



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

ФЕДЕРАЛЬНАЯ СЛУЖБА
 ПО ИНТЕЛЛЕКТУАЛЬНОЙ СОБСТВЕННОСТИ

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ПАТЕНТУ

(52) СПК

G09B 23/28 (2020.02); A61K 38/14 (2020.02); A61P 15/00 (2020.02)

(21)(22) Заявка: 2020112218, 25.03.2020

(24) Дата начала отсчета срока действия патента:
 25.03.2020

Дата регистрации:
 23.06.2020

Приоритет(ы):

(22) Дата подачи заявки: 25.03.2020

(45) Опубликовано: 23.06.2020 Бюл. № 18

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),
 Гудырев 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: Gureev V.V. New approaches of
 morfofunktional pharmacological correction of
 violations of cardiovascular system in
 experimental preeclampsia. Research result:
 pharmacology and clinical pharmacology. Vol. 2,
 N3 (2016): 11-27. RU 96102572 A, 20.05.1998. RU
 2146143 C1, 10.03.2000. RU 2696196 C1,
 31.07.2019. Mofidi A. et al. The use of
 erythropoietin (см. прод.)

(54) Способ коррекции структурных повреждений в плаценте пептидом, имитирующим альфа-спираль В эритропоэтина при АДМА-подобной модели преэклампсии

(57) Реферат:

Изобретение относится к области медицины, в частности к экспериментальной фармакологии, и может быть использовано для коррекции структурных повреждений плацентарных тканей. Для этого осуществляют воспроизведение модели

преэклампсии у крыс линии Wistar ежедневным с 14 по 20 сутки беременности внутривентральным введением L-нитро-аргинин-метилового эфира в дозе 25 мг/кг. Коррекцию структурных повреждений плацентарных тканей проводят

путем введения пептида, имитирующего α -спираль В эритропоэтина Р- α В внутривенно в дозировке 50 мкг/кг/сут с 10 по 20 сутки беременности. Способ позволяет корректировать

структурные повреждения плацентарных тканей в условиях воспроизводимой ADMA подобной модели преэклампсии у беременных крыс. 1 табл., 1 пр.

(56) (продолжение):

and its derivatives to treat spinal cord injury, *Mini Rev Med Chem.*, 2011, N11(9), P. 763-70.

R U 2 7 2 4 4 0 2 C 1

R U 2 7 2 4 4 0 2 C 1



FEDERAL SERVICE
FOR INTELLECTUAL PROPERTY

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

(12) ABSTRACT OF INVENTION

(52) CPC

G09B 23/28 (2020.02); A61K 38/14 (2020.02); A61P 15/00 (2020.02)(21)(22) Application: **2020112218, 25.03.2020**(24) Effective date for property rights:
25.03.2020Registration date:
23.06.2020

Priority:

(22) Date of filing: **25.03.2020**(45) Date of publication: **23.06.2020 Bull. № 18**

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),
Gudyrev 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 CORRECTION OF STRUCTURAL DAMAGES IN PLACENTA WITH PEPTIDE IMITATING ALPHA-HELIX B ERYTHROPOIETIN IN ADMA-LIKE MODEL OF PREECLAMPSIA

(57) Abstract:

FIELD: medicine.

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

introducing a peptide imitating α -helix of B erythropoietin P- α B intraperitoneal administration in dose of 50 mcg/kg/day from 10 to 20 days of pregnancy.

EFFECT: method enables correcting structural damages of placental tissues in conditions of reproducible ADMA similar model of preeclampsia in pregnant rats.

1 cl, 1 tbl, 1 ex

RU 2 724 402 C1

RU 2 724 402 C1

Изобретение относится к медицине, в частности к экспериментальной фармакологии и может быть использовано для коррекции структурных повреждений плацентарных тканей.

Наиболее близким к заявленному решению является способ коррекции нарушения морфологических повреждений в плаценте с помощью рекомбинантного эритропоэтина (Gureev V (2016) New approaches of morfofunkcional pharmacological correction of violations of cardiovascular system in experimental preeclampsia. Research Results in Pharmacology 2(3): 11-27. <https://doi.org/10.18413/2500-235X-2016-2-3-11-27>)

Недостатком указанного способа является то, что связываясь с гомодимерным рецептором эритропоэтин может активировать эритропоэз, что приводит к нарушению реологических свойств крови, что является нежелательным явлением при ишемии:

1. Enhancement of ventricular-subventricular zone-derived neurogenesis and oligodendrogenesis by erythropoietin and its derivatives [Text] / N. Kaneko, E. Kako, K. Sawamoto // Front Cell Neurosci. – 2013. - № 7. - P. 235.
2. Erythropoietin: recent developments in the treatment of spinal cord injury [Text] / S. Carelli, G. Marfia, A. Maria Di Giulio [et al.] // Neurol Res Int. - 2011; 2011: 453179. Published online 2011 Jul 4. doi: 10.1155/2011/453179.

Данный факт обуславливает не возможность повышения дозы эритропоэтина при его низкой эффективности. Поэтому результаты коррекции структурных повреждений в плаценте при АДМА-подобной преэклампсии у беременных животных с использованием рекомбинантного эритропоэтина неудовлетворительны.

Одним из направлений устранения этого недостатка, является создание производных эритропоэтина с коротким периодом жизни. Для активации цитопротекторных эффектов эритропоэтину достаточно связаться с гетеродимерным рецептором на короткое время (5 минут). Для активации эритропоэза необходимо постоянное нахождение эритропоэтина на гомодимерном рецепторе.

1. Enhancement of ventricular-subventricular zone-derived neurogenesis and oligodendrogenesis by erythropoietin and its derivatives [Text] / N. Kaneko, E. Kako, K. Sawamoto // Front Cell Neurosci. – 2013. - № 7. - P. 235.
2. Erythropoietin: recent developments in the treatment of spinal cord injury [Text] / S. Carelli, G. Marfia, A. Maria Di Giulio [et al.] // Neurol Res Int. - 2011; 2011: 453179. Published online 2011 Jul 4. doi: 10.1155/2011/453179
3. The use of erythropoietin and its derivatives to treat spinal cord injury [Text] / A. Mofidi, A. Bader, S. Pavlica [et al.] // Mini Rev Med Chem. – 2011. - №11(9). – P. 763-70.

Таким решением является пептид, имитирующий α -спираль В эритропоэтина со следующей аминокислотной последовательностью: Pyr-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 через фетоплацентарный открытым.

В связи с выше изложенным, задачей изобретения является создание способа коррекции структурных нарушений в плаценте при АДМА-подобной модели преэклампсии, включающей использование пептида, имитирующего α -спираль В

эритропоэтина (P- α B имеющим следующую последовательность аминокислот - Pyl-Glu-Gln-Leu-Glu-Arg-Ala-Leu-Asn-Ser-Ser), обладающего коротким периодом полувыведения.

Задача достигается тем, что на фоне моделирования преэклампсии в эксперименте
5 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 структурных повреждений в плаценте пептидом, имитирующим α -спираль B эритропоэтина (P- α B),
10 внутрибрюшинным введением в дозировке 50 мкг/кг/сут с 10 по 20 сутки беременности. Это приводит к выраженной коррекции структурных повреждений в плаценте при моделируемой патологии. Данный эффект связан с явным цитопротективным и антиоксидантным действием пептида, имитирующего α -спираль B эритропоэтина (P- α B).

СПОСОБ ОСУЩЕСТВЛЯЕТСЯ СЛЕДУЮЩИМ ОБРАЗОМ

15 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 B эритропоэтина (P- α B) вводится внутрибрюшинно в дозе 50 мкг/кг/сут с 10 по 20 день беременности.

20 На 21 день беременности под наркозом производили забор плацентарных тканей для гистологического исследования. Материал фиксирован в 10% формалине с последующей заливкой в парафин. Гистологические срезы плаценты производили в строго вертикальном направлении через середину плацентарного диска с захватом всех слоев плаценты и стенки рога матки. Изучение микропрепаратов проводили на
25 микроскопе Leica DM4000B с системой видеорегистрации и обработки изображений. При всех морфологических исследованиях использовали окраску гематоксилином и эозином.

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.

35 Блокада NO-синтазы, вызванная 7-дневным введением L-NAME беременным крысам, приводила к структурным повреждениям плацентарных тканей о чем свидетельствуют: увеличение размеров материнской части плаценты, уменьшение плодной части плаценты, уменьшение клеточного пула в материнской и плодной частях плаценты и уменьшение диаметра ворсин ($p < 0,05$) (табл. 1).

40 Введение пептида, имитирующего α -спираль B эритропоэтина (P- α B) внутрибрюшинно в дозировке 50 мкг/кг/сут с 10 по 20 сутки беременности на фоне ADMA-подобной модели преэклампсии у беременных крыс приводило к достоверному ($p < 0,05$) снижению патологических изменений. Об этом свидетельствуют увеличение размеров плодной части плаценты, уменьшение материнской части плаценты, повышение плотности клеточного пула в материнской и плодной частях плаценты и увеличение
45 диаметра ворсин, однако уровня интактных животных не достигалось.

Влияние пептида, имитирующего α -спираль B эритропоэтина (P- α B) на структурные повреждения плацентарных тканей при ADMA-подобной преэклампсии ($M \pm m$; $n=50$) представлено в таблице 1.

Таблица 1 Влияние пептида, имитирующего α -спираль В эритропоэтина (P- α B) на структурные повреждения плацентарных тканей при ADMA-подобной преэклампсии (M \pm m; n=50)

Показатель Группа	Ширина децидуальной пластинки, нм	Ширина плодной части плаценты, нм	Плотность клеточного пула в материнской части плаценты, /0,008 мм ²	Плотность клеточного пула в плодной части плаценты, /0,008 мм ²	Ширина ворсинок, $\times 10^{-3}$ мкм
Беременные (интактные)	0,325 \pm 0,005 ^y	0,950 \pm 0,128 ^y	114,2 \pm 2,03 ^y	236,9 \pm 2,75 ^y	32,18 \pm 0,39 ^y
Беременные + L-NAME	0,532 \pm 0,009 [*]	0,645 \pm 0,0088 [*]	22,3 \pm 0,28 [*]	78,5 \pm 2,51 [*]	16,79 \pm 0,24 [*]
L-NAME + P- α B (50 мкг/кг)	0,406 \pm 0,006 ^y	0,745 \pm 0,0088 ^y	70,6 \pm 0,76 ^y	118,8 \pm 2,21 ^y	23,83 \pm 0,28 ^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 структурных повреждений плацентарных тканей в условиях воспроизводимой нами ADMA подобной модели преэклампсии у беременных крыс пептидом, имитирующим α -спираль В эритропоэтина (P- α B) при внутрибрюшинном введении в дозировке 50 мкг/кг/сут с 10 по 20 сутки беременности.

(57) Формула изобретения

Способ коррекции структурных повреждений плацентарных тканей при ADMA-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 структурных повреждений плацентарных тканей вводят пептид, имитирующий α -спираль В эритропоэтина P- α B внутрибрюшинно в дозировке 50 мкг/кг/сут с 10 по 20 сутки беременности.