



(51) МПК  
*G09B 23/28* (2006.01)  
*A61K 31/4425* (2006.01)  
*A61P 19/10* (2006.01)

ФЕДЕРАЛЬНАЯ СЛУЖБА  
 ПО ИНТЕЛЛЕКТУАЛЬНОЙ СОБСТВЕННОСТИ

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ПАТЕНТУ

(52) СПК

*A61K 31/4425 (2021.08); A61K 2121/00 (2021.08); G09B 23/28 (2021.08)*

(21)(22) Заявка: 2021114187, 19.05.2021

(24) Дата начала отсчета срока действия патента:  
 19.05.2021

Дата регистрации:  
 24.12.2021

Приоритет(ы):

(22) Дата подачи заявки: 19.05.2021

(45) Опубликовано: 24.12.2021 Бюл. № 36

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 2541184 C1, 10.02.2015. RU  
 2437161 C1, 20.12.2011. RU 2369390 C1,  
 10.10.2009. ВОРОТНИКОВА С.Ю. и др.  
**ЗОЛЕДРОНОВАЯ КИСЛОТА В ЛЕЧЕНИИ  
 ОСТЕОПОРОЗА И ДРУГИХ  
 ЗАБОЛЕВАНИЙ СКЕЛЕТА /** Остеопороз и  
 остеопатии, 2017, N 3, стр. 23-27.  
**ДУДИНСКАЯ Е.Н. и др. ПРИМЕНЕНИЕ  
 ТЕРИПАРАТИДА В ЛЕЧЕНИИ  
 ТЯЖЕЛОГО ОСТЕОПОРОЗА В  
 ГЕРИАТРИЧЕСКОЙ ПРАКТИКЕ:  
 ОПИСАНИЕ** (см. прод.)

(54) Способ коррекции остеопороза и остеопоротических переломов 3-гидрокси-2-этил-6-метилпиридиния никотинатом в эксперименте

(57) Реферат:

Изобретение относится к медицине, области экспериментальной фармакологии. Способ коррекции остеопороза и остеопоротических переломов 3-гидрокси-2-этил-6-метилпиридиния

никотинатом 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 3-гидрокси-2-этил-6-метилпиридиния никотината в дозе 3,8 мг/кг, которое вводят ежедневно внутривентрикулярно лабораторному животному два раза в сутки, на фоне моделирования остеопороза в течение

восьми недель, а при переломах - на фоне моделирования остеопороза в течение двенадцати недель. Изобретение обеспечивает выраженную коррекцию остеопороза и остеопоротических переломов. 2 табл., 1 пр.

(56) (продолжение):

**КЛИНИЧЕСКОГО СЛУЧАЯ / Ожирение и метаболизм, 2019, т.16, N 4, стр. 80-89.**

RU 2763011 C1

RU 2763011 C1



FEDERAL SERVICE  
FOR INTELLECTUAL PROPERTY

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

(12) **ABSTRACT OF INVENTION**

(52) CPC

*A61K 31/4425 (2021.08); A61K 2121/00 (2021.08); G09B 23/28 (2021.08)*(21)(22) Application: **2021114187, 19.05.2021**(24) Effective date for property rights:  
**19.05.2021**Registration date:  
**24.12.2021**

Priority:

(22) Date of filing: **19.05.2021**(45) Date of publication: **24.12.2021 Bull. № 36**

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 THE CORRECTION OF OSTEOPOROSIS AND OSTEOPOROTIC FRACTURES WITH 3-HYDROXY-2-ETHYL-6-METHYLPYRIDINIUM NICOTINATE IN EXPERIMENT**

(57) Abstract:

FIELD: medicine.

SUBSTANCE: invention relates to medicine, the field of experimental pharmacology. A method for correcting osteoporosis and osteoporotic fractures with 3-hydroxy-2-ethyl-6-methylpyridinium nicotinate in the experiment includes modeling osteoporosis using bilateral oophorectomy and osteoporotic fractures of the femur in female Wistar rats. As a means of correction, a compound of 3-hydroxy-2-ethyl-6-

methylpyridinium nicotinate is used at a dose of 3.8 mg/kg, which is administered daily intragastrically to a laboratory animal twice a day, against the background of osteoporosis modeling for eight weeks, and in case of fractures - against the background of modeling osteoporosis for twelve weeks.

EFFECT: invention provides a significant correction of osteoporosis and osteoporotic fractures.

1 cl, 2 tbl, 1 ex

RU 2 763 011 C1

RU 2 763 011 C1

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

5 Остеопороз, наиболее частое заболевание, связанное с ремоделированием костей, характеризуется низкой костной массой с предрасположенностью к переломам, что приводит к повышенному риску неблагоприятных последствий для здоровья, включая  
10 снижение качества жизни, инвалидность, частые госпитализации и смерть [Kelchtermans H, Geboes L, Mitera T, Huskens D, Leclercq G, Matthys P. Activated CD4+CD25+ regulatory T cells inhibit osteoclastogenesis and collagen-induced arthritis. *Ann Rheum Dis.* 2009; 68(5): 744–750.; Campbell AJ, Buchner DM. Unstable disability and the fluctuations of frailty. *Age Ageing.* 1997; 26(4):315–318.]. В последние годы это заболевание стало серьезной угрозой для здоровья человека во всем мире. Поэтому профилактика и раннее лечение  
15 остеопороза важны, чтобы избежать его осложнений, особенно у женщин в постменопаузе с остеопенией.

Есть некоторые антиостеопоротические препараты, которые могут предотвратить и лечить остеопороз. Однако многие из этих препаратов связаны с серьезными  
побочными эффектами. В течение нескольких лет заместительная терапия эстрогенами использовалась для предотвращения остеопороза у женщин в постменопаузе [Turner  
20 RT, Riggs BL, Spelsberg TC. Skeletal effects of estrogen. *Endocr Rev.* 1994;15(3):275–300.], но исследования показали, что заместительная терапия эстрогенами была связана с головной болью и повышенным риском рака, такого как рак груди, рак эндометрия и рак яичников [Loder EW, Buse DC, Golub JR. Headache as a side effect of combination estrogen-  
25 progestin oral contraceptives: a systematic review. *Am J Obstet Gynecol.* 2005; 193(3 Pt 1): 636–649; Ingle JN. Postmenopausal women with hormone receptor-positive breast cancer: balancing benefit and toxicity from aromatase inhibitors. *Breast.* 2013; 22(Suppl 2):S180–S183. В настоящее время в клинической практике используются бисфосфонаты, анти-RANKL,  
30 паратироидный гормон и стронция ранелат, которые могут снизить риск первичных и повторных переломов [Xia B, Xu B, Sun Y, Xiao L, Pan J, Jin H, Tong P. The effects of Liuwei Dihuang on canonical Wnt/beta-catenin signaling pathway in osteoporosis. *J Ethnopharmacol.* 2014;153(1):133–141. Однако все современные подходы не лишены наличия побочных эффектов. Следовательно, существует острая и возрастающая потребность в эффективной фармакотерапии, безопасных препаратов для коррекции остеопороза и переломов.

35 Наиболее близкими к заявленному решению являются: способ коррекции остеопороза и профилактики возникновения остеопоротических переломов лозартаном (RU № 2369391, публ.10.10.2009) в котором на фоне моделирования остеопороза в эксперименте с помощью билатеральной овариоэктомии самкам крыс линии Wistar в течение 8 недель после овариоэктомии вводят ежедневно однократно в сутки внутривентрикулярно лозартан  
40 в дозе 6 мг/кг, оценивая остеопротективное действие лозартана по уровню микроциркуляции в костной ткани и ширине костных трабекул; остеопоротических переломов эналаприлом (RU № 2369390, публ.10.10.2009) при котором на фоне моделирования остеопороза в эксперименте с помощью билатеральной овариоэктомии самкам крыс линии Wistar в течение 8 недель после овариоэктомии вводят ежедневно  
45 однократно в сутки внутривентрикулярно эналаприл в дозе 0,5 мг/кг, оценивая остеопротективное действие эналаприла по уровню микроциркуляции в костной ткани и ширине костных трабекул; комбинацией резвератрола с эналаприлом (RU № 2437160, публ.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 внутрижелудочно 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; комбинацией L-аргинина и лозартана (RU № 2542425, публ.20.02.2015) в котором используют комбинацию L-аргинина в дозе 200 мг/кг и лозартана в дозе 6 мг/кг, которую ежедневно внутрижелудочно 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, в большинстве способов коррекции остеопороза включена комбинация препаратов, что является не достаточно удобным в применении и не проводилось изучение влияния 3-гидрокси-2-этил-6-метилпиридиния никотина на микроциркуляцию в костной ткани при экспериментальном остеопорозе и остеопоротических переломах на его фоне.

Задачей изобретения является разработка способа коррекции остеопороза и остеопоротических переломов, включающего использование соединения 3-гидрокси-2-этил-6-метилпиридиния никотината, обладающего остеопротекторной активностью.

Поставленная задача достигается применением соединения 3-гидрокси-2-этил-6-метилпиридиния никотината,  $C_{14}H_{16}N_2O_3$ , в качестве средства, обладающего активностью в отношении остеопороза и остеопоротических переломов. Способ включает моделирование остеопороза с помощью билатеральной овариэктомии и остеопоротических переломов бедренной кости у самок крыс линии Wistar, а в качестве средства коррекции используют соединение 3-гидрокси-2-этил-6-метилпиридиния никотината в дозе 3,8 мг/кг, которое вводят ежедневно внутрижелудочно лабораторному животному два раза в сутки, на фоне моделирования остеопороза в течение восьми недель, а при переломах - на фоне моделирования остеопороза в течение двенадцати недель.

Технический результат способа заключается в обеспечении выраженной коррекции остеопороза и остеопоротических переломов, включающий использование соединения 3-гидрокси-2-этил-6-метилпиридиния никотината, обладающего выраженной остеопротекторной активностью.

**3-ГИДРОКСИ-2-ЭТИЛ-6-МЕТИЛПИРИДИНИЯ НИКОТИНАТА ПОЛУЧАЮТ СЛЕДУЮЩИМ ОБРАЗОМ:**

В трехгорлую колбу, снабженную мешалкой, термометром и обратным холодильником, загружают 40 мл этилового спирта, при перемешивании постепенно добавляют 2,74 г (0,02 гм) 2-этил-6-метил-3-гидрокси-2-пиридина, массу тщательно перемешивают и после растворения постепенно добавляют 2,46 г (0,02 гм) 3-пиридинокарбоновой кислоты. Полученный раствор при перемешивании нагревают до 70°C, выдерживают 40 мин. Полученный раствор фильтруют, отгоняют спирт под вакуумом. Остаток перекристаллизовывают из 2-пропанола. Получают 4,16 г (80,0%) белого с кремоватым оттенком кристаллического порошка с T плав. = 120°C.

Найдено, %: С 64,57; Н 6,23; N 10,72;  $C_{14}H_{16}N_2O_3$  м.м. 260,29

Вычислено, %: С 64,60; Н 6,20; N 10,76; O 18,44

ИК,  $cm^{-1}$ : 3418 (ОН), 2875, 2970 (СН), 2473 ( $N^+$ ), 1578, 1500 (CONH)

УФ: 0,001% раствора в воде максимумы поглощения при 256,0±2 нм и 297,0±2 нм.

**СПОСОБ ОСУЩЕСТВЛЯЮТСЯ СЛЕДУЮЩИМ ОБРАЗОМ**

Опыты проводят на крысах самках линии Wistar массой 200-250 г. Овариэктомию проводят под наркозом (водный раствор хлоралгидрата внутривентриально в дозе 300 мг/кг). Введение 3-гидрокси-2-этил-6-метилпиридиния никотината внутривентриально в дозе 3,8 мг/кг вводили на следующий день после операции, два раза в сутки в течение восьми недель (56 дней). В качестве препарата референса использовали этилметилгидроксипиридина сукцинат в дозе 80 мг/кг. 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 в одной группе 3-гидрокси-2-этил-6-метилпиридиния никотинатом в дозе 3,8 мг/кг и этилметилгидроксипиридина сукцинатом в дозе 80 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. При статистической обработке данных рассчитывается среднее значение, величина стандартной ошибки. Различия считаются статистически значимым при  $p < 0,05$ .

#### 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 овариэктомию 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 гипоестрогенном состоянии, приводящего в последствии к возникновению остеопоротических переломов. В группе животных, получавших в течение восьми недель после овариэктомии два раза в сутки внутривентриально 3-гидрокси-2-этил-6-метилпиридиния никотинат в дозе 3,8 мг/кг, наблюдалось достоверное повышение среднего уровня микроциркуляции в проксимальном метафизе бедра по сравнению с контрольной группой до  $108,4 \pm 3,2$  ПЕ. Препарат-референт этилметилгидроксипиридина сукцинат достоверно в сравнении с группой контроля, не улучшал показатели уровня микроциркуляции у экспериментальных животных. Показатели среднего уровня микроциркуляции в проксимальном метафизе бедра крысы при моделировании остеопороза и его коррекции 3-гидрокси-2-этил-6-метилпиридиния никотинатом в дозе 3,8 мг/кг в течение 8 недель 2 раза в сутки ( $M \pm m$ ) представлены в таблице 1.

Таблица 1

45

Группа животных	Средний уровень микроциркуляции, ПЕ
<u>Интактные</u> животные	98,8±3,9
Группа контроля (не получавшие лечения)	59,5±4,1*
3-гидрокси-2-этил-6-метилпиридиния <u>никотинат</u> (3,8 мг/кг)	108,7±4,6**
<u>Этилметилгидроксипиридина</u> <u>сукцинат</u> (80 мг/кг)	64,3±3,3*

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±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±5,5 ПЕ. В группе животных, у которых был моделирован перелом бедра на фоне остеопороза и получавших в течение 12 недель после оvariэктомии два раза в сутки внутривенно 3-гидрокси-2-этил-6-метилпиридиния никотинат в дозе 3,8 мг/кг, наблюдалось достоверное превышение среднего уровня микроциркуляции в костной мозоли. Показатели среднего уровня микроциркуляции в проксимальном метафизе бедра крысы при моделировании остеопороза и его коррекции 3-гидрокси-2-этил-6-метилпиридиния никотинатом в дозе 3,8 мг/кг в течение 12 недель 2 раза в сутки ( $M \pm m$ ) представлены в таблице 2.

Таблица 2

Группа животных	Средний уровень микроциркуляции, ПЕ
<u>Интактные</u> животные	81,3±5,2
Группа контроля (не получавшие лечения)	63,1±5,5*
3-гидрокси-2-этил-6-метилпиридиния <u>никотинат</u> (3,8 мг/кг)	112,3±4,1**
<u>Этилметилгидроксипиридина</u> <u>сукцинат</u> (80 мг/кг)	69,5±3,9*

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

Таким образом, использование 3-гидрокси-2-этил-6-метилпиридиния никотинат в дозе 3,8 мг/кг на фоне остеопороза, вызванного билатеральной оvariэктомией и остеопоротических переломов эффективно предотвращает падение уровня микроциркуляции в проксимальном метафизе бедра: как непосредственно в кости, так и в костной мозоли. Благодаря усилению кровоснабжения костной ткани, за счет наличия в молекуле 3-гидрокси-2-этил-6-метилпиридиния никотинат, никотиновой кислоты замедляется развитие остеопороза при гипоэстрогенном состоянии создаются благоприятные условия для успешной консолидации переломов.

#### (57) Формула изобретения

Способ коррекции остеопороза и остеопоротических переломов 3-гидрокси-2-этил-

6-метилпиридиния никотинатом 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 3-гидрокси-2-этил-6-метилпиридиния никотината в дозе 3,8 мг/кг, которое вводят ежедневно внутривентрикулярно лабораторному животному два раза в сутки, на фоне моделирования остеопороза в течение восьми недель, а при переломах - на фоне моделирования остеопороза в течение двенадцати недель.

10

15

20

25

30

35

40

45