что коррекцию гестоза проводят ежедневным внутрижелудочным введением, через зонд, за 30 мин до введения L-NAME, селективного ингибитора аргиназы II KUD975 в дозе 1 мг/кг массы тела животного.

35

40

45