

(19)



**Евразийское
патентное
ведомство**

(11) **046226**(13) **B1**(12) **ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОМУ ПАТЕНТУ**

(45) Дата публикации и выдачи патента
2024.02.19

(21) Номер заявки
202192976

(22) Дата подачи заявки
2020.04.30

(51) Int. Cl. **A61K 31/717** (2006.01)
A61K 31/721 (2006.01)
A61P 25/00 (2006.01)

(54) **ПРИМЕНЕНИЕ ФАРМАЦЕВТИЧЕСКОЙ КОМПОЗИЦИИ В КАЧЕСТВЕ ЛЕКАРСТВЕННОГО СРЕДСТВА ДЛЯ ЗАЩИТЫ И/ЛИ РЕПАРАЦИИ/ВОССТАНОВЛЕНИЯ ГЕМАТОЭНЦЕФАЛИЧЕСКОГО БАРЬЕРА**

(31) **FR1905566**

(32) **2019.05.27**

(33) **FR**

(43) **2022.04.05**

(86) **PCT/EP2020/062081**

(87) **WO 2020/239356 2020.12.03**

(71)(73) Заявитель и патентовладелец:
**СЕНТРЕ НАСИОНАЛЬ ДЁ ЛЯ
РЕШЕРШ САЭНТИФИК; ОРГАН
ТИССЮ РЕЖЕНЕРАСЬОН
РЕПАРАСЬОН РАМПЛАСМАН;
БАРРИТО ДЕНИ; УНИВЕРСИТЕ ДЕ
КАН НОРМАНДИ (FR)**

(72) Изобретатель:

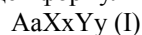
**Баррито Дени, Бернодан Мириам,
Тузани Омар, Тутан Жером, Хелиф
Ясин (FR)**

(74) Представитель:

Нилова М.И. (RU)

(56) EP-A1-3097928
US-A1-2001023246
WO-A2-0151003
WO-A1-2011156445
WO-A2-9526739
EP-A2-0464759
WO-A1-03046014

(57) Настоящее изобретение относится к применению фармацевтической композиции в качестве лекарственного средства для защиты гематоэнцефалического барьера, и/или репарации, и/или восстановления гематоэнцефалического барьера, причем указанная композиция содержит биосовместимый полимер следующей общей формулы (I):



где А представляет собой мономер, представляющий собой глюкозу, Х представляет собой группу R_1COOR_2 или $-R_9(C=O)R_{10}$, Y представляет собой O- или N-сульфонатную группу, которая соответствует одной из следующих формул: $-R_3OSO_3R_4$, $-R_5NSO_3R_6$, $-R_7SO_3R_8$, где R_1 , R_3 , R_5 и R_9 независимо представляют собой алифатическую углеводородную цепь, необязательно разветвленную и/или ненасыщенную, которая необязательно содержит одно или более ароматических колец, за исключением бензиламина и бензиламинсульфоната, R_2 , R_4 , R_6 и R_8 независимо представляют собой атом водорода или катион M^+ , и R_7 и R_{10} независимо представляют собой связь, алифатическую углеводородную цепь, необязательно разветвленную и/или ненасыщенную, а представляет количество мономеров, при этом количество "а" таково, что масса указанного полимера формулы (I) больше или равна 2000 дальтон; x представляет собой степень замещения мономеров А группами Х, при этом степень замещения x составляет от 10 до 150%; y представляет собой степень замещения мономеров А группами Y, при этом степень замещения "y" составляет от 10 до 170%. Настоящее изобретение находит применение, в частности, в терапевтической, фармацевтической и ветеринарной областях.

B1**046226****046226 B1**

Область техники

Настоящее изобретение относится к применению фармацевтической композиции в качестве лекарственного средства для защиты гематоэнцефалического барьера.

Настоящее изобретение также относится к применению фармацевтической композиции в качестве лекарственного средства для восстановления и/или репарации гематоэнцефалического барьера.

Настоящее изобретение относится к применению фармацевтической композиции в качестве лекарственного средства для защиты, и/или восстановления, и/или репарации гематоэнцефалического барьера.

Настоящее изобретение находит применение, в частности, в терапевтической, фармацевтической и ветеринарной областях.

В приведенном ниже описании ссылки в скобках () относятся к перечню ссылок, представленному в конце текста.

Уровень техники

Гематоэнцефалический барьер (ГЭБ), также называемый гематоэнцефалическим или гематоменингеальным барьером, состоит из монослоя эндотелиальных клеток в микрососудах головного мозга. Эти эндотелиальные клетки имеют плотные контакты между собой, что ограничивает пара- и трансклеточный обмен между компартментом крови и паренхиматозным компартментом. Эндотелиальные клетки окружены базальной мембраной, астроцитарными ножками и перicyтами, таким образом укрепляя ГЭБ (Sharif et al., 2018 [16]). Базальная пластинка, лежащая в основе церебрального эндотелия, активно участвует в динамике ГЭБ, состоит из 3-х слоев. Первый, синтезируемый эндотелиальными клетками, характеризуется наличием ламинина 4 и 5. Второй характеризуется наличием ламининов -1 и -2 и синтезируется астроцитами. Третий, характеризующийся наличием коллагена IV, находится между первыми двумя и формируется двумя типами клеток. Эти три слоя также состоят из различных типов коллагена, гликопротеинов и протеогликанов, в частности из гепарансульфат протеогликанов (HSPG) (Cardoso et al., 2010 [4]).

Базальная пластинка также содержит многочисленные белки, металлопротеиназы (ММП) и их ингибиторы, которые участвуют в динамической регуляции ГЭБ как в физиологических, так и в патологических условиях.

ГЭБ защищает нейроны от факторов, присутствующих в системном кровотоке, и поддерживает внутреннюю среду центральной нервной системы, необходимую для хорошего функционирования синапсов и нейронов (Sharif et al., 2018 [16]).

Об изменении ГЭБ сообщалось при многих заболеваниях головного мозга, таких как болезнь Альцгеймера, болезнь Паркинсона, болезнь Хантингтона, рассеянный склероз, острое нарушение мозгового кровообращения (ОНМК), хроническая травматическая энцефалопатия, а также инфекции головного мозга (Abdullahi et al., 2018 [1]; Sweeney et al., 2018 [19]; Erickson and Banks 2018 [5]). ГЭБ также нарушается при наличии опухолей головного мозга, а также после облучения головного мозга в процессе лучевой терапии (Katherine Elizabeth Warren., 2018 [22]). Нарушение ГЭБ способствует притоку в мозг нейротоксических агентов, полученных из крови, клеток и микробных патогенов, и связано с воспалительными и иммунными ответами, которые могут инициировать и усугублять несколько путей гибели нейронов (Sharif et al., 2018 [16]).

В уровне техники есть терапевтические протоколы и/или стратегии, направленные на защиту компонентов структуры ГЭБ: плотных контактов и клеточных рецепторов; или в борьбе с причинами его проницаемости: воспалением; окислением; активацией ММП (Sifat et al., 2017 [17]). Однако эти терапевтические протоколы и/или стратегии не продемонстрировали никакой реальной эффективности и/или значительного терапевтического эффекта, в частности, для защиты ГЭБ.

Также были рассмотрены другие стратегии защиты ГЭБ. Например, в современных патентных документах описаны способы, нацеленные на молекулы клеточных сигнальных путей (дельта-РКС) (заявка на патент US 20090062208 A1); факторы транскрипции (HMGB1) (заявка WO 2018207792A1), белок S100B (патентный документ CN 101632728B) или даже межклеточные соединения (клаудин-5) (патентный документ CN 105148276B) в ассоциации с ГЭБ. Однако ни один из этих способов и/или стратегий на сегодняшний день не привел к созданию терапии или клиническому применению. Кроме того, на современном уровне техники нет препаратов, которые, как известно, действовали бы непосредственно как протектор или способствовали восстановлению ГЭБ. Другими словами, в настоящее время не существует соединения и/или фармацевтической композиции, способной защищать, и/или восстанавливать, и/или репарировать гематоэнцефалический барьер.

Следовательно, в уровне техники существует реальная потребность в поиске соединения и/или композиции, позволяющих защитить ГЭБ, например, от поражений и/или изменений, вызванных, например, патологиями и/или лечением, например, химиотерапией и/или лучевой терапии, например, головного мозга.

Также существует реальная потребность в уровне техники в поиске соединения и/или композиции, позволяющих восстанавливать изменения и/или повреждения ГЭБ, например, из-за патологий, например, болезни Альцгеймера, Паркинсона, Хантингтона, рассеянного склероза, возникшего в результате острого нарушения мозгового кровообращения (ОНМК), травматической энцефалопатии, например, хронических инфекций, инфекций головного мозга, например менингита, например, вирусного или бактериального,

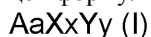
изменений и/или поражений, вызванных, например, опухолями головного мозга, и/или лечением, например химиотерапией и/или лучевой терапией, например, головного мозга.

Также существует реальная потребность в уровне техники в поиске соединения и/или композиции, обеспечивающего функциональное восстановление ГЭБ, например, после поражения и/или разрушения указанного ГЭБ.

Описание сущности изобретения

Целью настоящего изобретения является именно удовлетворение этих потребностей путем обеспечения фармацевтической композиции для ее применения или использования в качестве лекарственного средства для защиты и/или восстановления и/или репарации, предпочтительно функциональной, гематоэнцефалического барьера, при этом указанная композиция содержит

биосовместимый полимер следующей общей формулы (I)



где:

A представляет собой мономер, представляющий собой глюкозу,

X представляет собой группу R_1COOR_2 или $-R_9(C=O)R_{10}$,

Y представляет собой O- или N-сульфонатную группу, которая соответствует одной из следующих формул: $-R_3OSO_3R_4$, $-R_5NSO_3R_6$, $-R_7SO_3R_8$, где:

R_1 , R_3 , R_5 и R_9 независимо представляют собой алифатическую углеводородную цепь, необязательно разветвленную и/или ненасыщенную, которая необязательно содержит одно или более ароматических колец, за исключением бензиламина и бензиламинсульфоната, R_2 , R_4 , R_6 и R_8 независимо представляют собой атом водорода или катион M^+ , и R_7 и R_{10} независимо представляют собой связь, алифатическую углеводородную цепь, необязательно разветвленную и/или ненасыщенную,

a представляет количество мономеров, при этом количество "a" таково, что масса указанного полимера формулы (I) больше или равна 2000 дальтон;

x представляет собой степень замещения мономеров A группами X, при этом степень замещения x составляет от 10 до 150%;

y представляет собой степень замещения мономеров A группами Y, при этом степень замещения "y" составляет от 10 до 170%.

Автор настоящего изобретения неожиданно продемонстрировал преимущество того, что применение биосовместимого полимера согласно изобретению дает возможность усилить, укрепить и/или восстановить гематоэнцефалический барьер (ГЭБ).

В частности, авторы изобретения неожиданно продемонстрировали, что применение биосовместимого полимера в соответствии с изобретением преимущественно позволяет, когда гематоэнцефалический барьер (ГЭБ) был изменен, например, представляет собой воспаление и/или поражение и/или любое другое изменение, известное специалисту в данной области техники, независимо от причины или происхождения, обеспечить репарацию и/или укрепление и/или восстановление гематоэнцефалического барьера (ГЭБ).

Авторы изобретения также удивительно и неожиданно продемонстрировали, что применение полимера в соответствии с изобретением преимущественно позволяет ускорить и улучшить функциональное восстановление гематоэнцефалического барьера (ГЭБ). Кроме того, авторы изобретения удивительно и неожиданно продемонстрировали, что, когда изменение ГЭБ оказывает влияние на моторные и/или когнитивные функции, применение полимера согласно изобретению также позволяет ускорить и/или улучшить восстановление моторных и когнитивных функций.

В контексте настоящего описания под защитой гематоэнцефалического барьера понимают, например, улучшение структуры базальной мембраны гематоэнцефалического барьера и/или стимуляцию эндотелиальных клеток гематоэнцефалического барьера и/или укрепление плотных контактов гематоэнцефалического барьера. Преимущественно защита гематоэнцефалического барьера позволяет, например, защищать последний от внешнего негативного воздействия, например, от ионизирующего излучения, например, от рентгеновских лучей, гамма-лучей, от изотопных соединений, например, от ксенобиотических веществ, различных токсинов и патогенов. Защита гематоэнцефалического барьера также может сделать возможным поддержание гомеостаза центральной нервной системы, например, регулирование ионного потока и/или регулирование молекулярного и клеточного потока, в частности, между компартментом крови и центральной нервной системой. Эти потоки могут быть вредными для центральной нервной системы в случае повреждения и проницаемости указанного барьера.

Используемый в данном документе термин "репарация гематоэнцефалического барьера" означает, например, восстановление и/или улучшение структуры гематоэнцефалического барьера, например, когда структура указанного барьера была изменена, например, из-за поражения, внешнего воздействия, например, патогена, заболевания, воспаления и/или любого другого явления, известного специалисту в данной области техники, а также способность изменять и/или модифицировать структуру и/или функцию гематоэнцефалического барьера. Это может быть, например, ускорение излечения поражения гематоэнцефалического барьера, уменьшение воспаления гематоэнцефалического барьера, заживление и/или улучшение

ние базальной мембраны гематоэнцефалического барьера и/или эндотелиальных клеток гематоэнцефалического барьера и/или плотных контактов гематоэнцефалического барьера.

Используемый в данном документе термин "восстановление гематоэнцефалического барьера" означает репарацию структур и/или улучшение гематоэнцефалического барьера и восстановление/улучшение функции гематоэнцефалического барьера, например, проницаемости гематоэнцефалического барьера, и/или любой физиологической функции гематоэнцефалического барьера.

В настоящем документе под мономером следует понимать, например, мономер, выбранный из группы, включающей сахара, сложные эфиры, спирты, аминокислоты или нуклеотиды.

В настоящем изобретении мономеры А, составляющие строительные блоки полимеров формулы I, представляют собой глюкозу.

Количество мономеров А, определенное в формуле (I) как "а", таково, что масса указанного полимера формулы (I) больше или равна 2000 дальтон.

В настоящем изобретении в группе $-R_1COOR_2$, представляющей X, R_1 представляет собой алифатическую углеводородную цепь, необязательно разветвленную и/или ненасыщенную, которая необязательно содержит одно или более ароматических колец, за исключением бензиламина и бензиламинсульфоната, а R_2 независимо представляют собой атом водорода или катион M^+ . R_1 может представлять собой C_1 - C_6 -алкил, например, метил, этил, бутил, пропил, пентил, предпочтительно метильную группу, и R_2 может представлять собой связь, C_1 - C_6 -алкил, например, метил, этил, бутил, пропил, пентил, группа $R_{21}R_{22}$, где R_{21} представляет собой анион, а R_{22} представляет собой катион, выбранный из группы щелочных металлов.

Предпочтительно группа X представляет собой группу формулы $-R_1COOR_2$, в которой R_1 представляет собой метильную группу $-CH_2-$, а R_2 представляет собой группу $R_{21}R_{22}$, где R_{21} представляет собой анион, а R_{22} представляет собой катион, выбранный из группы щелочных металлов, предпочтительно группа X представляет собой группу формулы $-CH_2-COO^-$ или карбоксиметил.

В настоящем изобретении в группе $-R_9(C=O)R_{10}$, представляющей X, R_9 может представлять собой C_1 - C_6 -алкил, например, метил, этил, бутил, пропил, пентил, предпочтительно метиловую группу, и R_{10} может представлять собой связь, C_1 - C_6 -алкил, например, метил, этил, бутил, пропил, пентил, гексил.

Степень замещения всех мономеров А группами X, определяемая в общей формуле (I) как "х", может составлять от 10 до 150%, от 40 до 80%, а предпочтительно порядка 50% или 60%.

В настоящем изобретении в группе, соответствующей одной из следующих формул $-R_3OSO_3R_4$, $-R_5NSO_3R_6$, $-R_7SO_3R_8$ и представляющей группу Y, R_3 может представлять собой связь, C_1 - C_6 -алкил, например, метил, этил, бутил, пропил, пентил, предпочтительно метиловую группу, R_5 может представлять собой связь, C_1 - C_6 -алкил, например, метил, этил, бутил, пропил, пентил, предпочтительно метиловую группу, R_7 может представлять собой связь, C_1 - C_6 -алкил, например, метил, этил, бутил, пропил, пентил, предпочтительно метиловую группу, R_4 , R_6 и R_8 могут независимо быть атомом водорода или катионом M^+ , например, M^+ может представлять собой щелочной металл.

Предпочтительно группа Y представляет собой группу формулы $-R_7SO_3R_8$, в которой R_7 представляет собой связь, а R_8 представляет собой щелочной металл, выбранный из группы, включающей литий, натрий, калий, рубидий и цезий. Y представляет собой группу $-SO_3^-$, $-SO_3^-Na^+$.

Степень замещения всех мономеров А группами Y, определенными в общей формуле (I) как "у" может составлять от 10 до 170%, от 30 до 150%, от 55 до 160%, от 55 до 85%. от 120 до 160% и предпочтительно порядка 70, 140 или 150%.

В настоящем изобретении определение вышеупомянутых степеней замещения состоит в том, что степень замещения "х", равная 100%, означает, что каждый мономер А полимера по настоящему изобретению статистически содержит группу X. Аналогичным образом, степень замещения "у", равная 100%, означает, что каждый мономер полимера по настоящему изобретению статистически содержит группу Y. Степень замещения более 100% отражает тот факт, что каждый мономер статистически содержит более одной группы рассматриваемого типа; и наоборот, степени замещения менее 100% отражают тот факт, что каждый мономер статистически содержит менее одной группы рассматриваемого типа.

Полимеры также могут содержать функциональные химические группы, обозначенные Z, отличные от X и Y.

В настоящем изобретении группы Z могут быть одинаковыми или разными и могут быть независимо выбраны из жирных кислот.

Преимущественно группы Z могут придавать полимерам дополнительные биологические или физико-химические свойства. Например, группы Z могут увеличивать растворимость или липофильность указанного полимера, например, обеспечивая лучшую диффузию или проникновение в ткань.

Преимущественно группы Z могут придавать полимерам дополнительные биологические или физико-химические свойства. Таким образом, полимеры согласно изобретению, например, когда группа Z выбрана из антиоксидантного соединения, соединения против старения, полимеры согласно изобретению могут преимущественно переносить эти соединения и, таким образом, обеспечивать дополнительный и/или дополнительный биологический эффект.

Полимеры, в которых присутствует Z, могут соответствовать следующей формуле II: $Aa Xx Yy Zz$ (II), где A, X, Y, а, х, у имеют значения, указанные выше, а z представляет собой степень замещения

группами Z.

В настоящем изобретении степень замещения группами Z, обозначенными буквой "z", может составлять от 1 до 50%, 10 и 25%, и предпочтительно равна 15, 20 или 25%.

Группы X, Y и Z могут быть независимо присоединены к мономеру A и/или независимо присоединены друг к другу. Когда по меньшей мере одна из групп X, Y и Z независимо присоединена к группе X, Y и Z, отличной от первой, одна из указанных групп X, Y или Z присоединена к мономеру A.

Таким образом, группы Z могут быть ковалентно присоединены непосредственно к мономерам A или ковалентно присоединены к группам X и/или Y.

В настоящем изобретении группы Z также могут быть конъюгированы с полимерами формулы $A_nX_mY_p$ при помощи связей, отличных от ковалентных, например, при помощи ионных связей, например, посредством ионных взаимодействий, гидрофильных связей или гидрофобных связей. Полимеры по изобретению могут затем составлять систему Z-векторизации.

В настоящем изобретении полимер может представлять собой, например, полимер, выбранный из группы, включающей соединения OTR4120, OTR41201, OTR41202, OTR41203, OTR41205, OTR41210, OTR41301, OTR41302, OTR41303, OTR41305, OTR41310, OTR3131.

В настоящем документе полимер может представлять собой, например, полимер, выбранный из группы, включающей соединения OTR41201, OTR41202, OTR41203, OTR41205, OTR41210, OTR4120, OTR4122, OTR4125, OTR41301, OTR41302, OTR41303, OTR41305, OTR41310, OTR3131, OTR4132, OTR4135, OTR415 с характеристиками, указанными в таблице ниже.

Таблица: полимеры семейств $A_nX_mY_p$ (I) и $A_nX_mY_pZ_q$ (II), где A представляет собой глюкозу (молекулярная масса 180 дальтон), X представляет собой карбоксиметил (молекулярная масса 58 дальтон) Y: SO_3^- (ММ 80 дальтон) и Z представляет собой ацетат (молекулярная масса 43 дальтон) или фенилаланин (молекулярная масса 165 дальтон).

полимер		A: глюкоза	X -CH ₂ COO	Y -SO ₃ ⁻	Z -OCCH ₃	Z фенилаланин
Название RGTA	Средняя молекулярная масса +/-15%	Исходный полимер декстрана (PM в дальтонах)	CM / % замещения глюкозы	SO ₄ / глюкоза) % замещения	OCCH ₃ /% Замещения глюкозы	
CMDS OTR4120 1	3000	1500	60+/-20	150+/-20	0	
CMDS OTR4120 2	6000	3000	60+/-20	150+/-20	0	
CMDS OTR41203	10000	5000	60+/-20	150+/-20	0	
CMDS OTR41205	20000	10000	60+/-20	150+/-20	0	
CMDS OTR41210	40000	20000	60+/-20	150+/-20	0	
CMDS OTR4120	80000	40000	60+/-20	150+/-20	0	
CMDS OTR4122	220000	110000	60+/-20	150+/-20	0	
CMDS OTR4125	500000	250000	60+/-20	150+/-20	0	
CMDSA OTR41301	3000	1500	60+/-20	140+/-20	20+/-5	
CMDSA OTR41302	6000	3000	60+/-20	140+/-20	20+/-5	
CMDSA OTR41303	10000	5000	60+/-20	140+/-20	20+/-5	
CMDSA OTR41305	20000	10000	60+/-20	140+/-20	20+/-5	
CMDSA OTR41310	40000	20000	60+/-20	140+/-20	20+/-5	
CMDSA OTR4131	80000	40000	60+/-20	140+/-20	20+/-5	
CMDSA OTR4132	220000	110000	60+/-20	140+/-20	20+/-5	
CMDSA OTR4135	500000	250000	60+/-20	140+/-20	20+/-5	
CMDSP OTR415	5000		60+/-20	70+/-15	-	15+/-5

В настоящем изобретении композиция может иметь концентрацию биосовместимого полимера от 0,1 до 100 мкг/мл по массе относительно объема композиции. Например, композиция может содержать концентрацию биосовместимого полимера от 1 до 10 мкг/мл по массе относительно общего объема композиции.

В настоящем изобретении композиция может быть составлена и/или адаптирована в соответствии с ее введением. Например, для парентерального введения композицию можно вводить для доставки дозы биосовместимого полимера от 0,01 до 5 мг на килограмм массы тела, предпочтительно от 0,1 до 1,5 мг на килограмм массы тела, с частотой одно введение в неделю.

Например, для перорального введения композицию можно вводить для доставки дозы биосовместимого полимера от 0,1 до 5 мг на килограмм массы тела, предпочтительно от 0,01 до 1,5 мг/кг, с частотой введения ежедневно или раз в две недели.

При сублингвальном введении доза может составлять ежедневно или два раза в неделю и составлять от 0,5 до 100 мкг/кг.

Например, для внутриартериального введения биосовместимый полимер может иметь концентрацию от 0,1 до 100 мкг/мл по массе биосовместимого полимера по отношению к общему объему композиции, предпочтительно от 1 до 20 мл.

Преимущественно, когда композицию и/или полимер вводят внутриартериальным путем, введение можно проводить сначала в головной мозг, например, во внутреннюю сонную артерию.

Например, для интракраниальной инъекции биосовместимый полимер может иметь концентрацию от 0,1 до 100 мкг/мл по массе биосовместимого полимера по отношению к общему объему композиции, предпочтительно от 5 до 20 мкл.

Преимущественно, когда композицию и/или полимер вводят интракраниальным путем, введение можно проводить одновременно или последовательно в различных внутрискелетных областях.

Например, для внутривенной или интратекальной инъекции вводимый объем может составлять от 5 мкл до 2 мл, например, 500 мкл, например, 2 мл. Например, для внутривенной или интратекальной инъекции вводимый объем может быть изовольеметрическим, например, до 2 мл. Например, вводимый объем может быть таким, как описано в Marks et al., 2008 [10], Raffi et al, 2014 [13] и/или Vlaney et al, 2004 [3].

Для перорального введения, например, в форме пилюли или капсулы, доза биосовместимого полимера может составлять от 0,0001 до 5 мг на килограмм массы тела.

Для перорального введения, например в форме пилюли или капсулы, прием может быть ежедневным.

Согласно изобретению молекулярная масса биосовместимого полимера может составлять от 3000 до 2500000 дальтон.

Например, молекулярная масса биосовместимого полимера может составлять от 3000 до 6000 дальтон, от 6000 до 2500000 дальтон, предпочтительно от 20000 до 250000 дальтон и, например, от 75000 до 150000 дальтон.

Преимущественно молекулярная масса биосовместимых полимеров, присутствующих в композиции, может быть выбрана в соответствии со способом введения композиции и частотой введения. Например, для инъекции внутрисосудистым путем, например внутриаартериальным, молекулярная масса биосовместимого полимера может составлять от 3000 до 200000 дальтон в зависимости от уровня повреждения гематоэнцефалического барьера, предпочтительно от 3000 до 150000 дальтон.

Преимущественно молекулярная масса биосовместимых полимеров, присутствующих в композиции, может быть выбрана в соответствии с ухудшением и/или состоянием гематоэнцефалического барьера.

Например, когда гематоэнцефалический барьер претерпевает значительные структурные изменения, например, поражение, вызывающее высокую проницаемость гематоэнцефалического барьера, молекулярная масса биосовместимого полимера может составлять от 3000 до 200000 дальтон, предпочтительно от 70000 до 150000 дальтон.

Преимущественно молекулярная масса биосовместимого полимера может быть адаптирована после и/или в соответствии с постепенным восстановлением гематоэнцефалического барьера. Например, когда гематоэнцефалический барьер демонстрирует значительные структурные изменения, молекулярная масса биосовместимого полимера может составлять от 3000 до 200000 дальтон, предпочтительно от 70000 до 150000 дальтон. Впоследствии может быть уменьшена используемая молекулярная масса, например, она может составлять от 3000 до 100000 дальтон, предпочтительно от 10000 до 70000 дальтон.

Согласно изобретению композиция также может содержать гидрогель.

В настоящем документе под гидрогелем понимается любой подходящий гидрогель, известный специалисту в данной области техники. Это может быть, например, гидрогель, выбранный из группы, включающей гиалуроновую кислоту или ее производное, биосовместимые гидрогели, используемые для заполнения пространства мозга после травмы. Это может быть, например, гидрогель, описанный в документе Vladimir A. Kornev et al.: Hydrogel-assisted neuroregeneration approaches towards brain injury therapy: A state-of-the-art review. Computational and Structural Biotechnology Journal 16 j.csbj.2018.10.011 [24] и/или описанный в документе Gopalakrishnan A, Shankarappa SA, Rajanikant GK. Hydrogel Scaffolds: Towards Restitution of Ischemic Stroke-Injured Brain 2019 Feb; 10(1):1-18 [25].

В настоящем документе композиция может содержать гидрогель в концентрации от 0,1 до 5%, предпочтительно от 0,5 до 2,5% по массе гидрогеля.

Согласно изобретению композиция может содержать гиалуроновую кислоту и/или по меньшей мере один гидрогель, и/или их смесь.

В настоящем документе "гиалуроновая кислота" означает любую гиалуроновую кислоту, известную специалисту в данной области техники, например, несulfатированный линейный гликозаминогликан, состоящий из повторяющихся единиц D-глюкуроновой кислоты и N-ацетил-D- глюкозамина. Это может быть, например, гиалуроновая кислота (ГК) в ее кислотной форме или в форме соли (гиалуроната) сшитой гиалуроновой кислоты. ГК представляет собой несulfатированный линейный гликозаминогликан, состоящий из повторяющихся единиц D-глюкуроновой кислоты и N-ацетил-D-глюкозамина (Tammi R., Agren UM., Tuhkanen AL, Tammi M. Hyaluronan metabolism in skin. Progress in Histochemistry & Cytochemistry. 29(2):1-81, 1994 [26]). Это может быть, например, гиалуроновая кислота, имеющая фракции средней молекулярной массы от 5000 до 3000000 дальтон, предпочтительно от 50000 до 2000000 дальтон. В данном случае гиалуроновая кислота может быть получена любым способом, известным специалисту в данной области техники. Это могут быть, например, способы, описанные в журнале Hyaluronan fragments: an information-rich system (R. Stern et al., European Journal of Cell Biology 58 (2006) 699-715[27]). Это также может быть природная или модифицированная гиалуроновая кислота, имеющаяся в продаже, независимо от их названия и/или молекулярной массы, например, коммерческая гиалуроновая

кислота, выбранная из Hyactive CPN; Cristalhyal; Nutra HA; OLIGO-HA; D-Factor; Hyaluderm; juvelift; Restylane; Revitacare, если этот перечень не является исчерпывающим. Это также может быть гиалуроновая кислота, продаваемая Contipro (<https://www.contipro.com/portfolio/manufacturer-of-anti-ageing-cosmetic-gaw-materials/HyActive>) и/или Givaudan (<https://www.givaudan.com/fragrances/active-beauty/products/cristalhyal%C2%AE-range>).

В настоящем документе композиция может содержать гиалуроновую кислоту в концентрации от 0,1 до 5 мас.% по отношению к общей массе композиции. Например, композиция может содержать гиалуроновую кислоту в концентрации от 0,5% до 2,5 мас.% по отношению к общей массе композиции.

В настоящем документе композиция гидрогеля может быть составлена для введения прямым внутривенным путем, для местной интракраниальной инъекции, в частности внутриаартериальным путем, композиция может иметь концентрацию гиалуроновой кислоты от 1 до 10 мг/мл по массе по отношению к общему объему композиции.

В настоящем документе термин "фармацевтическая композиция" означает любую форму фармацевтической композиции, известную специалисту в данной области техники. В настоящем документе фармацевтическая композиция может представлять собой, например, раствор для инъекций. Это может быть, например, раствор для инъекций, например, для местной или системной инъекции, например, в физиологической сыворотке, в растворе глюкозы для инъекций, в присутствии эксципиентов, например, декстранов, например, в концентрациях, известных специалисту в данной области техники, например, от одного микрограмма до более миллиграммов на мл. Фармацевтическая композиция может быть, например, лекарственным средством, предназначенным для перорального введения, выбранным из группы, включающей жидкий состав, шипучую пероральную лекарственную форму, пероральный порошок, систему из множества частиц, диспергируемую во рту лекарственную форму.

Например, когда фармацевтическая композиция предназначена для перорального введения, она может быть в форме жидкого препарата, выбранного из группы, включающей раствор, сироп, суспензию или эмульсию. Когда фармацевтическая композиция находится в форме шипучей пероральной лекарственной формы, она может быть в форме, выбранной из группы, включающей таблетки, гранулы, порошки. Когда фармацевтическая композиция находится в форме перорального порошка или системы из множества частиц, она может быть в форме, выбранной из группы, состоящей из шариков, гранул, минитаблеток и микрогранул. Когда фармацевтическая композиция находится в дозированной форме, диспергируемой во рту, она может быть в форме, выбранной из группы, состоящей из таблеток, диспергируемых во рту, лиофилизированных капсул, тонких пленок, жевательной таблетки, таблетки, капсулы или медицинской жевательной резинки.

Согласно настоящему изобретению фармацевтическая композиция может представлять собой фармацевтическую композицию для перорального введения, например, буккального и/или сублингвального, например, выбранную из группы, включающей буккальные или сублингвальные таблетки, пастилки, капли, раствор для спреев.

Согласно настоящему изобретению фармацевтическая композиция может быть фармацевтической композицией для местного или трансдермального введения, например, выбранной из группы, включающей мази, кремы, гели, лосьоны, пластыри и пены.

Согласно настоящему изобретению фармацевтическая композиция может быть фармацевтической композицией для назального введения, например, выбранной из группы, включающей назальный капли, назальный спрей, назальный порошок.

Согласно настоящему изобретению фармацевтическая композиция может представлять собой фармацевтическую композицию для парентерального введения, например, подкожного, внутримышечного, внутривенного, внутриаартериального, интракраниального, интратекального. Предпочтительно фармацевтическая композиция может представлять собой фармацевтическую композицию для внутриаартериального и/или интракраниального введения. Композиция по настоящему изобретению может также содержать по меньшей мере один другой активный ингредиент, в частности другой терапевтически активный ингредиент, например, для одновременного, раздельного или ступенчатого применения во времени в зависимости от используемого галенового состава. Этот другой ингредиент может быть, например, активным ингредиентом, используемым, например, при лечении подходящих заболеваний, которые могут развиваться у пациента, имеющего изменение и/или повреждение гематоэнцефалического барьера. Они также могут быть фармацевтическими продуктами, известными специалисту в данной области техники, например, антибиотиками, противовоспалительными средствами, антикоагулянтами, нейропротекторами, ингибиторами ацетилхолинэстеразы, антидепрессантами, противовирусными препаратами.

Согласно изобретению композиция может вводиться, например, ежедневно, дважды в сутки и еженедельно. Это может быть, например, введение один раз в день, два раза в день или более.

Согласно изобретению композиция может вводиться, например, в течение периода от 1 дня до 3 месяцев, например, в течение 2 месяцев. Например, композицию можно вводить в течение 3 месяцев с ежедневным введением.

Объектом настоящего изобретения также является применение фармацевтической композиции, содержащей биосовместимый полимер формулы AaXxYy (I) или AaXxYyZz (II) для производства лекарст-

венного средства для защиты и/или репарации/восстановления гематоэнцефалического барьера.

Биосовместимый полимер определен выше.

В этом варианте осуществления термин "лекарственное средство" следует понимать как означающий фармацевтическую композицию, как определено выше.

Преимущественно изобретатели продемонстрировали, что биосовместимый полимер неожиданно позволяет как ускорять репарацию/восстановление гематоэнцефалического барьера, когда последний изменяется, как на структурном, так и/или функциональном уровне. Кроме того, изобретатели продемонстрировали, что биосовместимый полимер, выгодно и неожиданно, обеспечивает функциональное восстановление гематоэнцефалического барьера, в частности восстановление его проницаемости, независимо от причины и/или происхождения его модификации и/или изменения.

Краткое описание графических материалов

На фиг. 1 представлено изменение проницаемости гематоэнцефалического барьера (ГЭБ) после ишемического острого сосудистого нарушения в зависимости от времени; ордината соответствует проницаемости, а абсцисса соответствует времени в часах.

На фиг. 2 представлен пример структуры биосовместимого полимера, например, структуру соединения OTR4132.

На фиг. 3 представлена гистограмма, демонстрирующая изменение проницаемости ГЭБ в представляющих интерес областях, изученных с помощью МРТ. На этой фигуре абсцисса соответствует времени в часах или днях после ишемии головного мозга: через 1 ч, 3 ч, 24 ч, 48 ч и 7 дней после ишемии. Полученные значения соответствуют среднему +/- стандартному отклонению. На этой фигуре ордината соответствует объему изменения целостности ГЭБ в мм³. Значения, полученные для крыс, которым вводили композицию, содержащую биосовместимый полимер (OTR4132), представлены белыми полосами, значения, полученные для крыс, которым вводили контрольную композицию, представлены черными полосами.

На фиг. 4 представлена гистограмма, демонстрирующая проницаемость ГЭБ после ишемии головного мозга путем окрашивания синим Эванса. На этой фигуре ордината представляет количество синего Эванса в мкг/г мозговой ткани в соответствии с областью ишемии центральной нервной системы, а именно ипсилатеральной или контралатеральной. Значения, полученные для крыс, которым вводили композицию, содержащую биосовместимый полимер (OTR4132), представлены серыми полосами, значения, полученные для крыс, которым вводили контрольную композицию, представлены черными полосами.

Другие преимущества также могут быть выявлены специалистом в данной области техники при чтении приведенных ниже примеров, проиллюстрированных прилагаемыми фигурами, приведенными в качестве иллюстрации.

Примеры

Пример 1. Применение биосовместимого полимера для лечения нарушения гематоэнцефалического барьера и функционального восстановления гематоэнцефалического барьера.

А. Получение биосовместимых полимеров.

Синтез биосовместимых полимеров, RGTA, широко описан в предшествующем уровне техники, например, в патентах США № 7396923, озаглавленном "Process for the sulfonation of compounds comprising free hydroxyl (OH) groups or primary or secondary amines", а также в библиографической ссылке Yasunori I. et al., *Biomaterials* 2011, 32: 769e776) и Petit E. et al., *Biomacromolecules*. 2004 Mar-Apr; 5(2):445-52 [28].

Известно и описано несколько RGTA, в том числе OTR4120, для которых есть многочисленные публикации по доклиническим и клиническим исследованиям (RGTA®-based matrix therapy - A new branch of regenerative medicine in locomotion. Barritault D, Desgranges P, Meddahi-Pellé A, Denoix JM, Saffar JL. *Joint Bone Spine*. 2017 May;84(3):283-292. DOI: 10.1016/j.jbspin.2016.06.012 [29], RGTA® or ReGeneraTing Agents mimic heparan sulfate in regenerative medicine: from concept to curing patients Barritault D, Gilbert-Sirieix M, Rice KL, Sineriz F, Papy-Garcia D, Baudouin C, Desgranges P, Zakine G, Saffar JL, van Neck J. *Glycoscopj J*. 2017 Jun; 34 (3): 325- 338. DOI: 10.1007/s10719-016-9744-5 [2]. Соединение OTR4131 представляет собой соединение, содержащее радикал Z, который представляет собой жирную кислоту, а именно уксусную кислоту, как описано в публикации Frescaline G. et al., *Tissue Eng Part A* 2013 Jul; 19 (13-14): 1641-53. DOI: 10.1089/ten.TEA.2012.0377 [30]), Randomized controlled trial demonstrates the benefit of RGTA® based matrix therapy to treat tendinopathies in racing horses. Jacquet-Guibon S, Dupays AG, Caudry V, Crevier-Denoix N, Leroy S, Snerizi F, Chiappini F, Barritault D, Denoix JM. *PLoS One*. 2018 Mar 9; 13 (3): e0191796. DOI: 10.1371/journal.pone.0191796 [31]. Другие соединения также описаны в патентных документах US06689741, US2014301972A1, в которых Z представляет собой аминокислоту, такую как фенилаланин (Heparan sulfate proteoglycans mediate internalization and propagation of specific proteopathic seeds. Holmes BB, DeVos SL, Kfoury N, Li M, Jacks R, Yanamandra K, Ouidja MO, Brodsky FM, Marasa J, Bagchi DP, Kotzbauer PT, Miller TM, Papy-Garcia D, Diamond MI. *Proc Natl Acad Sci USA* 2013 Aug 13; 110 (33): E3138-47. DOI: 10.1073/pnas.1301440110 [32]) или другое гидрофобное соединение (Structure-activity studies of heparan mimetic polyanions for anti-prion therapies. Ouidja MO, Petit E, Kerros ME, Ikeda Y, Morin C, Carpentier G, Barritault D, Brugère-Picoux J, Deslys JP, Adjou K, Papy-Garcia D. *Biochem Biophys Res*

Commun. 2007 Nov 9; 363 (1): 95-100 [33]).

В. Функциональное восстановление гематоэнцефалического барьера с помощью биосовместимого полимера.

В настоящем примере оценивается влияние биосовместимого полимера согласно изобретению, RGTA, на проницаемость ГЭБ после изменения, например, после острого нарушения мозгового кровообращения (ОНМК).

В этом примере использовали модель ОНМК крысы. Это была ишемия головного мозга продолжительностью 1 ч, достигнутая путем окклюзии церебральной артерии внутрисосудистым путем с последующей реперфузией. В качестве крыс использовали самцов крыс Спрег-Доули со средней массой 300-350 г. Количество используемых крыс составляло от четырех до шести крыс на группу за раз. В этой модели хорошо известно, что проницаемость ГЭБ постепенно увеличивается, достигая пика через 24-48 ч после индукции ишемии головного мозга (Garrigue et al. 2016 [6]; Sharif et al., 2018 [16]). На фиг. 1 представлено изменение проницаемости в зависимости от времени в модели, используемой, как описано в Abdullahi et al., 2018.

Оценку проницаемости ГЭБ проводили с помощью МРТ после инъекции контрастного агента Dotarem® в разное время: через 1 ч, 3 ч, 24 ч, 48 ч и 7 дней после ишемии головного мозга. Этот контрастный агент не проникает через ГЭБ в физиологических условиях. Контрастный агент вводили внутривенно через бедренную вену. Количество контрастного агента, вводимого путем инъекции, составляло 200 мкмоль/кг (Dotarem (зарегистрированная торговая марка), Guerbet S.A).

Крыс, а именно от четырех до пяти животных в группе и за раз, лечили биосовместимым полимером, а именно RGTA OTR4132 с молекулярной массой от 100000 до 150000 Да. На фиг. 2 представлена структура указанного полимера. Биосовместимый полимер OTR4132 вводили через 1 ч после ишемии головного мозга, объем вводимой композиции, содержащий концентрацию 0,5 мг/кг OTR4132, составлял 300 мкл на хвостовую вену.

Крысам, а именно от четырех до пяти животных на группу и каждый раз, вводили контрольный раствор, то есть физиологической сывороткой (0,9% солевой раствор NaCl). Контрольный раствор вводили таким же образом, как и композицию, содержащую соединение OTR4132, а именно через 1 ч после ишемии головного мозга, объем вводимой композиции составлял 250 мкл, которую вводили через бедренную вену.

Наблюдение за проницаемостью и диффузией контрастного агента проводили путем оценки изображений, полученных с помощью МРТ. Наблюдаемые области центральной нервной системы были расположены в пораженном ишемией полушарии головного мозга, а также в здоровом контралатеральном полушарии. Определение диффузии контрастного агента на полученных изображениях проводили с помощью анализа на основе МРТ с использованием соответствующего программного обеспечения (Image J (торговая марка) (Wayne Rasband, NIMH, Мэриленд, США)). Распространение контрастного агента и/или проницаемость гематоэнцефалического барьера показаны на фиг. 3.

Как показано на схеме фиг. 3 крысы, которым вводили контрастный агент и контрольный раствор, демонстрируют повышенную проницаемость гематоэнцефалического барьера через 24 ч, 48 ч и 7 дней после ОНМК (черные столбцы); эти результаты соответствовали тем, которые были получены в современных исследованиях (Garrigue et al. 2016 [6]). Эта диаграмма также ясно и неожиданно демонстрирует, что лечение крыс биосовместимым полимером OTR4132 позволяет значительно снизить проницаемость ГЭБ через 24 и 48 ч после ишемии в группе крыс, получавших RGTA, по сравнению с группой ишемии у крыс, получавших контрольный раствор. В частности, результаты продемонстрировали статистически значимое различие между крысами, получавшими контрольный раствор, по сравнению с крысами, получавшими композицию, содержащую биосовместимый полимер согласно изобретению (ANOVA с последующим апостериорным тестом с HSD-критерием Тьюки, $p < 0,05$).

Результаты, полученные и проиллюстрированные на фиг. 3 ясно демонстрируют, что использование биосовместимых полимеров согласно изобретению позволяет сохранить целостность ГЭБ после ОНМК. В частности, эти результаты ясно демонстрируют, что применение биосовместимого полимера в соответствии с изобретением позволяет как защитить ГЭБ, и способствовать его восстановлению, так и, в случае, когда физиологические свойства ГЭБ изменяются/модифицируются, восстанавливать физиологические свойства и/или уменьшать их изменения.

В дополнение к результатам, полученным с помощью МРТ, проницаемость ГЭБ была измерена путем окрашивания синим Эванса после индукции ишемии головного мозга в соответствии со способом, описанным в документе None et al., 2018 [7]. В качестве крыс использовали самцов крыс Спрег-Доули со средней массой 300-350 г, эксперимент был проведен на 11 крысах, в том числе на пяти крысах, которым через 72 ч после индукции ишемии головного мозга внутривенно вводили в концентрации 2% синий Эванса, который не преодолевает ГЭБ в физиологических условиях, при этом вводимый объем составлял 4 мл/кг, то есть от 1,2 до 1,4 мл для крысы массой от 300 до 350 г, соответственно.

Шесть крыс лечили биосовместимым полимером, а именно RGTA OTR4132 с молекулярной массой от 100000 до 150000 Да, вводимым через 1 ч после индукции ишемии головного мозга, при этом объем композиции, включающий дозу 2,22 мкг OTR4132, который вводили во внутреннюю сонную артерию,

составлял 50 мкл.

Пяти крысам вводили контрольный раствор, а именно физиологическую сыворотку (0,9% физиологический раствор NaCl), введенный таким же образом, как и композиция, содержащая соединение OTR4132, а именно через 1 ч после индукции ишемии головного мозга, объем композиции, который вводили во внутреннюю сонную артерию, составлял 50 мкл.

Через тридцать минут после введения синего Эванса животному была проведена внутрисердечная инфузия физиологического раствора, мозг извлекали и полушария разделяли. Затем образцы измельчали в фосфатно-солевом буфере и затем помещали при 4°C в присутствии 60% трихлоруксусной кислоты. Затем образцы центрифугировали (1000 g в течение 30 мин) и супернатант собирали для считывания показаний спектрофотометра при 610 нм. Параллельно был подготовлен диапазон возрастающих концентраций синего Эванса.

Окрашенную синим Эванса ткань, присутствующую в собранном супернатанте, затем количественно определяли при помощи спектрофотометрии с измерением при 610 нм.

На фиг. 4 представлены результаты, полученные по отдельным субъектам. Результаты, полученные в группе контрольных животных, демонстрируют значительное изменение проницаемости ГЭБ в ипсилатеральном полушарии по сравнению с контралатеральным полушарием (2-сторонний ANOVA (p "группа" = 0,1582; p "полушарие" = 0,0933; p "группа * полушарие" = 0,0175) с последующим апостериорным тестом с HSD-критерием Тьюки с p = 0,0374). Неожиданно не наблюдали никакой разницы между ипсилатеральным и контралатеральным полушариями в группе животных, получавших биосовместимый полимер OTR4132 (2-сторонний дисперсионный анализ ANOVA (p группа = 0,1582; p "полушарие" = 0,0933; p "группа * полушарие" = 0,0175) с последующим апостериорным тестом с HSD-критерием Тьюки с p = 0,9965). Кроме того, анализы также демонстрируют статистически значимое уменьшение изменения ГЭБ в ипсилатеральном полушарии у животных, получавших биосовместимый полимер OTR4132, по сравнению с контрольными животными (2-сторонний дисперсионный анализ ANOVA (p "группа" = 0,1582; p "полушарие" = 0,0933; p "группа * полушарие" = 0,0175) с последующим апостериорным тестом с HSD-критерием Тьюки с p = 0,0439).

Этот пример ясно демонстрирует, что примеры композиции согласно изобретению, содержащей полимер формулы AaXxYy или AaXxYyZz, преимущественно позволяют защитить ГЭБ и/или восстановить физиологические свойства ГЭБ. В частности, этот пример ясно демонстрирует, что примеры композиции согласно изобретению, содержащей полимер формулы AaXxYy или AaXxYyZz, позволяют сохранить целостность ГЭБ после ОНМК. В частности, эти результаты ясно демонстрируют, что применение биосовместимого полимера в соответствии с изобретением позволяет как защитить ГЭБ, и способствовать его восстановлению, так и, в случае, когда физиологические свойства ГЭБ изменяются/модифицируются, восстанавливать физиологические свойства и/или уменьшать их изменения.

Пример 2. Применение биосовместимого полимера для лечения измененного гематоэнцефалического барьера и функционального восстановления гематоэнцефалического барьера.

Человеку, 75-летнему мужчине (75 кг), страдающему неврологическими расстройствами, в частности когнитивными расстройствами, связанными с несколькими сердечно-сосудистыми заболеваниями, как отменили неврологи, которые привели к изменениям в гематоэнцефалическом барьере, обеспечивали лечение биосовместимым полимером, а именно соединением OTR4120 в виде ежедневного приема 30 мл 100 мкг/мл водного раствора OTR4120 в течение 45 дней. Вводимая доза составляла 3 мг/день на 75 кг или 40 мкг/кг/день. После введения неврологи, а также лечащий или направляющий врач и члены семьи пациента наблюдали улучшение когнитивных функций.

Другой человек, 85-летняя женщина, с серьезными проблемами с памятью, в частности, с трудностями в чтении и узнавании людей, особенно близких родственников (членов семей), неспособностью писать и т.д. Человек (весом около 60 кг), у которого диагностирована болезнь Альцгеймера с коэффициентом социальной недостаточности, что указывает на изменение гематоэнцефалического барьера, лечился путем сублингвального приема дозы OTR4120 от 300 до 100 мкг/мл или 0,5 мкг два раза в неделю (0,5 мкг/кг два раза в неделю). После лечения в течение 6 месяцев у пациента улучшились когнитивные функции, социальные отношения, например, с окружающими, особенно с родственниками и медицинским персоналом, он смог звонить, выходить на улицу, видаться с друзьями, играть в "Скраббл" и т.д. Эти улучшения были, в частности, связаны с улучшением и восстановлением функций гематоэнцефалического барьера.

Ссылки.

1. Abdullahi W, Tripathi D, Ronaldson PT. Blood-Brain Barrier Dysfunction in Ischemic Stroke: Targeting Tight Junctions and Transporters for Vascular Protection. *Am J Physiol Cell Physiol*. 2018 Jun 27. doi: 10.1152/ajpcell.00095.2018. [Epub ahead of print] PubMed PMID: 29949404
2. Barritault D, Gilbert-Sirieix M, Rice KL, Siñeriz F, Papy-Garcia D, Baudouin C, Desgranges P, Zakine G, Saffar JL, van Neck J. RGTA(®) or ReGeneraTing Agents mimic heparan sulfate in regenerative medicine: from concept to curing patients. *Glycoconj J*. 2017 Jun;34(3):325-338. doi: 10.1007/s10719-016-9744-5. Epub 2016 Dec 7. Review. PubMed PMID: 27924424; PubMed Central PMCID: PMC5487810.
3. Blaney, S. M., Balis, F. M., Berg, S., Arndt, C. A., Heideman, R., Geyer, J. R., & Aikin, A. (2005). Intrathecal mafosfamide: a preclinical pharmacology and phase I trial. *Journal of clinical oncology*, 23(7), 1555-1563.
4. Cardoso, F. L., Brites, D., & Brito, M. A. (2010). Looking at the blood-brain barrier: molecular anatomy and possible investigation approaches. *Brain research reviews*, 64(2), 328-363.
5. Erickson MA. and Banks WA. Neuroimmune Axes of the Blood-Brain Barriers and Blood-Brain Interfaces: Bases for Physiological Regulation, Disease States, and Pharmacological Interventions. *Pharmacol Rev*. 2018 Apr;70(2):278-314. doi: 10.1124/pr.117.014647. Review.
6. Garrigue P, Giacomino L, Bucci C, Muzio V, Filannino MA, Sabatier F, Dignat-George F, Pisano P, Guillet B. Single photon emission computed tomography imaging of cerebral blood flow, blood-brain barrier disruption, and apoptosis time course after focal cerebral ischemia in rats. *Int J Stroke*. 2016 Jan;11(1):117-26.
7. Hone EA, Hu H, Sprowls SA, Farooqi I, Grasmick K, Lockman PR, et al. Biphasic Blood-Brain Barrier Openings after Stroke. *Neurol Disord Stroke Int*. 2018; 1(2): 1011.

8. Hynes RO, Naba A. Overview of the matrisome--an inventory of extracellular matrix constituents and functions. *Cold Spring Harb Perspect Biol.* 2012 Jan 1;4(1):a004903. doi: 10.1101/cshperspect.a004903. Review. PubMed PMID: 21937732; PubMed Central PMCID: PMC3249625.
9. Khelif, Y., Toutain, J., Quittet, M. S., Chantepie, S., Laffray, X., Valable, S., & Barritault, D. (2018). A heparan sulfate-based matrix therapy reduces brain damage and enhances functional recovery following stroke. *Theranostics*, 8(21), 5814.
- 10 Marks Jr, W. J., Ostrem, J. L., Verhagen, L., Starr, P. A., Larson, P. S., Bakay, R. A., ... & Bartus, R. T. (2008). Safety and tolerability of intraputaminial delivery of CERE-120 (adeno-associated virus serotype 2-neurturin) to patients with idiopathic Parkinson's disease: an open-label, phase I trial. *The Lancet Neurology*, 7(5), 400-408.
11. Möbius-Winkler, S., Linke, A., Adams, V., Schuler, G., & Erbs, S. (2010). How to improve endothelial repair mechanisms: the lifestyle approach. *Expert review of cardiovascular therapy*, 8(4), 573-580.
12. Peschillo S, Diana F, Berge J, Missori P. A comparison of acute vascular damage caused by ADAPT versus a stent retriever device after thrombectomy in acute ischemic stroke: a histological and ultrastructural study in an animal model. *J Neurointerv Surg.* 2017 Aug;9(8):743-749. doi: 10.1136/neurintsurg-2016-012533. Epub 2016 Jul 7. PubMed PMID: 27387708. PMID: 11152991.
13. Rafii, M. S., Baumann, T. L., Bakay, R. A., Ostrove, J. M., Siffert, J., Fleisher, A. S., & Chu, Y. (2014). A phase1 study of stereotactic gene delivery of AAV2-NGF for Alzheimer's disease. *Alzheimer's & Dementia*, 10(5), 571-581.
14. Rajendran P, Rengarajan T, Thangavel J, Nishigaki Y, Sakthisekaran D, Sethi G, Nishigaki I. The vascular endothelium and human diseases. *Int J Biol Sci.* 2013 Nov 9;9(10):1057-69. doi: 10.7150/ijbs.7502. eCollection 2013. Review. PubMed PMID: 24250251; PubMed Central PMCID: PMC3831119.

15. Ronaldson, P. T., & Davis, T. P. (2015). Targeting transporters: promoting blood–brain barrier repair in response to oxidative stress injury. *Brain research*, 1623, 39-52.
16. Sharif Y, Jumah F, Coplan L, Krosser A, Sharif K, Tubbs RS. The Blood Brain Barrier: A Review of its Anatomy and Physiology in Health and Disease. *Clin Anat*. 2018 Apr 10. doi: 10.1002/ca.23083. [Epub ahead of print] PubMed PMID: 29637627.
17. Sifat, A. E., Vaidya, B., & Abbruscato, T. J. (2017). Blood-brain barrier protection as a therapeutic strategy for acute ischemic stroke. *The AAPS journal*, 19(4), 957-972.
18. Steiner E, Enzmann GU, Lyck R, Lin S, Ruegg MA, Kroger S, and Engelhardt B. The heparan sulfate proteoglycan agrin contributes to barrier properties of mouse brain endothelial cells by stabilizing adherens junctions. *Cell Tissue Res* 358: 465-479, 2014.
19. Sweeney MD, Sagare AP, Zlokovic BV. Blood-brain barrier breakdown in Alzheimer disease and other neurodegenerative disorders. *Nat Rev Neurol*. 2018 Mar;14(3):133-150. doi: 10.1038/nrneurol.2017.188. Epub 2018 Jan 29. Review. PubMed PMID: 29377008; PubMed Central PMCID: PMC5829048.
20. Teng D, Pannell JS, Rennert RC, Li J, Li YS, Wong VW, Chien S, Khalessi AA. Endothelial trauma from mechanical thrombectomy in acute stroke: in vitro live-cell platform with animal validation. *Stroke*. 2015 Apr;46(4):1099-106. doi: 10.1161/STROKEAHA.114.007494. Epub 2015 Feb 24. PubMed PMID: 25712942.
21. Thomsen MS, Routhe LJ, Moos T. The vascular basement membrane in the healthy and pathological brain. *J Cereb Blood Flow Metab*. 2017 Oct;37(10):3300-3317. doi: 10.1177/0271678X17722436. Epub 2017 Jul 28. Review.
22. Warren, K, E Beyond the Blood: Brain Barrier: The Importance of Central Nervous System (CNS) Pharmacokinetics for the Treatment of CNS Tumors, Including Diffuse Intrinsic Pontine Glioma *Front. Oncol.*, 03 July

2018 | <https://doi.org/10.3389/fonc.2018.01.011>. Review

23. Wilgus A. 2012 Growth Factor–Extracellular Matrix Interactions Regulate Wound Repair. *Advances in Wound Care*, 1 (6): 249–254. doi: 10.1089/wound.2011.0344.

24. Vladimir A. Kornev et al: Hydrogel-assisted neuroregeneration approaches towards brain injury therapy: A state-of-the-art review. *Computational and Structural Biotechnology Journal* 16 j.csbj.2018.10.011.

25. Gopalakrishnan A, Shankarappa SA, Rajanikant GK. Hydrogel Scaffolds: Towards Restitution of Ischemic Stroke-Injured Brain 2019 Feb;10(1):1-18.

26. Tammi R., Agren UM., Tuhkanen AL., Tammi M. Hyaluronan metabolism in skin. *Progress in Histochemistry & Cytochemistry*. 29(2):1-81, 1994

27. R. Stern et al., *European Journal of Cell Biology* 58 (2006) 699-715.

28. Yasunori I. et al., *Biomaterials* 2011, 32 :769e776) et Petit E. et al., *Biomacromolecules*. 2004 Mar-Apr; 5(2):445-52

29. RGTA®-based matrix therapy - A new branch of regenerative medicine in locomotion. Barritault D, Desgranges P, Meddahi-Pellé A, Denoix JM, Saffar JL. *Joint Bone Spine*. 2017 May;84(3):283-292. doi: 10.1016/j.jbspin.2016.06.012

30. Frescaline G. et al., *Tissue Eng Part A*. 2013 Jul;19(13-14):1641-53. doi: 10.1089/ten.TEA.2012.0377

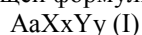
31. Randomized controlled trial demonstrates the benefit of RGTA® based matrix therapy to treat tendinopathies in racing horses. Jacquet-Guibon S, Dupays AG, Coudry V, Crevier-Denoix N, Leroy S, Siferiz F, Chiappini F, Barritault D, Denoix JM. *PLoS One*. 2018 Mar 9;13(3):e0191796. doi: 10.1371/journal.pone.0191796

32. Heparan sulfate proteoglycans mediate internalization and propagation of specific proteopathic seeds. Holmes BB, DeVos SL, Kfoury N, Li M, Jacks R, Yanamandra K, Ouidja MO, Brodsky FM, Marasa J, Bagchi DP, Kotzbauer PT, Miller TM, Papy-Garcia D, Diamond MI. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2013 Aug 13;110(33):E3138-47. doi: 10.1073/pnas.1301440110

33. Structure-activity studies of heparan mimetic polyanions for anti-prion therapies. Ouidja MO, Petit E, Kerros ME, Ikeda Y, Morin C, Carpentier G, Barritault D, Brugère-Picoux J, Deslys JP, Adjou K, Papy-Garcia D. *Biochem Biophys Res Commun*. 2007 Nov 9;363(1):95-100

ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Применение фармацевтической композиции в качестве лекарственного средства для защиты и/или репарации/восстановления гематоэнцефалического барьера, причем указанная композиция содержит биосовместимый полимер следующей общей формулы (I):



где

A представляет собой мономер, представляющий собой глюкозу,

X представляет собой группу R₁COOR₂ или -R₉(C=O)R₁₀,

Y представляет собой O- или N-сульфонатную группу, которая соответствует одной из следующих формул: -R₃OSO₃R₄, -R₅NSO₃R₆, -R₇SO₃R₈, где

R₁, R₃, R₅ и R₉ независимо представляют собой алифатическую углеводородную цепь, необязательно разветвленную и/или ненасыщенную, которая необязательно содержит одно или более ароматических колец, за исключением бензиламина и бензиламинсульфоната, R₂, R₄, R₆ и R₈ независимо представляют собой атом водорода или катион M⁺, и R₇ и R₁₀ независимо представляют собой связь, алифатическую

углеводородную цепь, необязательно разветвленную и/или ненасыщенную,

а представляет количество мономеров, при этом количество "а" таково, что масса указанного полимера формулы (I) больше или равна 2000 дальтон;

х представляет собой степень замещения мономеров А группами Х, при этом степень замещения х составляет от 10 до 150%;

у представляет собой степень замещения мономеров А группами Y, при этом степень замещения "у" составляет от 10 до 170%.

2. Применение композиции по п.1, отличающееся тем, что указанная композиция дополнительно содержит гиалуроновую кислоту.

3. Применение композиции по любому из пп.1 или 2, отличающееся тем, что указанный биосовместимый полимер дополнительно содержит функциональные химические группы Z, отличные от X и Y и представляющие собой группы жирных кислот, способные придавать указанному полимеру дополнительные биологические или физико-химические свойства.

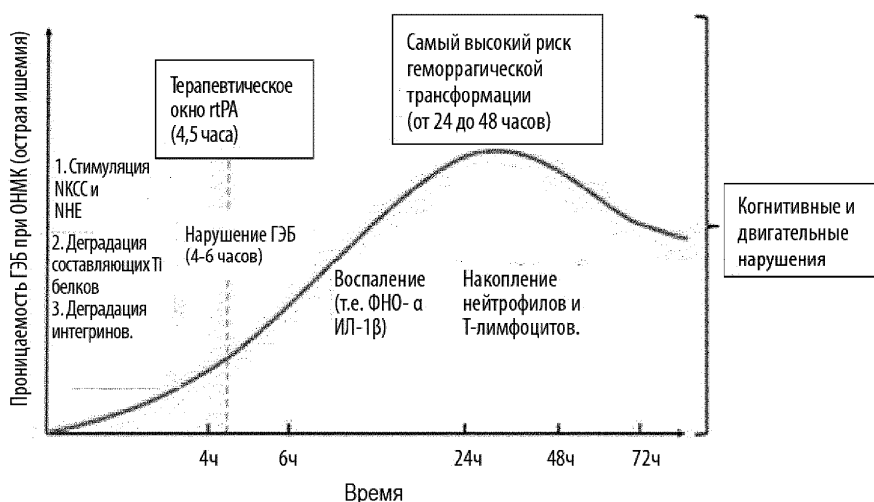
4. Применение композиции по п.3, отличающееся тем, что степень замещения всех мономеров А группами Z представляет собой "z" и составляет от 1 до 50%.

5. Применение композиции по п.3 или 4, отличающееся тем, что группа Z придает указанным полимерам лучшую растворимость или липофильность.

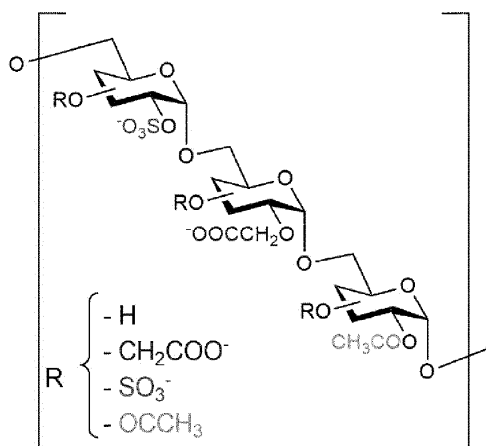
6. Применение композиции по любому из пп.3-5, отличающееся тем, что группы R₉ и R₁₀ независимо и необязательно замещены группой Z.

7. Применение композиции по любому из пп.1-6, отличающееся тем, что лекарственное средство для защиты и/или репарации/восстановления гематоэнцефалического барьера предназначено для введения парентерально в дозе от 0,1 до 5 мг/кг массы тела, и/или перорально в дозе от 0,1 до 5 мг/кг массы тела, и/или интракраниально в дозе от 0,1 до 100 мкг*мл⁻¹.

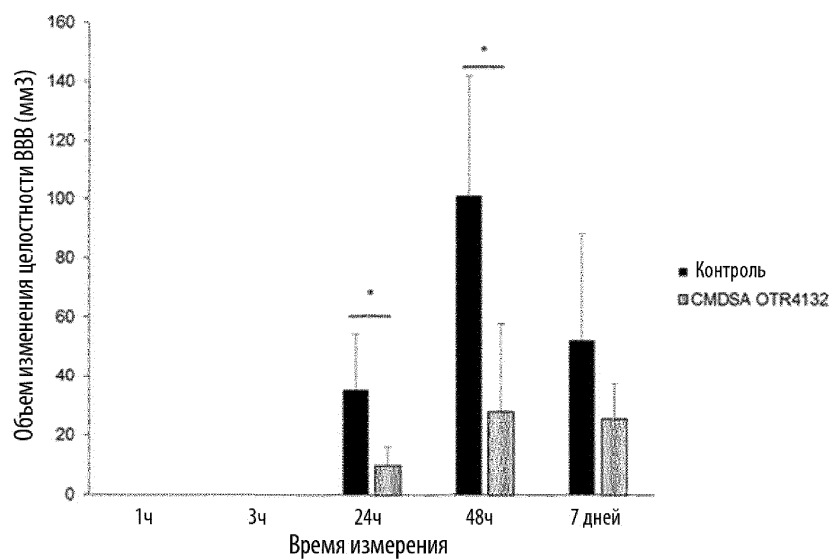
8. Применение композиции по любому из пп.2-7, отличающееся тем, что концентрация гиалуроновой кислоты в указанной композиции составляет от 1 до 10 мг/мл.



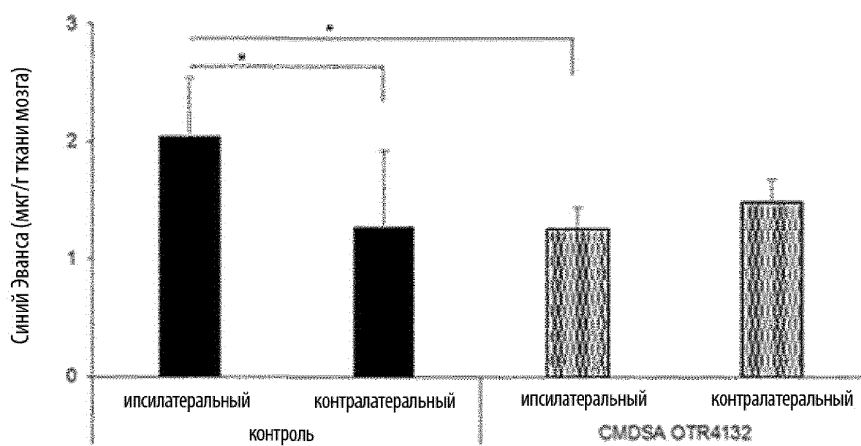
Фиг. 1



Фиг. 2



Фиг. 3



Фиг. 4

