РОССИЙСКАЯ ФЕДЕРАЦИЯ

ФЕДЕРАЛЬНАЯ СЛУЖБА
ПО ИНТЕЛЛЕКТУАЛЬНОЙ СОБСТВЕННОСТИ

(19) **RU** (11) **2 705 592**(13) **C1**

(51) МПК
C07K 7/06 (2006.01)
A61K 38/08 (2006.01)
A61P 25/00 (2006.01)

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ПАТЕНТУ

(52) СПК
C07K 7/06 (2019.08); A61K 38/08 (2019.08); A61P 25/00 (2019.08)

(21)(22) Заявка: **2019105421, 26.02.2019**

(24) Дата начала отсчета срока действия патента:
26.02.2019

Дата регистрации:
11.11.2019

Приоритет(ы):
(22) Дата подачи заявки: **26.02.2019**

(45) Опубликовано: **11.11.2019** Бюл. № **32**

Адрес для переписки:
305041, г. Курск, ул. К. Маркса, 3, КГМУ, отдел менеджмента научных разработок и интеллектуальной собственности, Куприяновой З.Н.

(72) Автор(ы):
Бобынцев Игорь Иванович (RU),
Алферова Марина Евгеньевна (RU),
Тенькова Анна Николаевна (RU),
Белых Андрей Евгеньевич (RU),
Ворвуль Антон Олегович (RU),
Телегина Ирина Артуровна (RU),
Музалева Юлия Александровна (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 2429003 C1, 20.09.2011. RU 2206573 C1, 20.06.2003. RU 2480232 C1, 27.04.2013.**

(54) Применение пептида Gly-His-Lys-Gly-Pro для достижения анксиолитического эффекта

(57) Реферат:

Изобретение относится к медицине, а именно к фармакологии, патофизиологии и физиологии. Сущностью изобретения является применение пептида Gly-His-Lys-Gly-Pro с целью достижения анксиолитического эффекта. Изобретение позволяет достичь анксиолитического эффекта при применении различных доз пептида Gly-His-Lys-Gly-Pro. 2 табл., 1 пр.

RU 2705592 C1

RU 2705592 C1

RUSSIAN FEDERATION

FEDERAL SERVICE
FOR INTELLECTUAL PROPERTY

(19) **RU** (11) **2 705 592**(13) **C1**

(51) Int. Cl.
C07K 7/06 (2006.01)
A61K 38/08 (2006.01)
A61P 25/00 (2006.01)

(12) ABSTRACT OF INVENTION

(52) CPC
C07K 7/06 (2019.08); A61K 38/08 (2019.08); A61P 25/00 (2019.08)

(21)(22) Application: **2019105421, 26.02.2019**

(24) Effective date for property rights:
26.02.2019

Registration date:
11.11.2019

Priority:
(22) Date of filing: **26.02.2019**

(45) Date of publication: **11.11.2019** Bull. № **32**

Mail address:
305041, g. Kursk, ul. K. Marksa, 3, KGMU, otdel menedzhmenta nauchnykh razrabotok i intellektualnoj sobstvennosti, Kupriyanovoj Z.N.

(72) Inventor(s):
Bobyntsev Igor Ivanovich (RU),
Alferova Marina Evgenevna (RU),
Tenkova Anna Nikolaevna (RU),
Belykh Andrej Evgenevich (RU),
Vorvul Anton Olegovich (RU),
Telegina Irina Arturovna (RU),
Muzaleva Yuliya Aleksandrovna (RU),
Andreeva Lyudmila Aleksandrovna (RU),
Myasoedov Nikolaj Fedorovich (RU)

(73) Proprietor(s):
federalnoe gosudarstvennoe byudzhetnoe obrazovatelnoe uchrezhdenie vysshego obrazovaniya "Kurskij gosudarstvennyj meditsinskij universitet" Ministerstva zdravookhraneniya Rossijskoj Federatsii (RU)

(54) USE OF PEPTIDE Gly-His-Lus-Gly-Pro TO ACHIEVE ANXIOLYTIC EFFECT

(57) Abstract:

FIELD: medicine.

SUBSTANCE: invention refers to medicine, namely to pharmacology, pathophysiology and physiology. Substance of invention is use of peptide Gly-His-Lys-Gly-Pro to achieve anxiolytic effect.

EFFECT: invention enables to achieve anxiolytic effect when using different doses of peptide Gly-His-Lys-Gly-Pro.

1 cl, 2 tbl, 1 ex

RU 2705592 C1

RU 2705592 C1

Изобретение относится к медицине, а именно к фармакологии, патофизиологии и физиологии, и может быть использовано для получения анксиолитического эффекта при применении пептида Gly-His-Lys-Gly-Pro в различных дозировках.

Пептид Gly-His-Lys-Gly-Pro состоит из двух составных частей: плазменного медьсвязывающего пептида Gly-His-Lys и глипролина Gly-Pro. Трипептид Gly-His-Lys в свою очередь обладает широким спектром биологических эффектов, в том числе нейротропным, антиоксидантным действием, участвует в процессах регенерации. [Effects of copper tripeptide on the growth and expression of growth factors by normal and irradiated fibroblasts/ J.D. Pollard, S. Quan, T. Kang, R.J. Koch// Arch. Facial Plast. Surg. - 2005. - 7. - С. 27-31]. Отдельно стоит выделить анксиолитический эффект пептида Gly-His-Lys. [Исследование анксиолитических эффектов пептида Gly-His-Lys и его аналогов/ И.И. Бобынцев, О.И. Чернышева, М.Е. Долгинцев и др.// Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. - 2014. - 12. - С. 684-687]. Биологические эффекты пептида Gly-His-Lys являются относительно непродолжительными вследствие деградации молекулы протеазами. Для пролонгирования действия пептида возможно присоединение пептидной последовательности с пролином с целью защиты от действия протеаз. [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 свою очередь глипролины при присоединении к С-концу трипептида Gly-His-Lys способны не только увеличивать его устойчивость к протеазам, но и модифицировать биологические эффекты данного пептида. В настоящее время установлено, что пептид Gly-Pro обладает способностью к снижению свертывания крови, уменьшению тромбообразования, оказывает антиульцирогенное, а также нейропротекторное и противострессовое действие [Ашмарин, И.П. Глипролины в составе регуляторных трипептидов/ И.П. Ашмарин// Нейрохимия. - 2007. - Т. 24, №1. - С. 5-7].

Однако в литературных источниках отсутствуют данные об анксиолитическом эффекте пептида Gly-His-Lys-Gly-Pro. Данное исследование было проведено впервые.

Технический результат изобретения: применение пептида Gly-His-Lys-Gly-Pro для достижения анксиолитического эффекта.

Технический результат изобретения достигается путем применения пептида Gly-His-Lys-Gly-Pro для анксиолитического эффекта. Нами был использован препарат, разработанный и синтезированный в Институте молекулярной генетики РАН. Растворенный в изотоническом растворе хлорида натрия пептид Gly-His-Lys-Gly-Pro вводился экспериментальным животным (крысы) парентерально (внутрибрюшинно) однократно в дозах 0,5, 5,0 и 50,0 мкг/кг массы тела за 15 минут до проведения эксперимента. Для изучения анксиолитического эффекта использовались методики, основанные на ненаказуемом (методика приподнятого крестообразного лабиринта) и наказуемом (тест конфликтной ситуации по Vogel) поведении.

Пример конкретного выполнения.

Эксперимент был выполнен на крысах-самцах Wistar массой 170-190 г. Животные содержались в стандартных условиях при температуре 22-24°С, двенадцатичасовом световом режиме и на стандартном рационе питания и питья без ограничения. Для проведения эксперимента животные были разделены на группы по 10 особей в каждой.

Анксиолитическое действие пептида Gly-His-Lys-Gly-Pro оценивалось при помощи методики приподнятого крестообразного лабиринта и теста конфликтной ситуации по

Vogel согласно рекомендациям. [Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств. Часть первая. / под. ред. А.Н. Миронова. - М.: Гриф и К, 2012. - 944 с.].

Методика приподнятого крестообразного лабиринта является методикой, основанной на ненаказуемом поведении с целью определения анксиолитического эффекта вещества. Лабиринт представляет собой установку, состоящую из центральной площадки и крестообразно расходящихся от нее под прямым углом четырех рукавов, два противоположных из которых открыты (без стенок), а два других закрыты (имеют стенки). При этом лабиринт приподнят на расстоянии 1 м над полом. Согласно данной методики, животное предварительно выдерживалось 2 минуты в темной камере, затем помещалось в лабиринт на центральную площадку головой к открытому рукаву. В течении 5 минут регистрировалось поведение животного, а именно: время пребывания в открытых, закрытых рукавах, а также на центральной площадке, количество заходов в открытые и закрытые рукава, латентный период первого захода в открытый рукав, число свешиваний с открытых рукавов и др. (таб. 1).

Методика конфликтной ситуации по Vogel основана на наказуемом поведении с целью определения анксиолитического эффекта. Согласно данной методике, животное предварительно лишалось воды на 24 часа, при этом пища не ограничивалась, затем вырабатывался навык взятия воды из поилки, путем помещения крысы в камеру для проведения эксперимента на 5 минут, где она получала доступ к воде без наказания. Затем крысе давали возможность пить в собственной клетке в течение 20 минут, и снова лишали воды на 24 часа. Затем животное снова помещали в камеру для эксперимента на 5 минут, давали возможность пить, при этом каждое взятие воды наказывалось электроболевым раздражением малой силы. В данной методике регистрировались время латентного периода первого взятия воды, общая продолжительность питья в тесте, число наказуемых взятий воды, число шоков и др. (таб. 2).

Эксперименты проводились при помощи экспериментальных установок и программного обеспечения для регистрации и обработки данных фирмы Panlab (Испания).

Пептид, растворенный в физиологическом растворе, животным вводился внутрибрюшинно, однократно в дозах 0,5, 5,0 и 50,0 мкг/кг массы тела за 15 минут до исследования анксиолитического эффекта. Контрольным животным вводился физиологический раствор в эквивалентном объеме.

Для выявления достоверных различий результатов использовался непараметрический критерий Манна-Уитни для сравнения двух независимых выборок.

В результате проведенного исследования установлено, что пептид Gly-His-Lys-Gly-Pro в приподнятом крестообразном лабиринте в дозе 0,5 мкг/кг достоверно уменьшает общее время нахождения в закрытых рукавах лабиринта, увеличивается число свешиваний с открытых рукавов. В дозе 5,0 мкг/кг достоверно увеличивалось время нахождения в открытых рукавах и уменьшилось время нахождения в закрытых рукавах по сравнению с контрольной группой, а также достоверно возрастала пройденная дистанция в открытых рукавах и в центре (таб. 1).

Таблица 1. Анксиолитический эффект пептида Gly-His-Lys-Gly-Pro (GHK-GP) в приподнятом крестообразном лабиринте.

Исследуемый показатель	Контрольная группа	GHK-GP 0,5 мкг/кг	GHK-GP 5,0 мкг/кг	GHK-GP 50,0 мкг/кг
Число заходов в открытые рукава	1,1 (-0,2-2,3)	4,2 (1,4-7,0)	2,2 (0,7-3,7)	1,8 (0-3,6)
Число заходов в закрытые рукава	22,6 (-9,6-54,8)	10,6 (5,2-16,0)	10,3 (3,9-16,7)	13,1 (8,4-17,8)
Число заходов в центр	23,5 (-8,9-55,9)	14,1 (7,7-20,5)	12,1 (5,1-19,1)	14,1 (8,7-19,5)
Латентный период захода в открытые рукава	110,2 (26,2-194,3)	44,2 (6,0-94,4)	62,5 (2,1-123,0	29,6 (-14,9-74,2)
Латентный период захода в закрытые рукава	2,2 (-1,0-5,5)	9,7 (1,7-17,7)*	29,0 (0-87,8)	12,3 (-0,8-25,4)*
Общее время в открытых рукавах (сек)	9,2 (3,7-14,7)	48,6 (17,4-79,8)	42,2 (20,8-63,7)*	28,8 (-5,5-63,2)
Общее время в закрытых рукавах (сек)	250,5 (214,6-286,3)	181,5 (125,1-237,9)*	161,8 (98,0-225,6)*	207,4 (148,4-266,4)
Число свешиваний с открытых рукавов	2,6 (0,5-4,7)	7,3 (3,3-11,3)*	5,5 (2,8-8,2)	5,0 (1,6-8,4)
Пройденная дистанция в открытых рукавах	41,8 (15,7-67,8)	214,8 (76,0-353,7)	154,1 (82,2-226,0)*	141,1 (-44,2-326,4)
Пройденная дистанция в закрытых рукавах	971,1 (777,6-1164,5)	728,2 (564,0-892,5)	663,0 (448,0-877,9)	898,2 (576,3-1220,1)
Пройденная дистанция в центре	132,7 (44,9-220,4)	249,3 (151,7-347,0)	312,3 (187,4-437,2)*	242,9 (100,5-387,3)

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

По данным результатов теста конфликтной ситуации по Vogel в группе, которой вводили пептид GHK-GP в дозе 50,0 мкг/кг, достоверно увеличивалось число наказуемых

взятий воды (таб. 2).

Таблица 2. Анксиолитический эффект пептида Gly-His-Lys-Gly-Pro (GHK-GP) в тесте конфликтной ситуации по Vogel.

Исследуемый показатель	Контрольная группа	GHK-GP 0,5 мкг/кг	GHK-GP 5,0 мкг/кг	GHK-GP 50,0 мкг/кг
Латентный период первого взятия воды	29,8 (5,4-54,1)	17,8 (9,5-26,0)	32,2 (11,7-52,6)	30,0 (8,2-51,8)
Общая продолжительность питья в тесте	9,8 (-2,3-21,9)	4,7 (0,8-8,5)	36,8 (-1,9-75,5)	8,5 (3,0-13,9)
Число наказуемых взятий воды	50,6 (33,7-67,5)	42,8 (26,2-59,3)	50,529,1-71,9)	83,8 (34,4-133,1)*
Число шоков	2,4 (1,5-3,3)	2,1 (1,3-3,0)	2,5 (1,4-3,6)	3,9 (1,3-6,5)
Латентный период первого шока	35,9 (12,2-59,6)	22,0 (15,1-28,8)	42,9 (14,9-70,8)	36,9 (15,8-58,0)
Послешоковый латентный период	70,4 (46,6-94,2)	59,2 (37,1-81,3)	65,6 (45,9-85,2)	53,2 (30,0-76,5)

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

Таким образом, результаты исследования показывают наличие анксиолитического эффекта у пептида Gly-His-Lys-Gly-Pro в дозах 0,5, 5,0 и 50,0 мкг/кг массы тела. При ненаказуемом поведении (методика приподнятого крестообразного лабиринта) наиболее эффективными были дозы 0,5 и 5,0 мкг/кг, а при наказуемом поведении (тест конфликтной ситуации по Vogel) - доза пептида 50,0 мкг/кг.

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-Gly-Pro, имеющего формулу NH2-Gly-His-Lys-Gly-Pro-COOH, для достижения анксиолитического эффекта.