

## Резюме проекта, выполняемого

в рамках ФЦП

### «Исследования и разработки по приоритетным направлениям развития научно-технологического комплекса России на 2014 – 2020 годы»

по этапу № 1

Номер Соглашения Электронного бюджета: 075-15-2019-1709, Внутренний номер соглашения 05.605.21.0191

Тема: «Изучение цитопротекторной активности инновационных пептидов, имитирующих пространственную структуру  $\alpha$ -спирали В эритропоэтина, с использованием тканеспецифичного нокаута гена POU1 в эндотелии для оптимизации персонализированной терапии заболеваний сердечно-сосудистой системы в биомедицине и ветеринарии»

Приоритетное направление:

Критическая технология:

Период выполнения: 19.11.2019 - 30.09.2020

Плановое финансирование проекта: 37.50 млн. руб.

Бюджетные средства 30.00 млн. руб.,

Внебюджетные средства 7.50 млн. руб.

Получатель: федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования "Белгородский государственный национальный исследовательский университет"

Индустриальный партнер: Общество с ограниченной ответственностью "БЕЛФАРМАМЕД"

Соисполнитель: Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт биологии гена Российской академии наук

Соисполнитель: Общество с ограниченной ответственностью "Гурус БиоФарм"

Ключевые слова: Негематопоэтические пептидные производные эритропоэтина, цибенитид, сердечно-сосудистые заболевания, атеросклероз, митохондриальная дисфункция, трансгенные животные, мыши с эндотелиоспецифичным нокаутом гена полимераза-гамма

#### 1. Цель проекта

Комплексное *in vitro* и *in vivo* изучение инновационных пептидных атеропротекторов на основе эритропоэтина с использованием мышинной модели эндотелиоспецифичной митохондриальной дисфункции для совершенствования методов коррекции и профилактики сердечно-сосудистых заболеваний в медицине и ветеринарии и переходу к персонализированной терапии атеросклероза.

#### 2. Основные результаты проекта

Краткое описание выполненных работ:

- Выполнен Обзор и анализ современной научно-технической, нормативной, методической литературы.
- Проведены патентные исследования.
- Изучена стабильность инновационных пептидов, имитирующих  $\alpha$ -спираль В-эритропоэтина.
- Проведен первичный скрининг цитопротекторной активности инновационных пептидов, имитирующих  $\alpha$ -спираль В эритропоэтина *in vitro*.
- Проведен первичный скрининг эндотелиопротективной активности инновационных пептидов.
- Выполнен первичный скрининг антиагрегантной активности инновационных пептидов, имитирующих  $\alpha$ -спираль В эритропоэтина *in vitro*.
- Выполнен первичный скрининг антиагрегантной активности инновационных пептидов, имитирующих  $\alpha$ -спираль В эритропоэтина *in vivo*.

В результате выполнения работ составлен аналитический обзор современной научно-технической, нормативной, методической литературы, затрагивающей научно-техническую проблему, исследуемую в рамках настоящего ПНИ, в том числе обзор научных информационных источников научно-информационных источников за период 2013 – 2019 гг.

Патентные исследования выполнены в соответствии с ГОСТ 15.011-96, определены технический уровень соединений имитирующих пространственную структуру  $\alpha$ -спирали В эритропоэтина, применяемых для лечения и профилактики сердечно-сосудистых заболеваний. На основании проведенного поиска по патентным и научно-техническим источникам представляется



целесообразным в качестве выбора направлений исследований настоящей ПНИОП продолжить разработку инновационных пептидов, имитирующих пространственную структуру  $\alpha$ -спирали В эритропоэтина, с использованием тканеспецифичного нокаута гена *POIG* в эндотелии для оптимизации персонализированной терапии заболеваний сердечно-сосудистой системы в биомедицине и ветеринарии.

Изучена стабильность опытных образцов изучаемых инновационных пептидов, оценена их устойчивость при разных условиях хранения (метод ускоренного старения, повышенная влажность, фотоустойчивость). Установлено что изучаемые инновационные пептиды обладают характеристиками, необходимыми для дальнейшего доклинического изучения. В процессе проведения экспериментальных работ были установлены основные физико-химические свойства, подтвержден состав и пептидная последовательность. Определён характерный профиль примесей, а также продукты деградации при воздействии различных стресс-факторов (метод ускоренного старения, повышенная влажность, фотоустойчивость). Сформированная спецификация на последующих этапах работ выступит основой для составления стандарта качества активной фармацевтической субстанции и её лекарственной формы. Результаты стабильности объектов исследования и их растворов будут использованы при проведении фармацевтической разработки.

Проведен первичный скрининг цитопротекторной активности инновационных пептидов, имитирующих  $\alpha$ -спираль В эритропоэтина *in vitro* с оценкой выживаемости культуры эндотелиоцитов человека в условиях оксидативного стресса в присутствии изучаемых пептидов.

При скрининговом исследовании эндотелиопротективной активности показано, что базовое соединение с лабораторным шифром P- $\alpha$ V имеющее аминокислотную последовательность QEQLERALNSS в дозе 25 мкг статистически значимо снижает коэффициент эндотелиальной дисфункции тем самым нормализуя сосудистые реакции на ацетилхолин и нитропруссид. Однако, несмотря на статистически значимое, в сравнении с L-NAME, снижение КЭД в данной экспериментальной группе коэффициент эндотелиальной дисфункции был статистически значимо выше чем в группе интактных животных. Добавление трипептидных мотивов RGD, KGD и PGP приводит к увеличению эндотелиопротективной активности исследуемых инновационных пептидов. Присоединение мотивов RGD и KGD у N-конца базовой молекулы привело к максимально выраженному снижению коэффициента эндотелиальной дисфункции. В группе животных, получавших P- $\alpha$ B1 КЭД составил  $1,7 \pm 0,1$ , а в группе животных получавших P- $\alpha$ B3 –  $2,0 \pm 0,2$ , что максимально приближено и статистически значимо не отличается от КЭД в группе интактных животных.

Дополнительно у самок крыс Wistar проведено исследование NO-продуцирующей функции эндотелия. Максимальное увеличение содержания нитрит-ионов (NOx) до уровня физиологической нормы в плазме крови у животных с ADMA-подобной преэклампсией ( $p < 0,05$ ) происходило по влиянием P- $\alpha$ B1, P- $\alpha$ B3 и P- $\alpha$ B4 и составило соответственно  $1,83 \pm 0,02$  мкмоль/дЛ,  $1,71 \pm 0,04$  мкмоль/дЛ и  $1,80 \pm 0,03$  мкмоль/дЛ.

Выполнен первичный скрининг антиагрегантной активности инновационных пептидов, *in vivo* и *in vitro*, определены наиболее активные соединения, обладающие антиагрегантной активностью. Проведенное исследование показало, что базовый пептид P- $\alpha$ B, имеющий аминокислотную последовательность QEQLERALNSS, *in vitro* обладает выраженными протромботическими свойствами, а добавление трипептидных мотивов RGD и KGD приводит к снижению протромботической активности. Присоединение мотивов RGD и KGD у N-конца базовой молекулы привело к появлению у соединений P- $\alpha$ B1, P- $\alpha$ B3 выраженных антиагрегантных свойств.

Полученные результаты обладают научно новизной и выполнено на уровне аналогичных исследований, проводимых в мире. В рамках настоящего впервые проведено исследование цитопротекторной, эндотелиопротективной и антиагрегантной активности инновационных пептидов.

Полученные результаты позволяют сделать заключение что исследования проводятся в полном соответствии с требованиями, изложенными в пунктах 3, 4, 5, 6 Приложения 1 к Соглашению о предоставлении гранта № 05.605.21.0191 (Технического задания на выполнение НИИ).

### 3. Охраноспособные результаты интеллектуальной деятельности (РИД), полученные в рамках прикладного научного исследования и экспериментальной разработки

На первом этапе выполнения работ получение охраноспособных РИД не предусмотрено.

### 4. Назначение и область применения результатов проекта

Области применения: медицина, ветеринария, фармакология, кардиология, внутренние болезни, акушерство и гинекология. Основным способом использования ожидаемых результатов является организация производства оригинального лекарственного средства на фармацевтическом предприятии, входящем в состав регионального биофармацевтического кластера Белгородской области.

### 5. Эффекты от внедрения результатов проекта

Проект направлен:

- на повышение качества жизни и показателей здоровья населения РФ;
- позволит создать комплекс мероприятий по профилактики и персонализации лечения сердечно-сосудистых заболеваний;
- создаст новые рабочие места;
- увеличит налоговые и социальные отчисления в бюджет;
- внесет вклад в реализацию государственной целевой программы «Здоровье»;
- внесет свой вклад в повышение наукоемкости и инновационного развития промышленного потенциала РФ.



## 6. Формы и объемы коммерциализации результатов проекта

Возможной формой коммерциализации полученных результатов является привлечение инвесторов для организации производства и продвижения на фармацевтический рынок РФ и зарубежных стран оригинального лекарственного средства для лечения и профилактики сердечно-сосудистых заболеваний.

Учитывая, что препараты для лечения эндотелий ассоциированных заболеваний (артериальная гипертензия, ИБС, сосудистые осложнения сахарного диабета и др.) формируют не менее 10-12% фармацевтического рынка РФ, выведение на рынок новых эффективных лекарственных средств позволит обеспечить экономию денежных средств за счет снижения расходов на профилактику и лечение сердечно-сосудистых заболеваний на не менее чем 5 % от стоимости терапии традиционными лекарственными средствами.

## 7. Наличие соисполнителей

Для выполнения работ по проекту привлекались соисполнители.

ООО "Гурус Биофарм" в качестве соисполнителя принимал участие в выполнении работ в 2019 году.

федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования "Белгородский государственный национальный исследовательский университет"

Проректор по науке

(должность)

*Константинов*

(подпись)

Константинов И.С.

(фамилия, имя, отчество)

Руководитель работ по проекту

заведующий кафедрой, директор НИИ  
Фармакологии Живых систем

(должность)

М.П.

*Покровский*

(подпись)

Покровский М.В.

(фамилия, имя, отчество)

