



ФЕДЕРАЛЬНАЯ СЛУЖБА
ПО ИНТЕЛЛЕКТУАЛЬНОЙ СОБСТВЕННОСТИ

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ПАТЕНТУ

(21)(22) Заявка: 2012111891/15, 27.03.2012

(24) Дата начала отсчета срока действия патента:
27.03.2012

Приоритет(ы):

(22) Дата подачи заявки: 27.03.2012

(45) Опубликовано: 27.07.2013 Бюл. № 21

(56) Список документов, цитированных в отчете о поиске: ZATTA AJ et al. Evidence that cardioprotection by postconditioning involves preservation of myocardial opioid content and selective opioid activation. Am. J. Physiol. Heart. Circ. Physiol. 2008 Mar; 294(3): H1444-51. RU 2163807 C2, 10.03.2001. RU 2320342 C2, 27.03.2008. US 5811451 A, 22.09.1998. WO 2005/079767 A2 01.09.2005. ЛИШМАНОВ Ю.Б. и др. (см. прод.)

Адрес для переписки:

634012, г.Томск, ул. Киевская, 111а, НИИ
кардиологии СО РАМН, патентоведу Н.Л.
Малюгиной

(72) Автор(ы):

Маслов Леонид Николаевич (RU),
Нарыжная Наталья Владимировна (RU),
Цибульнмков Сергей Юрьевич (RU),
Горбунов Александр Сергеевич (RU)

(73) Патентообладатель(и):

Федеральное государственное бюджетное
учреждение "Научно-исследовательский
институт кардиологии" Сибирского
отделения Российской академии
медицинских наук (RU)

(54) СРЕДСТВО, УВЕЛИЧИВАЮЩЕЕ УСТОЙЧИВОСТЬ СЕРДЦА К ИШЕМИЧЕСКИМ И ПОСЛЕДУЮЩИМ РЕПЕРФУЗИОННЫМ ПОВРЕЖДЕНИЯМ

(57) Реферат:

Предложено профилактическое применение блокатора опиоидных рецепторов СТАР в качестве средства, увеличивающего устойчивость сердца к ишемическим и последующим реперфузионным повреждениям. Показана способность СТАР предупреждать указанные повреждения (снижать массы зоны

некроза и зоны риска) при его введении за 25 мин до 30-минутной коронароокклюзии и последующей 3-часовой реперфузии. Изобретение может быть использовано для создания нового эффективного средства, увеличивающего устойчивость сердца к ишемическим и последующим реперфузионным повреждениям. 2 табл.

(56) (продолжение):

Блокада опиатных рецепторов и реакция сердца на повреждение при ишемии и реперфузии. Кардиология 1998 11 [он-лайн] [найдено 2011-11-20]. Найдено из базы данных GOOGLE.RU.

RU 2 488 404 C1

RU 2 488 404 C1



FEDERAL SERVICE
FOR INTELLECTUAL PROPERTY

(51) Int. Cl.
A61K 38/08 (2006.01)
A61K 9/10 (2006.01)

(12) ABSTRACT OF INVENTION

(21)(22) Application: **2012111891/15, 27.03.2012**

(24) Effective date for property rights:
27.03.2012

Priority:

(22) Date of filing: **27.03.2012**

(45) Date of publication: **27.07.2013 Bull. 21**

Mail address:

**634012, g.Tomsk, ul. Kievskaja, 111a, NII
kardiologii SO RAMN, patentovedu N.L.
Maljuginoj**

(72) Inventor(s):

**Maslov Leonid Nikolaevich (RU),
Naryzhnaja Natal'ja Vladimirovna (RU),
Tsibul'nmkov Sergej Jur'evich (RU),
Gorbunov Aleksandr Sergeevich (RU)**

(73) Proprietor(s):

**Federal'noe gosudarstvennoe bjudzhetnoe
uchrezhdenie "Nauchno-issledovatel'skij institut
kardiologii" Sibirskogo otdelenija Rossijskoj
akademii meditsinskikh nauk (RU)**

(54) AGENT IMPROVING CARDIAC RESISTANCE TO ISCHEMIC AND FOLLOWING REPERFUSION INJURIES

(57) Abstract:

FIELD: medicine.

SUBSTANCE: what is presented is the preventive use of an opioid receptor blocker 'CTAP' as an agent improving the cardiac resistance to ischemic and following reperfusion injuries. What is shown is an ability of 'CTAP' to prevent the above injuries (to

reduce a necrosis area and a risk area) when introduced 25 min before the 30-minute coronary occlusion and the following 3-hour reperfusion.

EFFECT: invention may be used for creating the new effective agent improving the cardiac resistance to ischemic and following reperfusion injuries.

2 tbl

RU 2 488 404 C1

RU 2 488 404 C1

Изобретение относится к разделу экспериментальной медицины и может быть использовано для создания нового эффективного средства, увеличивающего устойчивость сердца к ишемическим и последующим реперфузионным повреждениям.

Ишемическое-реперфузионное повреждение является патофизиологической основой такого социально значимого заболевания, как инфаркт миокарда. Кроме того, этот тип повреждения миокарда возникает при трансплантации сердца и является частым осложнением при операции с использованием искусственного кровообращения. Применяемые в клинической практике фармакологические агенты не способны значимо повлиять на ишемические-реперфузионные повреждения сердца. Например, для достижения 25% уменьшения размера некроза необходим 10-14-дневный курс милдроната [Sesti C. et al., 2006; Vilskersts R. et al., 2009]. По этой причине создание лекарственных средств, способных предупреждать ишемические и последующие реперфузионные повреждения сердца, является актуальной задачей фармакологии и кардиологии.

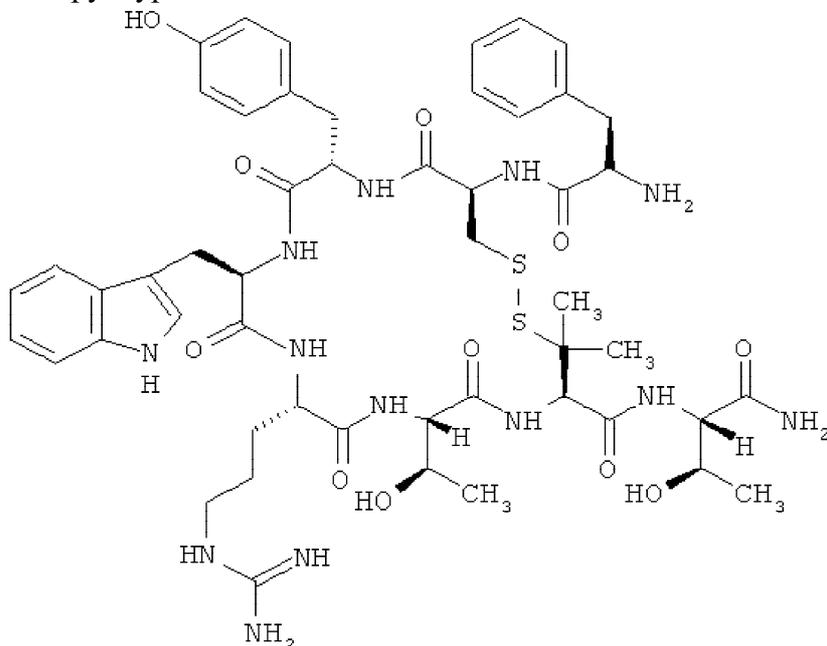
Задачей изобретения является расширение арсенала средств, увеличивающих устойчивость сердца к ишемическим и последующим реперфузионным повреждениям.

Представленная задача решается профилактическим применением блокатора опиоидных рецепторов СТАР в качестве средства, увеличивающего устойчивость миокарда к ишемическому и последующему реперфузионному повреждению.

Использованное средство СТАР было синтезировано в компании Сигма-Олдрич, США. По природе СТАР является циклическим пенициламин-содержащим октапептидом.

Химическая формула этого соединения
D-Phe-Cys-Tyr-D-Trp-Arg-Thr-Pen-Thr-NH₂.

Структура СТАР:



[Pelton J.T. et al., 1986].

Соединение способно ингибировать мю-опиоидные рецепторы в дозе 0,5 мг/кг [Abbruscato T.J. et al., 1997]. Ранее это соединение в качестве лекарственного средства не применялось.

Впервые было выявлено его положительное действие, приводящее к уменьшению

размеров зоны ишемического-реперфузионного некроза.

В настоящее время известно о кардиопротекторном действии активаторов мю-опиоидных рецепторов [Schultz J.E. et al., 1996]. При изучении рецепторных механизмов действия агонистов опиоидных рецепторов принято исследовать эффекты фармакологических агентов, используемых для блокады того или иного типа рецепторов. В ходе проведения таких исследований было обнаружено, что СТАР, который предполагалось использовать в качестве фармакологического инструмента для блокады мю-опиоидных рецепторов, сам по себе обладает кардиопротекторными свойствами.

В патентной и научно-медицинской литературе не найдено сведений о том, что СТАР увеличивает устойчивость сердца к реперфузионным повреждениям. Данное свойство СТАР не вытекает из уровня техники в данной области и не очевидно для специалиста.

Изобретение может быть использовано в экспериментальных исследованиях для создания нового кардиопротекторного лекарственного препарата; для уменьшения повреждения миокарда при ишемии и последующей реперфузии у пациентов с острым инфарктом миокарда, в ходе кардиохирургических вмешательств с использованием искусственного кровообращения и при трансплантации сердца.

Исходя из вышеизложенного, следует считать предлагаемое изобретение соответствующим условиям патентоспособности «новизна», «изобретательский уровень», «промышленная применимость».

В качестве препарата сравнения был выбран препарат налтрексон. Известно, что как и СТАР, налтрексон способен блокировать мю-опиоидные рецепторы [Takemori A.E., Portoghesi P.S., 1992]. Эти данные свидетельствуют о сходном механизме действия выбранных веществ.

Изобретение будет понятно из следующего описания.

Эксперименты проведены на крысах самцах линии Вистар массой 250-300 г. Острый инфаркт миокарда вызывали при помощи окклюзии левой нисходящей коронарной артерии на 30 мин с последующим восстановлением коронарного кровотока в течение 180 мин [Neckar J. et al., 2003]. Все крысы наркотизировались пентобарбиталом натрия (60 мг/кг, внутривенно Sanofi) и на период проведения коронароокклюзии и последующей реперфузии были подключены к аппарату искусственной вентиляции легких комнатным воздухом 68 вдохов/минуту с помощью модифицированного аппарата РО-2 артериального давления (АД), которое регистрировали с помощью датчика давления SS13L (Biopac System Inc., Goleta, Калифорния, США), сопряженного с аппаратом для электрофизиологических исследований MP35 (Biopac System Inc., Goleta, США). Этот же аппарат использовали и для записи ЭКГ. Количественную обработку полученных данных осуществляли с помощью программного обеспечения INSTBSL-W компании Biopac System Inc., (Goleta, США).

Выполнялась левосторонняя торакотомия, перикард удалялся для получения доступа к левой нисходящей коронарной артерии. На левую нисходящую коронарную артерию накладывалась лигатура на 1-2 мм ниже ушка левого предсердия.

Коронароокклюзию верифицировали по появлению эпикардального цианоза и подъему сегмента ST. После 20 минут ишемии лигатуру ослабляли, при этом восстановление кровотока подтверждалось появлением эпикардальной гиперемии. Продолжительность реперфузии составляла 3 часа. После окончания реперфузии сердца извлекались и промывались физиологическим раствором через канюлированную аорту, после чего осуществляли реокклюзию левой коронарной

артерии. Для определения зоны риска (ЗР) миокард окрашивали перманганатом калия через аорту. Для определения зоны некроза (ЗН) были сделаны срезы сердец перпендикулярно к продольной оси толщиной в 1 мм и окрашены 1%-ым раствором 2,3,5-трифенил тетразолия хлорида в течение 30 минут при 37°C. После окрасивания срезы помещали в 10% раствор нейтрального формальдегида на 1 сутки. По истечении суток правый желудочек удаляли, и срезы сканировали с обеих сторон на прецизионном сканере HP ScanJet G2710. Область риска и зону некроза на изображениях срезов определяли компьютеризированным планиметрическим методом. Производили пересчет показателей планиметрических измерений в весовые и размер зоны инфаркта выражали в процентах от размера зоны гипоперфузии.

СТАР растворяли ex tempore в физиологическом растворе и вводили внутривенно в дозе 0,5 мг/кг за 25 минут до коронароокклюзии (подопытная группа).

Контролем служила группа животных, которым перед реперфузией вводили физиологический раствор.

Группа сравнения включала 14 крыс, которым за 25 минут перед началом коронароокклюзии внутривенно вводили налтрексон в дозе 5 мг/кг. Эта дозировка налтрексона используется исследователями для блокирования опиоидных рецепторов [Takemori A.E., 1992].

Полученные результаты обрабатывали статистически с использованием t-критерия Стьюдента для величин удовлетворяющих нормальному распределению, U-критерия Вилкоксона-Манна-Уитни для величин, не соответствующих нормальному распределению и критерия χ^2 для проверки гипотезы о равенстве средних для частотных тестов.

Пример. Исследование кардиопротекторной активности СТАР проводилось по следующей схеме. В группу подопытных животных нами было взято 14 крыс, которым за 25 минут до коронароокклюзии внутривенно вводился раствор исследуемого препарата. В качестве контрольной группы брали 20 животных, которым за 25 минут до начала реперфузии внутривенно вводился растворитель, не содержащий СТАР (физиологический раствор). Группа сравнения состояла из 14 крыс, которым за 25 минут до начала реперфузии внутривенно вводился налтрексон.

Измерение артериального давления у крыс в экспериментальных группах не выявило статистически значимых изменений этого параметра на фоне введения СТАР или налтрексона как до начала коронароокклюзии, так и на протяжении коронароокклюзии (таблица 1).

Эти данные свидетельствуют о том, что СТАР не ухудшает состояние гемодинамики при коронароокклюзии и последующей реперфузии.

Исследование кардиопротекторного эффекта СТАР. Во всех исследованных группах после 30-минутной коронароокклюзии и последующей 3-часовой реперфузии 38-45% от общей массы левого желудочка оказалось в состоянии гипоперфузии (см. таблицу 2), не окрашиваясь перманганатом калия. Этот параметр был принят за размер зоны риска.

Размер зоны некроза в контрольной группе животных оказался $149,1 \pm 23,2$ мг, что составило $48,1 \pm 3,3\%$ от величины зоны риска.

В подопытной группе (введение СТАР за 25 минут до коронароокклюзии) размер зоны некроза составил $125,9 \pm 19,4$ мг ($29,5 \pm 5,2\%$ от величины зоны гипоперфузии), что было на 16% меньше размера зоны некроза контрольной группы по абсолютной величине (с уровнем статистической значимости $p < 0,001$) и на 39% ($p < 0,001$) по процентному соотношению зоны некроза к зоне риска (см. таблицу 2).

В группе сравнения (введение налтрексона за 25 минут до коронароокклюзии) размер зоны некроза составил $177,9 \pm 25,3$ мг ($49,7 \pm 4,2\%$ от зоны гипоперфузии), что статистически значимо не отличалось от значений контрольной группы ни по абсолютной величине, ни по процентному соотношению зоны некроза к зоне риска (см. таблицу 2).

Полученные нами результаты свидетельствуют о том, что СТАР способствует ограничению размеров зоны некроза при 30-минутной коронароокклюзии и последующей 3-часовой реперфузии, то есть оказывает кардиопротекторный эффект, достоверно больший, чем препарат сравнения, и не ухудшает состояние гемодинамики при ишемии и последующей реперфузии.

Применение предлагаемого изобретения позволит расширить арсенал средств, увеличивающих устойчивость сердца к ишемическим и последующим реперфузионным повреждениям.

	ДО КОРОНАРООККЛЮЗИИ					КОРОНАРООККЛЮЗИЯ 20 мин				
	ЧСС	САД	ДАД	Ср. АД	RPP	ЧСС	САД	ДАД	Ср. АД	RPP
Контроль (n=20)	335,9±8	115,8±2,7	98,6±2,9	107,2±2,8	36,0±0,02	329,3±8,8	112,8±3,2	96,8±3,9	104,8±3,55	34,5±0,03
СТАР (n=14)	325,1±10,1	115±2,8	97,9±3,3	106,5±3,05	34,6±0,03	326±11	113,8±2,9	99,6±2,6	106,7±2,75	34,8±0,03
Налтрексон (n=14)	329,1±10,1	119±2,8	99,7±3,3	109,35±3,05	35,9±0,03	326±11	113,8±2,9	89,6±2,6	98,95±2,75	32,3±0,03

ЧСС - частота сердечных сокращений; САД - систолическое артериальное давление; ДАД - диастолическое артериальное давление; Ср.АД - среднее артериальное давление; RPP - продуктивный индекс ЧСС*Ср.АД/1000.

Серия	n	ЛЖ, мг	ЗР, мг	ЗР/ЛЖ, %	ЗН, мг	ЗН/ЗР, %
Контроль	20	867,6±50,1	331,7±29,9	38,23±3,25	159,5±23,2	48,1±3,3
СТАР 0,5 мг/кг	14	947,8±64,6	427,0±46,4	45,05±4,32	125,9±19,4	29,5±5,2 p1<0,001 p2<0,001
Налтрексон 5 мг/кг	14	895,3±46,4	358,1±30,2	40,0±2,56	177,9±25,3	49,7±4,2

Примечание: ЛЖ - масса левого желудочка; ЗР - масса зоны риска; ЗР/ЛЖ - соотношение массы зоны риска и массы левого желудочка, выраженное в %; ЗН - масса зоны некроза; ЗН/ЗР - соотношение массы зоны некроза и массы зоны риска, выраженное в %.
p1 - уровень статистической значимости различий относительно контрольной группы; p2 - уровень статистической значимости различий относительно группы сравнения.

ЛИТЕРАТУРА

Abbruscato, T.J. Blood-brain barrier permeability and bioavailability of a highly potent and mu-selective opioid receptor antagonist СТАР: comparison with morphine. / T.J. Abbruscato, S.A. Thomas, V.J. Hruby, T.P. Davis // J. Pharmacol. Exp. Ther. - 1997. - V.280. - P.402.

Neckar, J. Cardioprotective effect of chronic hypoxia is blunted by concomitant hypercapnia / J. Neckar, O. Szarszoi, J. Herget, B. Ostadal, F. Kolar. // Physiol. Res. - 2003. - V. 52. - P.171-175.

Pelton, J.T. Design and synthesis of conformationally constrained somatostatin analogues with high potency and specificity for mu opioid receptors. / J.T. Pelton, W. Kazmierski, K. Gulya, H.I. Yamamura, V.J. Hruby // J Med Chem. - 1986. - V.29; N №11. - P.2370-2375.

Schultz, J.E.J. Morphine mimics the cardioprotective effect of ischemic preconditioning via a glibenclamide-sensitive mechanism in the rat heart. / J.E.J. Schultz, A.K. Hsu, G.J. Gross //

Circ Res. - 1996. - V.78; №6. - 1100-1104.

Sesti, C, Simkhovich BZ, Kalvinsh I, Kloner RA. Mildronate, a novel fatty acid oxidation inhibitor and antianginal agent, reduces myocardial infarct size without affecting hemodynamics. / B.Z. Simkhovich, I. Kalvinsh, R.A. Kloner // J Cardiovasc Pharmacol.. - 2006. - Mar; V.47; №(3). - P.:493-499.

Takemori, A.E. Selective naltrexone-derived opioid receptor antagonists / A.E. Takemori, P.S. Portoghese // Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol. Annual Reviews Inc. -1992.-V. 32. -P. 239-269.

Vilskersts, R., Liepinsh E, Kuka J, Cirule H, Veveris M, Kalvinsh I, Dambrova M. Myocardial infarct size-limiting and anti-arrhythmic effects of mildronate orotate in the rat heart. / R.

Vilskersts, E. Liepinsh, J. Kuka, H. Cirule, M. Veveris, I. Kalvinsh, M. Dambrova // Cardiovasc Drugs Ther. -. 2009. - Aug; V.23; №(4.-) P.:281-288.

Формула изобретения

Профилактическое применение блокатора опиоидных рецепторов СТАР в качестве средства, увеличивающего устойчивость сердца к ишемическим и последующим реперфузионным повреждениям.