



ФЕДЕРАЛЬНАЯ СЛУЖБА
ПО ИНТЕЛЛЕКТУАЛЬНОЙ СОБСТВЕННОСТИ

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ПАТЕНТУ

(52) СПК

A61K 31/4425 (2022.02); A61P 19/10 (2022.02); G09B 23/28 (2022.02)

(21)(22) Заявка: 2021137147, 15.12.2021

(24) Дата начала отсчета срока действия патента:
15.12.2021Дата регистрации:
30.06.2022

Приоритет(ы):

(22) Дата подачи заявки: 15.12.2021

(45) Опубликовано: 30.06.2022 Бюл. № 19

Адрес для переписки:

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

(72) Автор(ы):

Трунов Константин Сергеевич (RU),
Скачилова София Яковлевна (RU),
Гудырев Олег Сергеевич (RU),
Даниленко Людмила Михайловна (RU),
Покровский Михаил Владимирович (RU),
Симакина Екатерина Александровна (RU),
Даниленко Антон Павлович (RU),
Шилова Елена Владимировна (RU),
Стефанова Марина Сергеевна (RU),
Якушев Владимир Иванович (RU),
Гуреев Владимир Владимирович (RU),
Мартынова Ольга Викторовна (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 2377237 C1, 27.12.2009. RU
2668966 C1, 05.10.2018. RU 2541184 C1,
10.02.2015. ВОРОТНИКОВА С.Ю. и др.
ЗОЛЕДРОНОВАЯ КИСЛОТА В ЛЕЧЕНИИ
ОСТЕОПОРОЗА И ДРУГИХ
ЗАБОЛЕВАНИЙ СКЕЛЕТА / Остеопороз и
остеопатии, 2016, N 3, стр. 23-27.
SKACHILOVA S.Y. et al. TEST SYSTEM FOR
EVALUATION OF THE INFLUENCE OF THE
BIOLOGICAL ACTIVITY OF SUBSTANCES
ON THE SIGNAL (см. прод.)

(54) Способ коррекции остеопороза и остеопоротических переломов 2-этил-6-метил-3-гидроксипиридинийгидроксидибутиандиоатом в эксперименте

(57) Реферат:

Изобретение относится к медицине, области экспериментальной фармакологии. Способ коррекции остеопороза и остеопоротических переломов в эксперименте включает моделирование остеопороза с помощью

билатеральной овариэктомии и остеопоротических переломов бедренной кости у самок крыс линии Wistar. В качестве средства коррекции используют соединение 2-этил-6-метил-3-гидроксипиридинийгидроксидибутиандиоат в дозе

2 мг/кг, которое вводят ежедневно внутривенно лабораторному животному однократно в сутки, на фоне моделирования остеопороза в течение восьми недель, а при переломах - на фоне моделирования остеопороза в течение двенадцати недель. Изобретение

обеспечивает эффективное предотвращение падения уровня микроциркуляции в проксимальном метафизе бедра, замедление развития остеопороза при гипоэстрогенном состоянии, создание благоприятных условий для успешной консолидации переломов. 1 пр., 2 табл.

(56) (продолжение):

SYSTEM OF NF- κ B: FOCUS ON THE DERIVATIVES OF 3-HYDROXYPYRIDINE / Research result: pharmacology and clinical pharmacology, 2017, vol. 3, N 2, pages 50-56.

RU 2775439 C1

RU 2775439 C1



FEDERAL SERVICE
FOR INTELLECTUAL PROPERTY

(51) Int. Cl.
A61K 31/4425 (2006.01)
A61P 19/10 (2006.01)
G09B 23/28 (2006.01)

(12) **ABSTRACT OF INVENTION**

(52) CPC

A61K 31/4425 (2022.02); A61P 19/10 (2022.02); G09B 23/28 (2022.02)(21)(22) Application: **2021137147, 15.12.2021**(24) Effective date for property rights:
15.12.2021Registration date:
30.06.2022

Priority:

(22) Date of filing: **15.12.2021**(45) Date of publication: **30.06.2022** Bull. № 19

Mail address:

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

(72) Inventor(s):

**Trunov Konstantin Sergeevich (RU),
Skachilova Sofiya Yakovlevna (RU),
Gudyrev Oleg Sergeevich (RU),
Danilenko Lyudmila Mikhajlovna (RU),
Pokrovskij Mikhail Vladimirovich (RU),
Simakina Ekaterina Aleksandrovna (RU),
Danilenko Anton Pavlovich (RU),
Shilova Elena Vladimirovna (RU),
Stefanova Marina Sergeevna (RU),
Yakushev Vladimir Ivanovich (RU),
Gureev Vladimir Vladimirovich (RU),
Martynova Olga Viktorovna (RU)**

(73) Proprietor(s):

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

(54) **METHOD FOR CORRECTING OSTEOPOROSIS AND OSTEOPOROTIC FRACTURES WITH 2-ETHYL-6-METHYL-3-HYDROXYPYRIDINIUM HYDROXYBUTANEDIOATE IN EXPERIMENT**

(57) Abstract:

FIELD: medicine.

SUBSTANCE: invention relates to medicine, the field of experimental pharmacology. A method for correcting osteoporosis and osteoporotic fractures in the experiment includes modeling osteoporosis using bilateral oophorectomy and osteoporotic fractures of the femur in female Wistar rats. As a means of correction, the compound 2-ethyl-6-methyl-3-hydroxypyridinium hydroxybutanedioate is used at a dose of 2 mg/kg, which is administered daily intragastrically to a laboratory animal once a day,

against the background of modeling osteoporosis for eight weeks, and for fractures - against the background of modeling osteoporosis for twelve weeks.

EFFECT: invention provides effective prevention of a drop in the level of microcirculation in the proximal femoral metaphysis, slowing down the development of osteoporosis in a hypostrogenic state, creating favorable conditions for successful consolidation of fractures.

1 cl, 1 ex, 2 tbl

Изобретение относится к медицине, области экспериментальной фармакологии, а именно к новым биологически активным соединениям, конкретно 2-этил-6-метил-3-гидроксипиридинийгидроксипутирилат, обеспечивающий коррекцию остеопороза и остеопоротических переломов.

5 Многие заболевания связаны с окислительным стрессом, включая заболевания костей, среди которых одним из наиболее важных является остеопороз. Изменения окислительно-восстановительного состояния также связаны с процессом ремоделирования кости, который обеспечивает непрерывную регенерацию кости за счет скоординированного действия костных клеток: остеокластов, остеобластов и
10 остецитов [Heshmat R, Tabatabaei-Malazy O, Abbaszadeh-Ahramjani S, Shahbazi S, Khooshehchin G, Bandarian F, et al. Effect of vitamin D on insulin resistance and anthropometric parameters in Type 2 diabetes; a randomized double-blind clinical trial. *Daru*. 2012; 10-20]. Кроме того, образование активных форм кислорода (АФК), вовлечены и в патогенез потери костной массы. АФК вызывают апоптоз остеобластов и остецитов, что
15 способствует остеокластогенезу и подавляет минерализацию и остеогенез. Антиоксиданты либо напрямую, либо противодействуя действию оксидантов, способствуют активации дифференцировки остеобластов, процессу минерализации и снижению активности остеокластов [DePaula FJA, Rosen CJ. Obesity, diabetes mellitus and last but not least, osteoporosis. *Arq Bras Endocrinol Metab*. 2010; 54:150–157]. Применение
20 антиоксидантов у животных или отдельных групп пациентов с остеопорозом или воспалительными заболеваниями обеспечивают антирезорбтивную терапию для лечения и предотвращения потери костной массы [Yousefzadeh G, Larijani B, Mohammadirad A, Heshmat R, Dehghan G, Rahimi R, et al. Determination of oxidative stress status and concentration of TGF- β 1 in the blood and saliva of osteoporotic subjects. *Ann N Y Acad Sci*. 2006; 1091:
25 142–150].

Известно, что антиоксидантный механизм играет основную роль в профилактике и лечении остеопороза. Следовательно, повышение активности антиоксидантных ферментов супероксидазыдисмутазы (SOD) и глутатионпероксидазы (GSH-PX) с
30 помощью препаратов с антиоксидантной активностью объясняет механизм защиты при остеопорозах и переломах костей [Abdollahi M, Larijani B, Rahimi R, Salari P. Role of oxidative stress in osteoporosis. *Therapy*. 2005; 2:787–796].

Кроме того, окислительный стресс является мощным стимулятором повышенной экспрессии провоспалительных цитокинов. Цитокины являются важными регуляторами активности костных клеток. Например, интерлейкин IL-1 в высоких концентрациях
35 является одним из наиболее мощных стимуляторов резорбции костей за счет увеличения количества остеокластов за счет слияния предшественников и ингибирования синтеза коллагена. Интерлейкин IL-6 является мощным остеотропным фактором, который может играть важную роль в возникновении остеопороза, характеризующемся повышенной резорбцией кости и стимулированием слияния остеокластов [Zheng SX,
40 Vrindts Y, Lopez M et al. Increase in cytokine production (IL-1 β , IL-6, TNF- α but not IFN- γ , GM-CSF or LIF) by stimulated whole blood cells in postmenopausal osteoporosis. *Maturitas* 1997; 26, 63–71].

Наиболее близкими к заявленному решению являются: способ коррекции остеопороза и профилактики возникновения остеопоротических переломов комбинацией
45 резвератрола с эналаприлом (RU №2437160, опубл. 20.12.2011), в котором на фоне моделирования остеопороза в эксперименте с помощью билатеральной овариэктомии самкам крыс линии Wistar в течение восьми недель после овариэктомии вводят ежедневно однократно в сутки внутрибрюшинно резвератрол в дозе 2 мг/кг и внутривенно

эналаприл в дозе 0,5 мг/кг, оценивая остеопротективное действие резвератрола в комбинации с эналаприлом по уровню микроциркуляции в костной ткани и ширине костных трабекул и комбинацией L-аргинина и лозартана (RU №2542425, опубл. 20.02.2015), в котором используют комбинацию L-аргинина в дозе 200 мг/кг и лозартана в дозе 6 мг/кг, которую ежедневно внутривентриально вводят лабораторному животному однократно в сутки, на фоне моделирования остеопороза в течение восьми недель, а при переломах - на фоне моделирования остеопороза в течение двенадцати недель.

Основными недостатками является то, что препараты, проявляя антиоксидантную, эндотелиопротекторную активность не влияют на снижение экспрессии цитокинов, количество которых значительно повышается при окислительном стрессе и способствует развитию остеопороза.

Задачей изобретения является разработка способа коррекции остеопороза и остеопоротических переломов, включающего использование соединения 2-этил-6-метил-3-гидроксипиридинийгидроксибутандиоатом, обладающего антиоксидантной, эндотелиопротекторной, церебропротекторной и противовоспалительной активностью.

Поставленная задача достигается тем, что на фоне моделирования остеопороза в эксперименте с помощью билатеральной овариэктомии и остеопоротических переломов бедренной кости у самок крыс линии Wistar проводится его коррекция, на фоне моделирования остеопороза в течение восьми недель, а при переломах - на фоне моделирования остеопороза в течение двенадцати недель, ежедневным, однократно в сутки, внутривентриальным введением соединения 2-этил-6-метил-3-гидроксипиридинийгидроксибутандиоатом в дозе 2 мг/кг, который, обладая антиоксидантной, противовоспалительной, эндотелиотропной активностью, вызывает повышение кровоснабжения костной ткани и увеличивается регенерация костной ткани.

Технический результат способа заключается в выраженной остеопротекторной активности соединения 2-этил-6-метил-3-гидроксипиридинийгидроксибутандиоатом.

Соединение 2-этил-6-метил-3-гидроксипиридинийгидроксибутандиоат получают по способу, описанному в патенте на изобретение RU №2377237, опубл. 27.12.2009.

СПОСОБ ОСУЩЕСТВЛЯЕТСЯ СЛЕДУЮЩИМ ОБРАЗОМ

Опыты проводят на крысах самках линии Wistar массой 200-250 г. Овариэктомия проводится под наркозом (водный раствор хлоралгидрата внутривентриально в дозе 300 мг/кг). 2-этил-6-метил-3-гидроксипиридинийгидроксибутандиоатом в дозе 2 мг/кг, вводили на следующий день после операции, один раз в сутки в течение восьми недель (56 дней). На 57 день крысы разделялись на две равные по количеству группы. В первой группе после наркотизации моделируется закрытый перелом проксимального метафиза бедренной кости с фиксацией спицей Киршнера и продолжается терапия 2-этил-6-метил-3-гидроксипиридинийгидроксибутандиоатом в дозе 2 мг/кг, в течение 12 недель после начала эксперимента. Во второй группе под тем же наркозом проводится хирургический доступ к проксимальному метафизу бедра и измерение микроциркуляции. Уровень микроциркуляции измеряется при помощи оборудования компании Biopac Systems, Inc. полиграфа MP150 с модулем лазерной доплеровской флоуметрии LDF100C и инвазивным датчиком TSD144, и программы AcqKnowledge версии 3.9. Через 12 недель после начала эксперимента у крыс, которым был моделирован перелом бедра, проводилась оценка уровня микроциркуляции по описанной методике. За 12 недель эксперимента формировался костный мозоль. Полученные значения сравнивали с интактными животными (ложная операция овариэктомии), а также контрольными животными, у которых посредством проведения билатеральной овариэктомии моделировали генерализованный остеопороз и переломы бедренной кости на его фоне.

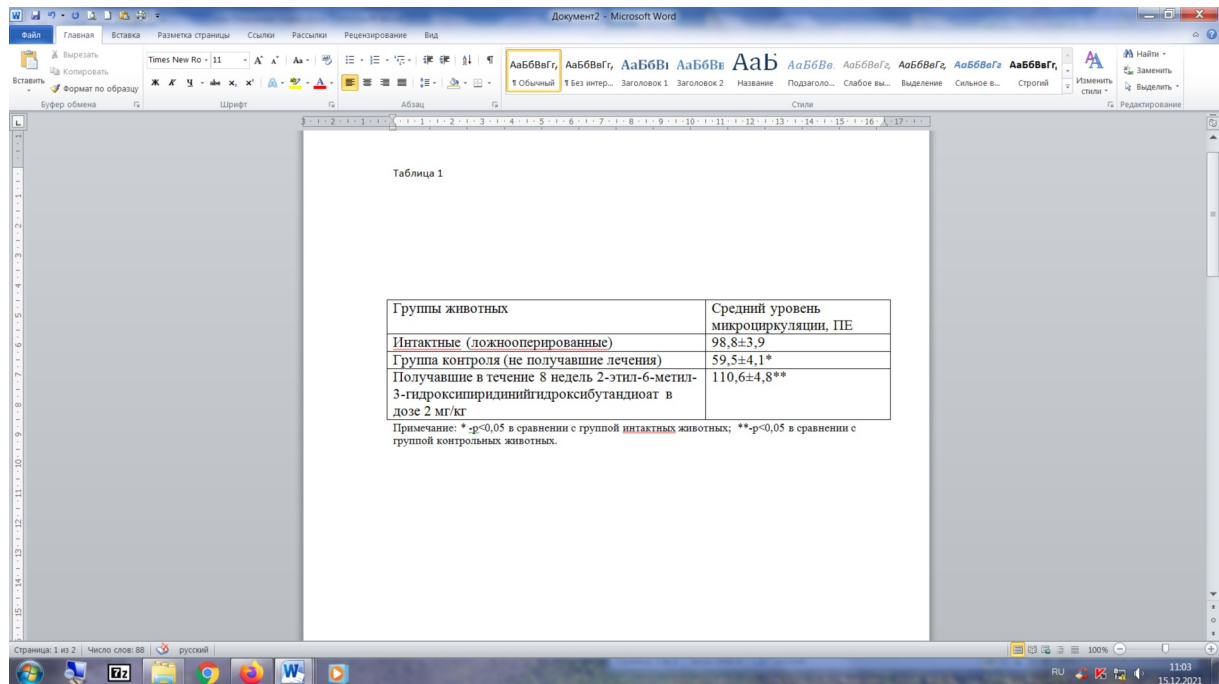
ПРИМЕР КОНКРЕТНОГО ВЫПОЛНЕНИЯ

Средний уровень микроциркуляции в проксимальном метафизе бедра у интактных (ложно-оперированных) животных составлял $98,8 \pm 3,9$ перфузионных единиц (ПЕ).

Билатеральная овариэктомия через восемь недель после начала эксперимента приводила

у контрольных животных к достоверному снижению среднего уровня микроциркуляции по сравнению с интактными крысами до значения $59,5 \pm 4,1$ ПЕ. Обнаруженный факт уменьшения кровоснабжения в костной ткани является дополнительным фактором развития остеопороза при гипоэстрогенном состоянии, приводящего в последствии к возникновению остеопоротических переломов. В группе животных, получавших в течение восьми недель после овариэктомии один раз в сутки внутривенно 2-этил-6-метил-3-гидроксипиридинийгидроксипутиандиоатом в дозе 2 мг/кг, наблюдалось достоверное повышение среднего уровня микроциркуляции в проксимальном метафизе бедра по сравнению с контрольной группой до $110,6 \pm 4,8$ ПЕ. Динамика показателей среднего уровня микроциркуляции в проксимальном метафизе бедра при моделировании остеопороза и его коррекции 2-этил-6-метил-3-гидроксипиридинийгидроксипутиандиоатом в дозе 2 мг/кг в течение 8 недель 1 раз в сутки ($M \pm m$) представлена в таблице 1.

Таблица 1



Группы животных	Средний уровень микроциркуляции, ПЕ
Интактные (ложнооперированные)	98,8±3,9
Группа контроля (не получавшие лечения)	59,5±4,1*
Получавшие в течение 8 недель 2-этил-6-метил-3-гидроксипиридинийгидроксипутиандиоат в дозе 2 мг/кг	110,6±4,8**

Примечание: *-p<0,05 в сравнении с группой интактных животных; **-p<0,05 в сравнении с группой контрольных животных.

У интактных крыс с переломами бедра средний уровень микроциркуляции в ткани костной мозоли через 12 недель после начала эксперимента был равен $81,3 \pm 5,2$ ПЕ. У животных с переломами и проксимального метафиза бедренной кости на фоне экспериментального остеопороза средний уровень микроциркуляции был статистически

значимо ниже и равнялся $63,1 \pm 5,5$ ПЕ. В группе животных, у которых был моделирован перелом бедра на фоне остеопороза и получавших в течение двенадцати недель после овариэктомии один раз в сутки внутривенно 2-этил-6-метил-3-

гидроксипиридинийгидроксипутиандиоатом в дозе 2,0 мг/кг, наблюдалось достоверное превышение среднего уровня микроциркуляции в костной мозоли над показателями контрольной группы - $115,4 \pm 4,3$ ПЕ. Динамика показателей среднего уровня

микроциркуляции в проксимальном метафизе бедра при моделировании остеопороза и переломов проксимального метафиза бедренной кости и его коррекции 2-этил-6-метил-3-гидроксипиридинийгидроксипутиандиоатом в дозе 2 мг/кг в течение 12 недель

1 раз в сутки ($M \pm m$) представлена в таблице 2.

Таблица 2

Группы животных	Средний уровень микроциркуляции, ПЕ
Интактные (ложнооперированные)	81,3±5,2
Группа контроля (не получавшие лечения)	63,1±5,5*
Получавшие в течение 8 недель 2-этил-6-метил-3-гидроксипиридинийгидроксибутандиоат в дозе 2 мг/кг	115,4±4,3**

Примечание: * $p < 0,05$ в сравнении с группой интактных животных; ** $p < 0,05$ в сравнении с группой контрольных животных.

Таким образом, использование 2-этил-6-метил-3-гидроксипиридинийгидроксибутандиоатом в дозе 2 мг/кг, на фоне остеопороза, вызванного билатеральной овариэктомией, и остеопоротических переломов эффективно предотвращает падение уровня микроциркуляции в проксимальном метафизе бедра: как непосредственно кости, так и костной мозоли. Благодаря усилению кровоснабжения костной ткани, за счет наличия в молекуле 2-этил-6-метил-3-гидроксипиридинийгидроксибутандиоатом, обеспечивающего повышение противовоспалительной активности соединения, замедляется развитие остеопороза при гипоэстрогенном состоянии, создаются благоприятные условия для успешной консолидации переломов.

(57) Формула изобретения

Способ коррекции остеопороза и остеопоротических переломов в эксперименте, включающий моделирование остеопороза с помощью билатеральной овариэктомии и остеопоротических переломов бедренной кости у самок крыс линии Wistar, отличающийся тем, что в качестве средства коррекции используют соединение 2-этил-6-метил-3-гидроксипиридинийгидроксибутандиоат в дозе 2 мг/кг, которое вводят ежедневно внутрижелудочно лабораторному животному однократно в сутки, на фоне моделирования остеопороза в течение восьми недель, а при переломах - на фоне моделирования остеопороза в течение двенадцати недель.