РОССИЙСКАЯ ФЕДЕРАЦИЯ

ФЕДЕРАЛЬНАЯ СЛУЖБА
ПО ИНТЕЛЛЕКТУАЛЬНОЙ СОБСТВЕННОСТИ

(19) **RU** (11) **2 833 679**(13) **C1**

(51) МПК
*A61K 38/08* (2006.01)

# (12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ПАТЕНТУ

(52) СПК
*A61K 38/08 (2024.08)*

(21)(22) Заявка: **2023123881, 15.09.2023**

(24) Дата начала отсчета срока действия патента:
**15.09.2023**

Дата регистрации:
**28.01.2025**

Приоритет(ы):
(22) Дата подачи заявки: **15.09.2023**

(45) Опубликовано: **28.01.2025** Бюл. № **4**

Адрес для переписки:
**109377, Москва, а/я 23, Саленко Александр Михайлович**

(72) Автор(ы):
**Смирнов Николай Алексеевич (RU),**
**Хохлов Александр Леонидович (RU),**
**Самарина Елена Игоревна (RU),**
**Куликов Сергей Владимирович (RU),**
**Федоров Владимир Николаевич (RU),**
**Зубова Татьяна Алимовна (RU)**

(73) Патентообладатель(и):
**Акционерное общество "Инновационный научно-производственный центр "Пептоген" (RU)**

(56) Список документов, цитированных в отчете о поиске: **JAWOREK J. et al., Melatonin as modulator of pancreatic enzyme secretion and pancreatoprotector, J Physiol Pharmacol, 2007, v. 58, Suppl. 6, pp. 65-80. RU2640133 C1, 26.12.2017. МЕЙРАМОВА А.Г., Диабетогенные цинксвязывающие β-цитотоксические соединения, Проблемы Эндокринологии, 2003, т. 49, N. 2, с. 8-16.**

## (54) Применение пептида Thr-Lys-Pro-Arg-Pro-Gly-Pro для защиты инсулярного аппарата поджелудочной железы и её экзокринного отдела от токсических деструктивных воздействий

(57) Реферат:

Изобретение относится к медицине и биохимии, а именно к токсикологии и гастроэнтерологии, и конкретно к средствам панкреопротекторного воздействия при токсическом деструктивном панкреатите. Предложено применение пептида Thr-Lys-Pro-Arg-Pro-Gly-Pro для защиты поджелудочной железы от токсического воздействия. Техническим результатом является увеличение панкреопротекторного действия при лечении и профилактике деструктивных изменений поджелудочной железы в части защиты внешнесекреторных клеток и инсулярного аппарата. 7 ил., 2 табл., 2 пр.

RU 2833679 C1

RU 2833679 C1

RUSSIAN FEDERATION

FEDERAL SERVICE
FOR INTELLECTUAL PROPERTY

(19) **RU** (11) **2 833 679**(13) **C1**

(51) Int. Cl.
*A61K 38/08* (2006.01)

## (12) ABSTRACT OF INVENTION

(52) CPC
*A61K 38/08 (2024.08)*

(21)(22) Application: **2023123881, 15.09.2023**

(24) Effective date for property rights:
**15.09.2023**

Registration date:
**28.01.2025**

Priority:
(22) Date of filing: **15.09.2023**

(45) Date of publication: **28.01.2025** Bull. № **4**

Mail address:
**109377, Moskva, a/ya 23, Salenko Aleksandr Mikhajlovich**

(72) Inventor(s):
**Smirnov Nikolai Alekseevich (RU),**
**Khokhlov Aleksandr Leonidovich (RU),**
**Samarina Elena Igorevna (RU),**
**Kulikov Sergei Vladimirovich (RU),**
**Fedorov Vladimir Nikolaevich (RU),**
**Zubova Tatiana Alimovna (RU)**

(73) Proprietor(s):
**Aktsionernoe obshchestvo «Innovatsionnyi nauchno-proizvodstvennyi tsentr «Peptogen» (RU)**

### (54) USE OF THR-LYS-PRO-ARG-PRO-GLY-PRO PEPTIDE FOR PROTECTION OF INSULAR PANCREAS AND EXOCRINE SECTION THEREOF FROM TOXIC DESTRUCTIVE EFFECTS

(57) Abstract:

FIELD: medicine; chemistry.

SUBSTANCE: invention refers to medicine and biochemistry, namely to toxicology and gastroenterology, and specifically to pancreoprotective agents in toxic destructive pancreatitis. Disclosed is use of peptide Thr-Lys-Pro-Arg-Pro-Gly-Pro to protect the pancreas from toxic effects.

EFFECT: increased pancreoprotective action in treatment and prevention of destructive changes of pancreas in terms of protection of exocrine cells and insular apparatus.

1 cl, 7 dwg, 2 tbl, 2 ex

RU 2833679 C1

RU 2833679 C1

[01] Область техники

[02] Группа изобретений относится к медицине, а именно к токсикологии и гастроэнтерологии, и конкретно к средствам панкреопротекторного воздействия при токсическом деструктивном панкреатите.

[03] Уровень техники

[04] По данным Росстата за 2019 год в общей структуре заболеваемости в России болезни желудочно-кишечного тракта занимают третье место после патологий сердечно-сосудистой системы и онкологии. При этом среди болезней органов пищеварения панкреатит является лидером по летальности и смертности, в несколько раз и даже на порядок опережая по частоте другие смертельно опасные патологические состояния гастроэнтерологического профиля.

[05] Причинами панкреатита чаще всего является употребление алкоголя (до 40%), патологии желчевыводящих путей (до 40%), травмы (10%) и другие причины, среди которых важно отметить лекарственно - индуцированные формы заболевания, провоцирующее по официальным данным до 2% от всей патологии. Причем, согласно данным клиницистов, частота ятрогенной патологии этого органа последние годы растет стремительными темпами. Учитывая высокую частоту применения населением развитых стран различных лекарств, неправильное питание и распространенность злоупотребления алкоголем, одной из основных разновидностей панкреатита может быть признана токсическая форма этого заболевания.

[06] По скорости нарастания симптоматики панкреатиты подразделяются на острые и хронические. Наибольшую опасность для жизни и здоровья представляет острый панкреатит, удельный вес которого занимает третье место среди всей неотложной хирургической патологии органов брюшной полости. В последнее время зарегистрирована тенденция к увеличению числа деструктивных форм этого заболевания с 15 до 25% случаев. При этом, по данным клиницистов, несмотря на применение современных технологий, летальность пациентов от деструктивного панкреатита составляет от 35 до 80% [3, 7].

[07] Основной причиной смертельных исходов при отмеченной разновидности острого панкреатита является некроз ткани поджелудочной железы, который возникает вследствие преждевременной активации пищеварительных протеолитических ферментов внутри самой железы, в то время как в норме этот процесс должен происходить только после выделения указанных ферментов в просвет двенадцатиперстной кишки. По мере прогрессирования асептического некроза, являющегося главным звеном патогенеза острого деструктивного панкреатита, через несколько дней возможно присоединение бактериальной инфекции с появлением очагов гнойного расплавления органа.

[08] Некротические изменения ткани поджелудочной железы в первую очередь затрагивают экзокринный отдел этого органа, что особенно ярко проявляется при блокаде общего панкреатического протока. Вследствие этого задержавшиеся в железе протеолитические пищеварительные ферменты вызывают аутолиз внешнесекреторных клеток, которые их произвели. Примечательно, что при токсических поражениях поджелудочной железы вредные вещества нередко воздействуют на все типы клеток органа, включая его эндокринный отдел, последствия повреждения которого проявляются не столь экстренно. Таким образом, в остром периоде панкреатита основные усилия врачей направлены на предотвращение дальнейшего поражения внешнесекреторного отдела поджелудочной железы, а коррекцией эндокринных нарушений обычно занимаются на более поздних сроках лечения патологии.

[09] Тем не менее, необходимость защиты инсулярного аппарата, особенно при

панкреатитах токсического происхождения, также является весьма актуальной задачей. По данным клиницистов, неблагоприятное течение второй фазы острого панкреатита, начинающейся с третьей недели болезни, приводит к стойкому формированию патологии углеводного обмена, и в 46,2% случаев завершается развитием сахарного диабета. При хронизации воспалительного процесса в поджелудочной железе вторичный сахарный диабет возникает в течение пятилетнего периода в 27% случаев, а при более продолжительном стаже болезни, частота этой патологии достигает 83%, причем у половины больных возникает сахарный диабет I типа [2]. Таким образом, актуальной нерешенной проблемой, возникающей в процессе лечения острых и подострых форм деструктивного панкреатита, является дефицит лекарственных средств, способных одновременно предотвратить как самые ранние и наиболее опасные проявления патологии в виде некроза внешнесекреторных клеток поджелудочной железы, так и более отдаленные последствия болезни в виде вторичного поражения клеток инсулярного аппарата.

[010] К наиболее известным способам лекарственного предотвращения первичного асептического аутолиза поджелудочной железы следует отнести применение средств, блокирующих активность панкреатических протеолитических ферментов, либо использование средств, подавляющих внешнесекреторную деятельность поджелудочной железы.

[011] Первым среди этих двух направлений было предложено использование универсального ингибитора протеаз - апротинина (препараты: «Контрикал», «Трасилол», «Гордокс»). Основным недостатком этой группы средств является кратковременность эффекта, что вынуждает их вводить каждые 3 часа, а также невозможность создания высокоэффективных концентраций препаратов внутри ткани поджелудочной железы при общепринятом внутривенном пути введения. В связи с этим универсальные ингибиторы протеаз в настоящее время предложено водить внутриартериально в просвет артерий поджелудочной железы или в ее проток, что технически сложно и реализуемо только в рамках специализированных хирургических операций (см. патент РФ RU 2620496, 25.05.2017). Кроме того, заметный панкреопротекторный эффект от препаратов этой группы в клинической практике, как правило, регистрируется только при условии их применения в первые 6 часов от начала проявлений острого панкреатита. Согласно данным клиницистов, внутривенное введение антиферментных препаратов в более поздние сроки даже при использовании больших дозировок не останавливает начавшийся некроз поджелудочной железы. Следовательно, использование универсальных ингибиторов протеаз целесообразно только для купирующей фармакотерапии, а не в качестве мер предупреждения развития или прогрессирования деструктивных процессов в ткани поджелудочной железы.

[012] Вторым направлением в отношении противодействия аутолизу поджелудочной железы является экстренное использование средств, снижающих активность внешнесекреторных клеток по выработке пищеварительных протеаз и липаз. Самым первым представителем этого направления являлся цитостатик - 5-фторурацил. Однако его из-за массы системных осложнений, неизбежно возникающих при резорбтивном способе применения любого неселективного цитостатического средства, целесообразно использовать только при верифицированным панкреонекрозе и предпочтительно, как и в случае применения ингибиторов протеаз, локально (внутриартериально или внутрь протока поджелудочной железы) в рамках оперативных вмешательств на панкреато-били-арной зоне [7].

[013] Наиболее известным и применяемым в настоящее время препаратом,

подавляющим секрецию поджелудочной железы, является синтетический аналог соматостатина- препарат «Октреотид». В частности, в патенте РФ RU 2329825, 27.07.2008 описан способ профилактики развития острого панкреатита после операций на двенадцатиперстной кишке, включающий интрадуоденальное введение октреотида в дозе 5 мкг в час через интраоперационно установленный зонд в течение 3 суток после операции. Поскольку гормон - соматостатин вырабатывается не только гипоталамусом, но и специализированными эндокринными клетками поджелудочной железы, использование его синтетического аналога - октреотида способно затормозить внешнюю секрецию желудка и поджелудочной железы. К побочным эффектам октреотида следует отнести торможение моторной активности желудочно-кишечного тракта, снижение скорости анаболических процессов, вызывающих замедление регенерации, включая послеоперационные раны, торможение секреции инсулина и других гормонов, нарушение функции печени, феномен отдачи. Несмотря на сообщения об успешном опыте применения октреотида в эксперименте и клинической практике, некоторые исследователи не всегда отмечали улучшение гистологических показателей и повышение выживаемости лабораторных животных в эксперименте [9].

[014] Следующим средством, блокирующим секрецию поджелудочной железы, является отечественный пептидный препарат «Даларгин», применение которого ограничивается территориями России и Украины. В частности, в патентах Украины UA 6826 U, 16.05.2005 и UA 6823 U, 16.05.2005 раскрывается применение даларгина для лечения острого экспериментального панкреатита. По данным российских исследователей в клинической практике даларгин рекомендуется использовать при остром панкреатите, прежде всего, в рамках борьбы с болевым синдромом, поскольку этот препарат способен возбуждать опиатные рецепторы (см. патент RU 2228148, 10.05.2004). Другими элементами терапевтического эффекта в условиях острого панкреатита являются торможение синтеза панкреатических ферментов, снижение базальной и стимулированной секреции поджелудочной железы, угнетение синтеза кининов, устранение расстройств внутриорганной микрогемолимфоциркуляции и ограничение очагов некроза. Летальность при включении даларгина в комплекс лечебных мер у пациентов с острым панкреатитом, по данным врачей специализированных клиник, существенно снижается и составляет порядка 5,5%. Тем не менее, применение даларгина в клинике для лечения острого панкреатита, не смотря на более чем 30-летний опыт его использования, пока не получило международного признания [1].

[015] Таким образом, согласно представленным данным, большинство отмеченных препаратов предназначено исключительно для экстренной защиты экзокринного отдела поджелудочной железы, но при этом их применение нередко сопровождается существенными побочными эффектами и не предполагает одновременной протекции клеток инсулярного аппарата.

[016] В связи с этим в настоящий момент времени существует дефицит безопасных лекарственных средств, способных в условиях острого или подострого панкреатита обеспечить одновременную защиту структуры и функции как экзо-, так и эндокринного отделов поджелудочной железы. Таким образом, основной технической проблемой, на решение которого направлено заявленное изобретение является узкий арсенал применяемых средств для панкреопротекторного воздействия.

[017] Наиболее перспективным способом решения отмеченной проблемы может стать поиск препаратов, обладающих необходимым набором терапевтических свойств, среди группы регуляторных пептидов, одним из которых является отечественный

препарат «Селанк».

[018] На настоящий момент времени основным показанием для назначения селанка в практической медицине является лечение невротических расстройств, т.е. препарат чаще всего используется в качестве дневного транквилизатора с дополнительной антидепрессивной, антиастенической активностью и положительным влиянием на мнестические функции. Кроме того, известно применение селанка для купирования алкогольного абстинентного синдрома (см. патент РФ RU 2521226, 27.06.2014), лечения болезни Паркинсона (патент РФ RU 2450822, 20.05.2012), эссенциального тремора (патент РФ RU 2450821, 20.05.2012), женской сексуальной дисфункции (патент РФ RU 2404793, 27.11.2010), в качестве термопротекторного средства при острой гипотермии (патент РФ RU 2709503, 18.12.2019). Иммуномодулирующее и противовоспалительное действие селанка защищено в патентах по его применению в качестве средства для профилактики и лечения иммунодефицита (патент RU 2318533, 10.03.2008) и различных дерматозов (патенты РФ RU 2629601, 30.08.2017 и RU 2709534, 18.12.2019). Противовирусная активность селанка отражена в патентах по его применению для профилактики и лечения вирусных инфекций (патенты РФ RU 2337703, 10.11.2008, RU 2663691, 08.08.2018 и RU 2414235, 20.03.2011). Влияние селанка на эндотелиальную дисфункцию, реологию крови и микроциркуляцию защищено патентом по применению этого препарата в качестве антиагрегантного, антикоагулянтного и фибринолитического средства (патент РФ RU 2290195, 27.12.2006).

[019] Применительно к гастроэнтерологической практике селанк запатентован как гепатопротектор при токсическом поражении печени или стрессовом воздействии (патенты РФ RU 2640133, 26.12.2017 и RU 2582963, 27.04.2016), а также для нормализации микрофлоры кишечника, нарушенной из-за стресса (патент RU 2681217, 05.03.2019). В документе «Противоязвенные эффекты селанка и его фрагментов» раскрыта возможность применения селанка для поддержания гомеостаза слизистой оболочки желудка [8]. Установлено, что селанк проявляет протекторные противоязвенные свойства, повышая устойчивость слизистой оболочки желудка к действию различных ульцерогенных факторов.

[020] Схожие по структуре к селанку олигопептиды запатентованы в качестве ноотропных средств (патенты РФ RU2517209, 27.05.2014 и RU 2694233, 10.07.2019), нейропротекторов при поражении нервной ткани вследствие сахарного диабета (патент РФ RU 2484844, 20.06.2013), средств для лечения инсулиннезависимого сахарного диабета (патент RU 2403909, 20.11.2010), ишемического инсульта и черепно-мозговых травм (патент РФ RU 2431496, 20.10.2011), а также для профилактики и лечения язв желудочно-кишечного тракта (патент RU 2709503, 18.12.2019).

[021] В открытых источниках также достаточно активно представлены результаты исследований, обосновывающие возможность применения селанка при метаболическом синдроме и инсулиннезависимом сахарном диабете, т.е. в ситуациях, когда лечебный эффект препаратов принято связывать не с защитой бета-клеток поджелудочной железы от каких-либо повреждающих факторов, а с дополнительной стимуляцией функции этих клеток, либо с повышением чувствительности рецепторов в различных тканях к инсулину [4, 6, 10].

[022] Несмотря на обширность предложений по дополнительным показаниям к применению Thr-Lys-Pro-Arg-Pro-Gly-Pro (селанка) использование этого пептида для панкреопротекторного воздействия, включающего одновременную защиту внешнесекреторных клеток и инсулярного аппарата, в условиях воздействия панкреотоксичных агентов не было изучено.

[023] Раскрытие сущности изобретения

[024] Техническим результатом изобретения является увеличение панкреопротекторного действия при лечении и профилактике деструктивных изменений поджелудочной железы в части защиты внешнесекреторных клеток и инсулярного аппарата.

[025] Указанная выше техническая проблема решается, а технический результат достигается за счет применения пептида формулы Thr-Lys-Pro-Arg-Pro-Gly-Pro для защиты поджелудочной железы от токсического воздействия.

[026] Указанный технический результат также достигается в способе лечения токсического деструктивного панкреатита, который предусматривает введение пациенту в эффективной дозировке указанного пептида формулы Thr-Lys-Pro-Arg-Pro-Gly-Pro. В частных случаях реализации способа пептид вводят ежедневно подкожно или интраназально в виде курсов длительностью от 2 до 3 недель.

[027] Краткое описание чертежей

[028] Изобретение поясняется фигурами.

[029] На фиг. 1 показаны результаты гистологического исследования ткани поджелудочной железы для оценки влияния трехнедельного внутрижелудочного введения нимесулида 20 мг/кг и жировой диеты, примененных для моделирования состояния подострого панкреатита у лабораторных крыс (контроль), окраска по Масону (а) и гематоксилином и эозином (б, в, г).

[030] На фиг. 2 показаны результаты гистологического исследования поджелудочной железы для оценки терапевтического эффекта известного панкреопро-текторного средства - октреотида на морфологию этого органа у лабораторных крыс, подвергнутых трехнедельному внутрижелудочному воздействию нимесулида 20 мг/кг и жировой диеты, окраска по Масону (а, б) и гематоксилином и эозином (в), увеличение: а - 160, б, в - 200.

[031] На фиг. 3 показаны результаты гистологического исследования поджелудобной железы для оценки панкреопротекторного эффекта препарата «Селанк» на морфологические изменения поджелудочной железы у лабораторных крыс, подвергнутых трехнедельному внутрижелудочному воздействию нимесулида 20 мг/кг и жировой диеты, окраска по Масону, увеличение: а, б - 200.

[032] На фиг. 4 показаны результаты гистологического исследования поджелудочной железы для оценки влияния двухнедельного введения сочетания препаратов «Амфотерицин В» и «Гентамицин», примененных в токсических дозировках для моделирования состояния подострого панкреатита у лабораторных крыс (контроль), окраска по Масону (а-г), гематоксилин-эозином (д-з), увеличение: а - 200, б-з - 160.

[033] На фиг. 5 показаны результаты гистологического исследования поджелудочной железы для оценки терапевтического эффекта курсового подкожного или интраназального применения препарата «Селанк» на морфологию этого органа у лабораторных крыс, подвергнутых двухнедельному воздействию сочетанием амфотерицина В+ гентамицина в токсических дозировках, окраска по Масону (а) и гематоксилин-эозином (б, в, г), увеличение: а, в - 200; б, г - 160.

[034] На фиг. 6 показаны результаты стереометрического исследования влияние препаратов «Селанк» и «Октреотид» на соотношение структурных компонентов ткани поджелудочной железы лабораторных крыс в условиях 3-недельной интоксикации нимесулидом (20 мг/кг) с дополнительным применением жировой диеты.

[035] На фиг. 7 показаны результаты стереометрического исследования влияния интраназального и подкожного применения препарата «Селанк» на соотношение

структурных компонентов ткани поджелудочной железы лабораторных крыс в условиях 2-недельной интоксикации амфотерицином Б в сочетании с гентамицином.

[036] Осуществление изобретения

[037] Сущность группы изобретения заключается в использовании курсового применения по новому назначению известного олигопептидного препарата «Селанк», относящегося по структуре к гептапептидам и имеющего структурную формулу THR-LYS-PRO-ARG-PRO-GLY-PRO, в качестве лекарственного средства для профилактики и лечения деструктивных изменений в различных клетках ткани поджелудочной железы в условиях острого, подострого или хронического воспалительного процесса.

[03 8] Для подтверждения эффективности предложенных изобретений были проведены две серии экспериментов, поставленные на лабораторных животных.

[039] Пример 1

[040] Пример демонстрирует терапевтическую эффективность препарата «Селанк» в условиях острого токсического панкреатита в отношении одновременной защиты структуры и функции внешнесекреторных клеток и инсулярного аппарата поджелудочной железы в сравнении с эталонным средством препаратом «Октреотид».

[041] Методика моделирования патологии поджелудочной железы основывалась на сообщениях о высокой панкреотоксичности нестероидного противовоспалительного средства Нимесулид, доказанных в эксперименте на лабораторных крысах [5], и предполагала ежедневное внутрижелудочное введение этим животным данного препарата в дозировке 20 мг/кг в течение 3 недель. Кроме того, дополнительно применялась жировая диета, следующего состава: 25% - копченый свиной шпик, 25% - маргарин, 50% - стандартный гранулированный корм для крыс марки ЛБК-120. Были сформированы 4 экспериментальные группы по 8 крыс: одна интактная и три опытные. Экспериментальная подкожная фармакотерапия заключалась в применении селанка (0,3 мг/кг), октреотида (0,03 мг/кг). Контрольные животные вместо лечения получали подкожные инъекции 0,9% хлорида натрия в объеме 0,1 мл/100 г. По окончанию эксперимента под прикрытием ветеринарного препарата «Золетил» у всех животных из сонной артерии брали кровь для проведения биохимического анализа, а также внутренние органы для проведения детального гистологического исследования, включая морфометрию.

[042] В табл. 1 показаны результаты анализов крови по биохимическим показателям, характеризующим функцию поджелудочной железы при трехнедельном применении нимесулида (20 мг/кг) и жировой диеты.

[043] Таблица 1

| Экспериментальные группы | Глюкоза (ммоль/л) | Альфа-амилаза панкреатическая (ед/л) | Липаза ед/л |
|---|---|---|---|
| Интактные | 5,62±0,42 | 1622±59 | 218,2±15,6 |
| Контроль | 9,55±0,77* | 1245±81* | 114,6±9,6* |
| Окреотид | 7,93±0,94 | 1355±85* | 155,0±12,0* |
| Селанк | 7,21±0,69*/** | 1504±87** | 174,5±12,2*/** |

* Разница с интактными животными достоверна (P≤0,05).

** Разница с контролем достоверна (P≤0,05).

[044] По данным биохимического анализа смоделированная патология приводила у контрольных животных к резкому росту уровня глюкозы, а также вызывала резкое падение активности липазы и амилазы, что свидетельствовало о поражении внутренней

и внешней секреции исследуемого органа. Применение в этих условиях октреотида и селанка нормализовало, как эндо- так и экзокринную функцию поджелудочной железы, оцениваемую по данным показателям. Причем, применение селанка вызывало достоверный положительный сдвиг исследуемых показателей по сравнению с контролем. Октреотид такой степени достоверности при нивелировании патологических сдвигов биохимических параметров крови не достигал.

[045] Результаты гистологического исследования ткани поджелудочной железы контрольных крыс, подвергнутых трехнедельной интоксикации большими дозировками нимесулида, показаны на фиг. 1:

[046] 1а. Атрофия и склероз островка Лангерганса и внутридольковый склероз.

[047] 1б. Междольковая строма резко увеличена в результате склероза, умеренная мононуклеарная воспалительная инфильтрация.

[048] 1в. Перипанкреатическая клетчатка диффузно инфильтрирована воспалительными мононуклеарными клетками.

[049] 1г. Склерозированная междольковая строма с резко крупными расширенными междольковыми протоками, застоем секрета и множеством мелких протоков.

[050] Проведенные исследования выявили выраженное склерозирующее действие токсических дозировок нимесулида в отношении островков Лангерганса, часть из которых подвергалась атрофии. Склерозирующие изменения в сочетании с умеренной мононуклеарной инфильтрацией воспалительными клетками были также отмечены в междольковой строме и в перипанкреатической клетчатке. Междольковые протоки оказывались расширенными и были заполнены секретом.

[051] На фиг. 2 показаны результаты курсового применения октреотида в условиях панкреатита, спровоцированного нимесулидом и жировой диетой:

[052] 2а. Склерозированный островок Лангерганса с тонкопетлистой сетью коллагеновых волоко; междольковая строма увеличена, склерозирована и инфильтрирована воспалительными клетками;

[053] 2б. Междольковая строма увеличена, склерозирована и инфильтрирована воспалительными клетками; ацинусы без изменений;

[054] 2в. Крупный расширенный междольковый проток с застоем секрета и множеством мелких протоков.

[055] В целом, применение октреотида в условиях смоделированной патологии не оказывало протекторного эффекта в отношении островков Лангерганса, однако несколько ослабляло пролиферативные воспалительные изменения в строме органа и умеренно увеличивало число внешнесекреторных клеток поджелудочной железы, хотя и не препятствовало своевременной эвакуации их секрета.

[056] На фиг. 3 показаны результаты курсового применения селанка при токсическом панкреатите, спровоцированным нимесулидом:

[057] 3а. Гипертрофированный островок Лангерганса с септами из колагеновых волокон; ацинусы неизменены;

[058] 3б. Междольковая строма небольшой площади без воспалительной инфильтрации с нормальным междольковым протоком; ацинусы неизменены.

[059] Таким образом, по данным гистологии применение селанка, в отличие от октреотида, вызывало защитный эффект в отношении инсулярного аппарата, выразившегося в появлении гипертрофированных островков Лангерганса. Защитное влияние селанка по сохранению числа внешнесекреторных клеток поджелудочной железы было сходным с октреотидом, однако селанк вызывал более выраженное противодействие воспалению в междольковой строме и перипанкреатической клетчатке,

а также нормализовал эвакуацию внешнего секрета.

[060] Результаты стереометрического исследования поджелудочной железы, представленные на фиг. 6, свидетельствовали об отличительной способности селанка эффективно защищать инсулярный аппарат, что выражалось в сохранении под влиянием этого препарата площадей, занимаемых островками Лангерганса, которые из-за токсического воздействия сокращались в контроле и при использовании октреотида на 33%.

Кроме того, только при применении селанка удалось достоверно (на 30,5%) снизить площади соединительнотканных полей, отражающих интенсивность воспалительного процесса. Эффективность селанка и октреотида в отношении предотвращения снижения площадей, занимаемых внешнесекреторными клетками поджелудочной железы (ацинусами), была выражена примерно в одинаковой степени.

[061] Пример 2

[062] Пример демонстрирует терапевтическую эффективность препарата селанк в условиях острого токсического панкреатита в отношении одновременной защиты структуры и функции внешнесекреторных клеток и инсулярного аппарата поджелудочной железы при его подкожном и интраназальном применении.

[063] Методика моделирования панкреатита была основана о сообщениях о выраженной панкреотоксичности некоторых антибиотиков [11] и включала ежедневное внутрибрюшинное введение крысам препаратов «Гентамицин» (100 мг/кг)+ «Амфотерицин В» (1000 ЕД/кг) в течение 2 недель. В опыте были задействованы: 1 интактная и 3 опытные группы по 8 особей в каждой. Экспериментальная терапия заключалась в применении селанка подкожно (0,3 мг/кг) и интраназально (0,3 мг/кг). Контрольные животные вместо лечения получали подкожные инъекции 0,9% хлорида натрия в объеме 0,1 мл/100 г. За сутки до окончания эксперимента у животных отбирались пробы суточной мочи. По окончанию эксперимента под прикрытием ветеринарного препарата «Золетил» у всех крыс из сонной артерии брали кровь для проведения биохимического анализа, а также внутренние органы для проведения детального гистологического исследования, включая морфометрию.

[064] В табл. 2 показаны результаты биохимического исследования показателей мочи и крови, характеризующих функцию поджелудочной железы в условиях токсического панкреатита, спровоцированного сочетанием амфотерицина В и гентамицина при подкожном и интраназальном применении селанка.

[065] Таблица № 2.

| Экспериментальные группы | Глюкоза (моча) ммоль/л | Глюкоза (кровь) ммоль/л | Липаза (кровь) Ед/л |
|---|---|---|---|
| Интактные | 0 | 5,75±0,45 | 145,2±11,5 |
| Контроль | 1,6±0,2* | 8,16±0,57* | 92,5±9,1* |
| Селанк (подкожно) | 0,3±0,1** | 6,22 ±0,48** | 134,1±8,9** |
| Селанк (интраназально) | 0,6±0,3** | 6, 49±0,39** | 129,8±7,9** |

* Разница с интактными животными достоверна ($P \leq 0,05$).

** Разница с контролем достоверна ($P \leq 0,05$).

[066] Согласно предоставленным данным, интоксикация указанными антибиотиками вызвала выраженные нарушения в работе как эндокринного, так и экзокринного отделов поджелудочной железы. О сбоях в функционировании инсулярного аппарата

свидетельствовали повышенный на 42% уровень глюкозы в крови и факт обнаружения этого углевода в моче. О нарушениях в работе внешнесекреторных клеток свидетельствовало снижение уровня липазы крови на 36%. Подкожное и интраназальное применение селанка с практически одинаковой эффективностью достоверно нивелировало отмеченные сдвиги.

[067] На фиг. 4 показаны результаты гистологического исследования образцов ткани поджелудочной железы, отобранных у контрольной группы животных:

[068] 4а. Склероз островка Лангерганса;

[069] 4б. Тонкопетлистая сеть коллагеновых волокон в островке Лангерганса;

[070] 4в, г. Воспалительный мононуклеарный инфильтрат и склероз в междольковой строме;

[071] 4 г, д. Очаговый некроз и гнойное расплавление перипанкреатической клетчатки;

[072] 4ж. Гранулематозное воспаление с образованием гигантских клеток инородных тел;

[073] 4з. Расширение междолькового протока с накоплением в просвете белковых масс.

[074] Таким образом, гистологические исследования выявили в контроле грубые морфологические изменения в ткани поджелудочной железы, затрагивающие структуры, ответственные за внутреннюю и внешнюю секрецию. В частности, в островках Лангерганса были зарегистрированы выраженные склеротические и атрофические процессы. Экзокринная часть органа, представленная ацинусами и внутридольковыми протоками, подвергалась некрозу и гнойному воспалению с переходом этого процесса на перипанкреатическую клетчатку.

[075] На фиг. 5 представлены результаты гистологического исследования ткани поджелудочной железы крыс с модельной патологией после курсового подкожного или интраназального применения селанка:

[076] 5а. Склерозированный островок Лангерганса;

[077] 5б. Нормальный островок Лангерганса, неизмененные ацинусы;

[078] 5в, г. Тяжи грубоволокнистой соединительной ткани в междольковой строме; неизмененные ацинусы.

[079] Применение селанка при обоих исследуемых способах введения препарата полностью предотвращало возникновение гнойного воспаления среди внешнесекреторных клеток и снижало интенсивность пролиферативных воспалительных явлений в строме органа. Защитный эффект селанка проявлялся и в отношении инсулярного аппарата, где степень выраженности склеротических изменений была существенно ниже контроля, а факты атрофии полностью отсутствовали. Более того, среди островков Лангерганса были также отмечены структуры без каких-либо признаков повреждения.

[080] Стереометрические исследования (см. фиг. 7) подтвердили практически полную идентичность защитного эффекта селанка, вводимого инъекционно и интра-назально. Применение этого препарата на фоне смоделированной патологии полностью сохраняло удельную площадь инсулярного аппарата и достоверно минимизировало повышение сегмента соединительнотканных элементов, происходившего за счет деструкции внешнесекреторных клеток, что с высокой степенью корреляции соответствовало сдвигам биохимических функциональных показателей в деятельности поджелудочной железы.

[081] Таким образом, было достоверно установлено, что препарат «Селанк» при интраназальном и инъекционном курсовом применении в условиях деструктивного

токсического панкреатита обладает выраженной панкреопротекторной активностью в сравнении с аналогами как в части защиты внешнесекреторных клеток, так и части защиты инсулярного аппарата поджелудочной железы, что подтверждается не только нормализирующим влиянием препарата на биохимические показатели крови, характеризующие функциональное состояние органа, но и сохранением его ультраструктуры.

[082] Список цитируемых источников

[083] 1. Булгаков С.А. Гексапептид даларгин в клинической гастроэнтерологии: 30-летний опыт использования препарата // Российский Журнал Гастроэнтерологии, Гепатологии, Колопроктологии. 2016. №3 (26). С. 103-112.

[084] 2. Винник Ю.С., Дунаевская С.С., Антюфриева Д.А. Нарушение углеводного обмена при неблагоприятном течении тяжелого острого панкреатита // Сибирское Медицинское Обозрение. 2016. №6 (102). С. 36-40.

[085] 3. Кондратенко П.Г. [и др.]. Хирургическая тактика при остром некротическом панкреатите // Украинский Журнал Хирургии. 2013. №3 (22). С. 150-155.

[086] 4. Королева С.В., Мясоедов Н.Ф. Физиологические эффекты селанка и его фрагментов // Известия Российской Академии Наук. Серия Биологическая. 2019. №4. С. 429-438.

[087] 5. Лазаренко Л.В. [и др.]. Патоморфологические изменения ткани поджелудочной железы крыс при длительном приеме нимесулида // Пермский Медицинский Журнал. 2016. №4 (33). С. 78-81.

[088] 6. Ляпина Л.А. [и др.]. Пептидная регуляция метаболических процессов при гиперхолестеринемических состояниях организма // Известия Российской Академии Наук. Серия Биологическая. 2015. №6. С. 634.

[089] 7. Нестеренко Ю.А., Лаптев В.В., Михайлусов С.В. Диагностика и лечение деструктивного панкреатита / Ю.А. Нестеренко, В.В. Лаптев, С.В. Михайлусов, БИНОМ-Пресс, 304 с.

[090] 8. Павлов Т.С. Противоязвенные эффекты селанка и его фрагментов /Автореферат диссертации на соискание ученой степени кандидата биологических наук / Павлов Т.С. // МГУ им. М.В. Ломоносова. 2006 г. 2006. С. 23.

[091] 9. Проценко С.И., Вискунов В.Г., Федоренко В.Н. Применение октреотида при лечении острого геморрагического панкреонекроза и его новые эффекты // Бюллетень Сибирского Отделения Российской Академии Медицинских Наук. 2010. №5 (30). С. 40-45.

[092] 10. Ульянов А.М. [и др.]. Антидиабетогенное действие пептидов Pro-Gly-Arg и Pro-Gly-Pro-Arg при их многократном интраназальном введении животным // Известия Российской Академии Наук. Серия Биологическая. 2009. №6. С. 740-744.

[093] 11. Филиппова А.В., Павлеева Е.Е., Остроумова О.Д. Лекарственные препараты, прием которых ассоциирован с развитием лекарственно-индуцированного панкреатита: фокус на редко обсуждаемые классы препаратов // Медицинский Алфавит. 2021. №29. С. 33-39.

Перечень последовательностей

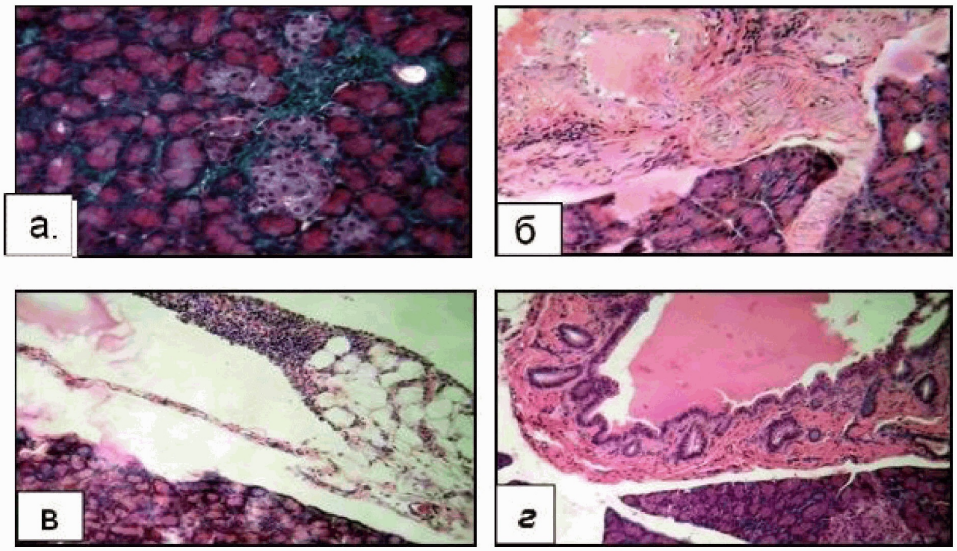
```
<?xml version="1.0" encoding="UTF-8"?>
<!DOCTYPE ST26SequenceListing PUBLIC "-//WIPO//DTD Sequence Listing
1.3//EN" "ST26SequenceListing_V1_3.dtd">
<ST26SequenceListing   dtdVersion="V1_3" fileName="RU2023123881
Sequence.xml" softwareName="WIPO Sequence" softwareVersion="2.3.0"
productionDate="2024-09-18">
```

```
 <ApplicationIdentification>
  <IPOfficeCode>RU</IPOfficeCode>
  <ApplicationNumberText>2023123881</ApplicationNumberText>
  <FilingDate>2023-09-15</FilingDate>
 </ApplicationIdentification>
 <ApplicantFileReference>23-27</ApplicantFileReference>
 <ApplicantName languageCode="ru">Акционерное общество
&amp;quot;Инновационный научно-производственный центр
&amp;quot;Пептоген&amp;quot;</ApplicantName>
 <ApplicantNameLatin>Aktsionernoe obshchestvo Innovatsionnyi
nauchno-proizvodstvennyi tsentr Peptogen</ApplicantNameLatin>
 <InventorName languageCode="ru">Смирнов Николай
Алексеевич</InventorName>
 <InventorNameLatin>Smirnov Nikolai Alekseevich</InventorNameLatin>
 <InventionTitle languageCode="ru">Применение пептида
Thr-Lys-Pro-Arg-Pro-Gly-Pro для защиты инсулярного аппарата
поджелудочной железы и её экзокринного отдела от токсических
деструктивных воздействий</InventionTitle>
 <SequenceTotalQuantity>1</SequenceTotalQuantity>
 <SequenceData sequenceIDNumber="1">
  <INSDSeq>
   <INSDSeq_length>7</INSDSeq_length>
   <INSDSeq_moltype>AA</INSDSeq_moltype>
   <INSDSeq_division>PAT</INSDSeq_division>
   <INSDSeq_feature-table>
    <INSDFeature>
     <INSDFeature_key>source</INSDFeature_key>
     <INSDFeature_location>1..7</INSDFeature_location>
     <INSDFeature_quals>
      <INSDQualifier>
       <INSDQualifier_name>mol_type</INSDQualifier_name>
       <INSDQualifier_value>protein</INSDQualifier_value>
      </INSDQualifier>
      <INSDQualifier id="q6">
       <INSDQualifier_name>organism</INSDQualifier_name>
       <INSDQualifier_value>synthetic construct</INSDQualifier_value>
      </INSDQualifier>
     </INSDFeature_quals>
    </INSDFeature>
   </INSDSeq_feature-table>
   <INSDSeq_sequence>TKPRPGP</INSDSeq_sequence>
  </INSDSeq>
 </SequenceData>
</ST26SequenceListing>
```


## (57) Формула изобретения

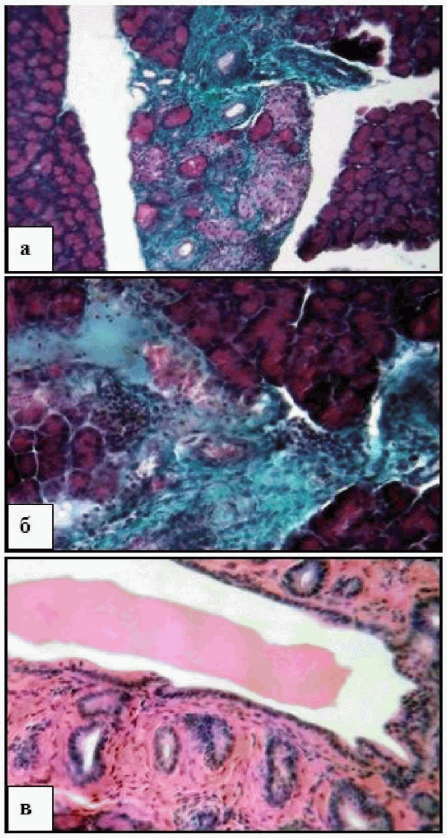
Применение пептида, характеризующегося аминокислотной последовательностью SEQ ID NO 1, для защиты поджелудочной железы от токсического воздействия.

1

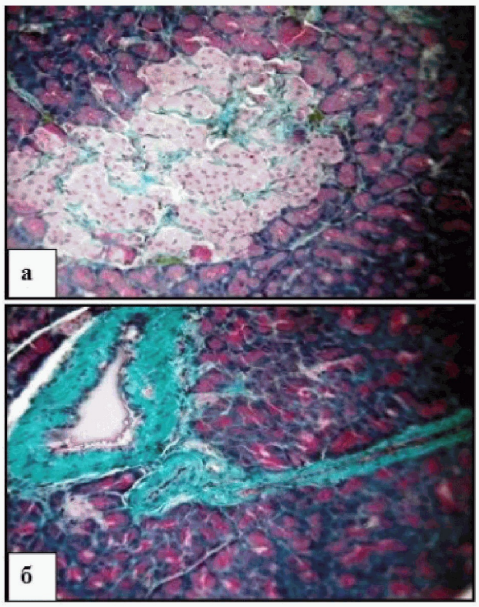



Фиг. 1

2

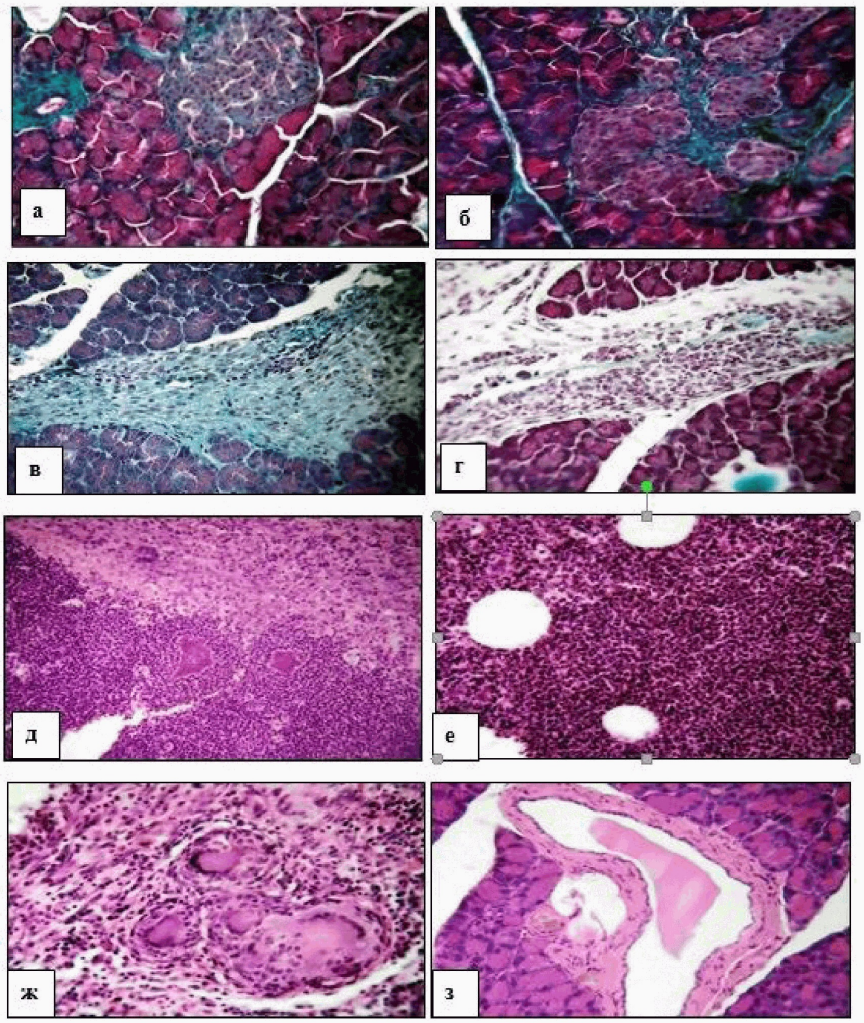



Фиг. 2



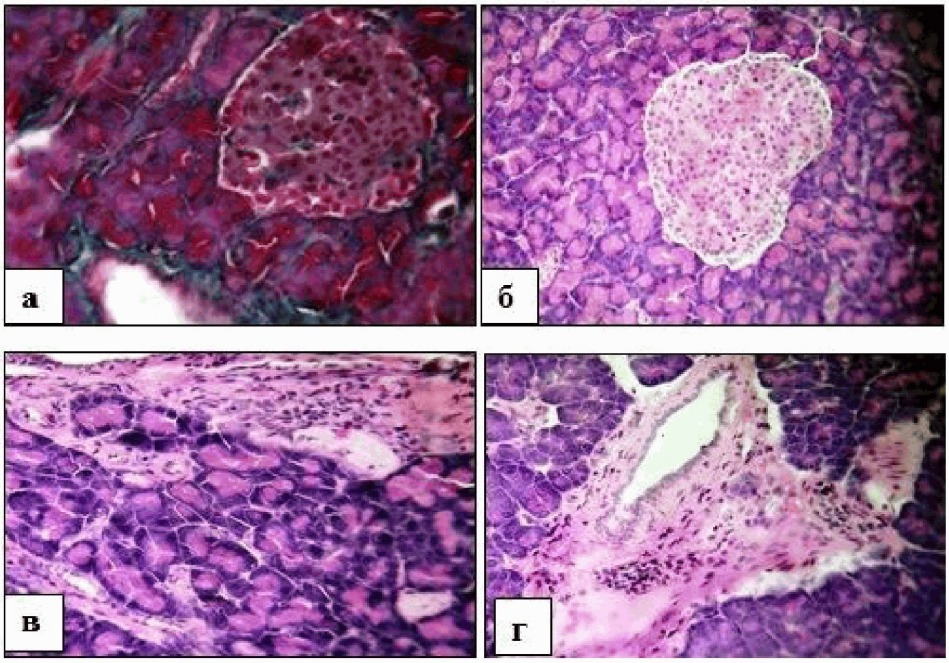

Фиг. 3

3

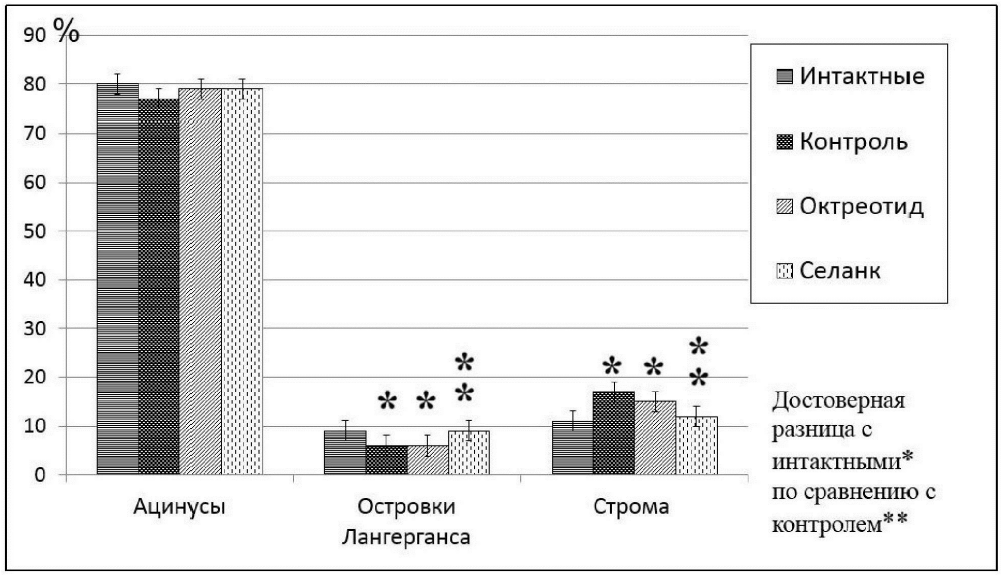



Фиг. 4

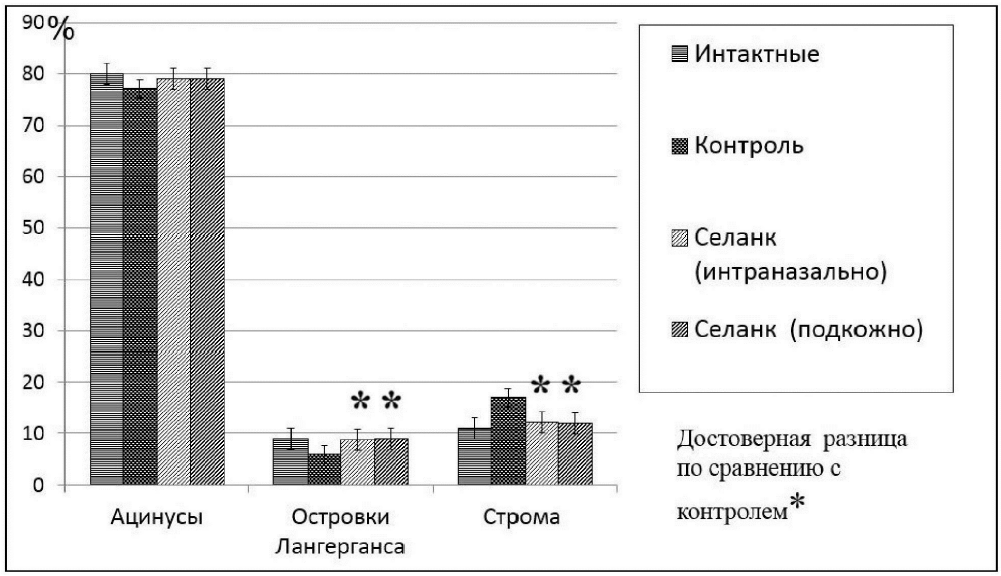
4




Фиг. 5


90 %
80
70
60
50
40
30
20
10
0
Ацинусы
Островки Лангерганса
Строма
Интактные
Контроль
Октреотид
Селанк
Достоверная разница с интактными*
по сравнению с контролем**

**Фиг. 6**


90 %
80
70
60
50
40
30
20
10
0
Ацинусы
Островки Лангерганса
Строма
Интактные
Контроль
Селанк (интраназально)
Селанк (подкожно)
Достоверная разница по сравнению с контролем*

**Фиг. 7**