



ФЕДЕРАЛЬНАЯ СЛУЖБА
ПО ИНТЕЛЛЕКТУАЛЬНОЙ СОБСТВЕННОСТИ

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ПАТЕНТУ

(52) СПК
A61K 38/00 (2021.05); A61K 38/08 (2021.05)

(21)(22) Заявка: 2021106163, 10.03.2021

(24) Дата начала отсчета срока действия патента:
10.03.2021

Дата регистрации:
13.07.2021

Приоритет(ы):
(22) Дата подачи заявки: 10.03.2021

(45) Опубликовано: 13.07.2021 Бюл. № 20

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

(72) Автор(ы):

Нетребенко Александр Сергеевич (RU),
Гуреев Владимир Владимирович (RU),
Корокин Михаил Викторович (RU),
Покровский Михаил Владимирович (RU),
Солдатов Владислав Олегович (RU),
Покровская Татьяна Григорьевна (RU),
Пересыпкина Анна Александровна (RU),
Гудырев Олег Сергеевич (RU),
Шкодкин Сергей Валентинович (RU),
Затолокина Мария Алексеевна (RU),
Победа Анна Сергеевна (RU),
Покровский Владимир Михайлович (RU),
Корокина Лилия Викторовна (RU),
Гуреева Анастасия Владимировна (RU),
КочкарOVA Индира Султановна (RU),
Колесник Инга Михайловна (RU),
Бурда Юрий Евгеньевич (RU),
Алехин Сергей Александрович (RU),
Костина Дарья Александровна (RU),
Полтев Владимир Юрьевич (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 2696864 C1, 07.08.2019. RU
2731919 C1, 09.09.2020. КОРОКИН М.В. и др.
11-АМИНОКИСЛОТНЫЙ ПЕПТИД,
ИМИТИРУЮЩИЙ СТРУКТУРУ А-
СПИРАЛИ В ЭРИТРОПОЭТИНА,
УЛУЧШАЕТ ФУНКЦИЮ ЭНДОТЕЛИЯ,
НО СТИМУЛИРУЕТ
ТРОМБООБРАЗОВАНИЕ У КРЫС /
Научно-практический журнал фармация и
фармокология, 2019, т.7, вып. 6, стр. 312-320.
ЕЛАГИН В.В. и др. ИССЛЕДОВАНИЕ
(см. прод.)

RU 2 751 413 C1

RU 2 751 413 C1

(54) Способ коррекции нарушений микроциркуляции в почке пептидом, имитирующим альфа-спираль В эритропоэтина, при ишемически-реперфузионном повреждении

(57) Реферат:

Изобретение относится к медицине, в частности к экспериментальной фармакологии и урологии, и может быть использовано для коррекции нарушений микроциркуляции в почке. Способ коррекции нарушения микроциркуляции в почке включает воспроизведение модели ишемически-реперфузионных повреждений почек путем наложения лабораторным крысам атравматичных сосудистых зажимов на левую

почечную ножку на 40 минут. Для коррекции микроциркуляции вводят внутривенно пептид, имитирующий α -спираль В эритропоэтина – rHBSP, в дозировке 25 мкг/кг однократно за 30 минут до ишемии. Изобретение обеспечивает создание эффективного способа коррекции микроциркуляции в почке при моделировании ишемически-реперфузионных повреждений почек. 1 пр., 1 табл.

(56) (продолжение):

РЕНОПРОТЕКТИВНЫХ СВОЙСТВ ПРОИЗВОДНЫХ ЭРИТРОПОЭТИНА НА МОДЕЛИ ИШЕМИИ-РЕПЕРФУЗИИ ПОЧЕК / Кубанский научный медицинский вестник, 2018, 25(6), стр. 73-77. GOLUBEV I.V. et al. Preclinical study of innovative peptides mimicking the tertiary structure of the α -helix B of erythropoietin / Research Results in Pharmacology, 2020, 6(2), pages 85-96.

R U 2 7 5 1 4 1 3 C 1

R U 2 7 5 1 4 1 3 C 1



FEDERAL SERVICE
FOR INTELLECTUAL PROPERTY

(51) Int. Cl.
A61K 38/08 (2006.01)
A61P 13/12 (2006.01)

(12) ABSTRACT OF INVENTION

(52) CPC

A61K 38/00 (2021.05); A61K 38/08 (2021.05)(21)(22) Application: **2021106163, 10.03.2021**(24) Effective date for property rights:
10.03.2021Registration date:
13.07.2021

Priority:

(22) Date of filing: **10.03.2021**(45) Date of publication: **13.07.2021** Bull. № 20

Mail address:

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

(72) Inventor(s):

**Ntrebenko Aleksandr Sergeevich (RU),
Gureev Vladimir Vladimirovich (RU),
Korokin Mikhail Viktorovich (RU),
Pokrovskij Mikhail Vladimirovich (RU),
Soldatov Vladislav Olegovich (RU),
Pokrovskaya Tatyana Grigorevna (RU),
Peresyapkina Anna Aleksandrovna (RU),
Gudyrev Oleg Sergeevich (RU),
Shkodkin Sergej Valentinovich (RU),
Zatolokina Mariya Alekseevna (RU),
Pobeda Anna Sergeevna (RU),
Pokrovskij Vladimir Mikhajlovich (RU),
Korokina Liliya Viktorovna (RU),
Gureeva Anastasiya Vladimirovna (RU),
Kochkarova Indira Sultanovna (RU),
Kolesnik Inga Mikhajlovna (RU),
Burda Yuriy Evgenevich (RU),
Alekhin Sergej Aleksandrovich (RU),
Kostina Darya Aleksandrovna (RU),
Poltev Vladimir Yurevich (RU)**

(73) Proprietor(s):

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

(54) METHOD FOR CORRECTING MICROCIRCULATION DISORDERS IN KIDNEY WITH PEPTIDE THAT MIMICS ALPHA-HELIX B OF ERYTHROPOIETIN IN ISCHEMIA-REPERFUSION INJURY

(57) Abstract:

FIELD: medicine.

SUBSTANCE: invention relates to medicine, in particular to experimental pharmacology and urology, and can be used to correct disorders of microcirculation in the kidney. A method for correcting microcirculation disorders in a kidney involves reproducing a model of ischemia-reperfusion kidney injuries by applying atraumatic vascular clamps to laboratory rats on the left renal pedicle for 40 minutes. To correct

microcirculation, a peptide that mimics the a-helix B of erythropoietin - pHBSP is injected intraperitoneally at a dosage of 25 mcg/kg once 30 minutes before ischemia.

EFFECT: invention provides creation of an effective method for correcting microcirculation in the kidney when modeling ischemia-reperfusion kidney damage.

1 cl, 1 ex, 1 tbl

Изобретение относится к медицине, в частности к экспериментальной фармакологии и урологии.

На сегодняшний день заболеваемость населения онко-урологической патологией остается крайне высокой: согласно данным Росстата в период с 2010г по 2018г отмечен
 5 рост частоты случаев рака почек с 18,7 до 24,3 тысяч в год [И.Н. Шаповал, С.Ю. Никитина. *Здравоохранение в России. 2019: Стат.сб./Росстат.* - М., 3-46 2019. – с 39]. Согласно современным тенденциям, при выявлении болезни на начальных этапах оптимальным считается выполнение органосохранной операции (резекции почки)[М.А. Газимиев, ООО«Медконгресс», Клинические рекомендации Европейской ассоциации
 10 урологов 2020, - Москва, 2020г, с.71], наиболее часто проводимой в условиях тепловой ишемии. Учитывая данный факт, одной из главных задач, поставленных перед врачами и учеными всего мира, является профилактика развития острого почечного повреждения (ОПП), обусловленного окклюзией почечных сосудов [Basile, D. P. Renal endothelial dysfunction in acute kidney ischemia reperfusion injury / D. P. Basile, M. C. Yoder // *Cardiovasc. Hematol. Disord. Drug Targets.* – 2014. – Vol. 14, Iss. 1. – P. 3–14.].
 15

Наиболее близким к заявленному решению является способ профилактики микроциркуляторных нарушений в почках в эксперименте [Елагин В.В., Костина Д.А., Братчиков О.И., Покровский М.И., Покровская Т.Г. Исследование ренопротективных свойств производных эритропоэтина на модели ишемии-реперфузии почек. *Кубанский
 20 научный медицинский вестник.* 2018; 25(6): 73-77. DOI: 10.25207 / 1608-6228-2018-25-6-73-77.], модель которого включает наложение атравматичных зажимов на обе почечные ножки на 40 минут. С целью профилактики нарушения микроциркуляции в почках однократно внутрибрюшинно за 30 минут до ишемии вводили эритропоэтин в дозе 50 МЕ/кг. В результате отмечено улучшение показателей микроциркуляции в тканях почек.
 25 Однако, эритропоэтин оказывает эритропоэтический эффект, что является не желательным явлением и ведет к увеличению риска тромботических событий в первый год после трансплантации (эритропоэтин 24,4% по сравнению с плацебо 6,4%) [Aydin Z, Mallat MJ, Schaapherder AF. et al. Randomized trial of short-course high-dose erythropoietin in donation after cardiac death kidney transplant recipients. *Am J Transplant.* 2012;12(7):
 30 1793–1800]. Поэтому результаты коррекции микроциркуляции в почке при моделировании ишемически-реперфузионного повреждений почек у животных с использованием эритропоэтина неудовлетворительны.

Задачей изобретения является создание эффективного способа коррекции микроциркуляции в почке при моделировании ишемически-реперфузионных
 35 повреждений почек.

Техническим результатом изобретения является эффективный способ коррекция нарушений микроциркуляции в почке при моделировании ишемически-реперфузионных повреждений внутрибрюшинным введением пептида, имитирующего α -спираль В эритропоэтина (pHBSP), в дозировке 25 мкг/кг за 30 минут до начала ишемии.

Поставленная задача решается с помощью предлагаемого способа коррекции нарушений микроциркуляции в почке, включающего моделирование ишемически-реперфузионных повреждений почек путем наложения атравматичных сосудистых зажимов на левую почечную ножку на 40 минут, а коррекцию проводят использованием
 40 11-членного пептида, имитирующего α -спираль В эритропоэтина, не обладающего эритропоэтической активностью (pHBSP (QEQLERALNSS (Pyr-Glu-Gln-Leu-Glu-Arg-Ala-Leu-Asn-Ser-Ser))) [Brines M., Patel N.S., Villa P., Brines C., Mennini T., De Paola M., Erbayraktar Z., Erbayraktar S., Sepodes B., Thiernemann C., Ghezzi P., Yamin M., Carla C. Hand, Qiao-wen Xie, Coleman T., Cerami F. Nonerythropoietic, tissue-protective peptides derived

from the tertiary structure of erythropoietin // Proc Natl Acad Sci USA. 2008. №105(31). P. 10925-10930.], который вводился внутрибрюшинно за 30 минут до моделирования ишемии в дозе 25 мкг\кг.

СПОСОБ ОСУЩЕСТВЛЯЕТСЯ СЛЕДУЮЩИМ ОБРАЗОМ

5 Опыт проводился на белых лабораторных крысах-самцах линии Wistar массой 280-320г. Моделирование ишемически-реперфузионных повреждений почек производили путем наложения атравматичных сосудистых зажимов на левую почечную ножку на 40 минут. Пептид имитирующий α -спираль В эритропоэтина (pHBSF) вводился внутрибрюшинно за 30 минут до моделирования ишемии в дозе 25 мкг\кг.

10 Микроциркуляцию в корковом слое почек измеряли через 5 минут и 24 часа после ишемии с помощью аппаратно-программного комплекса MP100 (Biopac System, Inc., США) с модулем лазерной доплеровской флоуметрии (ЛДФ) LDF100C и поверхностного датчика TSD143, который прикладывался к средней части почки, не затрагивая область ворот. Регистрация и обработка результатов производилась с 15 помощью программного обеспечения AcqKnowledge версии 3.8.1. Значения показателей выражались в перфузионных единицах (ПЕд).

Статистическая обработка результатов исследования.

Статистическую обработку проводили с использованием программной среды вычислений R. Характер распределения признаков в статистической выборке определяли 20 с помощью критерия Шапиро-Уилка и критерия Шпигельхальтера (библиотека normtest), оценку равенства дисперсий – с помощью критерия Левене (библиотека lawstat). В зависимости от типа распределения признаков и равенства дисперсий значимость полученных результатов оценивали с применением параметрического (ANOVA) или непараметрического (критерий Краскела-Уоллиса) однофакторного дисперсионного 25 анализа, а в качестве post-hoc анализа для выявления различий при межгрупповых сравнениях использовали непарный t-критерий Стьюдента или критерий Манна-Уитни, соответственно, с поправкой Бенджамини-Хохберга на множественную проверку гипотез. Результаты считали достоверными при $p \leq 0,05$.

ПРИМЕР КОНКРЕТНОГО ВЫПОЛНЕНИЯ.

30 Развитие острого повреждения почек, вызванного наложением атравматичного зажима на почечные сосуды, приводило к нарушению микроциркуляции в почке, о чем свидетельствует снижение ее величины с 900 ± 42 ПЕд до 219 ± 12 ПЕд ($p < 0,05$) через 5 минут после ишемии, через 24 часа после ишемии с 881 ± 38 ПЕд (у ложнопериорированных) 35 до 430 ± 20 ПЕд (в группе ишемии\реперфузии). Внутрибрюшинное введение пептида имитирующего α -спираль В эритропоэтина (pHBSF) в дозировке 25 мкг/кг за 30 минут до ишемии на фоне моделирования ишемически-реперфузионного повреждения почки крыс приводило к достоверному повышению уровня микроциркуляции в почке через 5 минут после ишемии до 693 ± 28 ПЕд, через 24 часа после ишемии до 771 ± 27 ПЕд 40 соответственно, что статистически выше ($p < 0,05$), чем в группе «не леченных» животных.

Таким образом, полученные результаты убедительно свидетельствуют о выраженной коррекции нарушения микроциркуляции в почке в условиях воспроизводимой модели ишемически-реперфузионных повреждений почек крыс с использованием пептида имитирующего α -спираль В эритропоэтина (pHBSF), не обладающего эритропоэтическим 45 эффектом.

Влияние пептида, имитирующего α -спираль В эритропоэтина, на микроциркуляцию при моделировании ишемически-реперфузионных повреждений почек крыс представлено в таблице 1.

Таблица 1

Экспериментальная группа	Микроциркуляции через 5 минут после ишемии, ПЕд	Микроциркуляции через 24 часа после ишемии, ПЕд
<u>Ложнооперированные</u>	900±42 ^у	881±38 ^у
<u>Ишемия\реперфузия</u>	219±12 ^х	430±20 ^х
<u>рНВSP 25 мкг/кг</u>	693±28 ^{ху}	771±27 ^{ху}

Примечания: ПЕд. – перфузионные единицы; ^х- $p < 0,05$ в сравнении с группой ложнооперированных животных; ^у- $p < 0,05$ в сравнении с группой ишемии\реперфузии.

(57) Формула изобретения

Способ коррекции нарушения микроциркуляции в почке, включающий воспроизведение модели ишемически-реперфузионных повреждений почек путем наложения атравматичных сосудистых зажимов на левую почечную ножку на 40 минут, отличающийся тем, что для коррекции микроциркуляции вводят внутривенно пептид, имитирующий α -спираль В эритропоэтина - рНВSP, в дозировке 25 мкг/кг однократно за 30 минут до ишемии.