РОССИЙСКАЯ ФЕДЕРАЦИЯ

ФЕДЕРАЛЬНАЯ СЛУЖБА
ПО ИНТЕЛЛЕКТУАЛЬНОЙ СОБСТВЕННОСТИ

(19) **RU** (11) **2 743 293**(13) **C1**

(51) МПК
C07K 7/06 (2006.01)
A61K 38/08 (2006.01)
A61P 25/28 (2006.01)

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ПАТЕНТУ

(52) СПК
***C07K 7/06** (2021.01); **A61K 38/08** (2021.01); **A61P 25/28** (2021.01)*

(21)(22) Заявка: **2020122257, 06.07.2020**

(24) Дата начала отсчета срока действия патента:
06.07.2020

Дата регистрации:
16.02.2021

Приоритет(ы):
(22) Дата подачи заявки: **06.07.2020**

(45) Опубликовано: **16.02.2021** Бюл. № **5**

Адрес для переписки:
305041, Курская обл., г. Курск, ул. Карла Маркса, 3, Лазаренко Виктор Анатольевич

(72) Автор(ы):
Бобынцев Игорь Иванович (RU),
Алферова Марина Евгеньевна (RU),
Тенькова Анна Николаевна (RU),
Белых Андрей Евгеньевич (RU),
Ворвуль Антон Олегович (RU),
Анфилова Марина Геннадьевна (RU),
Андреева Людмила Александровна (RU),
Мясоедов Николай Федорович (RU)

(73) Патентообладатель(и):
федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования "Курский государственный медицинский университет" Министерства здравоохранения Российской Федерации (RU)

(56) Список документов, цитированных в отчете о поиске: **RU 2694064 C1, 09.07.2019. SU 939440 A1, 30.06.1982. RU 2557003 C2, 20.07.2015. RU 2705592 C1, 11.11.2019.**

(54) **Применение пептида Gly-His-Lys-Val-Glu-Pro для повышения обучаемости и улучшения памяти.**

(57) Реферат:

Изобретение относится к медицине, а именно к фармакологии, патофизиологии и физиологии. Сущностью изобретения является применение пептида Gly-His-Lys-Val-Glu-Pro, имеющего формулу (NH2)Gly-His-Lys-Val-Glu-Pro(COOH), для повышения обучаемости и улучшения памяти. 1 табл.

RU 2743293 C1

RU 2743293 C1

RUSSIAN FEDERATION

FEDERAL SERVICE
FOR INTELLECTUAL PROPERTY

(19) **RU** (11) **2 743 293**(13) **C1**

(51) Int. Cl.
C07K 7/06 (2006.01)
A61K 38/08 (2006.01)
A61P 25/28 (2006.01)

(12) ABSTRACT OF INVENTION

(52) CPC
C07K 7/06 *(2021.01);* ***A61K 38/08*** *(2021.01);* ***A61P 25/28*** *(2021.01)*

(21)(22) Application: **2020122257, 06.07.2020**

(24) Effective date for property rights:
06.07.2020

Registration date:
16.02.2021

Priority:
(22) Date of filing: **06.07.2020**

(45) Date of publication: **16.02.2021** Bull. № **5**

Mail address:
305041, Kurskaya obl., g. Kursk, ul. Karla Marksa, 3, Lazarenko Viktor Anatolevich

(72) Inventor(s):
Bobyntsev Igor Ivanovich (RU),
Alferova Marina Evgenevna (RU),
Tenkova Anna Nikolaevna (RU),
Belykh Andrei Evgenevich (RU),
Vorvul Anton Olegovich (RU),
Anfilova Marina Gennadevna (RU),
Andreeva Liudmila Aleksandrovna (RU),
Miasoedov Nikolai Fedorovich (RU)

(73) Proprietor(s):
federalnoe gosudarstvennoe biudzhetnoe obrazovatelnoe uchrezhdenie vysshego obrazovaniia "Kurskii gosudarstvennyi meditsinskii universitet" Ministerstva zdravookhraneniia Rossiiskoi Federatsii (RU)

(54) **Use of Gly-His-Lys-Val-Glu-Pro peptide to improve learning abilty and memory.**

(57) Abstract:

FIELD: medicine.

SUBSTANCE: invention relates to medicine, namely to pharmacology, pathophysiology and physiology. The essence of the invention is the use of Gly-His-Lys-Val-Glu-Pro peptide, having the formula (NH2)Gly-His-Lys-Val-Glu-Pro (COOH), to improve learning ability and memory.

EFFECT: peptide helps improving learning ability and memory.

1 cl, 1 tbl

RU 2743293 C1

RU 2743293 C1

Изобретение относится к медицине, а именно к фармакологии, патофизиологии и физиологии, и может быть использовано для повышения обучаемости и улучшения памяти при применении пептида Gly-His-Lys-Val-Glu-Pro в различных дозировках.

Трипептид Gly-His-Lys обладает широким спектром биологических эффектов, к которым относятся улучшение заживление ран и регенерация тканей, увеличение синтеза коллагена фибробластами, ангиогенез и рост нервов, антиоксидантное, противовоспалительное, иммунотропное, а также нейротропное и анксиолитическое действие.[Regenerative and Protective Actions of the GHK-Cu Peptide in the Light of the New Gene Data/ L. Pickart, A. Margolina// Int J Mol Sci. 2018. – 2018. – 19(7). – doi: 10.3390/ijms19071987.]

В то же время недостатком природных регуляторных пептидов является непродолжительный период их действия. Биологические эффекты пептида Gly-His-Lys являются относительно непродолжительными вследствие деградации молекулы протеазами. Обогащение пептидной последовательности пролином является одним из способов повышения устойчивости и увеличения периода активности пептида[пат. 2443711 Рос. Федерация : МПК C07K 14/00 / Андреева Л.А, Гривенников И.А., Гаврилова С.А., Долотов О.В., Каменский А.А., Кошелев В.Б., Левицкая Н.Г., Мясоедов Н.Ф.; патентообладатель: Учреждение Российской академии наук Институт молекулярной генетики РАН (ИМГ РАН). – №2011103680/10 ;заявл. 02.02.2011; опубл 27.02.2012, Бюл. № 6].

В данном случае к пептиду GHK была присоединена пролинсодержащая пептидная последовательность Val-Glu-Pro. При этом в результате присоединения пролинсодержащей последовательности к имеющемуся пептиду Gly-His-Lys образовался качественно новый пептид, обладающий уникальными свойствами.

Данные о влиянии пептида Gly-His-Lys-Val-Glu-Pro на обучаемость и память в литературных источниках отсутствуют. Данное исследование было проведено впервые.

Технический результат изобретения: применение пептида Gly-His-Lys-Val-Glu-Pro для повышения обучаемости и улучшения памяти.

Технический результат изобретения достигается путем применения пептида Gly-His-Lys-Val-Glu-Pro для повышения обучаемости и улучшения памяти. Нами был использован препарат, разработанный и синтезированный в Институте молекулярной генетики РАН. Растворенный в изотоническом растворе хлорида натрия пептид Gly-His-Lys-Val-Glu-Pro вводился экспериментальным животным (крысы) парентерально (внутрибрюшинно) в дозе50,0 мкг/кг массы тела за 15 минут до проведения обучения четырехкратно в течение четырех дней. Для изучения эффекта, оказываемого на обучаемость и память, использовалась методика обучения в Т-лабиринте с положительным пищевым подкреплением.

Пример конкретного выполнения.

Эксперимент был выполнен на крысах-самцах Wistar массой 170-190 г. Животные содержались в стандартных условиях при температуре 22-24^{o}C, двенадцатичасовом световом режиме и на стандартном рационе питания и питья без ограничения. Для проведения эксперимента животные были разделены на группы по 16 особей в каждой.

Действие пептида Gly-His-Lys-Val-Glu-Pro на обучаемость и память оценивалось при помощи методики Т-образного лабиринта с положительным пищевым подкреплением согласно рекомендациям. [Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств. Часть первая. / под. ред. А.Н. Миронова. – М. : Гриф и К, 2012. – 944 с.].

Т-образный лабиринт представляет собой установку, состоящую из стартовой

камеры, отделенной перегородкой, стартового рукава и отходящих от него под прямым углом боковых рукавов. Перед началом обучения для угасания ориентировочно-исследовательского рефлекса животных помещали на 30 мин в день в установку Т-лабиринта в течение 2-х дней. Затем крыс с пищевой депривацией в течение 48 ч помещали в стартовый отсек Т-образного лабиринта, в правом рукаве которого помещена кормушка с пищей. Проба выполнялась 5 раз с интервалом в 1 минуту. Животному на поиск корма давалось 3 минуты. Эксперимент длился 4 дня. В результате обучения были отобраны животные, выполнявшие 5 из 5 попыток на 4-й день обучения.

На 9-й день после проведения эксперимента на отобранных животных проводилось воспроизведение результата обучения. После 48-часовой пищевой депривации животное помещалось в стартовый отсек лабиринта, в правом рукаве которого помещена кормушка с пищей.Проба повторялась пятикратно с интервалом в 1 минуту. Воспроизведение также длилось 4 дня. В ходе воспроизведения инъекций пептида не проводилось.

В эксперименте регистрировали латентный период (время от момента посадки животного в лабиринт, до выхода из стартовой камеры), время реакции (время от момента выхода из стартового отсека до взятия корма), число ошибок, число выполненных и невыполненных реакций.

Эксперимент проводился при помощи экспериментальной установки фирмы Panlab (Испания).

Пептид, растворенный в физиологическом растворе, животным вводился внутрибрюшинно в дозе 50,0 мкг/кг массы тела за 15 минут до проведения обучения четырехкратно в течение четырех дней. Контрольным животным вводился физиологический раствор в эквивалентном объёме.

Для статистической обработки данных использовалась программа STATISTICA 10. Для проверки нормальности распределения использовался критерий Шапиро-Уилка. Для выявления достоверных различий результатов использовался непараметрический критерий Краскела-Уоллиса для сравнения распределений в множестве независимых выборок, а также критерий Манна-Уитни.

В результате проведенного исследования установлено, что Gly-His-Lys-Val-Glu-Pro в дозе 50,0 мкг/кг в первый день обучения достоверно сокращалось время реакции животного. Тоже происходило и на второй день обучения. На третий день достоверных отличий от контрольной группы установлено не было. На четвертый день обучения отмечалось достоверное сокращение латентного периода в сравнении с контрольной группой.

На первый и второй день воспроизведения отмечалось достоверное увеличение латентного периода, однако время реакции было достоверно меньше, чем в контрольной группе. В третий и четвертый день воспроизведения достоверных отличий выявлено не было (таб. 1).

Таблица 1. Влияние пептида Gly-His-Lys-Val-Glu-Pro на обучение и память в методике Т-образного лабиринта с положительным пищевым подкреплением.

		Обучение		Воспроизведение	
		Контрольная группа	GHK-VEP 50,0	1,9 (1,1-6,8)	10,6 (6,2-22,4)*
1-й день	Латентный период	8,9 (7,0-11,0)	9,2 (5,2-16,9)	55,3 (36,2-72,1)	7,8 (4,4-15,1)*
	Время реакции	39,4 (20,0-69,4)	13,0 (10,1-31,2)*	2 (1-3)	1 (0-1,5)
	Число ошибок	3 (2-4)	1 (1-1,5)	3,5 (2-5)	5 (5-5)
	Число выполненных реакций	4 (4-4)	4 (3-5)	2,2 (1,1-10,1)	11,7 (6,8-17,8)*
2-й	Латентный период	5,1 (2,7-10,2)	8,5 (4,1-18,3)	10,9 (7,9-34,6)	6,7 (3,8-13,5)*

день	Время реакции	85,8 (13,5-140,2)	17,5 (4,6-42,0)*	1,5 (1-2)	0,5 (0-1,5)
	Число ошибок	2,5 (1-4)	2 (1-2)	5 (5-5)	5 (5-5)
	Число выполненных реакций	4,5 (4-5)	5(3-5)	5,6 (3,4-7,7)	4,2 (1,8-12,8)
3-й день	Латентный период	1,2 (0,6-9,0)	4,3 (1,8-19,0)	7,6 (4,0-11,0)	4,5 (3,6-8,7)
	Время реакции	18,4 (7,5-46,7)	13,2 (8,3-41,6)	0,5 (0-1)	1 (0-1)
	Число ошибок	2,5 (2-3)	1 (1-2)	4,5 (4-5)	5 (4,5-5)
	Число выполненных реакций	2,5 (0-5)	4 (3-5)	5,6 (2,9-6,4)	2,0 (0,9-7,4)
4-й день	Латентный период	9,0 (7,5-12,5)	4,2 (1,4-8,5)*	3,9 (3,4-8,1)	3,8 (3,2-7,2)
	Время реакции	8,0 (6,0-37,9)	7,0 (4,7-16,9)	0,5 (0-1)	0,5 (0-1)
	Число ошибок	1,5 (0-3)	0 (0-1)	5 (5-5)	5 (5-5)
	Число выполненных реакций	5 (5-5)	5 (5-5)		

Примечание: * – достоверные отличия ($p<0,05$) в сравнении с контрольной группой.

Таким образом, результаты исследованияпоказывают положительное действие пептида Gly-His-Lys-Val-Glu-Pro на обучаемость и память в дозе 50,0 мкг/кг массы тела. Эффект является длительным и сохраняется при воспроизведении результатов обучения.

Данный способ основан на применении регуляторного пептида, относящегося к классу биологически активных веществ, обладающих выраженным модуляторным эффектом и биологической полифункциональностью, не является трудоемким и не требует использования сложного оборудования.

(57) Формула изобретения

Применение пептида Gly-His-Lys-Val-Glu-Pro, имеющего формулу (NH2)Gly-His-Lys-Val-Glu-Pro(COOH), для повышения обучаемости и улучшения памяти.