



(51) МПК
A61K 38/08 (2006.01)
A61K 38/14 (2006.01)
G09B 23/28 (2006.01)
A61P 9/14 (2006.01)
A61P 15/00 (2006.01)

ФЕДЕРАЛЬНАЯ СЛУЖБА
 ПО ИНТЕЛЛЕКТУАЛЬНОЙ СОБСТВЕННОСТИ

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ПАТЕНТУ

(52) СПК

A61K 38/08 (2020.05); *A61K 38/14* (2020.05); *G09B 23/28* (2020.05); *A61P 9/14* (2020.05); *A61P 15/00* (2020.05)

(21)(22) Заявка: 2020112120, 25.03.2020

(24) Дата начала отсчета срока действия патента:
25.03.2020

Дата регистрации:
09.09.2020

Приоритет(ы):

(22) Дата подачи заявки: 25.03.2020

(45) Опубликовано: 09.09.2020 Бюл. № 25

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),
 Гдырев Олег Сергеевич (RU),
 Затолокина 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 2466462 C1, 10.11.2012. RU
 2462766 C1, 27.09.2012. RU 2409873 C1,
 20.01.2011. ГУРЕЕВ В.В. и др. Коррекция
 ADMA-подобного гестоза в эксперименте.
 Курский научно-практический вестник
 "Человек и его здоровье", 2012, N1, с.14-19.
 MICHAEL BRINES et al. Nonerythropoietic,
 tissue-protective peptides derived from the tertiary
 structure of (см. прод.)

(54) Способ коррекции микроциркуляции в плаценте пептидом, имитирующим альфа-спираль В эритропозтина, при ADMA-подобной модели преэклампсии

(57) Реферат:

Изобретение относится к медицине, в частности к экспериментальной фармакологии, и может быть использовано для коррекции нарушений микроциркуляции в плаценте. Для

этого осуществляют 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. Коррекцию моделируемой патологии проводят путем внутривентриального введения пептида, имитирующего α -спираль В эритропоэтина (P- α B), в дозе 50 мкг/кг/сут с 10-х по 20-е сутки беременности. Способ приводит к

выраженной коррекции эндотелиальной дисфункции в условиях воспроизводимой ADMA-подобной модели преэклампсии у беременных крыс. 1 табл., 1 пр.

(56) (продолжение):

erythropoietin. PNAS, August 5, 2008, vol.105, No 31, pp.10925-10930.

R U 2 7 3 1 9 1 9 C 1

R U 2 7 3 1 9 1 9 C 1



FEDERAL SERVICE
FOR INTELLECTUAL PROPERTY

(51) Int. Cl.
A61K 38/08 (2006.01)
A61K 38/14 (2006.01)
G09B 23/28 (2006.01)
A61P 9/14 (2006.01)
A61P 15/00 (2006.01)

(12) **ABSTRACT OF INVENTION**

(52) CPC

A61K 38/08 (2020.05); *A61K 38/14* (2020.05); *G09B 23/28* (2020.05); *A61P 9/14* (2020.05); *A61P 15/00* (2020.05)

(21)(22) Application: **2020112120, 25.03.2020**(24) Effective date for property rights:
25.03.2020Registration date:
09.09.2020

Priority:

(22) Date of filing: **25.03.2020**(45) Date of publication: **09.09.2020** Bull. № 25

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),
Gdyrev 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 PLACENTAL MICROCIRCULATION CORRECTION BY PEPTIDE IMITATING B ERYTHROPOIETIN ALPHA-SPIRAL WITH ADMA-LIKE PRE-ECLAMPSIA MODEL**

(57) Abstract:

FIELD: medicine.

SUBSTANCE: invention refers to medicine, particularly to experimental pharmacology, and can be used for correction of placental microcirculation disorders. That is ensured by reproducing the pre-eclampsia model in the Wistar rats by intraperitoneal introduction of L-nitro-arginine-methyl ester 25 mg/kg daily from 14th to 20th day of pregnancy. Correction of simulated pathology is performed by intraperitoneal

introduction of peptide imitating α -helix of B erythropoietin (P- α B) in dose 50 mcg/kg/day from 10th to 20th day of pregnancy.

EFFECT: method results in pronounced correction of endothelial dysfunction under conditions of reproduced ADMA-like model of preeclampsia in pregnant rats.

1 cl, 1 tbl, 1 ex

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 микроциркуляции в плаценте асиалированным эритропоэтином при ADMA-подобной модели преэклампсии (RU № 2709833, опубл. 23.12.2019, Бюл. № 36.), в котором воспроизводят модель преэклампсии у крыс линии Wistar путём ежедневного с 14 по 20 сутки беременности внутривбрюшинного введения L-нитро-аргинин-метилового эфира в дозе 25 мг/кг. При этом для коррекции моделируемой патологии вводят асиалированный эритропоэтин подкожно в дозировке 2,4 мкг/кг 1 раз в сутки с 10 по 20 сутки беременности.

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 микроциркуляции 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 пептидом имитирующим α -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 фетоплацентарный открытым.

В связи с выше изложенным, задачей изобретения является создание способа коррекции нарушений микроциркуляции при ADMA-подобной модели преэклампсии, включающего использование пептида, имитирующего α -спираль В эритропоэтина (P- α B), имеющий следующую последовательность аминокислот - Pyl-Glu-Gln-Leu-Glu-Arg-Ala-Leu-Asn-Ser-Ser).

Задача достигается тем, что на фоне моделирования преэклампсии в эксперименте внутривбрюшинным 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 микроциркуляции в плаценте пептидом, имитирующим α -спираль В эритропоэтина (P- α B), внутривбрюшинным введением в дозировке 50 мкг/кг/сут с 10 по 20 сутки беременности. Это приводит к выраженной коррекции микроциркуляции в плаценте при моделируемой патологии. Данный эффект связан с явным цитопротективным и антиоксидантным действием пептида, имитирующего α -спираль В эритропоэтина (P- α 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 в брюшную полость в дозе 25 мг/кг/сут в течение 7 дней (с 14 по 20 день беременности). Пептид, имитирующий α -спираль В эритропоэтина (P- α B) вводится внутривнутрибрюшинно в дозе 50 мкг/кг/сут с 10 по 20 день беременности.

На 21 день беременности под наркозом измеряли микроциркуляцию в плаценте. Исследование микроциркуляции в плаценте проводили с помощью оборудования компании Biopac systems: полиграф MP150 с модулем лазерной доплеровской флоуметрии (ЛДФ) LDF100C и датчиком TSD144. Регистрация результатов ЛДФ производилась программой Acqknowledge версии 3.8.1, значения микроциркуляции выражались в перфузионных единицах (ПЕд).

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 микроциркуляции в плаценте, о чем свидетельствует снижение ее величины с $465,9 \pm 28,79$ ПЕд у интактных беременных животных до $211,8 \pm 6,03$ ПЕд ($p < 0,05$) в группе контроля.

Введение пептида, имитирующего α -спираль В эритропоэтина (P- α B) внутривнутрибрюшинно в дозировке 50 мкг/кг/сут с 10 по 20 сутки беременности на фоне ADMA-подобной модели преэклампсии у беременных крыс приводило к достоверному повышению уровня микроциркуляции в плаценте до $343,2 \pm 5,98$ ПЕд, что выше, чем у животных в группе с введением L-NAME ($p < 0,05$), однако ниже чем у животных в интактной группе. Результаты исследований приведены в таблице 1.

Таблица 1

Группа	Микроциркуляция, ПЕд.
Беременные (интактные)	$465,9 \pm 28,79^y$
Беременные + L-NAME (25 мг/кг)	$211,8 \pm 6,03^*$
Беременные + L-NAME (25 мг/кг) + P- α B (50 мкг/кг/сут)	$343,2 \pm 5,98^{*y}$

Примечания: * - $p < 0,05$ в сравнении с группой интактных животных; ^y - $p < 0,05$ в сравнении с группой L-NAME.

Таким образом, полученные результаты убедительно свидетельствуют о выраженной коррекции нарушения микроциркуляции в плаценте в условиях воспроизводимой нами ADMA подобной модели преэклампсии у беременных крыс пептидом, имитирующим α -спираль В эритропоэтина (P- α B) при внутривнутрибрюшинном введении в дозировке 50 мкг/кг/сут с 10 по 20 сутки беременности.

(57) Формула изобретения

Способ коррекции нарушения микроциркуляции в плаценте при ADMA-подобной модели преэклампсии, включающий воспроизведение модели преэклампсии у крыс линии Wistar ежедневным с 14 по 20 сутки беременности внутривнутрибрюшинным введением L-нитро-аргинин-метилового эфира в дозе 25 мг/кг, отличающийся тем, что для коррекции нарушений микроциркуляции в плаценте вводят пептид, имитирующий α -

спираль В эритропоэтина Р-αВ, внутривенно в дозировке 50 мкг/кг/сут с 10 по 20
сутки беременности.

5

10

15

20

25

30

35

40

45