



(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* (2019.05); *A61K 38/14* (2019.05); *G09B 23/28* (2019.05)

(21)(22) Заявка: 2019118601, 14.06.2019

(24) Дата начала отсчета срока действия патента:  
 14.06.2019

Дата регистрации:  
 21.11.2019

Приоритет(ы):  
 (22) Дата подачи заявки: 14.06.2019

(45) Опубликовано: 21.11.2019 Бюл. № 33

Адрес для переписки:  
 308015, Белгородская обл., г. Белгород, ул.  
 Победы, 85, стр. 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 2462766 C1, 27.09.2012. RU  
 2643579 C1, 02.02.2018. US 2017368142 A1,  
 28.12.2017. ЕЛАГИН В.В. и др. "Исследование  
 ренопротективных свойств производных  
 эритропозтина на модели ишемии-перфузии  
 почек" // "Кубанский научный медицинский

RU 2 707 057 C 1

RU 2 707 057 C 1

(54) Способ коррекции эндотелиальной дисфункции карбамилированным дарбэпоэтином при ADMA-подобной модели преэклампсии

(57) Реферат:

Изобретение относится к области медицины, а именно к экспериментальной фармакологии. Воспроизводят модель преэклампсии у крыс линии Wistar ежедневным с 14 по 20 день беременности внутривентральным введением L-нитро-аргинин-метилового эфира в дозе 25 мг/кг. Для коррекции моделируемой эндотелиальной дисфункции вводят подкожно

карбамилированный дарбэпоэтин в дозе 300мкг/кг 1 раз в день на 7, 10, 13, 16, 19 сутки беременности. Способ позволяет корректировать эндотелиальную дисфункцию при моделируемой патологии у беременных крыс за счет выраженных противоишемического и антиоксидантного действий карбамилированного дарбэпоэтина. 1 табл., 1 пр.

(56) (продолжение):

endothelial progenitor cell damage with no effect on angiogenesis". J Mol Cell Cardiol. 2009 Dec;47(6):781-8, реферат, найдено 09.08.2019 из PubMed PMID: 19782086. VILLA P. et al. "Reduced functional deficit, neuroinflammation, and secondary tissue damage after treatment of stroke by nonerythropoietic erythropoietin derivatives". J Cerebr Blood Flow Metab. 2007 Mar;27(3):552-63, реферат, найдено 09.08.2019 из PubMed PMID: 16835629.

RU 2707057 C1

RU 2707057 C1



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* (2019.05); *A61K 38/14* (2019.05); *G09B 23/28* (2019.05)

(21)(22) Application: 2019118601, 14.06.2019

(24) Effective date for property rights:  
14.06.2019Registration date:  
21.11.2019

Priority:

(22) Date of filing: 14.06.2019

(45) Date of publication: 21.11.2019 Bull. № 33

Mail address:

308015, Belgorodskaya obl., g. Belgorod, ul.  
Pobedy, 85, str. 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),  
Gureev 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 ENDOTHELIAL DYSFUNCTION CORRECTION WITH CARBAMYLATED DARBEPOETIN IN ADMA-LIKE MODEL OF PREECLAMPSIA**

(57) Abstract:

FIELD: medicine.

SUBSTANCE: invention refers to medicine, namely to experimental pharmacology. Pre-eclampsia model

is reproduced in Wistar rats daily from 14 to 20 of pregnancy by intraperitoneal introduction of L-nitro-arginine-methyl ester 25 mg/kg. To correct simulated

endothelial dysfunction, carbamylated darbepoetin 300 mcg/kg is injected subcutaneously once day on 7th, 10th, 13th, 16th and 19th day of pregnancy.

EFFECT: method enables correcting endothelial

dysfunction in a simulated pathology in pregnant rats by pronounced antiischemic and antioxidant actions of carbamylated darbepoetin.

1 cl, 1 tbl, 1 ex

R U 2 7 0 7 0 5 7 C 1

R U 2 7 0 7 0 5 7 C 1

Изобретение относится к медицине, в частности к экспериментальной фармакологии и может быть использовано для коррекции эндотелиальной дисфункции у беременных.

Наиболее близким к заявленному решению является способ коррекции эндотелиальной дисфункции рекомбинантным эритропоэтином при ADMA-подобной модели гестоза (RU № 2462766, публ. 27.09.2012), включающий воспроизведение модели гестоза у крыс линии Wistar ежедневным с 14 по 20 день беременности внутрибрюшинным введением L-нитро-аргинин-метилового эфира в дозе 25 мг/кг. 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 эндотелиальной дисфункции 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).

В литературе описана 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 более эффективного способа коррекции эндотелиальной дисфункции при ADMA-подобной модели преэклампсии, включающего использование карбамилированного дарбэпоэтина, обладающего селективной тропностью к гетеродимерному рецептору эритропоэтина.

Задача решается с помощью предлагаемого способа коррекции эндотелиальной дисфункции 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 коррекция эндотелиальной

дисфункции подкожным введением карбамилированного дарбэпоэтина в дозировке 300 мкг/кг 1 в раз день на 7, 10, 13, 16, 19 сутки беременности.

Техническим результатом является более выраженная коррекция эндотелиальной дисфункции при моделируемой патологии. Данный эффект связан с выраженным  
5 противоишемическим и антиоксидантным действием карбамилированного эритропоэтина.

#### 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  
10 мг/кг/сут. в течение 7 дней (с 14 по 20 день беременности). Карбамилированный дарбэпоэтин вводится подкожно на 7, 10, 13, 16, 19 сутки беременности в дозировке 300 мкг/кг.

На 21 день беременности под наркозом (хлоралгидрат 300 мг/кг) вводят катетер в правую сонную артерию для регистрации показателей артериального давления (АД),  
15 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  
20 от 20.06.2007 г. (Бюл. №17)].

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,  
25 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  $1,20 \pm 0,07$  у интактных беременных животных до  $2,93 \pm 0,25$  ( $p < 0,05$ ). Кроме этого, наблюдался значительный  
30 подъем систолического и диастолического артериального давления с  $132,3 \pm 3,46$  и  $92,4 \pm 3,87$  до  $194,9 \pm 8,26$  и  $141,1 \pm 3,5$  мм рт. ст. соответственно. Подкожное введение карбамилированного дарбэпоэтина (300 мкг/кг) на 7, 10, 13, 16, 19 сутки беременности приводило к достоверному снижению КЭД до  $1,44 \pm 0,18$ , что более чем в два раза  
35 меньше, по сравнению с группой животных с введением L-NAME ( $p < 0,05$ ), а так же к коррекции систолического и диастолического артериального давления -  $168,2 \pm 6,56$  и  $125,8 \pm 3,5$  мм рт. ст. соответственно. Результаты исследований приведены в таблице 1.

Таблица 1

40

45

Показатель	Группа	Беременные	Беременные +
	<u>Интактные</u> животные	+ L-NAME	L-NAME +карб <u>дарбэпоэтин</u> 300мкг/кг
САД, мм рт. ст.	132,3 ± 3,46	194,9 ± 8.26	168,2 ± 6,56
ДАД, мм рт. ст.	92,4 ± 3,87	141,1 ± 3,5	125,8 ± 3,5
КЭД, усл. ед.	1,20 ± 0,07	2,93 ± 0,25	1,44 ± 0,18

Таким образом, полученные результаты убедительно свидетельствуют о выраженной коррекции эндотелиальной дисфункции в условиях воспроизводимой нами ADMA подобной модели преэклампсии у беременных крыс карбамилированным дарбэпоэтином.

#### (57) Формула изобретения

Способ коррекции эндотелиальной дисфункции карбамилированным дарбэпоэтином при ADMA-подобной модели преэклампсии, включающий воспроизведение модели преэклампсии у крыс линии Wistar ежедневным с 14 по 20 день 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 дозе 300 мкг/кг 1 раз в день на 7, 10, 13, 16, 19 сутки беременности.