



(51) МПК
A61M 5/32 (2006.01)
A61K 38/14 (2006.01)
A61P 15/00 (2006.01)
G09B 23/28 (2006.01)

ФЕДЕРАЛЬНАЯ СЛУЖБА
 ПО ИНТЕЛЛЕКТУАЛЬНОЙ СОБСТВЕННОСТИ

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ПАТЕНТУ

(52) СПК
A61M 5/32 (2020.01); A61K 38/14 (2020.01); G09B 23/28 (2020.01)

(21)(22) Заявка: 2019132872, 16.10.2019

(24) Дата начала отсчета срока действия патента:
 16.10.2019

Дата регистрации:
 24.04.2020

Приоритет(ы):
 (22) Дата подачи заявки: 16.10.2019

(45) Опубликовано: 24.04.2020 Бюл. № 12

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

(72) Автор(ы):

Гуреев Владимир Владимирович (RU),
 Покровский Михаил Владимирович (RU),
 Юракова Алеся Викторовна (RU),
 Анциферова Оксана Евгеньевна (RU),
 Локтева Татьяна Ивановна (RU),
 Покровская Татьяна Григорьевна (RU),
 Пересыпкина Анна Александровна (RU),
 Корокин Михаил Викторович (RU),
 Гудырев Олег Сергеевич (RU),
 Победа Анна Сергеевна (RU),
 Якушев Владимир Иванович (RU),
 Корокина Лилия Викторовна (RU),
 Лазарева Галина Анатольевна (RU),
 Гуреева Елена Геннадиевна (RU),
 Жилинкова Людмила Анатольевна (RU),
 Затолокина Мария Алексеевна (RU),
 Щуровская Кристина Владимировна (RU),
 Колесниченко Павел Дмитриевич (RU),
 Пахомов Сергей Петрович (RU),
 Северинова Ольга Владимировна (RU),
 Голубев Иван Владимирович (RU),
 Ивахно Елена Николаевна (RU),
 Поветка Елена Евгеньевна (RU),
 Гуреева Анастасия Владимировна (RU),
 Вайн Дарья Сергеевна (RU),
 Жученко Максим Андреевич (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
 2643579 C1, 02.02.2018. RU 2575773 C2,
 20.02.2016. EA 200700255 A1, 29.06.2007. EA
 15350 B1, 30.06.2011. ЛЮБИМОВ И.И. и др.
 "Сравнительная оценка эффективности
 производного DMAE 7-16,

RU 2720103 C1

RU 2720103 C1

(54) Способ коррекции нарушений микроциркуляции в плаценте карбамилированным дарбэпоэтином при ADMA-подобной модели преэклампсии

(57) Реферат:

Изобретение относится к медицине, а именно к экспериментальной фармакологии, и может быть использовано для коррекции нарушений микроциркуляции в плаценте карбамилированным дарбэпоэтином при ADMA-подобной модели преэклампсии. Для этого воспроизводят модель преэклампсии у крыс линии Wistar путём ежедневного с 14 по 20 сутки беременности внутрибрюшинного введения L-нитро-аргинин-метилового эфира в дозе 25 мг/кг. Для коррекции

моделируемой патологии вводят подкожно карбамилированный дарбэпоэтин в дозировке 300 мкг/кг 1 раз в день на 7, 10, 13, 16, 19 сутки беременности. Способ обеспечивает выраженную коррекцию микроциркуляции в плаценте за счёт снижения оксидативного стресса, стабилизации гемодинамики, обусловленных антиоксидантным и противоишемическим эффектами вводимого препарата. 1 табл., 1 пр.

(56) (продолжение):

биомедицинских исследований", т.5, N1, 2019, стр.52-62. ПУЧЕНКОВА О.А. и др. "Антигипоксическое действие карбамилированного дарбэпоэтина на модели нитритной гипоксии" // "Научный альманах", N4-3(42), 2018, стр.118-121. ЕЛАГИН В.В. и др. "Исследование ренопротективных свойств производных эритропоэтина на модели ишемии-реперфузии почек" // "Кубанский научный медицинский вестник", N25(6), 2018, стр.73-77. DIAO M et al. "Effect of carbamylated erythropoietin on neuronal apoptosis in fetal rats during intrauterine hypoxic-ischemic encephalopathy". Biol Res. 2019 May 13;52(1):28, реферат, найдено 05.02.2020 из PubMed PMID: 31084604. IMAMURA R et al. "Carbamylated erythropoietin protects the kidneys from ischemia-reperfusion injury without stimulating erythropoiesis". Biochem Biophys Res Commun. 2007 Feb 16;353(3):786-92. Epub 2006 Dec 22, реферат, найдено 05.02.2020 из PubMed PMID: 17196938.



FEDERAL SERVICE
FOR INTELLECTUAL PROPERTY

(51) Int. Cl.
A61M 5/32 (2006.01)
A61K 38/14 (2006.01)
A61P 15/00 (2006.01)
G09B 23/28 (2006.01)

(12) ABSTRACT OF INVENTION

(52) CPC

A61M 5/32 (2020.01); A61K 38/14 (2020.01); G09B 23/28 (2020.01)(21)(22) Application: **2019132872, 16.10.2019**(24) Effective date for property rights:
16.10.2019Registration date:
24.04.2020

Priority:

(22) Date of filing: **16.10.2019**(45) Date of publication: **24.04.2020** Bull. № 12

Mail address:

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

(72) Inventor(s):

**Gureev Vladimir Vladimirovich (RU),
Pokrovskij Mikhail Vladimirovich (RU),
Yurakova Alesya Viktorovna (RU),
Antsiferova Oksana Evgenevna (RU),
Lokteva Tatyana Ivanovna (RU),
Pokrovskaya Tatyana Grigorevna (RU),
PeresyPKina Anna Aleksandrovna (RU),
Korokin Mikhail Viktorovich (RU),
Gudyrev Oleg Sergeevich (RU),
Pobeda Anna Sergeevna (RU),
Yakushev Vladimir Ivanovich (RU),
Korokina Liliya Viktorovna (RU),
Lazareva Galina Anatolevna (RU),
Gureeva Elena Gennadievna (RU),
Zhilinkova Lyudmila Anatolevna (RU),
Zatolokina Mariya Alekseevna (RU),
Shchurovskaya Kristina Vladimirovna (RU),
Kolesnichenko Pavel Dmitrievich (RU),
Pakhomov Sergej Petrovich (RU),
Severinova Olga Vladimirovna (RU),
Golubev Ivan Vladimirovich (RU),
Ivakhno Elena Nikolaevna (RU),
Povetka Elena Evgenevna (RU),
Gureeva Anastasiya Vladimirovna (RU),
Vajn Darya Sergeevna (RU),
Zhuchenko Maksim Andreevich (RU)**

(73) Proprietor(s):

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

**(54) METHOD OF CORRECTION OF MICROCIRCULATION DISORDERS IN PLACENTA WITH
CARBAMYLATED DARBEPOETIN IN ADMA-LIKE MODEL OF PREECLAMPSIA**

(57) Abstract:

FIELD: medicine.

SUBSTANCE: invention refers to medicine, namely
to experimental pharmacology, and can be used forcorrection of microcirculation disorders in placenta with
carbamylylated darbepoetin in ADMA-like model of
preeclampsia. That is ensured by reproducing a model

of preeclampsia in Wistar rats by daily intraperitoneal introduction of L-nitro-arginine-methyl ester 25 mg/kg from 14th to 20th day of pregnancy. To correct the simulated pathology, carbamylated darbepoetin is administered subcutaneously in dose of 300 mcg/kg once day on 7th, 10th, 13th, 16th and 19th day of pregnancy.

EFFECT: method provides pronounced correction of microcirculation in placenta due to reduction of oxidative stress, stabilization of hemodynamics caused by antioxidant and antiischemic effects of administered preparation.

1 cl, 1 tbl, 1 ex

R U 2 7 2 0 1 0 3 C 1

R U 2 7 2 0 1 0 3 C 1

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

Наиболее близким к заявленному решению является способ коррекции нарушения микроциркуляции в плаценте рекомбинантным эритропоэтином при ADMA-подобной модели гестоза (RU № 2466462, публ. 10.11.2012), включающий воспроизведение модели преэклампсии у крыс линии Wistar ежедневным с 14 по 20 сутки беременности внутрибрюшинным введением L-нитро-аргинин-метилового эфира в дозе 25 мг/кг, а для коррекции моделируемой патологии вводят подкожно рекомбинантный эритропоэтин в дозе 50 МЕ/кг на 7, 10, 13, 16, 19 сутки беременности.

Недостатком указанного способа является то, что связываясь с гомодимерным рецептором, эритропоэтин может активировать эритропоэз, что приводит к нарушению реологических свойств крови и является нежелательным явлением при ишемии (Enhancement of ventricular-subventricular zone-derived neurogenesis and oligodendrogenesis by erythropoietin and its derivatives / N. Kaneko, E. Kako, K. Sawamoto; Erythropoietin: recent developments in the treatment of spinal cord injury / S. Carelli, G. Marfia, A. Maria Di Giulio).

Данный факт обуславливает невозможность повышение дозы эритропоэтина при его низкой эффективности. Поэтому результаты коррекции микроциркуляции в плаценте при ADMA-подобной модели патологии у беременных животных с использованием рекомбинантного эритропоэтина неудовлетворительны.

Одним из направлений устранения этого недостатка, является создание производных эритропоэтина, способных связаться с гетеродимерным рецептором (проявляя цитопротекторный эффект) и не связывающихся с гомодимерным. Одним из таких аналогов рекомбинантного эритропоэтина человека является его гипергликозилированный вариант - карбамилированный дарбэпоэтин (Messe, S.R., et al. (2013) A pilot study of darbepoetin alfa for prophylactic neuroprotection in aortic surgery, Neurocrit Care, 18; Yilmaz, E.R., et al. (2012) Effects of darbepoetin-alpha in spinal cord ischemia-reperfusion injury in the rabbit, Acta Neurochir (Wien), 154, 1037-1043; Карбамилированный дарбэпоэтин альфа: структура и свойства // М.А. Жученко, М.В. Серебрякова, Ю.А. Серегин и др. // Биотехнология. – 2017).

Из литературы известна его способность предохранять от апоптоза предшественники эндотелиальных клеток, не стимулируя их пролиферацию (Карбамилированный дарбэпоэтин альфа: структура и свойства // М.А. Жученко, М.В. Серебрякова, Ю.А. Серегин и др. // Биотехнология. – 2017).

Однако, не смотря на очевидные предпосылки, вопрос об эффективности исследуемого производного в связи с изменением его массы и других физико-химических свойств влияющих на прохождение через биологические барьеры и в том числе и через фетоплацентарный, остается неоднозначным.

Задачей изобретения является создание способа коррекции нарушений микроциркуляции при ADMA-подобной модели преэклампсии, включающего использование карбамилированного дарбэпоэтина, обладающего селективной тропностью к гетеродимерному рецептору эритропоэтина.

Задача решается с помощью предлагаемого способа коррекции нарушений микроциркуляции в плаценте карбамилированным дарбэпоэтином при ADMA-подобной модели преэклампсии, в котором на фоне моделирования преэклампсии в эксперименте внутрибрюшинным 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 нарушение микроциркуляции в плаценте подкожным введением карбамилированного дарбэпоэтина в дозировке

300мкг/кг 1 раз в день на 7, 10, 13, 16, 19 сутки беременности.

Техническим результатом является более выраженная коррекция микроциркуляции при моделируемой патологии. Данный эффект связан с выраженным противоишемическим и антиоксидантным действием карбамилированного эритропозтина - препятствуя повреждающему действию свободных радикалов и гуморальных факторов, способствует снижению оксидативного стресса, улучшению микроциркуляции в плаценте, стабилизации гемодинамики.

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 внутривентриально в дозе 25 мг/кг/сут в течение 7 дней (с 14 по 20 сутки беременности). Карбамилированный дарбэпозтин вводится подкожно в дозировке 300мкг/кг 1р/день на 7, 10, 13, 16, 19 сутки беременности.

На 21 день беременности под наркозом измеряли микроциркуляцию в плаценте. Исследование микроциркуляции в плаценте проводили с помощью оборудования компании Viopac systems: полиграф MP100 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).

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

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 $219,8 \pm 7,79$ ПЕд ($p < 0,05$) в группе контроля. Подкожное введение карбамилированного дарбэпозтина в дозе 300мкг/кг на 7, 10, 13, 16, 19 сутки беременности на фоне ADMA-подобной модели преэклампсии у беременных крыс приводило к достоверному повышению уровня микроциркуляции в плаценте до $415,9 \pm 20,59$ ПЕд, что выше, чем у животных в группе с введением L-NAME ($p < 0,05$), и несущественно ниже чем у животных в интактной группе. Результаты исследований приведены в таблице 1.

Таблица 1

Группа	Беременные <u>интактные</u>	Беременные + L-NAME	Беременные +L-NAME + <u>карбамилированный дарбэпозтин (300 мкг/кг)</u>
Показатель			
Микроциркуляция, пер. ед.	$465,9 \pm 28,79$	$219,8 \pm 7,79$	$415,9 \pm 20,59$

Таким образом, полученные результаты убедительно свидетельствуют о выраженной коррекции нарушения микроциркуляции в плаценте в условиях воспроизводимой нами ADMA подобной модели преэклампсии у беременных крыс карбамилированным дарбэпозтином.

(57) Формула изобретения

Способ коррекции нарушений микроциркуляции в плаценте карбамилированным

дарбэпоэтином при АДМА-подобной модели преэклампсии, включающий воспроизведение модели преэклампсии у крыс линии Wistar ежедневным с 14 по 20 сутки беременности внутрибрюшинным введением L-нитро-аргинин-метилового эфира в дозе 25 мг/кг, отличающийся тем, что для коррекции моделируемой патологии вводят подкожно карбамилированный дарбэпоэтин в дозировке 300 мкг/кг 1 раз в день на 7, 10, 13, 16, 19 сутки беременности.

10

15

20

25

30

35

40

45