

(19)



Евразийское
патентное
ведомство

(21) 202490405 (13) A1

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОЙ ЗАЯВКЕ

(43) Дата публикации заявки
2024.05.17

(22) Дата подачи заявки
2022.08.30

(51) Int. Cl. *A61K 31/19* (2006.01)
A61K 31/341 (2006.01)
A61P 9/00 (2006.01)
A61P 9/10 (2006.01)
A61P 11/00 (2006.01)
A61P 11/06 (2006.01)
A23L 2/00 (2006.01)
G01N 33/00 (2006.01)

(54) КОМПОЗИЦИЯ, СОДЕРЖАЩАЯ α -КЕТОГЛУТАРОВУЮ КИСЛОТУ (α -KG) И 5-ГИДРОКСИМЕТИЛ-2-ФУРФУРОЛ (5-HMF), ДЛЯ УЛУЧШЕНИЯ ГЕМОГЛОБИН-ОПОСРЕДОВАННОГО СНАБЖЕНИЯ КИСЛОРОДОМ

(31) 21193855.0

(32) 2021.08.30

(33) EP

(86) PCT/EP2022/074104

(87) WO 2023/031212 2023.03.09

(71) Заявитель:
ЦИЛ ГМБХ (AT)

(72) Изобретатель:

Винтерштайгер Рейнхольд, Бюхерль-Харрер Кристиан (AT)

(74) Представитель:

Нагорных И.М. (RU)

(57) Настоящее изобретение относится к фармацевтической композиции, содержащей α -кетоглутаровую кислоту (α -KG) и 5-гидроксиметил-2-фурфурол (5-HFM) для применения при лечении и/или профилактике заболевания или состояния, при котором полезно повышенное гемоглобин-опосредованное снабжение кислородом.

202490405
A1

202490405

A1

Композиция, содержащая α -кетоглутаровую кислоту (α -KG) и 5-гидроксиметил-2-фурфурол (5-HMF), для улучшения гемоглобин-опосредованного снабжения кислородом

Область техники

Настоящее изобретение относится к фармацевтической композиции, содержащей α -кетоглутаровую кислоту (α -KG) и 5-гидроксиметил-2-фурфурол (5-HMF), для применения при лечении и/или профилактике заболевания или состояния, при котором полезна улучшенная гемоглобин-опосредованная доставка кислорода.

Уровень техники

В описании приводятся ссылки на множество документов, включая патентные заявки, патенты на изобретения и инструкции по применению от различных производителей. Объем раскрытия каждого из этих документов, хотя и не считается относящимся к патентоспособности настоящего изобретения, настоящим включен в объем раскрытия заявки. В частности, все документы, на которые имеются ссылки в этих документах, также включены в объем раскрытия настоящей заявки в том же объеме, как если бы каждый из этих документов был специально включен в объем раскрытия настоящей заявки путем ссылки.

Красные кровяные тельца (эритроциты) — это клетки крови, основной задачей которых является транспортировка вдыхаемого в легких жизненно важного кислорода по кровеносным сосудам к органам и тканям организма. Красные кровяные тельца выполняют свою задачу благодаря содержащемуся в них красному пигменту крови — гемоглобину (Hb).

Гемоглобин представляет собой тетрамерный белок, который может обратимо связывать четыре молекулы кислорода посредством аллостерического механизма. В крови гемоглобин находится в равновесии между двумя аллостерическими структурными состояниями. В состоянии «Т» (напряженное) гемоглобин дезоксигенируется. В состоянии «R» (расслабленное) гемоглобин оксигенируется.

Кривая диссоциации кислорода (КДК, или «кривая диссоциации оксигемоглобина»), также называемая кривой связывания кислорода с гемоглобином (Hb), представляет собой графическое изображение зависимости между парциальным давлением кислорода (PO_2) и насыщением кислородом (SO_2) Hb, где SO_2 соответствует процентному содержанию насыщенного кислородом Hb (оксигемоглобина) в общем гемоглобине. Типично сигмовидная форма кривой КДК отражает кооперативность обратимого связывания четырех молекул кислорода с тетрамерной молекулой гемоглобина. Это означает, что связывание одной молекулы кислорода индуцирует совместное конформационное изменение Hb с переходом из так называемого «напряженного состояния» в «расслабленное состояние», облегчая

молекуле гемоглобина связывание дополнительного кислорода. КДК сопоставляет конкретное насыщение гемоглобина кислородом каждому значению парциального давления (PO_2) — чем ниже PO_2 , тем ниже насыщение. В средней области кривой повышение PO_2 приводит к почти линейному увеличению насыщения кислородом. При определенном PO_2 Hb насыщается. Дальнейшее повышение парциального давления кислорода не приводит к сколь-либо значимому дальнейшему увеличению насыщения кислородом.

Наиболее важными параметрами для описания КДК являются значение P_{50} (парциальное давление кислорода (PO_2), при котором происходит 50%-е насыщение Hb кислородом (O_2); мера сродства Hb к O_2 и коэффициент Хилла, который представляет максимальный наклон КДК и, таким образом, меру кооперативности связывания кислорода с Hb (2).

На форму кривой КДК влияет множество факторов (3), которые приводят либо к увеличению сродства Hb к O_2 и связанному с этим сдвигу КДК влево, либо к уменьшению сродства Hb к O_2 и связанному с этим сдвигу КДК вправо (4), причем в общем случае сдвиг вправо благоприятствует выгрузке кислорода, а сдвиг влево — его загрузке.

Известными физиологическими факторами, которые приводят к сдвигу КДК вправо, являются, например, повышенные концентрации углекислого газа, низкий (кислый) pH, повышенная концентрация 2,3-дифосфоглицерата (2,3-DPG, также известного как 2,3-бифосфоглицериновая кислота (2,3-BPG)) и/или повышенная температура тела. Это в конечном счете способствует улучшению доставки кислорода к метаболически активным тканям, где происходит метаболизм кислорода и глюкозы с образованием углекислого газа и органических кислот.

Известны различные заболевания и состояния, связанные с недостаточным снабжением кислородом, причем эти заболевания и состояния обычно связаны либо с нарушением потребления кислорода легкими, либо с нарушением снабжения крови кислородом. Помимо (пато-) физиологических причин к недостаточному снабжению кислородом и связанным с этим осложнениям здоровья могут привести внешние факторы, например, низкое атмосферное давление на больших высотах или низкое содержание кислорода в воздухе. Также известно, что эффективное снабжение кислородом имеет основополагающее значение для поддержания всех физиологических функций, а значит, и для физической и умственной работоспособности.

В этой связи предполагалось, что воздействие на аллостерический баланс гемоглобина и, следовательно, на его свойства связывания и высвобождения является перспективным средством для лечения и/или профилактики широкого спектра таких

заболеваний или состояний, а также средством повышения физической и/или умственной работоспособности во время занятий физкультурой и во время работы.

Было высказано предположение, что воздействие на гемоглобин для приведения его в состояния более низкого сродства к кислороду и связанное с этим смещение КДК вправо может быть особенно полезным при тех заболеваниях и состояниях, при которых ткани страдают от недостаточного снабжения кислородом. Предполагается, что загрузка кислородом Hb в легких будет затруднена из-за снижения сродства к кислороду, но в целом будет способствовать выгрузке кислорода в периферических тканях.

Напротив, воздействие на гемоглобин путем стабилизации состояния R до состояния повышенного сродства к кислороду и связанного с этим сдвига КДК влево считается особенно благоприятным для лечения серповидно-клеточной анемии. Было показано, что стабилизация состояния R серповидно-клеточного гемоглобина (Hb-S), лежащего в основе этого наследственного заболевания, может противодействовать агрегации эритроцитов, связанной с состоянием T, которое склонно к полимеризации, и связанной с этим обструкции сосудов (выработке серповидно-клеточных эритроцитов).

С другой стороны, в прошлом обсуждалось, что вещества, вызывающие повышенное сродство к кислороду и связанный с этим сдвиг КДК влево, приводят к улучшению загрузки кислорода, но к осложнению выгрузки кислорода, и поэтому не способствуют улучшению снабжения кислородом периферической ткани. Однако в результате исследований выяснилось, что эффективность выделения кислорода в первую очередь определяется кривой КДК: было показано, что вещества, которые, с одной стороны, повышают сродство Hb к кислороду (т. е. вызывают сдвиг ODC влево), а, с другой стороны, сохраняют форму кривой КДК сигмовидной, способствуют общему улучшению снабжения кислородом.

Например, питательный микроэлемент 5-гидроксиметил-2-фурфурол (5-HMF) был идентифицирован как аллостерический модулятор Hb, повышающий его сродство к кислороду. На животной модели тяжелой гипоксии было обнаружено, что сродство HbO₂, усиленное 5-HMF, может защищать от гемодинамической нестабильности и поддерживать микрососудистую оксигенацию (8). Еще в одном исследовании было показано, что у свиней, страдающих гипоксией, индуцированное 5-HMF повышение сродства HbO₂ приводило к улучшению насыщения артериальной крови кислородом (SO₂) и ослаблению связанного с гипоксией повышения давления в легочной артерии (9). Аналогичным образом, индуцированное 5-HMF повышение сродства HbO₂ обнаруживалось у испытуемых людей, страдающих гипоксией, а также у пациентов с серповидноклеточной анемией (10).

Не в последнюю очередь с момента появления и глобального распространения COVID-19 и связанных с ним респираторных осложнений существует постоянная потребность в новых, альтернативных и усовершенствованных терапевтических средствах для лечения и/или профилактики заболеваний и состояний, при которых была бы полезна улучшенная гемоглобин-опосредованная доставка кислорода. Растет также спрос на пищевые добавки для оптимизации и повышения умственной и физической работоспособности во время занятий физкультурой и во время работы.

Эти проблемы решались настоящим изобретением в соответствии с формулой изобретения и нижеследующим описанием и примерами.

Сущность изобретения

В соответствии с первым аспектом, настоящее изобретение относится к фармацевтической композиции, содержащей α -кетоглутаровую кислоту (α -KG) и 5-гидроксиметил-2-фурфурол (5-HMF) для применения при лечении и/или профилактике заболевания или состояния, при котором полезна улучшенная гемоглобин-опосредованная доставка кислорода.

5-гидроксиметил-2-фурфурол (5-HMF), также известный как гидроксиметилфурфурол (HMF), 5-(гидроксиметил)фурфурол или 5-оксиметилфурфурол, представляет собой соединение альдегида и фурана, которое, например, образуется при термическом разложении сахара или углеводов и может быть обнаружено во многих пищевых продуктах, таких как, например, фруктовые соки или мед.

α -Кетоглутаровая кислота (α -KG), также известная как 2-оксоглутаровая кислота или 2-оксопентандиоевая кислота, представляет собой дикарбоновую кислоту, полученную из п-пентана, которая содержит дополнительную карбонильную группу на атоме α -C. α -KG образует бесцветные кристаллы почти без запаха. α -KG — это встречающаяся в природе безазотистая часть аминокислот глутамина и глутаминовой кислоты. α -KG, которая присутствует в водной среде внутри клетки в виде аниона (α -кетоглутарат), является промежуточным звеном в энергетическом метаболизме при выработке АТФ в клетках посредством цитратного цикла. α -KG является более сильным поглотителем радикалов (активных форм кислорода и азота, АФА), чем витамин С в эквивалентной дозе, и действует как регулятор азота в метаболизме. В целях настоящего изобретения термины α -кетоглутаровая кислота (α -KG) и α -кетоглутарат используются взаимозаменяемо.

В контексте настоящего изобретения было неожиданно обнаружено, что комбинированное применение 5-HMF и α -KG приводит к повышению сродства гемоглобина к кислороду при сохранении формы кривой КДК сигмовидной. Как показано в примерах, результаты воздействия, измеренные для комбинации 5-HMF и

α -KG, превышают результаты воздействия отдельных веществ, из чего можно сделать вывод о синергетическом воздействии комбинации 5-HMF и α -KG на аллостерическую модуляцию гемоглобина. Этот синергизм лежит в основе настоящего изобретения.

Комбинация 5-HMF и α -KG уже известна как таковая и имеется в продаже в виде пищевой добавки (Sanopal®). Так в предыдущем исследовании авторов изобретения сообщалось, что введение комбинации 5-HMF и α -KG здоровым испытуемым, которые упражнялись в езде на велосипеде на моделируемой высоте 3500 м ($FiO_2 = 13,5\%$), приводило к увеличению периферического насыщения кислородом (SpO_2) (12). В другом исследовании сообщалось, что комбинированное введение 5-HMF и α -KG в качестве предоперационной пероральной добавки питательных микроэлементов пациентам с раком легких приводило к увеличению максимального потребления кислорода (VO_{2max}) и сокращению времени стационарного лечения после операции (лобэктомии с вентилизацией одного легкого). В обоих исследованиях вероятной причиной, лежащей в основе наблюдаемого эффекта, было известное свойство комбинации 5-HMF и α -KG как средства снижения окислительного стресса, особенно вызванного им повреждением тканей. Однако влияние указанной комбинации на кислородосвязывающие свойства гемоглобина, впервые раскрытое в связи с настоящим изобретением, было совершенно неизвестно.

Используемый в настоящем документе термин «улучшенная гемоглобин-опосредованная доставка кислорода» означает, что комбинация 5-HMF и α -KG приводит к сдвигу влево кривой насыщения гемоглобина кислородом (КДК) по сравнению с эталоном (например, эталонным образцом крови), причем указанный сдвиг влево может быть измерен в отсутствие этой комбинации. Специалистам в данной области, естественно, известны различные способы измерения КДК. Например, КДК, раскрытые в экспериментах настоящего описания изобретения, были определены методом *in vitro*, описанным Woуке и др. (см: пункт 20 в списке ссылок).

Кроме того, предпочтительно понимать, что сдвиг КДК влево происходит при сохранении формы кривой сигмовидной.

Используемая в настоящем документе формулировка «заболевание, при котором полезна улучшенная гемоглобин-опосредованная доставка кислорода», включает все такие заболевания, симптомы заболевания и/или расстройства, которые характеризуются и/или вызваны недостаточным снабжением кислородом, и/или для облегчения или излечения которых полезна улучшенная гемоглобин-опосредованная доставка кислорода.

Используемая в настоящем документе формулировка «состояние, при котором полезна улучшенная гемоглобин-опосредованная доставка кислорода» включает все состояния или расстройства, предшествующие поддающемуся обнаружению

возникновению симптома заболевания или патологического изменения, которое характеризуется и/или вызывается недостатком доставки кислорода и/или может привести к болезненным или патологическим изменениям в случае отсутствия лечения.

В любом случае формулировку о том, что заболевание или состояние, «при котором полезно» лечение и/или профилактика, следует интерпретировать таким образом, что указанное лечение облегчает заболевание или состояние или снижает риск развития такого заболевания или состояния или даже устраняет его.

Хотя терапевтическое/профилактическое применение, раскрытое в настоящем документе, в первую очередь направлено на людей (т. е. индивидуумов/пациентов), настоящее изобретение также включает применения в области ветеринарии, т. е. на животных, в частности на лошадях, собаках, сельскохозяйственных животных (таких, как крупный рогатый скот, свиньи, козы, домашняя птица) и вьючных животных.

Понятно, что фармацевтическая композиция согласно изобретению может иметь фармацевтически приемлемый состав. Фармацевтически приемлемые составы хорошо известны в данной области. Например, см. статью Rowe *et al.* *Handbook of Pharmaceutical Excipients* (6th edition), R.C. Rowe, P.J. Sheskey, M.E. Quinn. Pharmaceutical Press, London, 2009.

Фармацевтическая композиция согласно изобретению может также содержать добавки. В их число входят любое соединение или композиция, которые полезны для использования в соответствии с изобретением, включая воду, соли, связующие вещества, растворители, диспергаторы, буферы (в частности, физиологические буферы, такие как, например, раствор Рингера или физиологический раствор с фосфатным буфером (PBS)), стабилизаторы и другие вещества, обычно используемые при составлении лекарственных средств. Фармацевтическая композиция может также включать в себя консерванты и другие добавки, такие как, например, антимикробные соединения, антиоксиданты, комплексообразующие средства и инертные газы.

Особенно предпочтительными добавками являются вода, подсластители (например, сахар, предпочтительно сахароза, глюкоза или декстроза, или заменители сахара), хлорид магния и/или регуляторы кислотности, такие как, например, гидроксид калия и/или гидроксид натрия. В качестве добавок также могут быть использованы микроэлементы, витамины, аминокислоты и/или растительные экстракты. Еще одними особенно предпочтительными добавками являются все вещества, которые необходимы или полезны для образования крови, такие как, например, витамины B₁₂ (кобаламин), B₉ (фолиевая кислота) и/или B₆, микроэлементы железо и/или селен, а также аминокислота метионин.

В соответствии с предпочтительным вариантом осуществления композиция согласно изобретению содержит α -КГ и 5-HMF в качестве единственной комбинации активных ингредиентов (т. е. без других фармацевтически активных ингредиентов). Однако в соответствии с альтернативным вариантом осуществления фармацевтическая композиция может содержать дополнительные активные ингредиенты, в частности те, которые могут быть полезными и выгодными для соответствующего предусмотренного применения. Примеры включают средства разжижения крови, антикоагулянты (например, гепарин), средства снижения кровяного давления, антибиотики, виростатики, противовоспалительные вещества (например, глюкокортикоиды), химиотерапевтические средства, иммунодепрессанты (например, циклоспорины или такролимус), белки и/или пептиды (включая пептидные гормоны, такие как, например, ангиотензин).

Введение фармацевтической композиции согласно изобретению не ограничено конкретным способом (способом введения/дозированной формой) и может быть пероральным или парентеральным, например, внутривенным, внутривенным, внутривенным, подкожным, внутримышечным, местным, интраназальным, интробронхиальным, пероральным или внутрикожным, или может быть любым другим хорошо известным способом введения. Введение может быть также осуществлено в подходящей дозированной форме, например, в виде таблетки, капсулы, порошка, гранулы, суппозитория, инъекции, крема или аэрозоля. Надлежащие пути введения, дозированные формы и периодичность могут быть специально выбраны в зависимости от заболевания или состояния, подлежащего лечению. Специалисту в данной области известно, что тип дозировки зависит от различных факторов, таких как, например, рост или масса тела, площадь поверхности тела, возраст, пол и/или общее состояние здоровья пациента, а также от конкретного вводимого средства, продолжительности и типа введения, и других лекарственных препаратов, вводимых одновременно.

В предпочтительном варианте осуществления композиция согласно изобретению, а также возможные другие добавки и/или другие активные ингредиенты (например, гепарин), как определено выше, содержатся в консервированной крови (т. е. в цельной крови, сыворотке или плазме) и должны вводиться вместе с указанной консервированной кровью.

Предпочтительные величины доз, пути и формы, а также предпочтительные интервалы введения конкретно определены ниже.

В соответствии со вторым аспектом настоящее изобретение относится к применению композиции, содержащей α -КГ и 5-HMF, в качестве пищевой добавки для улучшения гемоглобин-опосредованного снабжения кислородом

Термин «пищевая добавка», иначе называемый также «добавкой», хорошо известен и включает такие препараты, которые могут быть добавлены в рацион человека или животного. Таким образом, этот термин определенно включает в себя и пищевые добавки для использования в качестве корма для животных.

Понятно, что в соответствии с применением композиции согласно изобретению, содержащей α -КГ и 5-HMF в качестве пищевых добавок, в соответствии со вторым аспектом изобретения, описанным здесь, предусмотрены исключительно немедицинские (то есть нетерапевтические) применения. Таким образом, композиция может также содержать дополнительные добавки, которые полезны для предусмотренного применения, как описано в связи с фармацевтической композицией согласно первому аспекту изобретения, но за исключением фармацевтически активных ингредиентов.

Хорошо известно, что клеткам необходим кислород для выработки аденозинтрифосфата (АТФ) — источника метаболической энергии для всех функций организма. В случае недостаточного снабжения кислородом выработка АТФ останавливается, что может привести к истощению и связанной с ним потере работоспособности или снижению продуктивности. При повышенном физическом и/или эмоциональном/умственном напряжении возрастает потребность в АТФ, а следовательно, и в кислороде, который необходим для выработки АТФ.

Поэтому авторы изобретения предполагают, не вдаваясь в теорию, что снабжение комбинацией питательных веществ 5-HMF и α -КГ в соответствии с применением изобретения приводит к увеличению гемоглобин-опосредованной доставки кислорода в организм, и что это может способствовать поддержанию и/или увеличению выработки АТФ и, таким образом, улучшенному снабжению энергией. Предполагается, что использование композиции согласно изобретению, содержащей α -КГ и 5-HMF в качестве пищевой добавки, особенно полезно для предотвращения и/или снижения потери работоспособности, вызванной физическим и/или умственным напряжением. Таким образом, предполагается, что применение согласно изобретению полезно для повышения физической и/или умственной работоспособности.

Предпочтительный вариант осуществления в соответствии со вторым аспектом изобретения направлен на применение композиции в качестве пищевой добавки для повышения физической и/или умственной работоспособности, например, во время занятий соревновательными или оздоровительными видами спорта или во время умственного напряжения, например, во время учебы или во время работы. Применение особенно предпочтительно для повышения аэробной работоспособности и/или выносливости. Возможными областями применения, которые прямо предусмотрены изобретением, являются применение композиции в качестве пищевой

добавки в циклических видах спорта, в частности, в видах спорта или соревнованиях, связанных с длинными дистанциями, таких как, например, марафон, велогонки, плавание, лыжные гонки, а также в комбинированных видах спорта, таких как дуатлон, триатлон, биатлон и т. д. Также рассматривается использование композиции в качестве пищевой добавки для животных, в частности, в конном или кинологическом спорте.

Еще один предпочтительный вариант осуществления настоящего изобретения в соответствии со вторым аспектом изобретения направлен на применение композиции для уменьшения, задержки или предотвращения снижения работоспособности, связанного с гипоксией.

Термин «гипоксия», также известный как «дефицит кислорода» или «гипоксидоз», относится к недостаточному снабжению кислородом, поражающему живой организм, полностью или частично. Артериальная гипоксия определяется как пониженное парциальное давление кислорода в артериальной крови и может быть косвенно измерена по пониженному насыщению кислородом артериальной крови («гипоксемия») с использованием известных методов (например, пульсоксиметрии).

Гипоксические состояния/заболевания, т. е. состояния/заболевания, которые приводят к снижению работоспособности, связанному с гипоксией, могут быть вызваны или стимулированы различными известными факторами. Например, гипоксические состояния могут возникать во время интенсивных занятий спортом, в частности, если количества кислорода, поступающего через дыхательные пути, недостаточно для удовлетворения повышенной потребности в кислороде, вызванной физической активностью.

Другими возможными причинами гипоксических состояний/заболеваний являются низкое содержание кислорода в окружающем воздухе, доступном для дыхания, например, из-за загрязнения воздуха выхлопными газами (смогом) или пожарами, а также низкое давление воздуха на больших высотах (например, при альпинизме), которого недостаточно для загрузки гемоглобина кислородом в легких.

Поэтому особенно предпочтительные варианты осуществления в соответствии со вторым аспектом изобретения направлены на применение композиции в качестве пищевой добавки

(i) для уменьшения, задержки или предотвращения связанного с гипоксией снижения работоспособности на больших высотах; и/или

(ii) для повышения физической и/или умственной работоспособности на больших высотах, предпочтительно на высотах больше 2000 м, более предпочтительно выше 2500 м, еще более предпочтительно выше 3000 м.

Следует понимать, что указанная в настоящем документе высота может предпочтительно относиться к высоте в метрах (м) над базовой линией или же к высоте в метрах над уровнем моря (УМ).

В предпочтительном варианте осуществления в соответствии с первым аспектом изобретения α -KG и 5-HMF находятся в (фармацевтической) композиции в массовом соотношении от 1:1 до 100:1, предпочтительно от 2:1 до 50:1, более предпочтительно от 2,25:1 до 25:1.

В экспериментах, раскрытых в настоящем документе, α -KG и 5-HMF использовали в массовом соотношении 3:1. Поэтому, в частности, массовые соотношения α -KG и 5-HMF в диапазонах от 2,5:1 до 15:1 следует понимать как особенно предпочтительные, в диапазонах от 2,75:1 до 10:1 — как даже еще более предпочтительные, и в диапазонах от 3:1 до 5:1 — как наиболее предпочтительные. Однако считается, что наблюдаемый синергетический эффект комбинации α -KG и 5-HMF также может быть достигнут и при других массовых соотношениях в сопоставимой, возможно, чуть более меньшей степени.

Еще в одном предпочтительном варианте осуществления в соответствии с первым или вторым аспектом изобретения композицию следует вводить в дозе от 5 мг до 500 мг α -KG на кг массы тела и от 5 мг до 160 мг 5-HMF на кг массы тела, предпочтительно в дозе от 25 мг до 450 мг α -KG на кг массы тела и от 8 мг до 150 мг 5-HMF на кг массы тела, более предпочтительно в дозе от 30 мг до 430 мг α -KG на кг массы тела и от 10 мг до 145 мг 5-HMF на кг массы тела.

В альтернативном предпочтительном варианте осуществления в соответствии с первым или вторым аспектом изобретения композицию следует вводить в дозе 30–420 мг α -KG на кг массы тела и 10–140 мг 5-HMF на кг массы тела, более предпочтительно в дозе 36–300 мг α -KG на кг массы тела и 12–100 мг 5-HMF на кг массы тела, и еще более предпочтительно в дозе 36–130 мг α -KG на кг массы тела и 12–43 мг 5-HMF на кг массы тела.

Понятно, что упомянутые предпочтительные дозы могут быть также в качестве альтернативы выражены в мг/мл объема крови в предположении, что на массу тела 70 кг приходится приблизительно 5000 мл крови. Например, доза в 5 мг 5-HMF на кг массы тела может быть в качестве альтернативы выражена как доза в 0,07 мг 5-HMF на 1 мл объема крови.

В экспериментах, раскрытых в настоящем документе, испытывали три различные дозировки α -KG и 5-HMF, как в виде отдельных веществ, так и в комбинации.

«Низка дозировка» — 0,42 мг α -KG и/или 0,14 мг 5-HMF на мл образца цельной крови (в предположении, что на 70 кг массы тела в среднем приходится 5000 мл

объема крови, это соответствует примерно 30 мг α -KG или примерно 10 мг 5-HMF на кг массы тела); «средняя дозировка» — 1,8 мг α -KG и/или 0,6 мг 5-HMF на мл образца цельной крови (в предположении, что на 70 кг массы тела в среднем приходится 5000 мл объема крови, это соответствует примерно 129 мг α -KG или примерно 43 мг 5-HMF на кг массы тела), и «высокая дозировка» — 6 мг α -KG и/или 2 мг 5-HMF на мл образца цельной крови (в предположении, что на 70 кг массы тела в среднем приходится 5000 мл объема крови, это соответствует примерно 429 мг α -KG или примерно 143 мг 5-HMF на кг массы тела).

Для всех трех испытанных дозровок комбинации α -KG и 5-HMF, а также только для 5-HMF описанные в настоящем документе эксперименты показывают значительное снижение P50 (т. е. парциального давления кислорода, при котором 50% Hb насыщается кислородом), из чего можно сделать вывод о повышении аффинности связывания Hb с кислородом (см. снижение P50 на ФИГ. 1а; также ясно из сдвига влево соответствующих КДК на ФИГ. 3).

Данные экспериментов также показали, что комбинация α -KG и 5-HMF, в частности, при низкой и средней дозах, приводит к сопоставимому повышению аффинности связывания Hb с кислородом по сравнению с только одним 5-HMF (ФИГ. 1а), но к меньшему снижению коэффициента Хилла (как меры кооперативности связывания кислорода Hb) (ФИГ. 1 б). Можно сделать вывод, что дополнительное присутствие α -KG сохраняет кооперативный характер связывания кислорода Hb в большей степени, чем при только одном 5-HMF (как ясно из определенного коэффициента Хилла на ФИГ. 1б; а также из-за сохранения формы кривой КДК сигмовидной на ФИГ. 3).

Поэтому предполагается, что комбинация α -KG и 5-HMF выгодна как с точки зрения улучшения загрузки гемоглобина кислородом, так и с точки зрения эффективной выгрузки кислорода в целевой ткани.

Понятно, что в рамках настоящего изобретения термины «доза» и «дозировка» могут использоваться взаимозаменяемо.

Еще в одном предпочтительном варианте осуществления в соответствии с первым аспектом изобретения композицию следует вводить следующим образом: (а) ежедневно, в виде однократной дозы или разделенной на две или более равных или разных доз; и/или (б) в течение по меньшей мере 2, 3, 4, 5, 6, или 7 дней подряд; и/или (с) за 12 часов или менее до воздействия условий, способствующих ишемии и/или гипоксии.

Еще в одном предпочтительном варианте осуществления в соответствии с первым аспектом изобретения композицию следует вводить парентерально или перорально.

Однако в альтернативных вариантах осуществления формы, пути, продолжительность и интервалы введения могут быть подобраны индивидуально.

В предпочтительном варианте осуществления в соответствии с первым аспектом изобретения заболевание или состояние выбирают из:

(a) состояния, характеризующегося:

- (i) нарушенным потреблением кислорода в легких;
- (ii) нарушенной диффузией кислорода через воздушно-кровяной барьер;
- (iii) нарушенной загрузкой гемоглобина кислородом;
- (iv) пониженной способностью гемоглобина к переносу кислорода;
- (v) нарушенным транспортом кислорода из-за ограниченного кровотока;
- (vi) нарушенным насыщением микрососудов кислородом; и/или
- (vii) недостаточным снабжением кислородом;

(b) гипоксемии или аноксемии;

(c) гипоксии или аноксии;

(d) ишемии, предпочтительно выбираемой из желудочно-кишечной ишемии, сердечной ишемии, церебральной ишемии, почечной ишемии, ишемии конечностей, нейрональной ишемии, гипоксико-ишемического повреждения головного мозга (гипоксико-ишемическая энцефалопатия) и ишемической невропатии;

(e) респираторного заболевания, предпочтительно выбираемого из воспалительного респираторного заболевания, респираторного заболевания, связанного с грибковой, вирусной или бактериальной инфекцией, аутоиммунно-опосредованного респираторного заболевания, идиопатического респираторного заболевания, гиперпролиферативного респираторного заболевания, рака, астмы, хронической обструктивной болезни легких (ХОБЛ), бронхита, эмфиземы, отека легких, острого респираторного дистресс-синдрома (ОРДС), бронхолегочной дисплазии (БЛД), легочного фиброза, ателектаза, туберкулеза, пневмонии, пневмонита, синусита, аллергического ринита, фарингита, мукозита, стоматита, бронхоэктазы, волчаночного пневмонита, муковисцидоза и дыхательной недостаточности;

(f) горной болезни, предпочтительно выбираемой из острой горной болезни (ОГД), высотного отека головного мозга (ВОГМ), высотного отека легких (ВОЛ), синдрома Да Косты и хронической горной болезни (ХГБ);

(g) COVID и/или одного или более его поздних/последующих осложнений, предпочтительно выбираемых из «длительного COVID» и/или постковидного синдрома; и/или

(h) синдрома хронической усталости (СХУ).

Термин «гипоксемия» относится к пониженному содержанию кислорода (недостатку кислорода) в артериальной крови.

Термин «аноксемия» относится к «гипоксемии» в наиболее тяжелой форме, т. е. со значительно сниженным насыщением крови кислородом (намного ниже физиологически необходимого порога).

Термин «аноксия» относится к полному отсутствию кислорода.

Термин «ишемия» означает уменьшение кровотока, часто связанное с болью, или полную потерю кровотока к ткани, части тела или органу, что может привести к дисфункции. Наиболее распространенной причиной ишемии является изменение кровеносных сосудов в виде сужения или окклюзии. Это может произойти, например, в случае тромбоза или эмболии. Сужение называют стенозом, например, при атеросклерозе и окклюзионном заболевании артерий (ОЗА). Также может возникнуть функциональное сужение, например, при синдроме Рейно или как физиологическая реакция на циркуляторный шок. Ишемия препятствует клеточному метаболизму или останавливает его. Ишемия, вызванная ограничением или прерыванием кровотока, сопровождается недостатком кислорода в пораженной области. Если нервная ткань недостаточно снабжается в течение длительного времени, возникает каскадный эффект, при котором высокие внутриклеточные концентрации кальция способствуют неконтролируемому высвобождению нейромедиатора глутамата и в конечном итоге повреждают клетки окружающих тканей. Эти процессы могут привести к гибели клеток (некрозу) и, как следствие, к инфаркту, например, в случае ишемической болезни сердца, при которой часть сердечной мышцы не получает достаточного кровоснабжения, что приводит к сердечному приступу. Связанная с давлением ишемия с повреждением тканей приводит к пролежню (пролежневые язвы).

В предпочтительном варианте осуществления в соответствии с первым аспектом изобретения гипоксемия вызвана: (a) несоответствием вентиляции и перфузии; (b) нарушением диффузии кислорода; (c) альвеолярной гиповентиляцией; (d) сбросом крови справа налево; и/или (e) нарушением диффузии и перфузии.

В предпочтительном варианте осуществления в соответствии с первым аспектом изобретения ишемия вызывается остановкой сердца, шоком, окклюзией сонной артерии, гипотензией, атеросклерозом, асфиксией, синдромом верхней апертуры грудной клетки, гипогликемией, тахикардией, лучевой терапией, химиотерапией, септическим шоком, сердечной недостаточностью, синдромом верхней брыжеечной артерии, серповидно-клеточной анемией, талассемией, индуцированными перегрузками, предельно низкими температурами, повышенной стимуляцией глутаматных рецепторов, артериовенозными мальформациями, окклюзионными заболеваниями периферических артерий, сдавлением или разрывом кровеносного сосуда, питающего ткань или орган, анемией и/или потерей сознания.

Согласно предпочтительному варианту осуществления в соответствии с первым аспектом изобретения респираторное заболевание характеризуется сниженным потреблением кислорода в легких, вызванным вирусной инфекцией, при этом вирус, лежащий в основе вирусной инфекции, предпочтительно является коронавирусом, предпочтительно коронавирусом типа 2 тяжелого острого респираторного синдрома (SARS-CoV-2), или его вариантом.

«Синдром хронической усталости (СХУ)», также известный как «миалгический энцефаломиелит (МЭ)» или «МЭ/СФУ», является хроническим заболеванием, основным симптомом которого является исключительно быстрое физическое и умственное переутомление, которое в крайних случаях может привести к серьезной потере трудоспособности и необходимости ухода. Несмотря на невыясненные причины и механизмы развития, синдром признан на международном уровне как независимый паттерн заболевания, при котором наблюдается нарушение регуляции нервной системы, иммунной системы и/или эндокринной системы. Исследования показали, что страдающие СХУ пациенты обычно демонстрируют выраженное нарушение обмена веществ в энергетическом балансе соматических клеток, при этом синтез АТФ, который обеспечивается митохондриями, ограничивается. В результате организм хронически имеет слишком мало доступной энергии. Этот дефицит энергии вызывается, среди прочего, нитрозативным стрессом с высокими уровнями монооксида азота (NO). Из-за ингибирования митохондриальной дыхательной цепи (синтеза АТФ) в первую очередь страдают клетки с высокой потребностью в энергии: мышцы, нейроны, иммунная система, сердечная мышца. Учитывая действие композиции в соответствии с изобретением, как определено в контексте настоящего изобретения, можно предположить, что дефицит энергии и связанные с ним симптомы заболевания (в частности, истощение/усталость), которые обычно присутствуют у пациентов с СХУ, могут быть терапевтически нейтрализованы применением фармацевтической композиции в соответствии с первым аспектом изобретения. Таким образом, можно, в частности, предположить, что повышенное поступление кислорода в периферические ткани оказывает благотворное влияние на выработку энергии митохондриями (т. е. синтез АТФ), и что, таким образом, состояния истощения, связанные с этими заболеваниями, которые, помимо недостатка снабжения кислородом, также вызваны нарушенной функцией митохондрий (митохондриальной дисфункцией и/или нарушенным синтезом АТФ), могут быть по меньшей мере частично нейтрализованы.

Термин «длительный Covid», также упоминаемый как «пост-COVID/длительный-COVID» или «пост-/длительный-COVID», «длительный/пост-COVID», «пост-COVID», «постковидный синдром» и «состояние после COVID-19 в соответствии с МКБ-10

немецкой модификации», также на английском языке: «post-acute sequelae of COVID-19 (PASC)», «chronic COVID syndrome (CCS)», «COVID-19 long-hauler» или «post-acute Covid-19 syndrome», относится к поздним или длительным последствиям для здоровья коронавирусной болезни 2019 (COVID-19).

Как правило, острая инфекция COVID-19 длится до четырех недель, но может длиться и несколько месяцев, например, если требуется стационарное лечение в отделении интенсивной терапии. Однако более длительные симптомы могут сохраняться и после этого периода или проявляться дополнительно, даже при более легком течении заболевания или незамеченной инфекции. В очень редких случаях симптомы длительного COVID возникают и в результате вакцинации против этого вируса (поствакцинальный синдром). Единого общего определения долгосрочных последствий нет до сих пор. Наблюдаемые симптомы включают тяжелое повреждение легких, воспалительные реакции и изменения в различных органах, включая одышку, упадок сил (постковидную усталость), помутнение сознания и неврологические расстройства. В число симптомов, о которых сообщают наиболее часто, наряду с прочими входят проблемы с дыханием, неврологические расстройства, нарушения психического здоровья, ограниченная подвижность, усталость и мышечная слабость. «Длительный COVID» и «пост-COVID» (также взаимозаменяемо называемый «постковидным синдромом») могут быть схожи по симптомам, и в зависимости от периода, в течение которого симптомы сохраняются, различают длительный COVID (продолжение симптомов или появление симптомов вновь дольше 4 недель после острой инфекции) и постковидный синдром (симптомы сохраняются или появляются более 12 недель).

Поэтому по аналогии с СХУ можно ожидать, что применение фармацевтической композиции в соответствии с первым аспектом изобретения и связанное с этим улучшение гемоглобин-опосредованной доставки кислорода также окажет положительное терапевтическое и/или профилактическое действие не только при лечении острого заболевания COVID, но и при лечении и/или профилактике «длительного COVID» и/или так называемого «постковидного синдрома», в частности, при лечении и/или профилактике связанных с ним состояний усталости.

В контексте настоящего изобретения термин «COVID» обычно относится к коронавирусному заболеванию, вызываемому инфекцией коронавирусом 2 тяжелого острого респираторного синдрома (SARS-CoV-2) или его варианту (corona virus disease), предпочтительно к коронавирусной болезни-19 (Corona Virus Disease-19 , COVID-19)).

В особенно предпочтительном варианте осуществления вышеуказанного варианта (g) позднее/последующее осложнение от COVID (например, длительный

COVID и/или постковидный синдром) характеризуется одним или более из следующих симптомов:

- физическое и/или умственное истощение, предпочтительно инициированное пониженной способностью легких и/или периферических тканей потреблять кислород; и/или

- сниженная/нарушенная способность переносить кислород и/или сниженная/нарушенная загрузка гемоглобина кислородом; и/или

- сниженная/нарушенная выработка энергии митохондриями (синтез АТФ).

В соответствии с третьим аспектом настоящее изобретение относится к способу *in vitro* для повышения способности крови к гемоглобин-опосредованной доставке кислорода, включающему смешивание образца крови с композицией, которая определена в контексте первого или второго аспекта настоящего изобретения.

Термин «способность крови к гемоглобин-опосредованной доставке кислорода», который взаимозаменяемо используется в настоящем документе с термином «способность крови к гемоглобин-опосредованному снабжению кровью», относится к способности красных кровяных телец (эритроцитов), содержащихся в крови, доставлять кислород к тканям, органам и/или клеткам или снабжать их кислородом на основе обратимого связывания кислорода с гемоглобином.

В предпочтительном варианте осуществления способ включает:

(i) приведение в контакт образца крови, предпочтительно образца цельной крови, содержащего эритроциты, с композицией согласно изобретению в атмосферных условиях, которые способствуют загрузке гемоглобина, содержащегося в эритроцитах, кислородом в количестве, превышающем количество кислорода, выгружаемого из гемоглобина, содержащегося в эритроцитах; и

(ii) поддержание образца крови в этих атмосферных условиях до следующего применения образца крови.

В предпочтительном варианте осуществления атмосферные условия характеризуются парциальным давлением кислорода не менее 30 мм рт. ст.

В соответствии с четвертым аспектом настоящее изобретение относится к способу *in vitro* для уменьшения или предотвращения вызываемого гипоксией повреждения органа или ткани, включающий:

(a) приведение в контакт изолированного органа или ткани *in vitro* с консервирующим раствором, причем консервирующий раствор содержит композицию, определенную в связи с первым аспектом настоящего изобретения; и

(b) поддержание органа или ткани *in vitro* в контакте с консервирующим раствором до следующего использования органа или ткани;

при этом предпочтительно:

(i) приведение органа или ткани в контакт с консервирующим раствором соответствует полному погружению органа или ткани в консервирующий раствор; и/или

(ii) консервирующий раствор также содержит эритроциты, предпочтительно плазму или цельную кровь.

В предпочтительном варианте осуществления способа согласно третьему или четвертому аспекту изобретения α -KG и 5-HMF следует применять в концентрации

(i) от 0,07 мг до 7 мг α -KG и от 0,07 мг до 2,24 мг 5-HMF на 1 мл образца крови или консервирующего раствора; или

(ii) от 0,005 мг до 0,5 мг α -KG и от 0,005 мг до 0,160 мг 5-HMF на 1 г органа или ткани,

предпочтительно:

(i) от 0,35 мг до 6,3 мг α -KG и от 0,11 мг до 2,1 мг 5-HMF на 1 мл образца крови или консервирующего раствора; или

(ii) от 0,025 мг до 0,45 мг α -KG и от 0,008 мг до 0,150 мг 5-HMF на 1 г органа или ткани,

более предпочтительно:

(i) от 0,42 мг до 6 мг α -KG и от 0,14 мг до 2,03 мг 5-HMF на 1 мл образца крови или консервирующего раствора; или

(ii) от 0,03 мг до 0,43 мг α -KG и от 0,01 мг до 0,145 мг 5-HMF на 1 г органа или ткани.

В альтернативном предпочтительном варианте осуществления способа согласно третьему или четвертому аспекту изобретения α -KG и 5-HMF следует применять в концентрации

(i) 0,42–5,88 мг α -KG и 0,14–1,96 мг 5-HMF на 1 мл образца крови или консервирующего раствора; или

(ii) 0,03–0,42 мг α -KG и 0,01–0,14 мг 5-HMF на 1 г органа или ткани;

предпочтительно:

(i) 0,50–4,20 мг α -KG и 0,17–1,4 мг 5-HMF на 1 мл образца крови или консервирующего раствора; или

(ii) 0,04–0,30 мг α -KG и 0,01–0,10 мг 5-HMF на 1 г органа или ткани;

еще более предпочтительно:

(i) 0,5–1,8 мг α -KG и 0,2–0,6 мг 5-HMF на 1 мл образца крови или консервирующего раствора; или

(ii) 0,04–0,13 мг α -KG и 0,01–0,04 мг 5-HMF на 1 г органа или ткани.

В соответствии с пятым аспектом настоящее изобретение относится к применению *in vitro* композиции, определенной в контексте первого и второго аспектов

настоящего изобретения, для улучшения гемоглобин-опосредованного снабжения кислородом органа или ткани.

В предпочтительном варианте осуществления применения в соответствии с пятым аспектом изобретения:

(i) орган или ткань представляет собой ткань, выделенную/изолированную из организма человека или животного; и/или

(ii) композиция содержится в консервирующем растворе (как определено в контексте четвертого аспекта изобретения), и указанная композиция подлежит приведению в контакт с органом или тканью таким образом, чтобы орган или ткань были полностью погружены в консервирующий раствор.

В предпочтительном варианте осуществления способа в соответствии с четвертым аспектом изобретения или применения в соответствии с пятым аспектом изобретения орган или ткань представляет собой трансплантат; при этом трансплантат предпочтительно выбирают из:

(i) почки, печени, сердца, поджелудочной железы, легких, кожи, подкожной ткани, мышцы и/или кости; и/или

(ii) свободного лоскута, предпочтительно свободного кожного, кожно-мышечного и/или кожно-мышечно-костного лоскута.

В соответствии с шестым аспектом настоящее изобретение относится к обогащенной кислородом консервированной крови, которую получают с использованием способа согласно третьему аспекту изобретения.

В соответствии с седьмым аспектом настоящее изобретение относится к способу лечения и/или профилактике заболевания или состояния, при котором полезно улучшенная гемоглобин-опосредованная доставка кислорода, при этом индивиду, страдающему от такого заболевания или состояния, или подверженному риску развития такого заболевания или состояния, или подверженному такому заболеванию или состоянию, должна быть введена фармацевтическая композиция, содержащая α -кетоглутаровую кислоту (α -KG) и 5-гидроксиметил-2-фурфурол (5-HMF), в фармацевтически эффективной дозе.

Понятно, что варианты осуществления и предпочтительные варианты осуществления, раскрытые в связи с первым аспектом изобретения, в частности те, которые относятся к заболеваниям или состояниям, подлежащим лечению, в части касающейся дозировки и введения композиции согласно изобретению, а также возможных добавок, если уместно, также применимы к способу в соответствии с седьмым аспектом изобретения.

Термин «насыщение кислородом (SO_2)» относится к соотношению кислорода, присутствующего в крови, и максимальной кислородной емкостью крови в процентах.

Термин «периферическое насыщение кислородом (SpO_2)» относится к насыщению кислородом в ткани и может быть определено с использованием различных способов измерения, известных специалистам в данной области, например с помощью неинвазивной пульсоксиметрии.

Термин «фракция кислорода на вдохе» (« FiO_2 » — сокращение от: «*фракция вдыхаемого кислорода*») представляет собой долю кислорода во вдыхаемом воздухе.

Термин «максимальное потребление кислорода» (сокращенно « VO_{2max} ») указывает максимальное количество миллилитров кислорода, которое организм может использовать в минуту во время физической нагрузки, и обычно выражается в миллилитрах кислорода в минуту (мл O_2 /мин). VO_{2max} может быть использовано в качестве критерия для оценки выносливости человека.

В соответствии с восьмым аспектом настоящего изобретение относится к фармацевтической композиции, содержащей α -кетоглутаровую кислоту (α -KG) и 5-гидроксиметил-2-фурфурол (5-HMF):

(a) для улучшения гемоглобин-опосредованного снабжения кислородом митохондрий; и/или

(b) для улучшения выработки энергии митохондриями (предпочтительно, синтеза АТФ митохондриями);

для применения при лечении и/или профилактике заболевания или состояния, при котором полезен один или более эффектов, упомянутых в пунктах (a) и (b).

В связи с восьмым аспектом настоящего изобретения необходимо понимать, что заболевание или состояние предпочтительно может быть выбрано из одного или более заболеваний или состояний, раскрытых в связи с первым аспектом настоящего изобретения. Следует также понимать, что каждый из предпочтительных вариантов осуществления, раскрытых в связи с первым аспектом изобретения, в частности в отношении соотношений смешивания веществ, присутствующих в композиции, а также возможных дозировок и составов и дозированных форм/типов, если уместно, может быть также применен к фармацевтической композиции согласно восьмому аспекту изобретения и должен пониматься как непосредственно раскрытый в связи с последним.

Если не указано иное, все технические и научные термины, используемые в настоящем документе, имеют то же значение, которое обычно понимается специалистом в области, к которой относятся это изобретение. В случае противоречий приоритет отдается описанию изобретения к патенту, включая определения.

Понятно, что определения и варианты осуществления изобретения, описанные выше в связи с первым аспектом настоящего изобретения, также применимы

соответственно ко второму, третьему, четвертому и пятому аспектам настоящего изобретения, где это возможно.

Что касается вариантов осуществления, изложенных в этом описании изобретения, в частности, в формуле изобретения, подразумевается, что любой вариант осуществления, упомянутый в зависимом пункте формулы изобретения, может быть объединен с любым вариантом осуществления любого пункта формулы изобретения (независимого или зависимого), от которого зависит этот зависимый пункт. Если имеются независимый пункт 1, определяющий 3 альтернативы А, В и С, зависимый пункт 2, определяющий 3 альтернативы D, E и F, и пункт 3, зависящий от пунктов 1 и 2 и определяющий 3 альтернативы G, H и I, следует понимать, например, что в описании очевидно раскрыты варианты осуществления, соответствующие комбинациям А, D, G; А, D, H; А, D, I; А, E, G; А, E, H; А, E, I; А, F, G; А, F, H; А, F, I; В, D, G; В, D, H; В, D, I; В, E, G; В, E, H; В, E, I; В, F, G; В, F, H; В, F, I; С, D, G; С, D, H; С, D, I; С, E, G; С, E, H; С, E, I; С, F, G; С, F, H; С, F, I, если явно не указано иное. Это также распространяется на комбинацию различных альтернатив, которые упомянуты в различных подпунктах.

Аналогичным образом, и даже в случаях, когда в независимых и/или зависимых пунктах формулы изобретения не указаны альтернативы, если зависимые пункты формулы относятся к множеству предыдущих пунктов формулы изобретения, любая комбинация предметов изобретения, охватываемых этими пунктами формулы изобретения, считается явным образом раскрытой. Например, в случае независимого пункта 1, зависимого пункта 2, который ссылается на пункт 1, и зависимого пункта 3, который ссылается как на пункт 2, так и на пункт 1, комбинация предметов изобретения пунктов 3 и 1, например, раскрывается так же прямо и однозначно, как и комбинация предметов изобретения пунктов 3, 2 и 1. Если существует еще один зависимый пункт 4, относящийся к одному из пунктов 1–3, то из этого следует, что комбинация предметов изобретения пунктов 4 и 1, 4, 2 и 1, 4, 3 и 1, а также 4, 3, 2 и 1 раскрыта прямо и недвусмысленно.

Изобретение описано в настоящем документе только в качестве примера со ссылкой на прилагаемые чертежи и с целью иллюстрации предпочтительных вариантов осуществления настоящего изобретения.

Краткое описание чертежей

На фигурах показано:

ФИГ. 1: Действие веществ в различных дозировках (среднее значение \pm СО). а) Среднее значение Р50 всех испытуемых на исходном уровне и при разных дозировках. б) Среднее значение коэффициента Хилла (НС) всех испытуемых на исходном уровне и при разных дозировках.

ФИГ. 2: Изменения P50 в зависимости от дозы. Светло-серыми линиями показаны индивидуальные значения P50, черная линия соответствует значениям P50 у всех испытуемых (среднее значение \pm CO), а темно-серая линия представляет собой функцию линейной регрессии, характеристика которой (значения P50 и R²) приведена на графике. а) Зависимость от дозы 5-HMF + α -KG. б) Зависимость от дозы 5-HMF. в) Зависимость от дозы α -KG.

ФИГ. 3: Среднее значение КДК 5-HMF (черный цвет) и 5-HMF + α -KG (серый цвет), представленные взаимосвязью среднего значения P50 и среднего значения HС всех испытуемых.

Подробное описание изобретения

Примеры иллюстрируют изобретение.

ПРИМЕРЫ

Пример 1: КРАТКИЙ ОБЗОР ЭКСПЕРИМЕНТОВ, ПОКАЗАННЫХ В ПРИМЕРАХ

2–4

Настоящее исследование посвящено изучению возможного влияния активных ингредиентов 5-HMF, α -KG, а также комбинации 5-HMF и α -KG на кривую связывания кислорода с гемоглобином. Кривые связывания кислорода определяли новым способом *in vitro* (описанным в работе, указанной под номером 20 в списке ссылок: Woyke S, Ströhle M, Brugger H, Strapazzon G, Gatterer H, Mair N, Haller T. *High-throughput determination of oxygen dissociation curves in a microplate reader - A novel, quantitative approach. Physiol Rep.* 2021 Aug;9(16):e14995. doi: 10.14814/phy2.14995. PMID: 34427400) на образцах человеческой цельной крови. Использовали три различные дозировки (низкая, средняя и высокая). Строго зависимое от дозы увеличение сродства Hb-O₂ отмечалось при использовании только 5-HMF и комбинированном добавлении 5-HMF и α -KG. Только один α -KG также увеличивал сродство Hb-O₂, но в меньшей степени. С увеличением сродства Hb-O₂ сигмовидная форма кривой связывания кислорода сохранялась лучше комбинацией 5-HMF и α -KG, чем только одним 5-HMF. Этот эффект, впервые наблюдаемый в настоящих экспериментах, предполагает ранее неизвестный синергизм комбинации α -KG и 5-HMF в отношении аллостерической регуляции гемоглобина, который, вероятно, обусловлен опосредованной α -KG стабилизацией 5-HMF, который, как известно, высокореактивен.

Пример 2: МАТЕРИАЛЫ И СПОСОБЫ

У 20 здоровых испытуемых (десять женщин, десять мужчин) в возрасте от 18 до 40 лет отбирали венозную кровь. Испытуемые не курили, не были беременны или кормили грудью, у них не было выявленной гемоглобинопатии и не было в недавнем анамнезе заболеваний, травм, кровопотери или многодневных путешествий на большие высоты (>3000 м). Сразу после отбора крови выполняли анализ газов крови

(на радиометре ABL800 flex), и образцы сохраняли на льду и обрабатывали в течение восьми часов.

5-HMF и α -KG были предоставлены в различных растворах-носителях (вода, глюкоза, глюкоза и фосфорная кислота, кислота, вода и гидроксид натрия, вода и фосфорная кислота, глюкоза и гидроксид натрия), а контрольные растворы состояли только из растворов-носителей без 5-HMF или α -KG. Десять микролитров трех различных концентраций 5-HMF или α -KG и 5-HMF плюс α -KG добавляли к 100 мкл цельной крови и осторожно перемешивали методом ресуспензирования.

Рекомендуемая максимальная суточная доза содержащего 5-HMF препарата Sanopal® (Cyl, Австрия) составляет 720 мг. В предположении, что его общее распределение в объеме крови человека массой 70 кг составляет приблизительно 5000 мл (16), низкую дозу 5-HMF определили как 0,14 мг/мл (700 мг/70 кг). Среднюю дозу 5-HMF (0,6 мг/мл, 3000 мг/70 кг) выбрали в соответствии с обычной дозировкой Aes-103, известного средства против серповидно-клеточной анемии (10), содержащего 5-HMF. Высокая доза 5-HMF (2 мг/мл, 10 000 мг/70 кг) соответствует дозировке 5-HMF (143 мг/кг), которая в исследованиях на животных давала побочные эффекты, такие как повышение уровней гамма-глобулина в сыворотке и увеличение относительной массы селезенки (17, 18). α -KG использовали в низкой дозе, составляющей 0,42 мг/мл (2100 мг/70 кг), средней дозе, составляющей 1,8 мг/мл (9000 мг/70 кг), и высокой дозе, составляющей 6 мг/мл (30 000 мг/70 кг). Это означает, что когда два активных ингредиента α -KG и 5-HMF использовали в комбинации, они присутствовали в массовом соотношении 3:1 (α -KG:5-HMF).

Измерения КДК

Для каждой из трех описанных испытываемых концентраций активных ингредиентов, взятых по отдельности (α -KG или 5-HMF), или их комбинации (α -KG:5-HMF) определяли КДК (в виде повторных измерений) с использованием способа измерения *in vitro* для высокоэффективного определения кривых диссоциации кислорода (КДК), описанного в работе Woyke *и др.* (20), патент на который находится на стадии рассмотрения (пункт 20 в списке ссылок: Woyke, S., Ströhle, M., Brugger, H., Strapazzon, G., Gatterer, H., Mair, N., & Haller, T. (2021). High-throughput determination of oxygen dissociation curves in a microplate reader - A novel, quantitative approach. *Physiological Reports*, 9, e14995. <https://doi.org/10.14814/phy2.14995>); см. также «ASCENION GmbH - Novel gas flow system for high throughput determination of oxygen dissociation curves (ODC)» по адресу: <https://www.ascenion.de/en/technologv-offers/novel-gas-flow-svstem-for-high-throughput-determination-of-oxygen-dissociation-curves-odc>).

Этот высокопроизводительный анализ в режиме реального времени позволил впервые точно и эффективно определить КДК на образцах цельной крови с

использованием простой адаптации стандартных считывателей микропланшетов и специально модифицированных 96-луночных микролитровых измерительных планшетов. Для обеспечения стабильных условий во время измерения КДК измерительная установка была установлена в закрытом устройстве с экологическим контролем (ЭК-камере). Эта камера имеет регулируемую температуру (37 °С) и содержит установку для проведения экспериментов, состоящую из увлажнителя, крышки для считывателя микропланшетов, трубок и клапанов. Использовали модифицированные 96-луночные планшеты (специальный процесс нанесения покрытия гарантирует тонкий, но липкий слой красных кровяных телец для оптимального измерения флуоресценции), которые обеспечивали постоянный поток газа по всем лункам в извилистом канале потока газа. Измерительный планшет встроен в газовую систему, состоящую из газовых баллонов, газовых шлангов, увлажнителей, газовых смесителей и перистальтического насоса.

Образцы крови помещали в отдельные лунки с использованием специального метода отпечатывания, чтобы могла образоваться пленка, состоящая из нескольких слоев клеток. Насыщение кислородом измеряли в каждой лунке с использованием двухдлинноволновой спектроскопии, а парциальное давление кислорода измеряли с использованием продолжительности флуоресценции имеющихся в продаже кислородных датчиков на впускных и выпускных отверстиях измерительного планшета. Чтобы измерить кривую диссоциации, содержание кислорода линейно изменяли от примерно 20 об.% до 0 об.%. Измерения проводили раз в минуту в обычном флуоресцентном считывателе планшетов, так что до 92 образцов цельной крови могли быть проанализированы в течение ~25 мин.

Для экспериментов с КДК использовали газовые смеси с PCO_2 , равным 40 мм рт. ст., а температуру поддерживали на уровне 37 °С.

Обработка данных и статистический анализ:

Поскольку статистический анализ не выявил значимых различий в отношении раствора-носителя, для конечного анализа использовали усредненные результаты различных растворов-носителей для каждого уровня концентрации.

С помощью Excel (Microsoft 2016) аппроксимировали кривые, вычисляя P_{50} и коэффициент Хилла (НС), и строили графики. Статистический анализ проводили с использованием IBM SPSS Statistics 25. Для анализа исходных различий между композициями веществ использовали критерий Стьюдента для непарных выборок. Для определения различий P_{50} и НС между разными дозировками и композициями веществ использовали дисперсионный анализ ANOVA с повторными измерениями.

Чтобы определить местоположение и величину изменений, для каждого отдельного вещества или комбинации двух веществ использовали апостериорный

критерий Стьюдента (с поправкой Бонферрони) и ANOVA в дизайне с повторными измерениями. Для определения зависимости от концентрации каждого вещества использовали линейный регрессионный анализ. $P < 0,05$ считали значимым. Данные представлены как среднее значение \pm СО.

Пример 3: РЕЗУЛЬТАТЫ

Средний возраст испытуемых составлял $29,6 \pm 3,0$ лет. Концентрация гемоглобина ($14,5 \pm 1,3$ г/дл) и гематокрит ($44,4 \pm 4,0\%$) были нормальными в этой популяции, в то время как рН был немного ниже $7,40$ ($7,35 \pm 0,04$), что соответствует более высоким уровням углекислого газа ($48,4 \pm 7,4$ мм рт. ст.) в венозной крови по сравнению с артериальной кровью.

В начале исследования значения P50 составляли $25,1 + 1,3$ и демонстрировали незначительные гендерные различия ($26,0 \pm 1,0$ мм рт. ст. у женщин против $24,3 \pm 0,9$ мм рт. ст. у мужчин; $P = 0,001$), а значения HC составляли $2,61 \pm 0,21$.

Анализ ANOVA в дизайне с повторными измерениями показал значительное влияние общего количества вещества ($P < 0,001$), дозы ($P < 0,001$) и взаимодействия (вещество \times доза, $P < 0,001$) как для P50, так и для HC (ФИГ. 1).

5-HMF значительно изменял P50 ($P < 0,001$) (ФИГ. 1 и 2) и HC ($P < 0,001$) (ФИГ. 1 b) в зависимости от дозы. Используемый отдельно α -KG тоже изменял P50 ($P < 0,001$) и HC ($P = 0,012$), но в численном выражении в гораздо меньшей степени по сравнению с 5-HMF (ФИГ. 1).

Добавление α -KG к 5-HMF продемонстрировало общее влияние дозы и вещества на P50 и HC ($P < 0,001$) по сравнению с только одним 5-HMF, и особенно на P50 при самой высокой дозе ($P = 0,028$) (ФИГ. 1a) и на HC при самой низкой и средней дозах ($P < 0,001$ и $P = 0,015$) (ФИГ. 1 b).

Для всех веществ и комбинаций зависимость P50 от дозы была линейной (ФИГ. 2).

В целом, изменения P50 и HC изменяют форму КДК определенным образом (ФИГ. 3). При низких дозах и в случае контрольного раствора четко прослеживается типичная сигмовидная форма КДК. При средних дозах сигмовидный характер сохраняется, но из-за более высокого HC для комбинации 5-HMF+ α -KG сигмовидную форма сохраняется в большей степени по сравнению с только одним 5-HMF. При высоких дозах обе КДК теряют свою типичную сигмовидную форму из-за очень низких значений P50 и HC.

Пример 4: ОБСУЖДЕНИЕ

Наиболее важным открытием настоящего исследования является то, что комбинированное введение 5-HMF и α -KG увеличивало сродство HbO₂ в цельной крови

человека. Для всех веществ и комбинаций была обнаружена линейная зависимость от дозы, но в разной степени (т. е. α -KG демонстрирует наименьшее влияние).

Интересно, что HC различался между комбинациями веществ, особенно при низких и средних дозах, что указывает на изменения в форме КДК в дополнение к связанным с P50 сдвигам (ФИГ. 3).

Примечательным результатом настоящего исследования является наблюдаемое комбинированное влияние 5-HMF и α -KG на коэффициент Хилла (HC). Изменения значения HC непосредственно влияют на сигмовидную форму КДК (2, 19), что имеет решающее значение для транспорта кислорода гемоглобином. Более резкое увеличение КДК способствует транспорту кислорода гемоглобином (2), поскольку чем меньше изменения PO_2 , тем больше изменения SpO_2 , а это означает, что облегчается загрузка O_2 на уровне легких, как и выгрузка O_2 на уровне ткани.

Как видно из раскрытых в настоящем документе данных, комбинация 5-HMF с α -KG, особенно при низких и средних дозах, может поддерживать форму кривой КДК сигмовидной при одновременном увеличении сродства HbO_2 по сравнению с только одним 5-HMF (ФИГ. 3).

Этот эффект, впервые наблюдаемый в настоящих экспериментах, предполагает ранее неизвестный синергизм комбинации α -KG и 5-HMF в отношении аллостерической регуляции гемоглобина, который, вероятно, обусловлен опосредованной α -KG стабилизацией 5-HMF, известному высокой реактивностью.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

5-HMF индуцирует строго зависимое от дозы повышение сродства HbO_2 . Комбинация 5-HMF с α -KG демонстрирует более высокие значения HC при более низком P50 по сравнению с только одним 5-HMF, что позволяет сохранять сигмовидную форму кривой связывания кислорода. В результате можно поддерживать эффективный транспорт кислорода, т. е. поступление кислорода к ткани.

Пример 5: Примеры процедур испытаний

Физиологический эффект композиции согласно изобретению, на котором основано настоящее изобретение, проявляется, среди прочего, в измеримом повышении физической работоспособности (силы и/или выносливости) по сравнению с соответствующими контрольными индивидами, которым вводили плацебо. Примерами способов оценки, которые известны на современном уровне техники и могут повседневно использоваться для этих и подобных целей, являются, без какого-либо умысла ограничения, измерение мышечной силы (например, измерение силы руки или силы дыхательных мышц), так называемая «1-минутная проба с приседаниями», сравнение расстояния, пройденного бегом/пешком за определенное время (например, в форме так называемого «теста 6-минутной ходьбы» (также известного как «6MWT»)).

Кроме того, эффекты, наблюдаемые в способах испытаний *in vitro*, раскрытых в настоящем документе (см. примеры 1–4), также могут быть оценены с помощью других распространенных способов прямого и/или опосредованного измерения для (качественного и/или количественного) определения насыщения артериальной крови кислородом, причем в число примеров способов входят, в частности, пульсоксиметрия, анализ газов крови (например, с помощью спироэргометрии), анализ вариабельности сердечного ритма (анализ ВСР) и спектроскопия в ближней инфракрасной области (БИК-спектроскопия). Также в продаже имеются различные средства анализа для испытаний, которые могут быть использованы для измерения и количественного определения *in vitro* уровней АТФ в пробах, полученных от пациентов/испытуемых (например, комплект для анализа Luminescent ATP Detection Assay Kit от компании Abcam (www.abcam.com)). На момент подачи данной патентной заявки планируются или находятся в стадии реализации различные клинические исследования, дополнительно демонстрирующие вышеупомянутые эффекты (в частности, и непосредственно на людях тоже).

Понятно, что примеры и варианты осуществления, описанные в настоящем документе, приведены только в иллюстративных целях, и что различные модификации и дополнения к примерам и вариантам осуществления, а также комбинации признаков, иным образом описанные в данной заявке, будут без труда поняты специалисту в данной области и включены в раскрываемое в настоящем документе содержание изобретения и в объем охраны формулы изобретения. Все патенты и патентные заявки, упоминаемые в настоящем документе, настоящим включены в раскрываемое содержание заявки.

Все патенты, патентные заявки, публикации и документы, упоминаемые в настоящем документе, полностью включены путем ссылки. Ссылка на вышеупомянутые патенты, патентные заявки, публикации и документы не является ни признанием того, что какой-либо из вышеупомянутых патентов, патентных заявок, публикаций и документов относится к известному уровню техники, ни признанием содержания или даты таких публикаций или документов. Их упоминание не указывает на поиск соответствующих раскрытий. Все утверждения о дате или содержании документов основаны на имеющейся информации и не являются признанием их точности или достоверности.

В вышеизложенное могут быть внесены изменения в пределах основополагающих аспектов технологии. Тем не менее, хотя технология была описана достаточно подробно со ссылкой на один или более конкретных вариантов осуществления, специалистам в данной области понятно, что в варианты осуществления, конкретно раскрытые в данной заявке, могут быть внесены изменения.

Однако эти изменения и усовершенствования входят в объем настоящего изобретения.

Технология, описанная в настоящем документе в качестве иллюстрации, может быть благополучно реализована при отсутствии элементов, не раскрытых конкретно в настоящем документе. Например, в каждом случае термины «включающий», «состоящий из», «состоящий по существу из» и «состоящий из» могут быть заменены одним из двух других терминов.

Используемые термины и выражения предназначены для описания, а не для ограничения, и использование таких терминов и выражений не исключает эквивалентов приведенных и описанных признаков или их частей, и в рамках заявленной технологии возможны различные модификации. В настоящем документе термины «способ» и «процедура» используются взаимозаменяемо.

Показатели единственного числа могут относиться к одному или более элементам, которые они определяют (например, «носитель» может означать один или более носителей), если из контекста явно не вытекает, что описывается либо один из элементов, либо более одного элемента.

Используемый в настоящем документе термин «приблизительно» или «примерно» относится к значению в пределах 10% от базового параметра. (т. е. плюс или минус 10%), и понятно, что использование термина «приблизительно» или «примерно» в начале ряда значений изменяет каждое из значений (т. е. «приблизительно 1, 2 и 3» означает приблизительно 1, приблизительно 2 и приблизительно 3). Например, масса «приблизительно 100 граммов» может включать массы от 90 граммов до 110 граммов. Если в настоящем документе описан список значений (например, около 50%, 60%, 70%, 80%, 85% или 86%), то этот список включает все промежуточные значения и их доли (например, 54%, 85,4%).

Таким образом, следует понимать, что, хотя настоящая технология была конкретно раскрыта посредством репрезентативных вариантов осуществления и необязательных признаков, и специалисты в данной области могут внести модификации и изменения в идеи, раскрытые в настоящем документе, и что такие модификации и изменения считаются входящими в объем данной технологии.

Некоторые варианты осуществления и технология изложены в нижеприведенной формуле изобретения.

ДОПОЛНИТЕЛЬНЫЕ ССЫЛКИ

1. Mairbaurl H, Weber RE. Oxygen transport by hemoglobin. *Compr Physiol.* 2012;2(2):1463-89.

2. Imai K. *Allosteric effects in haemoglobin.* Cambridge, UK: Cambridge University Press; 1982.

3. Boning D, Littschwager A, Hütler M, Beneke R, Staab D. Hemoglobin oxygen affinity in patients with cystic fibrosis. *PLoS One*. 2014;9(2):e97932.
4. Mairbäurl H, Weber RE. Oxygen transport by hemoglobin. *Compr Physiol*. 2012;2(2):1463-89.
5. Dempsey JA. With haemoglobin as with politics - should we shift right or left? *J Physiol*. 2020;598(8):1419-20.
6. Srinivasan AJ, Morkane C, Martin DS, Welsby IJ. Should modulation of p50 be a therapeutic target in the critically ill? *Expert Rev Hematol*. 2017;10(5):449-58.
7. Woyke S, Rauch S, Strohle M, Gatterer H. Modulation of Hb-O₂ affinity to improve hypoxemia in COVID-19 patients. *Clin Nutr*. 2020.
8. Yalcin O, Cabrales P. Increased hemoglobin O₂ affinity protects during acute hypoxia. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*. 2012;303(3):H271-81 .
9. Mahon RT, Ciarlone GE, Roney NG, Swift JM. Cardiovascular Parameters in a Swine Model of 205 Normobaric Hypoxia Treated With 5-Hydroxymethyl-2-Furfural (5-HMF). *Front Physiol*. 2019;10:395.
10. Stern W, Matthews D, McKew JC, Shen J, GJ K. A phase 1 , first-in-man, dose-response study of Aes-103 (5-HMF), an anti-sickling, allosteric modifier of hemoglobin oxygen affinity in healthy normal volunteers. *Blood*. 2012;120(21):3210.
11. Hannemann A, Cytlak UM, Rees DC, Tewari S, Gibson JS. Effects of 5-hydroxymethyl-2-furfural on the volume and membrane permeability of red blood cells from patients with sickle cell disease. *J Physiol*. 2014;592(18):4039-49.
12. Kössler F, Mair L, Burtscher M, Gatterer H. 5-Hydroxymethylfurfural and alpha-ketoglutaric acid supplementation increases oxygen saturation during prolonged exercise in normobaric hypoxia. *Int J Vitam Nutr Res*. 2019:1-6.
13. Matzi V, Lindenmann J, Muench A, Greilberger J, Juan H, Wintersteiger R, et al. The impact of preoperative micronutrient supplementation in lung surgery. A prospective randomized trial of oral supplementation of combined alpha-ketoglutaric acid and 5-hydroxymethylfurfural. *Eur J 218 Cardiothorac Surg*. 2007;32(5):776-82.
14. Formenti F, Vogel DJ, Camporota L. Nutritional interventions to modulate haemoglobin oxygen affinity in COVID-19 patients. *Clin Nutr*. 2020;39(12):3843-4.
15. Woyke S, Gatterer H, Rauch S, Ströhle M. Reply - Letter to the editor - Nutritional interventions to modulate haemoglobin-oxygen affinity in COVID-19 patients. *Clin Nutr*. 2020;39(12):3842.
16. Sharma R, Sharma S. Physiology, Blood Volume. *StatPearls*. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing Copyright © 2020, StatPearls Publishing LLC.; 2020.

17. NTP toxicology and carcinogenesis studies of 5-(Hydroxymethyl)-2-furfural (CAS No. 67-47-0) in F344/N rats and B6C3F1 mice (gavage studies). Natl Toxicol Program Tech Rep Ser. 2010(554):7-13, 5-9, 21-31 passim.

18. Zaitsev AN, Simonian TA, Pozdniakov AL. [Hygienic standards for hydroxymethylfurfural in food products]. *Vopr Pitan.* 1975(1):52-5.

19. Goutelle S, Maurin M, Rougier F, Barbaut X, Bourguignon L, Ducher M, et al. The Hill equation: a review of its capabilities in pharmacological modelling. *Fundam Clin Pharmacol.* 2008;22(6):633- 48.

20. Woyke S, Ströhle M, Brügger H, Strapazzon G, Gatterer H, Mair N, Haller T. High-throughput determination of oxygen dissociation curves in a microplate reader- A novel, quantitative approach. *Physiol Rep.* 2021 Aug;9(16):e14995. doi: 10.14814/phy2.14995. PMID: 34427400.

ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Фармацевтическая композиция, содержащая α -кетоглутаровую кислоту (α -KG) и 5-гидроксиметил-2-фурфурол (5-HMF) для применения при лечении и/или профилактике заболевания или состояния, при котором полезна улучшенная гемоглобин-опосредованная доставка кислорода.

2. Применение композиции, включающей α -KG и 5-HMF, в качестве пищевой добавки для улучшения гемоглобин-опосредованного снабжения кислородом.

3. Композиция по п. 1 или 2, в которой α -KG и 5-HMF присутствуют в композиции в массовом отношении от 1:1 до 100:1, предпочтительно от 2:1 до 50:1.

4. Композиция по любому из пп. 1–3, где композицию вводят в дозах от 5 мг до 500 мг α -KG на кг массы тела и от 5 мг до 160 мг 5-HMF на кг массы тела.

5. Композиция по любому из пп. 1–4, где композицию вводят следующим образом:

(a) ежедневно в виде однократной дозы или разделенной на две или более равных или разных доз; и/или

(b) в течение по меньшей мере 5 дней подряд; и/или

(c) за 12 часов или менее до воздействия условий, способствующих ишемии и/или гипоксии.

6. Композиция по любому из пп. 1 и 3–5, где заболевание или состояние выбрано из:

(a) состояния, характеризующегося:

(i) нарушенным потреблением кислорода в легких;

(ii) нарушенной диффузией кислорода через воздушно-кровяной барьер;

(iii) нарушенной загрузкой гемоглобина кислородом;

(iv) пониженной способностью гемоглобина к переносу кислорода;

(v) нарушенным транспортом кислорода из-за ограниченного кровотока;

(vi) нарушенным насыщением микрососудов кислородом; и/или

(vii) недостаточным снабжением кислородом;

(b) гипоксемии или аноксемии;

(c) гипоксии или аноксии;

(d) ишемии, предпочтительно выбранной из желудочно-кишечной ишемии, сердечной ишемии, церебральной ишемии, почечной ишемии, ишемии конечностей, нейрональной ишемии, гипоксико-ишемического повреждения головного мозга (гипоксико-ишемическая энцефалопатия) и ишемической невропатии;

(e) респираторного заболевания, предпочтительно выбранного из воспалительного респираторного заболевания, респираторного заболевания, связанного с грибковой, вирусной или бактериальной инфекцией, аутоиммунно-

опосредованного респираторного заболевания, идиопатического респираторного заболевания, гиперпролиферативного респираторного заболевания, рака, астмы, хронической обструктивной болезни легких (ХОБЛ), бронхита, эмфиземы, отека легких, острого респираторного дистресс-синдрома (ОРДС), бронхолегочной дисплазии (БЛД), легочного фиброза, ателектаза, туберкулеза, пневмонии, пневмонита, синусита, аллергического ринита, фарингита, мукозита, стоматита, бронхоэктазы, волчаночного пневмонита, муковисцидоза и дыхательной недостаточности;

(f) горной болезни, предпочтительно выбранной из острой горной болезни (ОГД), высотного отека головного мозга (ВОГМ), высотного отека легких (ВОЛ), синдрома Да Косты и хронической горной болезни (ХГБ);

(g) COVID и/или одного или более его поздних/последующих осложнений, предпочтительно выбранных из «длительного COVID» и/или постковидного синдрома; и/или

(h) синдрома хронической усталости (СХУ).

7. Композиция по п. 6, где гипоксемия вызвана:

(a) несоответствием вентиляции и перфузии;

(b) нарушением диффузии кислорода;

(c) альвеолярной гиповентиляцией;

(d) сбросом крови справа налево; и/или

(e) нарушением диффузии и перфузии.

8. Композиция по п. 6 или 7, где ишемия вызвана остановкой сердца, шоком, окклюзией сонной артерии, гипотензией, атеросклерозом, асфиксией, синдромом верхней апертуры грудной клетки, гипогликемией, тахикардией, лучевой терапией, химиотерапией, септическим шоком, сердечной недостаточностью, синдромом верхней брыжеечной артерии, серповидно-клеточной анемией, талассемией, индуцированными перегрузками, предельно низкими температурами, повышенной стимуляцией глутаматных рецепторов, артериовенозными мальформациями, окклюзионными заболеваниями периферических артерий, сдавлением или разрывом кровеносного сосуда, питающего ткань или орган, анемией и/или потерей сознания.

9. Композиция по любому из пп. 6–8, где респираторное заболевание характеризуется сниженным потреблением кислорода в легких, вызванным вирусной инфекцией, при этом вирус, лежащий в основе вирусной инфекции, предпочтительно представляет собой коронавирус, предпочтительно коронавирус типа 2 тяжелого острого респираторного синдрома (SARS-CoV-2), или его вариант.

10. Способ *in vitro* для улучшения способности крови к гемоглобин-опосредованной доставке кислорода, включающий смешивание образца крови с композицией по п. 1 или 2.

11. Способ *in vitro* для уменьшения или предотвращения вызываемого гипоксией повреждения органа или ткани, включающий:

(a) приведение в контакт изолированного органа или ткани *in vitro* с консервирующим раствором, причем консервирующий раствор содержит композицию по п. 1 или 2; и

(b) поддержание органа или ткани *in vitro* в контакте с консервирующим раствором до следующего использования органа или ткани;

при этом предпочтительно:

(i) приведение органа или ткани в контакт с консервирующим раствором соответствует полному погружению органа или ткани в консервирующий раствор; и/или

(ii) консервирующий раствор дополнительно содержит эритроциты, предпочтительно плазму или цельную кровь.

12. Способ по п. 10 или 11, в котором α -KG и 5-HMF представлены в концентрации

(i) от 0,07 мг до 7 мг α -KG и от 0,07 мг до 2,24 мг 5-HMF на 1 мл образца крови или консервирующего раствора; или

(ii) от 0,005 мг до 0,5 мг α -KG и от 0,005 до 0,160 мг 5-HMF на 1 г органа или ткани.

13. Применение *in vitro* композиции по п. 1 или 2 для улучшения гемоглобин-опосредованного снабжения кислородом органа или ткани.

14. Способ по п. 11 или 12 или применение по п. 13, в котором орган или ткань представляет собой трансплантат;

при этом трансплантат предпочтительно выбран из:

(i) почки, печени, сердца, поджелудочной железы, легких, кожи, подкожной ткани, мышцы и/или кости; и/или

(ii) свободного лоскута, предпочтительно свободного кожного, кожно-мышечного и/или кожно-мышечно-костного лоскута.

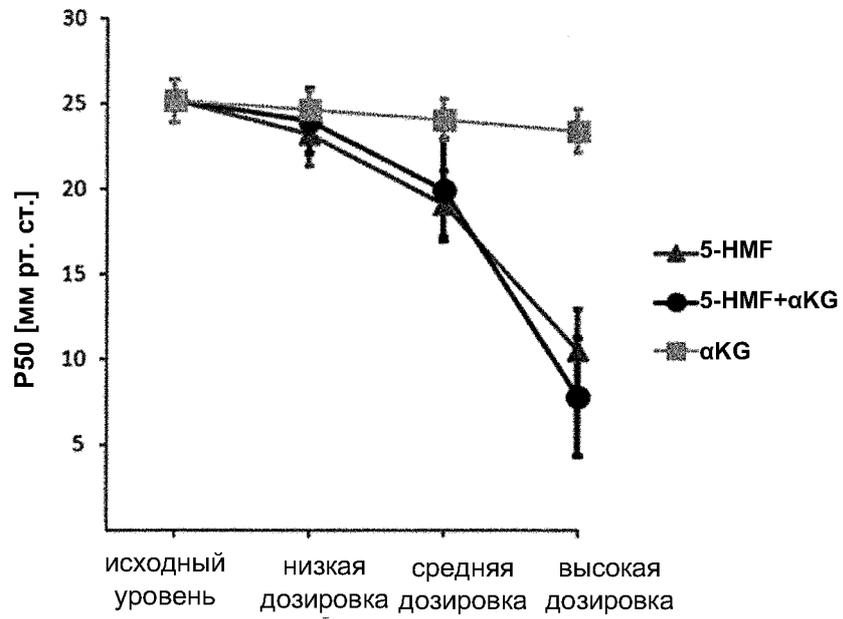
15. Фармацевтическая композиция, содержащая α -кетоглутаровую кислоту (α -KG) и 5-гидроксиметил-2-фурфурол (5-HMF):

(a) предназначенная для улучшения гемоглобин-опосредованного снабжения кислородом митохондрий; и/или

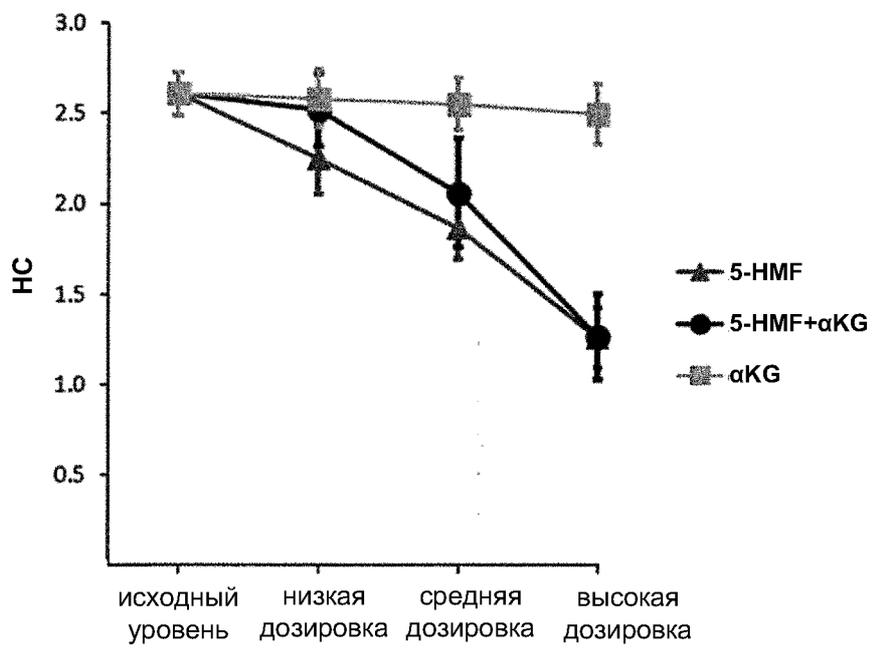
(b) предназначенная для улучшения выработки энергии митохондриями (предпочтительно, синтеза АТФ митохондриями);

предназначенная для применения при лечении и/или профилактике заболевания или состояния, при котором полезен один или более эффектов, упомянутых в пунктах (a) и (b).

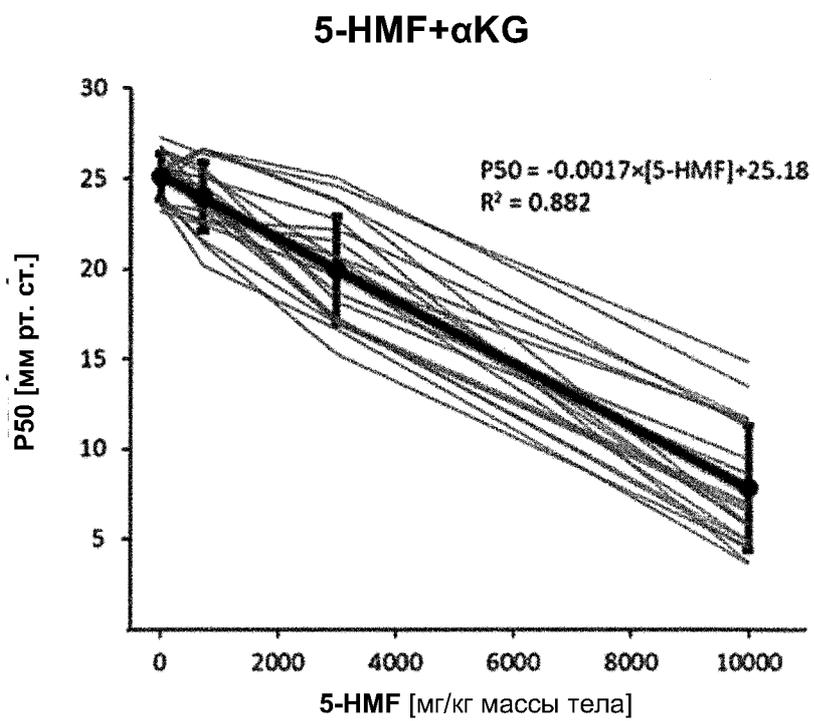
ФИГ. 1а



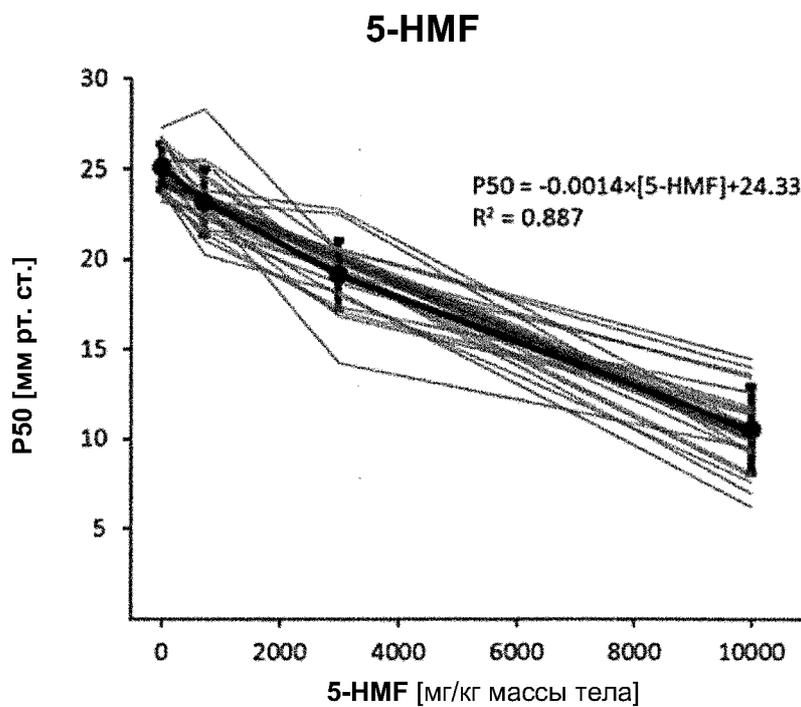
ФИГ. 1б



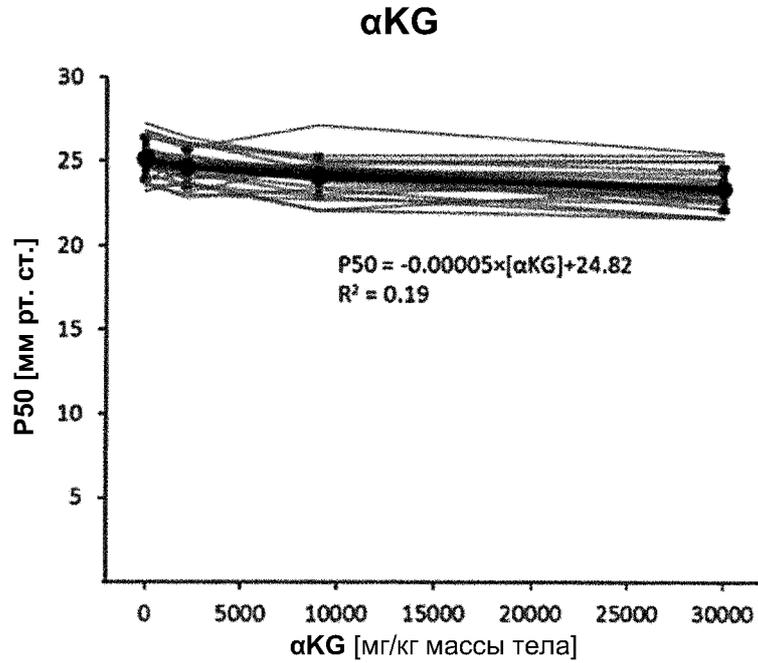
ФИГ. 2а



ФИГ. 2б



ФИГ. 2с



ФИГ. 3

