

(19)



**Евразийское
патентное
ведомство**

(11) **043008**(13) **B1**

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОМУ ПАТЕНТУ

(45) Дата публикации и выдачи патента
2023.04.19

(21) Номер заявки
202091035

(22) Дата подачи заявки
2018.10.31

(51) Int. Cl. **A61K 31/4152** (2006.01)
A61K 31/375 (2006.01)
A61K 31/05 (2006.01)
A61K 31/41 (2006.01)
A61K 31/185 (2006.01)
A61K 31/522 (2006.01)
A61P 9/10 (2006.01)
A61P 25/28 (2006.01)

(54) КОМБИНАЦИИ ЭДАРАВОНА ДЛЯ ЛЕЧЕНИЯ ИШЕМИЧЕСКИХ ПОВРЕЖДЕНИЙ МОЗГА

(31) **2017138466**

(32) **2017.11.03**

(33) **RU**

(43) **2020.07.27**

(86) **PCT/RU2018/000718**

(87) **WO 2019/088881 2019.05.09**

(71)(73) Заявитель и патентовладелец:
**ОБЩЕСТВО С ОГРАНИЧЕННОЙ
ОТВЕТСТВЕННОСТЬЮ
"ВАЛЕНТА-ИНТЕЛЛЕКТ" (RU)**

(72) Изобретатель:
**Сыров Кирилл Константинович,
Нестерук Владимир Викторович (RU)**

(74) Представитель:
**Ловцов С.В., Левчук Д.В., Вилесов
А.С., Коптева Т.В., Ясинский С.Я.,
Гавриков К.В., Стукалова В.В. (RU)**

(56) **US-A1-2011003873**

ROTHSTEIN JD. Edaravone: A new drug approved for ALS. Cell. 2017 Nov 2, 171(4):725, PMID:29100067, the abstract

XIE Y et al.: Ebselen ameliorates β -amyloid pathology, tau pathology, and cognitive impairment in triple-transgenic Alzheimer's disease mice. J BIOL INORG CHEM, 22.08.2017 (6), p. 851-865, PMID:28502066, the abstract

WO-A2-2001089520

CARLOS SPUCH et al.: Liposomes for Targeted Delivery of Active Agents against Neurodegenerative Diseases (AlzheimerDisease and ParkinsonDisease). Journal of Drug Deliver 2011, vol., Article ID 469679, pp. 1-12

RU-C2-2435595

US-B2-7195881

(57) Изобретение относится к комбинации Эдаравона по меньшей мере с одним веществом, выбранным из группы, включающей эбселен, ресвератрол, мочевую кислоту, дегидроаскорбиновую кислоту и натриевую соль дисуфентона, для лечения острого нарушения мозгового кровообращения (ОНМК) - инсульта по ишемическому типу с целью уменьшения неврологической симптоматики, расстройств в выполнении повседневных действий пациента, а также функциональных расстройств ЦНС, связанных с инсультом; бокового амиотрофического склероза (БАС) с целью замедления прогрессирования функциональных расстройств ЦНС; транзиторной ишемической атаки (ТИА) в остром периоде и после перенесенной атаки; хронической ишемии мозга; когнитивных и поведенческих расстройств при сосудистых заболеваниях головного мозга.

B1**043008****043008****B1**

Настоящее изобретение относится к комбинации Эдаравона с по меньшей мере одним веществом, выбранным из группы, включающей эбселен, ресвератрол, мочевую кислоту, дегидроаскорбиновую кислоту и дисульфентон.

Такая комбинация применяется для лечения

острого нарушения мозгового кровообращения (ОНМК) - инсульта по ишемическому типу с целью уменьшения неврологической симптоматики, расстройств в выполнении повседневных действий пациента, а также функциональных расстройств ЦНС, связанных с инсультом,

бокового амиотрофического склероза (БАС) с целью замедления прогрессирования функциональных расстройств ЦНС,

транзиторной ишемической атаки (ТИА) в остром периоде и после перенесенной атаки,

хронической ишемии мозга,

когнитивных и поведенческих расстройств при сосудистых заболеваниях головного мозга,

нейродегенеративных заболеваний.

Ежегодно в Российской Федерации все формы инсульта регистрируются более чем у 500000 человек. Инфаркты головного мозга или ишемические инсульты составляют 65-75%, транзиторные ишемические атаки (ТИА) - 10-15%, геморрагические инсульты - 15-20% от всех форм инсульта.

Частота мозговых инсультов среди лиц старше 50-55 лет увеличивается в 1,8-2 раза в каждом последующем десятилетии жизни.

Летальный исход в остром периоде инсульта наступает у 34,6%, а в течение первого года по окончании острого периода - у 13,4%; тяжелая инвалидность с потребностью постоянного ухода имеется у 20,0% пациентов, перенесших инсульт. Ограничение трудоспособности возникает у 56,0% людей, и только 8,0% возвращаются к своей прежней трудовой деятельности.

Инвалидизация вследствие инсульта занимает первое место среди всех причин первичной инвалидности и составляет 3,2 на 10000 населения.

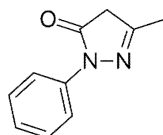
Таким образом, повышение эффективности лекарственных средств, направленных на терапию различных форм инсульта, - одна из острых проблем современной медицины, решение которой крайне необходимо для улучшения общественного здравоохранения.

Эдаравон

Эдаравон (Edaravone, MCI-186) - синтетический антиоксидант, применяемый в виде раствора для внутривенного введения (30 мг/20 мл, ампулы), с доказанным в рандомизированных клинических исследованиях (РКИ) нейропротективным эффектом в острый и восстановительный период при ишемическом инсульте, проявляющимся в виде улучшения функционального состояния ЦНС (двигательной функции; интеллектуальной, чувствительной и эмоциональной сферы), а также снижения степени инвалидизации (способность к самообслуживанию и выполнение ежедневных активностей).

Химическое наименование: 5-метил-2-фенил-2,4-дигидро-3Н-пиразолид-3-он.

Структурная формула:



Эдаравон представляет собой бесцветные или бледно-желтоватые кристаллы или кристаллический порошок. Он свободно растворим в этаноле (99,5) и в уксусной кислоте (100) и слабо растворяется в воде.

Эдаравон был разработан в конце 1980-х гг. как поглотитель свободных радикалов в качестве средства для лечения инсульта. Способ лечения с использованием Эдаравона, введенный Коджи Абэ (Koji Abe) в Университетской больнице Окаяма (Okayama University Hospital) в Японии, был направлен на предотвращение отека мозга, который может произойти после инсульта.

Эдаравон был выведен на рынок в Японии компанией "Mitsubishi Pharma" для лечения инсульта с 2001 г. и в настоящее время является непатентованным лекарственным средством.

В настоящее время Эдаравон, продаваемый под брендами Radicava и Radicut, является внутривенным лекарством, используемым для восстановления после инсульта и лечения бокового амиотрофического склероза (БАС).

Точный механизм его действия неизвестен. Известно, что препарат является антиоксидантом, и, как предполагалось, окислительный стресс является частью процесса, который приводит к гибели нейронов у пациентов с БАС.

Известно, что свободные радикалы, такие как гидроксильный радикал (OH·), играют главную причинную роль в развитии церебрального сосудистого расстройства, вызванного ишемией. При ишемии или ишемической реперфузии гиперактивность метаболической системы арахидоновой кислоты увеличивает образование свободных радикалов. Эти свободные радикалы окисляют ненасыщенные жирные кислоты липидов клеточных мембран, что приводит к повреждению клеточной мембраны и, в конечном счете, к церебральной дисфункции.

Хотя этиология развития и прогрессирования БАС неизвестна, предполагается возможное участие окислительного стресса, вызванного со свободными радикалами, в патогенезе этого заболевания. Эдаравон удаляет свободные радикалы и ингибирует перекисное окисление липидов и тем самым, как предполагается, предотвращает окислительное повреждение клеток мозга (сосудистых эндотелиальных клеток/нервных клеток).

Показания к применению Эдаравона включают:

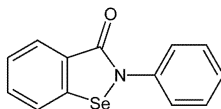
- 1) улучшение неврологических симптомов, купирование нарушения активности повседневной жизни и функционального расстройства, связанного с острым ишемическим инсультом;
- 2) ингибирование прогрессирования функционального расстройства у пациентов с БАС.

Эбселен

Эбселен (также называемый PZ 51, DR3305 и SPI-1005) представляет собой поглотитель свободных радикалов, синтетическую молекулу лекарственного средства с противовоспалительной, антиоксидантной и цитопротекторной активностью. Он действует как аналог глутатионпероксидазы и может также реагировать с пероксинитритом.

Химическое наименование: 2-фенил-1,2-бензисселеназол-3(2H)-он.

Структурная формула:



Эбселен исследуется как возможное средство для лечения реперфузионного повреждения мозга и инсульта, потери слуха и шума в ушах, а также биполярного расстройства.

Кроме того, эбселен может быть эффективным против инфекций, вызванных *Clostridium difficile*.

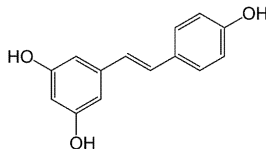
Эбселен является мощным поглотителем перекиси водорода, а также гидропероксидов, включая мембраносвязанные гидропероксиды фосфолипидов и сложных эфиров холестерина. Было показано, что несколько аналогов эбселена удаляют перекись водорода в присутствии тиолов.

Ресвератрол

Ресвератрол - сильный антиоксидант, нейропротектор. Первое упоминание о ресвератроле было опубликовано в японской статье в 1939 г. Мичио Такаокой (Michio Takaoka), которая выделила его из растения семейства *Veratrum*, вида *grandiflorum*, а позже, в 1963 г., из корней японского сполоха.

Химическое наименование: 3,5,4'-тригидрокси-транс-стильбен.

Структурная формула:



Представляет собой стильбеноид, тип природного фенола и фитоалексина, продуцируемого некоторыми растениями в ответ на повреждение, или когда растение подвергается воздействию таких патогенов как бактерии или грибы. Источниками ресвератрола в пище является кожура винограда, черники и малины.

Хотя ресвератрол используется как пищевая добавка, нет четких доказательств того, что потребление ресвератрола влияет на продолжительность жизни или здоровье человека.

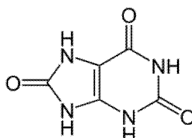
Известны производные ресвератрола, такие как транс-3,5,4'-тригидроксистильбен; 3,4',5-стильбентриол; транс-ресвератрол.

В 2011 году систематический обзор существующих исследований ресвератрола показал, что к этому моменту нет достаточных доказательств его влияния на продолжительность жизни или заболевания у человека, а также отсутствуют рекомендации к его потреблению свыше количества, обычно получаемого с пищей, которое оценивается как менее 4 мг/сутки. Большая часть исследований, показывающих положительные эффекты ресвератрола, была проведена на животных, при этом на данный момент недостаточно клинических исследований на людях. В связи с этим в настоящее время активно ведутся исследования ресвератрола на животных и человеке.

Ресвератрол изучается как возможный препарат для уменьшения осложнений после ишемического инсульта или острых мозговых травм.

Мочевая кислота

Мочевая кислота может действовать как антиоксидант, физиологический поглотитель пероксинитрита. Представляет собой бесцветные кристаллы, плохо растворимые в воде, этаноле, диэтиловом эфире, растворимые в растворах щелочей, горячей серной кислоте и глицерине.



Мочевая кислота является известным природным антиоксидантом, присутствующим в жидкостях и тканях по всему телу. Считается, что свободные радикалы кислорода и клеточная перегрузка кальцием способствуют повреждению и гибели нейронов, которые возникают после церебральной ишемии у жертв инсульта. Мочевая кислота защищает культивируемые нейроны гиппокампа крысы от гибели, вызванной повреждениями, связанными с патогенезом церебральной ишемии, включая воздействие глутамата - возбуждающей аминокислоты, и цианида - метаболитического яда.

Мочевая кислота подавляет накопление активных форм кислорода (перекись водорода и пероксинитрит) и перекисное окисление липидов, связанное с разными видами инсульта. Митохондриальная функция, нарушенная при эксайтотоксическом и метаболитическом инсультах, сохраняется в нейронах, обработанных мочевой кислотой.

Мочевая кислота оказывает нейропротективное действие, которое включает подавление накопления свободных радикалов кислорода, стабилизацию гомеостаза кальция и сохранение митохондриальной функции, что указывает на потенциальное терапевтическое применение мочевой кислоты при ишемическом инсульте и родственных нейродегенеративных состояниях.

Дегидроаскорбиновая кислота

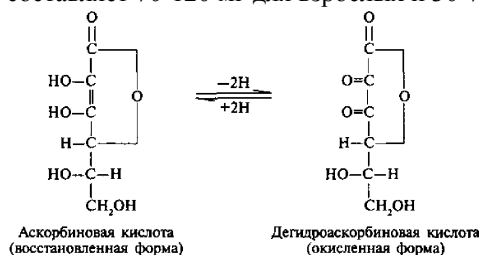
Дегидроаскорбиновая кислота - окисленное производное аскорбиновой кислоты. Аскорбиновая кислота по химическому составу является лактоном 2,3-диенол-гулоновой кислоты. Аскорбиновая кислота - окисленное производное шестиатомного спирта сорбита характерна наличием диенольной группы, которая обуславливает способность витамина С легко подвергаться окислению с одновременным восстановлением других соединений.

Аскорбиновая кислота представляет собой бесцветные кристаллы, легко растворимые в воде, сильно кислого вкуса. Нерастворима в бензоле, хлороформе, диэтиловом эфире, жирах. Водные растворы аскорбиновой кислоты имеют кислую реакцию. Аскорбиновая кислота легко окисляется, образуя дегидроаскорбиновую кислоту, сохраняющую витаминную ценность.

Дегидроаскорбиновая кислота - соединение весьма неустойчивое и при восстановлении снова переходит в аскорбиновую кислоту. Это свойство витамина С определяет его активное участие в окислительно-восстановительных процессах. Аскорбиновая и дегидроаскорбиновая кислоты - активные компоненты процессов переноса электронов. При pH 7 (и выше) дегидроаскорбиновая кислота необратимо окисляется в L-дикетогулоновую кислоту, которая уже не обладает свойствами витамина С. Витамин С принимает участие во многих ферментативных реакциях, являясь активатором или ингибитором ряда энзиматических систем.

Окисление аскорбиновой кислоты легко происходит в нейтральной и щелочной среде, оно катализируется ионами тяжелых металлов (меди, железа, серебра). В кислой среде восстанавливающие свойства аскорбиновой кислоты выражены значительно слабее.

Суточная потребность человека в витамине С зависит от возраста, физиологического состояния и тяжести выполняемой работы и составляет 70-120 мг для взрослых и 30-70 мг для детей.



В WO 2001089520 раскрыто, что дегидроаскорбиновая кислота, являясь транспортной формой витамина С, проходит гематоэнцефалический барьер и обеспечивает надежную нейропротекцию после инсульта у мышей.

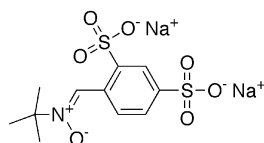
Известно также, что токсичность дегидроаскорбиновой кислоты неожиданно и значительно снижается при введении в виде буферной композиции. А буферизированные препараты дегидроаскорбиновой кислоты уменьшают эффекты ишемии в мышинной модели инсульта даже при введении через несколько часов после индукции ишемии.

Также было показано (Huang J. et al., PNAS, 2001), что в отличие от экзогенной аскорбиновой кислоты, которая не влияла на объем инфаркта, смертность и осложнения при инсульте, дегидроаскорбиновая кислота создает *in vivo* дозозависимую нейропротекцию при реперфузированной и нереперфузионной церебральной ишемии. Таким образом, как естественная форма аскорбиновой кислоты, которая способна проходить гематоэнцефалический барьер, дегидроаскорбиновая кислота представляет собой перспективное фармакологическое средство для терапии при инсульте.

спективное фармакологическое средство для терапии при инсульте.

Дисуфентон натрия

Дисуфентон натрия (NXY-059, коммерческое название препарата - Cerovive) - акцептор свободных радикалов, является дисульфонильным производным нейропротективной спин-ловушки фенилбутилнитрона (PBN).



На данный момент компанией AstraZeneca ведутся клинические исследования препарата. Первая серия клинических испытаний показала, что дисуфентон натрия оказывает нейропротекторное действие при лечении инсульта, однако возникли проблемы с воспроизводимостью результатов. На данный момент исследования дисуфентона натрия как одного из потенциальных мощных нейропротекторов продолжаются.

Актуальность настоящего изобретения

Согласно Федеральным клиническим рекомендациям (2013 г.), основанным на рекомендациях Евросоюза (ESO, 2008) и США (AHA/ASA) (2008, 2015), цели лечения ОНМК включают:

- (1) снижение риска ранних неврологических осложнений,
- (2) улучшение функционального исхода,
- (3) снижение риска сердечно-сосудистых осложнений.

Медикаментозная терапия инсульта (существующие лечебные технологии) включает следующие подходы.

(1) Медикаментозный тромболизис (цель - восстановление перфузии): все пациенты с ОНМК в течение 4,5 ч от начала развития нарушения являются кандидатами для проведения внутривенной тромболитической терапии. Пациенты, получавшие внутривенно тканевый активатор плазминогена (Альтеплаза) в течение 4,5 ч от начала развития симптоматики, через 3 мес. характеризовались на 30% меньшим уровнем неврологического дефицита/его отсутствием по сравнению с введением плацебо (класс I, уровень A).

(2) Антитромбоцитарные препараты (цель - снижение риска образования повторных тромбов): ацетилсалициловая кислота (АСК) в дозе 100-325 мг/сутки показана в течение 48 ч с момента начала инсульта, АСК не должна рассматриваться в качестве альтернативы внутривенному тромболизису. АСК не назначается при планировании тромболитической терапии.

(3) Антикоагулянты (цель - снижение риска образования повторных тромбов): эффективность подкожного введения нефракционированного гепарина в низких и средних дозах, низкомолекулярных гепаринов при назначении в первые 24-48 ч от развития инсульта не доказана. Подкожное введение гепарина или низкомолекулярных гепаринов показано пациентам с высоким риском венозных тромбозов и тромбозов легочной артерии (ожирение, сахарный диабет, длительная иммобилизация).

(4) Нейропротекция (цель - обеспечить выживание нейронов в условиях гипоперфузии и стабилизация зоны пenumбры). Применение ноотропов, антиоксидантов, метаболитических препаратов.

В настоящее время единственным препаратом, применяемым при ишемическом инсульте, позволяющим быстро восстановить проходимость сосудов головного мозга и тем самым снизить количество погибших нейронов, является рекомбинантный тканевой активатор плазминогена. По данным открытых источников, примерно у 2-5% пациентов с ишемическим инсультом проводится медикаментозный тромболизис (основная причина - ограниченный доступ к КТ, тромболизис эффективен только в строго ограниченный период времени).

Нейропротекция является безальтернативным методом терапии ОНМК, таким образом, внедрение нейропротекторов с доказанным клиническим эффектом в практику терапии ОНМК является актуальной задачей.

На данный момент разработка комбинаций Эдаравона с другими веществами является перспективным направлением в терапии всех видов инсульта. Ближайшим аналогом предложенной в настоящей заявке комбинации является комбинация Эдаравона с борнеолом, который сам по себе, не оказывая никакого действия, может повышать эффективность препарата, с которым используется совместно, выступая в качестве адъюванта (WO 2009109132 A1, JIANGSU SIMCERE PHARMACEUTICAL, 11.09.2009). Недостатком этого решения является незначительное повышение эффективности Эдаравона, в связи с чем дальнейшая разработка препаратов с повышенной антиоксидантной активностью по-прежнему остается актуальной.

Задачей настоящего изобретения является создание новых высокоэффективных средств для комплексной терапии ОНМК, БАС, ТИА, хронической ишемии мозга, когнитивных и поведенческих расстройств при сосудистых заболеваниях головного мозга, нейродегенеративных заболеваний.

Эдаравон

Технические результаты:

повышение антиоксидантного эффекта, который заключается в способности поглощать свободные радикалы, за счет синергического эффекта от сочетания Эдаравона с эбселеном, ресвератролом, мочевиной, дегидроаскорбиновой кислотой и/или дисульфентоном;

повышение эффективности лечения острого нарушения мозгового кровообращения (ОНМК), бокового амиотрофического склероза (БАС), транзиторной ишемической атаки (ТИА) в остром периоде и после перенесенной атаки, хронической ишемии мозга, когнитивных и поведенческих расстройств при сосудистых заболеваниях головного мозга;

расширение арсенала средств для лечения (комплексной терапии) ОНМК, БАС, ТИА, хронической ишемии мозга, когнитивных и поведенческих расстройств при сосудистых заболеваниях головного мозга, нейродегенеративных заболеваний.

Поставленная задача решается, а технический результат достигается путем создания комбинации для лечения острого нарушения мозгового кровообращения (ОНМК), бокового амиотрофического склероза (БАС), транзиторной ишемической атаки (ТИА) в остром периоде и после перенесенной атаки, хронической ишемии мозга, когнитивных и поведенческих расстройств при сосудистых заболеваниях головного мозга, нейродегенеративных заболеваний, содержащих в эффективных количествах (а) Эдаравон и (б) по меньшей мере одно, два, три, четыре или пять веществ, выбранных из группы, состоящей из эбселена, ресвератрола, мочевины, дегидроаскорбиновой кислоты и дисульфентона.

Согласно предпочтительным вариантам реализации указанный технический результат также достигается тем, что

комбинация находится в форме раствора для инъекций;

комбинация находится в липосомальной форме;

упомянутой комбинации действующие вещества находятся в следующих суточных дозировках:

Эдаравон 30-700 мг/сут;

эбселен 200-3600 мг/сут;

ресвератрол 2-5000 мг/сут;

мочевая кислота 250-2000 мг/сут;

дегидроаскорбиновая кислота 7000-35000 мг/сут;

дисульфентон натрия 500-6000 мг/сут.

действующие вещества в упомянутой комбинации находятся в следующих предпочтительных массовых соотношениях:

Эдаравон:эбселен от 1:120 до 3,5:1,

Эдаравон:ресвератрол от 1:166,6 до 350:1,

Эдаравон:мочевая кислота от 1: 66,6 до 2,8:1,

Эдаравон:дегидроаскорбиновая кислота от 1: 1166,6 до 1:10,

Эдаравон:дисульфентон натрия от 1: 200 до 1,4:1.

упомянутая комбинация дополнительно содержит вещества, выбранные из группы, включающей стильбуленилнитрон, оксиресвератрол, N-трет-бутилфенилнитрон, skutellarin, холин альфосцерат, цитиколин натрия, пирацетам, липоевая кислота, N-ацетилцистеин, аскорбиновая кислота, янтарная кислота, таурин, инозин, кофеин, натрия (Е)-3-[4-(1H-имидазол-1-илметил)фенил]-2-пропеноат и другие ингибиторы тромбоксансинтазы, аргатробан и другие ингибиторы тромбина, моноэтиловый эфир глутатиона, пуэрарин, бутилфталид и пальмитоилэтаноламид.

Поставленная задача решается, а заявленный технический результат также достигается фармацевтической композицией для лечения ОНМК, БАС, ТИА в остром периоде и после перенесенной атаки, хронической ишемии мозга, когнитивных и поведенческих расстройств при сосудистых заболеваниях головного мозга, содержащей комбинацию (а) Эдаравона и (б) по меньшей мере одного вещества, выбранного из группы, состоящей из эбселена, ресвератрола, мочевины, дегидроаскорбиновой кислоты и дисульфентона в эффективных количествах, а также по меньшей мере одно вспомогательное вещество и/или по меньшей мере один фармацевтически приемлемый носитель.

Согласно предпочтительным вариантам реализации указанный технический результат также достигается тем, что:

упомянутая композиция находится в форме раствора для инъекций;

упомянутая композиция находится в липосомальной форме;

в упомянутой композиции действующие вещества находятся в следующих предпочтительных суточных дозировках:

Эдаравон 30-700 мг/сут;

эбселен 200-3600 мг/сут;

ресвератрол 2-5000 мг/сут;

мочевая кислота 250-2000 мг/сут;

дегидроаскорбиновая кислота 7000-35000 мг/сут;

дисульфентон натрия 500-6000 мг/сут.

в упомянутой композиции действующие вещества содержатся в предпочтительных массовых соотношениях:

Эдаравон:эбселен от 1:120 до 3,5:1,

Эдаравон:ресвератрол от 1:166,6 до 350:1,

Эдаравон:мочевая кислота от 1: 66,6 до 2,8:1,

Эдаравон:дегидроаскорбиновая кислота от 1: 1166,6 до 1:10,

Эдаравон:дисуфентон натрия от 1: 200 до 1,4:1;

упомянутая композиция дополнительно содержит вещества, выбранные из группы, включающей стильбузуленилнитрон, оксиресвератрол, N-трет-бутилфенилнитрон, skutелларин, холин альфосцерат, цитиколин натрия, пирацетам, липоевая кислота, N-ацетилцистеин, аскорбиновая кислота, янтарная кислота, таурин, инозин, кофеин, натрия (E)-3-[4-(1H-имидазол-1-илметил)фенил]-2-пропеноат и другие ингибиторы тромбоксансинтазы, аргатробан и другие ингибиторы тромбина, моноэтиловый эфир глутатиона, пуэрарин, бутилфталид и пальмитоилэтаноламид.

Поставленная задача решается, а заявленный технический результат достигается также в наборе для лечения ОНМК, БАС, ТИА в остром периоде и после перенесенной атаки, хронической ишемии мозга, когнитивных и поведенческих расстройств при сосудистых заболеваниях головного мозга, содержащем инструкцию по применению и эффективные количества комбинации (а) Эдаравона и (б) по меньшей мере одно вещество, выбранное из группы, состоящей из эбселена, ресвератрола, мочевой кислоты, дегидроаскорбиновой кислоты и дисуфентона, и необязательно, по меньшей мере одно фармацевтически приемлемое вспомогательное вещество.

Согласно предпочтительным вариантам реализации указанный технический результат также достигается тем, что:

в упомянутом наборе действующие вещества находятся в следующих предпочтительных суточных дозировках:

Эдаравон 30-700 мг/сут;

эбселен 200-3600 мг/сут;

ресвератрол 2-5000 мг/сут;

мочевая кислота 250-2000 мг/сут;

дегидроаскорбиновая кислота 7000-35000 мг/сут;

дисуфентон натрия 500-6000 мг/сут;

упомянутый набор, в котором действующие вещества содержатся в предпочтительных массовых соотношениях:

Эдаравон:эбселен от 1:120 до 3,5:1,

Эдаравон:ресвератрол от 1:166,6 до 350:1,

Эдаравон:мочевая кислота от 1: 66,6 до 2,8:1,

Эдаравон:дегидроаскорбиновая кислота от 1: 1166,6 до 1:10,

Эдаравон:дисуфентон натрия от 1: 200 до 1,4:1;

упомянутый набор дополнительно содержит вещества, выбранные из группы, включающей стильбузуленилнитрон, оксиресвератрол, N-трет-бутилфенилнитрон, skutелларин, холин альфосцерат, цитиколин натрия, пирацетам, липоевая кислота, N-ацетилцистеин, аскорбиновая кислота, янтарная кислота, таурин, инозин, кофеин, натрия (E)-3-[4-(1H-имидазол-1-илметил)фенил]-2-пропеноат и другие ингибиторы тромбоксансинтазы, аргатробан и другие ингибиторы тромбина, моноэтиловый эфир глутатиона, пуэрарин, бутилфталид и пальмитоилэтаноламид;

Поставленная задача решается, а заявленный технический результат достигается также применением указанной комбинации, композиции или набора для лечения ОНМК, БАС, ТИА в остром периоде и после перенесенной атаки, хронической ишемии мозга, когнитивных и поведенческих расстройств при сосудистых заболеваниях головного мозга.

В еще одном предпочтительном варианте изобретение относится к указанному выше применению, где ОНМК представляет собой инсульт по ишемическому типу, а также функциональные расстройства ЦНС, связанные с инсультом.

Поставленная задача решается, а заявленный технический результат достигается также в способе комбинированного лечения ОНМК, БАС, ТИА в остром периоде и после перенесенной атаки, хронической ишемии мозга, когнитивных и поведенческих расстройств при сосудистых заболеваниях головного мозга, где в качестве нейропротекторных препаратов используются в эффективных количествах вышеуказанные комбинация, композиция или набор.

Согласно предпочтительным вариантам реализации указанный технический результат также достигается тем, что ОНМК представляет собой инсульт по ишемическому типу, а также функциональные расстройства ЦНС, связанные с инсультом.

Поставленная задача решается, а заявленный технический результат достигается также способом комбинированного лечения ОНМК, БАС, ТИА в остром периоде и после перенесенной атаки, хронической ишемии мозга, когнитивных и поведенческих расстройств при сосудистых заболеваниях головного мозга, где в качестве нейропротекторных препаратов используются в эффективных количествах упомя-

нутая комбинация, упомянутая композиция или упомянутый набор.

Согласно предпочтительным вариантам реализации указанный технический результат также достигается тем, что:

ОНМК представляет собой insult по ишемическому типу, а также функциональные расстройства ЦНС, связанные с инсультом;

введение упомянутой комбинация, упомянутой композиция или упомянутого набор осуществляется инъекционно;

действующие вещества упомянутой комбинации вводят в следующих предпочтительных суточных дозировках:

Эдаравон 30-700 мг/сут;

эбселен 200-3600 мг/сут;

ресвератрол 2-5000 мг/сут;

мочевая кислота 250-2000 мг/сут;

дегидроаскорбиновая кислота 7000-35000 мг/сут;

дисуфентон натрия 500-6000 мг/сут;

действующие вещества упомянутой комбинации находятся в предпочтительных массовых соотношениях:

Эдаравон:эбселен от 1:120 до 3,5:1,

Эдаравон:ресвератрол от 1:166,6 до 350:1,

Эдаравон:мочевая кислота от 1: 66,6 до 2,8:1,

Эдаравон:дегидроаскорбиновая кислота от 1:166,6 до 1:10,

Эдаравон:дисуфентон натрия от 1:200 до 1,4:1;

упомянутую композицию вводят в следующих предпочтительных суточных дозировках:

Эдаравон 30-700 мг/сут;

эбселен 200-3600 мг/сут;

ресвератрол 2-5000 мг/сут;

мочевая кислота 250-2000 мг/сут;

дегидроаскорбиновая кислота 7000-35000 мг/сут;

дисуфентон натрия 500-6000 мг/сут.

Лекарственная форма, содержащая (а) Эдаравон и (б) по меньшей мере одно, два, три, четыре или пять веществ, выбранных из группы, состоящей из эбселена, ресвератрола, мочевой кислоты, дегидроаскорбиновой кислоты и дисуфентона, в эффективных количествах, а также, необязательно, вспомогательные вещества, может представлять собой лекарственную форму для перорального, легочного, ректального, толстокишечного, парентерального, интрацестерального, интравагинального, внутривенного, глазного, ушного, местного, трансбуккального, назального и местного введения.

Лекарственная форма может быть выбрана из группы, состоящей из жидких дисперсий, растворов, эмульсий, гелей, аэрозолей, мазей, кремов, лиофилизированных препаратов, таблеток, капсул, препаратов регулируемого высвобождения, препаратов замедленного высвобождения, препаратов пролонгированного высвобождения, препаратов импульсного высвобождения и смешанных препаратов быстрого высвобождения и регулируемого высвобождения.

Эдаравон и по меньшей мере одно, два, три, четыре или пять веществ, выбранных из группы, состоящей из эбселена, ресвератрола, мочевой кислоты, дегидроаскорбиновой кислоты и дисуфентона, получают в виде одной или нескольких фармацевтических композиций путем их смешивания с фармацевтически приемлемыми вспомогательными веществами. Затем из полученных фармацевтических композиций получают одну или несколько отдельных лекарственных форм.

Подбор конкретных вспомогательных веществ осуществляется в зависимости от предполагаемого пути введения и лекарственной формы, как известно специалисту в данной области техники. Подходящие фармацевтические носители, наполнители и их составы описаны, например, в Remington: The Science and Practice of Pharmacy 1995, edited by E.W. Martin, Mack Publishing Company, 19th edition, Easton, Pennsylvania.

Фармацевтически приемлемые вспомогательные вещества могут быть выбраны из группы, состоящей из фармацевтически приемлемых и фармакологически совместимых наполнителей, растворителей, разбавителей, носителей, вспомогательных и распределяющих средств, средств доставки, таких как консерванты, стабилизаторы, наполнители, диспергирующие агенты, увлажнители, эмульгаторы, суспендирующие агенты, загустители, подсластители, отдушки, ароматизаторы, антибактериальные агенты, фунгициды, лубриканты, регуляторы пролонгированной доставки, выбор и соотношение которых зависит от природы действующих веществ, способа введения и дозировки. Примерами суспендирующих агентов являются этоксилированный изостеариловый спирт, полиоксиэтилен, сорбитол и сорбитовый эфир, микрокристаллическая целлюлоза, метагидроксид алюминия, бентонит, агар-агар и трагакант, а также смеси этих веществ. Защита от действия микроорганизмов может быть обеспечена с помощью разнообразных антибактериальных и противогрибковых агентов, например, таких как парабены, хлорбутанол, сорбиновая кислота и подобные им соединения. Композиция может включать также изотонические агенты, на-

пример сахара, хлористый натрий и им подобные. Пролонгированное действие композиции может быть обеспечено с помощью агентов, замедляющих абсорбцию активного начала, например, моностеарат алюминия, производные целлюлозы и желатин. Примерами подходящих носителей, растворителей, разбавителей и средств доставки являются вода, этанол, полиспирты, а также их смеси, растительные масла (такие как оливковое масло) и инъекционные органические сложные эфиры (такие как этилолеат). Примерами наполнителей являются лактоза, молочный сахар, цитрат натрия, карбонат кальция, фосфат кальция и им подобные. Примерами диспергирующих агентов и распределяющих средств являются крахмал, альгиновая кислота и ее соли, силикаты. Примерами лубрикантов являются стеарат магния, лаурилсульфат натрия, тальк, а также полиэтиленгликоль с высоким молекулярным весом. Фармацевтическая композиция для перорального, сублингвального, трансдермального, внутримышечного, внутривенного, подкожного, местного или ректального введения активного начала, одного или в комбинации с другим активным началом, может быть введена животным и людям в стандартной форме введения, в виде смеси с традиционными фармацевтическими носителями. Пригодные стандартные формы введения включают пероральные формы, такие как таблетки, желатиновые капсулы, пилюли, порошки, гранулы, жевательные резинки и пероральные растворы или суспензии, сублингвальные и трансбуккальные формы введения, аэрозоли, имплантаты, местные, трансдермальные, подкожные, внутримышечные, внутривенные, интраназальные или внутриглазные формы введения и ректальные формы введения.

Композиции, пригодные для парентеральной инъекции, могут содержать физиологически приемлемые, стерильные водные или неводные растворы, дисперсии, суспензии или эмульсии, а также стерильные порошки для восстановления в стерильных инъекционных растворах или дисперсиях. Примеры подходящих водных и неводных носителей, разбавителей, растворителей или наполнителей включают воду, этанол, полиолы (пропиленгликоль, полиэтиленгликоль, глицерин и тому подобное), их подходящие смеси, растительные масла (такие как оливковое масло) и инъекционные органические эфиры, такие как этилолеат. Соответствующую текучесть можно поддерживать, например, путем использования покрытия, такого как лецитин, путем поддержания необходимого размера частиц в случае дисперсий и путем использования сурфактантов.

Твердые лекарственные формы для перорального введения включают, но не ограничены ими, капсулы, таблетки, пилюли, порошки и гранулы. В таких твердых лекарственных формах активный агент смешан, по меньшей мере, с одним из приведенного ниже: (a) один или более чем один инертный эксципиент (или носитель), такой как двузамещенный фосфат кальция; (b) наполнители или разбавители, такие как крахмалы, лактоза, сахароза, глюкоза, маннит и кремниевая кислота; (c) связующие вещества, такие как карбоксиметилцеллюлоза, альгинаты, желатин, поливинилпирролидон, сахароза и аравийская камедь; (d) увлажнители, такие как глицерин; (e) разрыхлители, такие как агар-агар, карбонат кальция, картофельный, кукурузный или тапиоковый крахмал, альгиновая кислота, некоторые комплексные силикаты и карбонат натрия; (f) замедлители растворения, такие как парафин; (g) ускорители всасывания, такие как соединения четвертичного аммония; (h) смачивающие агенты, такие как цетиловый спирт и глицерилмоностеарат; (i) адсорбенты, такие как каолин и бентонит и (j) смазывающие вещества, такие как тальк, стеарат кальция, стеарат магния, твердые полиэтиленгликоли, лаурилсульфат натрия или их смеси. Для капсул, таблеток и пилюль лекарственные формы могут также содержать буферные агенты.

Жидкие лекарственные формы для перорального введения включают фармацевтически приемлемые эмульсии, растворы, суспензии, сиропы и эликсиры. Жидкие лекарственные формы могут содержать инертные разбавители, обычно используемые в данной области техники, такие как вода или другие растворители, солюбилизующие агенты и эмульгаторы. Примерами эмульгаторов являются этиловый спирт, изопропиловый спирт, этилкарбонат, этилацетат, бензиловый спирт, бензилбензоат, пропиленгликоль, 1,3-бутиленгликоль, диметилформамид, масла, такие как хлопковое масло, масло земляного ореха, масло проростков пшеницы, оливковое масло, касторовое масло и кунжутное масло, глицерин, тетрагидрофуруриловый спирт, полиэтиленгликоли, эфиры сорбитола и жирных кислот, либо смеси этих веществ и тому подобное.

Кроме таких инертных разбавителей, композиция может также включать адъюванты, такие как смачивающие агенты, эмульгирующие и суспендирующие агенты, подслащивающие, корригирующие и ароматизирующие агенты.

Предпочтительной лекарственной формой Эдаравона и по меньшей мере одного, двух, трех, четырех или пяти веществ, выбранных из группы, состоящей из эбселена, ресвератрола, мочевой кислоты, дегидроаскорбиновой кислоты и дисульфентона по изобретению является жидкая лекарственная форма для внутривенного инъекционного введения, предпочтительно раствор в ампулах, как в виде раствора, содержащего активные вещества совместно, так и в виде отдельных растворов, содержащих активные вещества по-отдельности, причем ампулы, содержащие Эдаравон, и ампулы, содержащие по меньшей мере одно, два, три, четыре или пять веществ, выбранных из группы, состоящей из эбселена, ресвератрола, мочевой кислоты, дегидроаскорбиновой кислоты и дисульфентона, упакованы совместно в виде набора, хотя можно использовать любую фармацевтически приемлемую лекарственную форму.

В одном из вариантов осуществления Эдаравон вводят инъекционно или любым другим способом и по меньшей мере одно, два, три, четыре или пять веществ, выбранных из группы, состоящей из эбселена,

ресвератрола, мочевой кислоты, дегидроаскорбиновой кислоты и дисуфентона также вводят инъекционно или любым другим способом.

В одном из вариантов осуществления Эдаравон содержится в таблетке и, по меньшей мере, одно, два, три, четыре или пять веществ, выбранных из группы, состоящей из эбселена, ресвератрола, мочевой кислоты, дегидроаскорбиновой кислоты и дисуфентона, также содержатся в таблетке, причем таблетки, содержащие Эдаравон, и таблетки, содержащие по меньшей мере одно, два, три, четыре или пять веществ, выбранных из группы, состоящей из эбселена, ресвератрола, мочевой кислоты, дегидроаскорбиновой кислоты и дисуфентона, упакованы совместно в виде набора.

Предпочтительно набор содержит инструкцию по применению и упакован в картонную пачку.

Необязательно любая из рассматриваемых комбинаций, композиций или наборов может содержать дополнительные вещества, полезные для лечения ишемических повреждений мозга, выбранные из группы: стильбазуленитрон, оксиресвератрол, N-трет-бутилфенилнитрон, скутелларин, холин альфосцерат, цитиколин натрия, пирацетам, липоевая кислота, N-ацетилцистеин, аскорбиновая кислота, янтарная кислота, таурин, инозин, кофеин, натрия (E)-3-[4-(1H-имидазол-1-илметил)фенил]-2-пропеноат или другие ингибиторы тромбоксана синтазы, аргатробан или другие ингибиторы тромбина, моноэтиловый эфир глутатиона, пуэзарин, бутилфталид и пальмитоилэтаноламид.

Эдаравон и, по меньшей мере, одно, два, три, четыре или пять веществ, выбранных из группы, состоящей из эбселена, ресвератрола, мочевой кислоты, дегидроаскорбиновой кислоты и дисуфентона, могут использоваться в составе комбинаций, фармацевтических композиций, лекарственных форм и наборов согласно настоящему изобретению в виде свободных оснований или свободных кислот, пролекарств, конъюгатов, фармацевтически приемлемых солей, сольватов, клатратов, полиморфных форм, N-оксидов и сокристаллов.

Термин "лечение" обозначает любое лечение заболевания или состояния у субъекта, включающее 1) подавление развития заболевания или состояния, что означает приостановку или подавление развития клинических симптомов, и/или 2) снижение интенсивности симптомов заболевания или состояния, что означает регрессию клинических симптомов.

Термин "терапевтически эффективное количество" означает количество соединения по настоящему изобретению или любого его производного, которое (1) лечит или предупреждает конкретное заболевание, состояние или расстройство, (2) ослабляет, улучшает или устраняет один или более симптомов конкретного заболевания, состояния или расстройства, или (3) предупреждает или задерживает наступление одного или более симптомов конкретного заболевания, состояния или расстройства, изложенного в данном описании.

Термин "фармацевтически приемлемый" означает, что данное вещество или композиция, в отношении которых применяется этот термин, должны быть совместимы с точки зрения химии и/или токсикологии с другими ингредиентами, входящими в состав препарата, и безопасны для того, кого лечат этим веществом или композицией.

Термины "содержащий", "содержит" означает, что указанные комбинации, композиции и наборы включают перечисленные компоненты, но не исключают включение других компонентов.

Термины "Эдаравон", "эбселен", "ресвератрол", "мочевая кислота", "дегидроаскорбиновая кислота" и "дисуфентон" включают любые производные всех вышеперечисленных, такие как, например, свободные основания, пролекарства, конъюгаты, фармацевтически приемлемые соли, сольваты, клатраты, полиморфные формы, N-оксиды и со-кристаллы.

Термин "фармацевтически приемлемые соли" включает соли активных соединений, которые получают с использованием относительно нетоксичных кислот или оснований, в зависимости от выбранных конкретных заместителей в составе определенных терапевтических агентов, описанных в настоящем изобретении. Если терапевтические агенты, описанные в настоящем изобретении, содержат относительно кислотные функциональные группы, то образуются основно-аддитивные соли при взаимодействии нейтральной формы указанных соединений с достаточным количеством требуемого основания как в среде, не содержащей растворитель, так и в среде пригодного инертного растворителя. Примеры солей фармацевтически приемлемых неорганических оснований, включают соли алюминия, аммония, кальция, меди, железа (III), железа (II), лития, магния, марганца (III), марганца (II), калия, натрия, цинка и т.п. Соли фармацевтически приемлемых органических оснований включают соли первичных, вторичных и третичных аминов, включая замещенные амины, циклические амины, природные амины и т.п., такие как аргинин, бетаин, кофеин, холин, N,N-дибензилэтилендиамин, диэтиламин, 2-диэтиламиноэтанол, 2-диметиламиноэтанол, этаноламин, этилендиамин, N-этилморфолин, N-этилпиперидин, глюкамин, глюкозамин, гистидин, гидабамин, изопропиламин, лизин, метилглюкамин, морфолин, пиперазин, пиперидин, полиаминные смолы, прокаин, пурины, теобромин, триэтиламин, триметиламин, трипропиламин, трометамин и т.п. Если терапевтические агенты, описанные в настоящем изобретении, содержат относительно основные функциональные группы, то образуются кислотно-аддитивные соли при взаимодействии нейтральной формы указанных соединений с достаточным количеством требуемой кислоты как в среде, не содержащей растворитель, так и в среде пригодного инертного растворителя.

Примерами таких солей являются соли с неорганическими кислотами, такими как соляная кислота,

бромистый водород, серная кислота, фосфорная кислота, или органическими кислотами, такими как уксусная кислота, лимонная кислота, винная кислота, яблочная кислота, янтарная кислота, фумаровая кислота, п-толуолсульфоновая кислота, бензолсульфоновая кислота, метансульфоновая кислота, молочная кислота, аскорбиновая кислота, и т.д. Данные соли могут быть получены из нейтральных соединений известными способами. Примеры фармацевтически приемлемых основно-аддитивных солей включают соли неорганических оснований, такие как соли натрия, калия, лития, аммония, кальция, магния, железа, цинка, меди, магния, алюминия и т.п. Прежде всего, предпочтительными являются соли калия и натрия, (см., например, Berge S.M. et al., "Pharmaceutical Salts", J. of Pharmaceutical Science, 1977, 66, p. 1-19); Bundgaard H., ред. Design of Prodrugs (Elsevier Science Publishers, Амстердам), 1985).

"Нейродегенеративные заболевания" означают специфические состояния и заболевания, характеризующиеся повреждением и первичной гибелью популяций нервных клеток в определенных областях центральной нервной системы. Нейродегенеративные заболевания включают, но не ограничиваются ими, болезни Альцгеймера и Паркинсона; болезнь (хорею) Хантингтона; рассеянный склероз; мозжечковую дегенерацию; амиотрофический латеральный склероз; деменцию с тельцами Леви; спинальную мускульную атрофию; периферическую нейропатию; губчатый энцефалит ("коровье бешенство", болезнь Крейтсфельда-Якоба); СПИД-ассоциированную деменцию; мультиинфарктную деменцию; лобно-височную деменцию; лейкоэнцефалопатию (болезнь исчезающего белого вещества); хронические нейродегенеративные заболевания; инсульт; ишемическое, реперфузионное и гипоксическое повреждение мозга; эпилепсия; церебральная ишемия; глаукома; черепно-мозговая травма; синдром Дауна; энцефаломиелит; менингит; энцефалит; нейробластома; шизофрения; депрессия. Кроме того, нейродегенеративные заболевания включают патологические состояния и расстройства, развивающиеся при гипоксии, злоупотреблении веществами, вызывающими зависимость, при воздействии нейротоксинов, инфекционных и онкологических заболеваниях головного мозга, а также нейрональные повреждения, ассоциированные с аутоиммунными и эндокринными заболеваниями; и прочие нейродегенеративные процессы.

Суточную дозу комбинации или композиции варьируют в зависимости от различных факторов, например, от конкретной выбранной комбинации, состояния конкретного пациента, нуждающегося в лечении, его веса тела и конкретного заболевания, которое было у него диагностировано, а также тяжести развития этого заболевания. Таким образом подбор доз осуществляется индивидуально, с учетом мнения лечащего врача. Тем не менее, обычно хорошие результаты получают при введении Эдаравона 30мг×2 раза в день (утром и вечером) инфузионно внутривенно, в течение 14 дней. Далее следует сделать перерыв в применении 14 дней, после которого возможно проведение второго цикла внутривенных инфузий 30мг×2 раза в день, курсом длительностью 14 дней.

Несмотря на то, что описанное выше изобретение было описано в некоторых подробностях для иллюстрирования и приведения примеров в целях ясности и понимания, описание и примеры не должны рассматриваться в качестве ограничивающих область, охватываемую изобретением.

Пример 1. Модель ишемического инсульта

В эксперименте использовали крыс линии Спрег-Дуули (9-10 недель, 250-270 г), 8 животных на экспериментальную группу. Фокальная церебральная ишемия индуцировалась внутрипросветной окклюзией средней мозговой артерии (МСаО) на крысах, как описано в (Zhou et al., 2010). При использовании хлоралгидратной анестезии (350 мг/кг) хирургическую нейлоновую мононить 4/0 с закругленным наконечником вводили в левую внутреннюю сонную артерию, продвигаясь на 20-21 мм от бифуркации сонной артерии до тех пор, пока ощущалось небольшое сопротивление. В этот момент внутрипросветная нить блокировала среднюю мозговую артерию и закрывала все источники кровотока из внутренней сонной артерии, передней мозговой артерии и задней мозговой артерии. На протяжении всей процедуры температура тела крыс поддерживалась при 37±0,5°C. Региональный мозговой кровоток измеряли с помощью гибкого зонда и лазерной доплеровской флоуметрии (Moor Instruments, Axminster, Devon, UK) (критерии включения животного в эксперимент: региональный церебральный кровоток снизился на 85-95%). Нить оставляли на месте в течение 120 мин, а затем удаляли для реперфузии. У контрольных животных окклюзионная нить была вставлена только на 7 мм выше бифуркации сонной артерии.

Комбинации по настоящему изобретению, плацебо (носитель) и действующие вещества по отдельности вводили внутривенно немедленно после манипуляции в дозах, в пересчете на человека, мг/сутки:

Эдаравон - 30, 300, 700 мг/сут;
эбселен - 200, 1500, 3600 мг/сут;
ресвератрол, 2, 2000, 5000 мг/сут;
мочевая кислота, 250, 1000, 2000 мг/сут;
дегидроаскорбиновая кислота, 7000, 15000, 35000 мг/сут;
дисуфентон натрия, 500, 3000, 6000 мг/сут;
Эдаравон, 30 мг/сут+эбселен, 3600 мг/сут;
Эдаравон, 300 мг/сут+эбселен, 1500 мг/сут;
Эдаравон, 700 мг/сут +эбселен, 200 мг/сут;

Эдаравон, 30 мг/сут + ресвератрол, 2 мг/сут;
 Эдаравон, 300 мг/сут + ресвератрол, 2000 мг/сут;
 Эдаравон, 700 мг/сут + ресвератрол, 5000 мг/сут;
 Эдаравон, 30 мг/сут + мочевая кислота, 250 мг/сут;
 Эдаравон, 300 мг/сут + мочевая кислота, 1000 мг/сут;
 Эдаравон, 700 мг/сут + мочевая кислота, 2000 мг/сут;
 Эдаравон, 30 мг/сут + дегидроаскорбиновая кислота, 7000 мг/сут;
 Эдаравон, 300 мг/сут + дегидроаскорбиновая кислота, 15000 мг/сут;
 Эдаравон, 700 мг/сут + дегидроаскорбиновая кислота, 35000 мг/сут;
 Эдаравон, 30 мг/сут + дисуфентон натрия, 500 мг/сут;
 Эдаравон, 300 мг/сут + дисуфентон натрия, 3000 мг/сут;
 Эдаравон, 700 мг/сут + дисуфентон натрия, 6000 мг/сут.

Эффект вводимых веществ оценивали по объему области инсульта (анатомический критерий) и измерению неврологического индекса (функциональный критерий).

Измерение объема области инфаркта (область мозга, пораженного ишемией) проводили через 24 ч после МСАО. Мозг быстро удаляли и замораживали при -20°C в течение 5 мин. Корональные срезы были сделаны на расстоянии 1-2 мм от конца лобных долей, и срезы погружали в 2% TTC при 37°C в течение 20 мин. Объем инфаркта выражался в виде процентной доли от площади коронального среза в затронутом инсультом полушарии. Результаты оценки объема области инфаркта при введении плацебо, активных веществ по-отдельности, а также их комбинаций суммированы в табл. 1-5.

Таблица 1. Влияние Эдаравона и эбселена, применяемых по-отдельности или в комбинации, на объем области инфаркта у крыс после МСАО

Препарат	Объем области инфаркта, %
Плацебо	$85,0 \pm 1,5$
Эдаравон, 30 мг/сут	$55,0 \pm 1,5$
Эдаравон, 300 мг/сут	$45,2 \pm 1,5$
Эдаравон, 700 мг/сут	$40,0 \pm 1,5$
Эбселен, 200 мг/сут	$58,5 \pm 1,5$
Эбселен, 1500 мг/сут	$48,5 \pm 1,5$
Эбселен, 3600 мг/сут	$43,6 \pm 1,5$
Эдаравон, 700 мг/сут + эбселен, 3600 мг/сут	$14,5 \pm 1,5$ *
Эдаравон, 30 мг/сут + эбселен, 200 мг/сут	$18,2 \pm 1,5$ *
Эдаравон, 300 мг/сут + эбселен, 1500 мг/сут	$16,2 \pm 1,5$ *

*-отличие от ожидаемого (расчётного) аддитивного эффекта комбинации Эдаравон+эбселен (уровень значимости $p < 0,05$).

Таблица 2. Влияние Эдаравона и ресвератрола, применяемых по-отдельности или в комбинации, на объем инсульта у крыс после МСАО

Препарат	Объем области инфаркта, %
Плацебо	$85,0 \pm 1,5$
Эдаравон, 30 мг/сут	$55,0 \pm 1,5$
Эдаравон, 300 мг/сут	$45,2 \pm 1,5$
Эдаравон, 700 мг/сут	$40,0 \pm 1,5$
Ресвератрол, 2 мг/сут	$49,4 \pm 1,5$
Ресвератрол, 2000 мг/сут	$44,2 \pm 1,5$
Ресвератрол, 5000 мг/сут	$40,1 \pm 1,5$
Эдаравон, 700 мг/сут + ресвератрол, 5000 мг/сут	$11,2 \pm 1,5$ #
Эдаравон, 30 мг/сут + ресвератрол, 2 мг/сут	$17,5 \pm 1,5$ #
Эдаравон, 300 мг/сут + ресвератрол, 2000 мг/сут	$15,0 \pm 1,5$ #

#-отличие от ожидаемого (расчётного) аддитивного эффекта комбинации Эдаравон+ресвератрол (уровень значимости $p < 0,05$).

Таблица 3. Влияние Эдаравона и мочевой кислоты, применяемых по-отдельности или в комбинации, на объем инсульта у крыс после МСАО

Препарат	Объем области инфаркта, %
Плацебо	$85,0 \pm 1,5$
Эдаравон, 30 мг/сут	$55,0 \pm 1,5$

Эдаравон, 300 мг/сут	45,2 ± 1,5
Эдаравон, 700 мг/сут	40,0 ± 1,5
Мочевая кислота, 250 мг/сут	47,8 ± 1,5
Мочевая кислота, 1000 мг/сут	44,3 ± 1,5
Мочевая кислота, 2000 мг/сут	42,1 ± 1,5
Эдаравон, 700 мг/сут + мочевая кислота, 2000 мг/сут	12,8 ± 1,5 ^{\$}
Эдаравон, 30 мг/сут + мочевая кислота, 250 мг/сут	17,6 ± 1,5 ^{\$}
Эдаравон, 300 мг/сут + мочевая кислота, 1000 мг/сут	14,0 ± 1,5 ^{\$}

^{\$}-отличие от ожидаемого (расчётного) аддитивного эффекта комбинации

Эдаравон+мочевая кислота (уровень значимости $p < 0,05$).

Таблица 4. Влияние Эдаравона и дегидроаскорбиновой кислоты (ДГК), применяемых по-отдельности или в комбинации, на объем инсульта у крыс после МСАО

Препарат	Объем области инфаркта, %
Плацебо	85,0 ± 1,5
Эдаравон, 30 мг/сут	55,0 ± 1,5
Эдаравон, 300 мг/сут	45,2 ± 1,5
Эдаравон, 700 мг/сут	40,0 ± 1,5
ДГК, 7000 мг/сут	48,9 ± 1,5
ДГК, 15000 мг/сут	44,9 ± 1,5
ДГК, 35000 мг/сут	40,3 ± 1,5
Эдаравон, 700 мг/сут + ДГК, 35000 мг/сут	11,7 ± 1,5 [^]
Эдаравон, 30 мг/сут + ДГК, 7000 мг/сут	18,5 ± 1,5 [^]
Эдаравон, 300 мг/сут + ДГК, 15000 мг/сут	15,3 ± 1,5 [^]

[^]-отличие от ожидаемого (расчётного) аддитивного эффекта комбинации

Эдаравон+дегидроаскорбиновая кислота (уровень значимости $p < 0,05$).

Таблица 5. Влияние Эдаравона и дисуфентона натрия, применяемых по-отдельности или в комбинации, на объем инсульта у крыс после МСАО

Препарат	Объем области инфаркта, %
Плацебо	85,0 ± 1,5
Эдаравон, 30 мг/сут	55,0 ± 1,5
Эдаравон, 300 мг/сут	45,2 ± 1,5
Эдаравон, 700 мг/сут	40,0 ± 1,5
Дисуфентон натрия, 500 мг/сут	55,1 ± 1,5
Дисуфентон натрия, 3000 мг/сут	49,1 ± 1,5
Дисуфентон натрия, 6000 мг/сут	46,5 ± 1,5
Эдаравон, 700 мг/сут + дисуфентон натрия, 6000 мг/сут	19,1 ± 1,5 **
Эдаравон, 30 мг/сут + дисуфентон натрия, 500 мг/сут	12,5 ± 1,5 **
Эдаравон, 300 мг/сут + дисуфентон натрия, 3000 мг/сут	16,5 ± 1,5 **

** -отличие от ожидаемого (расчётного) аддитивного эффекта комбинации

Эдаравон+дисуфентон натрия (уровень значимости $p < 0,05$).

Неврологический индекс представляет собой совокупность моторных, сенсорных, рефлекторных и балансовых тестов (Chen et al., 2001). Эта оценка включает оценку животных на гемипарез (ответ на поднятие крыс за хвост или размещение крыс на плоской поверхности), аномальные движения (неподвижность, тремор, судороги), сенсорный дефицит (тест на определение реакции конечностей на тактильную и проприоцептивную стимуляцию) и отсутствующие рефлексы (ушная раковина, роговица, испуг). Неврологический индекс оценивался по шкале от 0 до 18 (нормальный показатель 0, легкая травма 1-6, умеренная травма 7-12, тяжелая травма 13-18) на 15-й день после реперфузии и ежедневной терапии комбинациями по настоящему изобретению.

Таблица 6. Влияние Эдаравона и эбселена, применяемых по-отдельности или в комбинации, на неврологический индекс у крыс после МСАО

Комбинация	Неврологический индекс, среднее
Плацебо	14,0 ± 0,5
Эдаравон, 30 мг/сут	8,8 ± 0,5
Эдаравон, 300 мг/сут	8,0 ± 0,5
Эдаравон, 700 мг/сут	7,5 ± 0,5
Эбселен, 200 мг/сут	10,1 ± 0,5
Эбселен, 1500 мг/сут	9,5 ± 0,5
Эбселен, 3600 мг/сут	8,9 ± 0,5
Эдаравон, 700 мг/сут + эбселен, 3600 мг/сут	3,8 ± 0,5 *
Эдаравон, 30 мг/сут + эбселен, 200 мг/сут	5,0 ± 0,5 *
Эдаравон, 300 мг/сут + эбселен, 1500 мг/сут	4,0 ± 0,5 *

*-отличие от ожидаемого (расчётного) аддитивного эффекта комбинации

Эдаравон+эбселен (уровень значимости $p < 0,05$)

Таблица 7. Влияние Эдаравона и ресвератрола, применяемых по-отдельности или в комбинации, на неврологический индекс у крыс после МСАО

Комбинация	Неврологический индекс, среднее
Плацебо	14,0 ± 0,5
Эдаравон, 30 мг/сут	8,8 ± 0,5
Эдаравон, 300 мг/сут	8,0 ± 0,5
Эдаравон, 700 мг/сут	7,5 ± 0,5
Ресвератрол, 2 мг/сут	9,4 ± 0,5
Ресвератрол, 2000 мг/сут	8,4 ± 0,5
Ресвератрол, 5000 мг/сут	7,6 ± 0,5
Эдаравон, 700 мг/сут + ресвератрол, 5000 мг/сут	2,2 ± 0,5 #
Эдаравон, 30 мг/сут + ресвератрол, 2 мг/сут	4,6 ± 0,5 #
Эдаравон, 300 мг/сут + ресвератрол, 2000 мг/сут	2,7 ± 0,5 #

#-отличие от ожидаемого (расчётного) аддитивного эффекта комбинации

Эдаравон+ресвератрол (уровень значимости $p < 0,05$).

Таблица 8. Влияние Эдаравона и мочевой кислоты, применяемых по-отдельности или в комбинации, на неврологический индекс у крыс после МСАО

Комбинация	Неврологический индекс, среднее
Плацебо	14,0 ± 0,5
Эдаравон, 30 мг/сут	8,8 ± 0,5
Эдаравон, 300 мг/сут	8,0 ± 0,5
Эдаравон, 700 мг/сут	7,5 ± 0,5
Мочевая кислота, 250 мг/сут	8,7 ± 0,5
Мочевая кислота, 1000 мг/сут	8,1 ± 0,5
Мочевая кислота, 2000 мг/сут	7,5 ± 0,5
Эдаравон, 700 мг/сут + мочевая кислота, 2000 мг/сут	2,5 ± 0,5 \$
Эдаравон, 30 мг/сут + мочевая кислота, 250 мг/сут	4,9 ± 0,5 \$
Эдаравон, 300 мг/сут + мочевая кислота, 1000 мг/сут	3,0 ± 0,5 \$

\$-отличие от ожидаемого (расчётного) аддитивного эффекта комбинации

Эдаравон+мочевая кислота (уровень значимости $p < 0,05$).

Таблица 9. Влияние Эдаравона и дегидроаскорбиновой кислоты (ДГК), применяемых по-отдельности или в комбинации, на неврологический индекс у крыс после МСАО

Комбинация	Неврологический индекс, среднее
Плацебо	14,0 ± 0,5
Эдаравон, 30 мг/сут	8,8 ± 0,5
Эдаравон, 300 мг/сут	8,0 ± 0,5
Эдаравон, 700 мг/сут	7,5 ± 0,5
Дегидроаскорбиновая кислота, 7000 мг/сут	9,3 ± 0,5
ДГК, 15000 мг/сут	8,2 ± 0,5
ДГК, 35000 мг/сут	7,8 ± 0,5
Эдаравон, 700 мг/сут + ДГК, 35000 мг/сут	3,3 ± 0,5 ^
Эдаравон, 30 мг/сут + ДГК, 7000 мг/сут	4,6 ± 0,5 ^
Эдаравон, 300 мг/сут + ДГК, 15000 мг/сут	3,9 ± 0,5 ^

^ - отличие от ожидаемого (расчётного) аддитивного эффекта комбинации

Эдаравон+дегидроаскорбиновая кислота (уровень значимости $p < 0,05$).

Таблица 10. Влияние Эдаравона и дисульфентона натрия, применяемых по-отдельности или в комбинации, на неврологический индекс у крыс после МСАО

Комбинация	Неврологический индекс, среднее
Плацебо	14,0 ± 0,5
Эдаравон, 30 мг/сут	8,8 ± 0,5
Эдаравон, 300 мг/сут	8,0 ± 0,5
Эдаравон, 700 мг/сут	7,5 ± 0,5
Дисульфентон натрия, 500 мг/сут	9,9 ± 0,5
Дисульфентон натрия, 3000 мг/сут	9,0 ± 0,5
Дисульфентон натрия, 6000 мг/сут	8,6 ± 0,5
Эдаравон, 700 мг/сут + дисульфентон натрия, 6000 мг/сут	3,5 ± 0,5 **
Эдаравон, 30 мг/сут + дисульфентон натрия, 500 мг/сут	4,9 ± 0,5 **
Эдаравон, 300 мг/сут + дисульфентон натрия, 3000 мг/сут	4,0 ± 0,5 **

** - отличие от ожидаемого (расчётного) аддитивного эффекта комбинации

Эдаравон+дисульфентон натрия (уровень значимости $p < 0,05$)

Статистическая обработка параметров безопасности и оформления результатов исследования сравнения использования комбинаций по настоящему изобретению в сочетанном применении и монотерапии данными препаратами выполнялось с помощью статистического пакета SPSS Statistics 19.0.

Для сравнения увеличения эффективности использования комбинаций по настоящему изобретению в сочетанном применении с ожидаемым (расчётным) аддитивным эффектом действия данных препаратов в соответствующих дозировках при монотерапии последствий инсульта данными препаратами при сложении изменений средних показателей применялись известные статистические правила сложения среднего значения и среднеквадратичных ошибок. При этом наблюдается очевидное резкое статистически значимое (уровень значимости $p < 0,05$) увеличение эффективности использования комбинаций по настоящему изобретению в сочетанном применении по сравнению с монотерапией инсульта данными препаратами, что может свидетельствовать о неожиданном синергетическом эффекте совместного применения, так как эффект комбинации при сочетанном применении статистически выше аддитивного эффекта, ожидаемого, исходя из данных монотерапии в соответствующих дозах.

Пример 2. Обучение крыс в водном лабиринте Морриса для оценки их пространственных когнитивных способностей после экспериментального инсульта

Для оценки влияния комбинаций по настоящему изобретению на долгосрочные последствия инсульта проводили обучение крыс, перенесших экспериментальный инсульт, в водном лабиринте Морриса. Инсульт моделировали, как описано в примере 1 выше. Обучение проводили на 36-40 день после инсульта.

Крыс подвергали МСАО в течение 120 мин и подвергали лечению Эдаравоном, эбселеном, ресвератролом, мочевой кислотой, дегидроаскорбиновой кислотой, дисульфентоном натрия отдельно или в сочетании в дозах, указанных в примере 1, внутривенно. Для лечения препараты вводили сразу после реперфузии и затем в течении 14 дней.

Использовали круглый бассейн, который заполняли водой при температуре 20-22°C. В бассейн помещали круглую керамическую платформу высотой 14 см. Поведение животных регистрировали с помощью автоматизированной компьютерной видеосистемы в сочетании с программой анализа передвижений Any-maze (Stoelting Co., США).

До начала экспериментов проводили отбор животных, пригодных для обучения. Для этого платформу располагали на 1 см выше уровня воды. Животное на 20 с помещали на платформу. Затем его опускали в воду на противоположной стороне бассейна и позволяли найти платформу и взобраться на нее в течение 60 с, где оставляли на 20 с. После этого животное повторно опускали в воду на противоположной стороне бассейна и позволяли искать платформу. Если оно не могло самостоятельно найти платформу в течение 60 с, экспериментатор помогал ему переместиться к платформе и взобраться на нее. Если животные не могли самостоятельно найти платформу в двух попытках подряд, то они исключались из опыта.

В течение 2-х последующих дней платформа располагалась на 0,5 см ниже уровня воды. Ежедневно животным предоставляли по 4 попытки найти платформу в течение 60 с. Интервал между попытками составлял 20 с, в течение которого они находились на платформе. Каждый день перед первой попыткой животное на 20 с помещали на платформу. Регистрировали время, прошедшее от момента пуска животного в воду до влезания на платформу. Животных опускали в воду в 3-х различных точках на половине бассейна, противоположной по отношению к платформе.

На 3-й день платформа отсутствовала, и животных однократно помещали в бассейн на 60 с. Регистрировали время, в течение которого животное находилось в квадрате, где в предыдущие дни располагалась платформа, которое служило показателем эффективности обучения, проводившегося в предыдущие 2 дня. Эксперимент проводили в светлое время суток в изолированном лабораторном помещении с использованием "белого шума" интенсивностью около 70 дБ над порогом слышимости человека. В экспериментах использовали автоматизированное распознавание движений с помощью видеосистемы и программы Any-maze.

В табл. 11-15 представлены результаты тестов с использованием комбинаций по настоящему изобретению соответственно, свидетельствующие об уменьшении нарушения памяти у мышей, вызванной инсультом. Это свидетельствует о лечебном действии комбинаций по настоящему изобретению при нейродегенеративных заболеваниях и когнитивных расстройствах.

Таблица 11. Влияние Эдаравона и эбселена, применяемых по-отдельности или в комбинации, на долгосрочные последствия инсульта

Комбинация	Продолжительность пребывания в зоне площадки после 2-х дней обучения, с
Крысы, не переносившие инсульт + плацебо	22,0 ± 0,2
Плацебо + инсульт	6,5 ± 0,2
Эдаравон, 30 мг/сут + инсульт	15,1 ± 0,2
Эдаравон, 300 мг/сут + инсульт	15,5 ± 0,2
Эдаравон, 700 мг/сут + инсульт	15,9 ± 0,2
Эбселен, 200 мг/сут + инсульт	15,0 ± 0,2
Эбселен, 1500 мг/сут + инсульт	15,0 ± 0,2
Эбселен, 3600 мг/сут + инсульт	15,4 ± 0,2
Эдаравон, 700 мг/сут + эбселен, 3600 мг/сут + инсульт	19,5 ± 0,2 *
Эдаравон, 30 мг/сут + эбселен, 200 мг/сут + инсульт	18,3 ± 0,2 *
Эдаравон, 300 мг/сут + эбселен, 1500 мг/сут + инсульт	18,9 ± 0,2 *

*-отличие от ожидаемого (расчётного) аддитивного эффекта комбинации Эдаравон+эбселен (уровень значимости $p < 0,05$)

Таблица 12. Влияние Эдаравона и ресвератрола, применяемых по-отдельности или в комбинации, на долгосрочные последствия инсульта

Комбинация	Продолжительность пребывания в зоне площадки после 2-х дней обучения, с
Крысы, не переносившие инсульт + плацебо	22,0 ± 0,2
Плацебо + инсульт	6,5 ± 0,2
Эдаравон, 30 мг/сут + инсульт	15,1 ± 0,2
Эдаравон, 300 мг/сут + инсульт	15,5 ± 0,2
Эдаравон, 700 мг/сут + инсульт	15,9 ± 0,2
Ресвератрол, 2 мг/сут + инсульт	14,8 ± 0,2
Ресвератрол, 2000 мг/сут + инсульт	15,2 ± 0,2
Ресвератрол, 5000 мг/сут + инсульт	15,9 ± 0,2
Эдаравон, 700 мг/сут + ресвератрол, 5000 мг/сут + инсульт	20,5 ± 0,2 [#]
Эдаравон, 30 мг/сут + ресвератрол, 2 мг/сут + инсульт	19,1 ± 0,2 [#]
Эдаравон, 300 мг/сут + ресвератрол, 2000 мг/сут + инсульт	20,0 ± 0,2 [#]

[#]-отличие от ожидаемого (расчётного) аддитивного эффекта комбинации

Эдаравон+ресвератрол (уровень значимости $p < 0,05$).

Таблица 13. Влияние Эдаравона и мочевой кислоты, применяемых по-отдельности или в комбинации, на долгосрочные последствия инсульта

Комбинация	Продолжительность пребывания в зоне площадки после 2-х дней обучения, с
Крысы, не переносившие инсульт + плацебо	22,0 ± 0,2
Плацебо + инсульт	6,5 ± 0,2
Эдаравон, 30 мг/сут + инсульт	15,1 ± 0,2
Эдаравон, 300 мг/сут + инсульт	15,5 ± 0,2
Эдаравон, 700 мг/сут + инсульт	15,9 ± 0,2
Мочевая кислота, 250 мг/сут + инсульт	14,8 ± 0,2
Мочевая кислота, 1000 мг/сут + инсульт	15,1 ± 0,2
Мочевая кислота, 2000 мг/сут + инсульт	15,9 ± 0,2
Эдаравон, 700 мг/сут + мочевая кислота, 2000 мг/сут + инсульт	19,8 ± 0,2 ^{\$}
Эдаравон, 30 мг/сут + мочевая кислота, 250 мг/сут + инсульт	18,7 ± 0,2 ^{\$}
Эдаравон, 300 мг/сут + мочевая кислота, 1000 мг/сут + инсульт	19,2 ± 0,2 ^{\$}

^{\$}-отличие от ожидаемого (расчётного) аддитивного эффекта комбинации

Эдаравон+мочевая кислота (уровень значимости $p < 0,05$).

Таблица 14. Влияние Эдаравона и дегидроаскорбиновой кислоты (ДГК), применяемых по-отдельности или в комбинации, на долгосрочные последствия инсульта

Комбинация	Продолжительность пребывания в зоне площадки после 2-х дней обучения, с
Крысы, не переносившие инсульт + плацебо	22,0 ± 0,2
Плацебо + инсульт	6,5 ± 0,2
Эдаравон, 30 мг/сут + инсульт	15,1 ± 0,2
Эдаравон, 300 мг/сут + инсульт	15,5 ± 0,2
Эдаравон, 700 мг/сут + инсульт	15,9 ± 0,2
ДГК, 7000 мг/сут + инсульт	15,0 ± 0,2
ДГК, 15000 мг/сут + инсульт	15,3 ± 0,2
ДГК, 35000 мг/сут + инсульт	16,3 ± 0,2
Эдаравон, 700 мг/сут + ДГК, 35000 мг/сут + инсульт	19,9 ± 0,2 ^
Эдаравон, 30 мг/сут + ДГК, 7000 мг/сут + инсульт	18,8 ± 0,2 ^
Эдаравон, 300 мг/сут + ДГК, 15000 мг/сут + инсульт	19,0 ± 0,2 ^

^ - отличие от ожидаемого (расчётного) аддитивного эффекта комбинации Эдаравон+дегидроаскорбиновая кислота (уровень значимости $p < 0,05$).

Таблица 15. Влияние Эдаравона и дисульфентона натрия, применяемых по-отдельности или в комбинации, на долгосрочные последствия инсульта

Комбинация	Продолжительность пребывания в зоне площадки после 2-х дней обучения, с
Крысы, не переносившие инсульт + плацебо	22,0 ± 0,2
Плацебо + инсульт	6,5 ± 0,2
Эдаравон, 30 мг/сут + инсульт	15,1 ± 0,2
Эдаравон, 300 мг/сут + инсульт	15,5 ± 0,2
Эдаравон, 700 мг/сут + инсульт	15,9 ± 0,2
Дисульфентон натрия, 500 мг/сут + инсульт	13,6 ± 0,2
Дисульфентон натрия, 3000 мг/сут + инсульт	14,0 ± 0,2
Дисульфентон натрия, 6000 мг/сут + инсульт	14,9 ± 0,2
Эдаравон, 700 мг/сут + дисульфентон натрия, 6000 мг/сут + инсульт	19,3 ± 0,2 **
Эдаравон, 30 мг/сут + дисульфентон натрия, 500 мг/сут + инсульт	18,2 ± 0,2 **
Эдаравон, 300 мг/сут + дисульфентон натрия, 3000 мг/сут + инсульт	18,8 ± 0,2 **

** - отличие от ожидаемого (расчётного) аддитивного эффекта комбинации Эдаравон+дисульфентон натрия (уровень значимости $p < 0,05$).

Пример 3. Оценка влияния комбинаций по изобретению на свободные радикалы.

Комбинации по настоящему изобретению в концентрациях (мМ):

Эдаравон от 0,17 до 4,76,

эбселен от 0,73 до 13,14,

ресвератрол от 0,01 до 21,93,

мочевая кислота от 1,49 до 11,90,

дегидроаскорбиновая кислота от 0,17 до 210,75,

дисульфентон натрия от 1,31 до 15,75;

что соответствует массовым соотношениям комбинаций:

Эдаравон:эбселен от 1:120 до 3,5:1,

Эдаравон:ресвератрол от 1:166,6 до 350:1,

Эдаравон:мочевая кислота от 1: 66,6 до 2,8:1,

Эдаравон:дегидроаскорбиновая кислота от 1:1166,6 до 1:10,

Эдаравон:дисульфентон натрия от 1:200 до 1,4:1;

растворяли в ацетонитриле и их тушащую активность в системах генерации $\bullet\text{OH}$, $\text{O}_2\bullet$ и $\text{NO}\bullet$ определяли методом электронного парамагнитного резонанса (ЭПР). Измерения проводили с использованием

спектрометра ESR Bruker, работающего в X-диапазоне.

Для обнаружения радикалов $\bullet\text{OH}$ 50 мкл 40 мкМ раствора FeSO_4 , 50 мкл комбинации по настоящему изобретению или носителя (ацетонитрил), 50 мкл 200 мМ спиновой ловушки 5,5-диметилпирролидин-N-оксида (DMPO) смешивают в пробирке. Затем в пробирку добавляют 50 мкл 400 мкМ H_2O_2 . Количество образовавшегося продукта реакции DMPO-OH оценивают ровно через 30 с после добавления H_2O_2 . Интенсивность сигнала оценивают по относительной величине пика второго специфического сигнала квартета спинового аддукта DMPO-OH. Магнитное поле, ширина развертки, частота микроволн, мощность, частота модуляции, амплитуда модуляции, температура, коэффициент усиления и время развертки составляют 348 мТл, 20 мТл, X-диапазон, 20 мВт, 100 кГц, 0,2 мТ, 25°C, 5×10^4 и 84 с соответственно.

Для обнаружения анион-радикалов $\text{O}_2^{\bullet-}$ 50 мкл 0,4 ед./мл ксантиноксидазы, 50 мкл 1,44 мМ ксантина, 50 мкл 40 мМ спиновой ловушки 5-(диэтоксифосфорил)-5-метил-1-пирролин-N-оксида (DEPMPO) и 50 мкл комбинации по настоящему изобретению, супероксиддисмутазы или носителя (ацетонитрила) смешивают при комнатной температуре. Количество образовавшегося спинового аддукта DEPMPO- $\text{O}_2^{\bullet-}$ измеряют через 5 мин после добавления ксантина. Магнитное поле, ширина развертки, частота СВЧ, мощность, частота модуляции, амплитуда модуляции, температура, коэффициент усиления и время развертки составляют 347 мТл, 20 мТл, X-диапазон, 20 мВт, 100 кГц, 0,1 мТ, 25°C, 5×10^4 и 84 с соответственно.

Таблица 16. Антиоксидантная активность исследуемых комбинаций

Комбинация, концентрация	Поглощение свободных радикалов ($\bullet\text{OH}$), %
Растворитель (ацетонитрил)	$1,0 \pm 1,5$
Эдаравон, 1,7 мМ	$65,0 \pm 1,5$
Эбселен, 5,47 мМ	$60,1 \pm 1,5$
Ресвератрол, 8,77 мМ	$64,3 \pm 1,5$
Мочевая кислота, 5,95 мМ	$64,2 \pm 1,5$
Дегидроаскорбиновая кислота, 86,21 мМ	$63,8 \pm 1,5$
Дисуфентон натрия, 7,87 мМ	$62,5 \pm 1,5$
Эдаравон, 1,7 мМ + эбселен, 5,47 мМ	$82,0 \pm 1,5$ *
Эдаравон, 1,7 мМ + ресвератрол, 8,77 мМ	$85,0 \pm 1,5$ #
Эдаравон, 1,7 мМ + мочевая кислота, 5,95 мМ	$84,5 \pm 1,5$ \$
Эдаравон, 1,7 мМ + дегидроаскорбиновая кислота, 86,21 мМ	$84,2 \pm 1,5$ ^
Эдаравон, 1,7 мМ + дисуфентон натрия, 7,87 мМ	$83,8 \pm 1,5$ **

*-отличие от ожидаемого (расчётного) аддитивного эффекта комбинации Эдаравон+эбселен (уровень значимости $p < 0,05$);

#-отличие от ожидаемого (расчётного) аддитивного эффекта комбинации Эдаравон+ресвератрол (уровень значимости $p < 0,05$);

\$-отличие от ожидаемого (расчётного) аддитивного эффекта комбинации Эдаравон+мочевая кислота (уровень значимости $p < 0,05$);

^-отличие от ожидаемого (расчётного) аддитивного эффекта комбинации Эдаравон+дегидроаскорбиновая кислота (уровень значимости $p < 0,05$);

** -отличие от ожидаемого (расчётного) аддитивного эффекта комбинации Эдаравон+дисуфентон натрия (уровень значимости $p < 0,05$).

Свободнорадикальное окисление является одним из ведущих механизмов поражения вещества головного мозга при острой и хронической ишемии. Результаты экспериментальных и клинических исследований свидетельствуют о связи активации процессов образования свободных радикалов и тяжести течения ишемического инсульта (А.В. Чугунов, П.Р. Камчатнов, Н.А. Михайлова "Коррекция свободнорадикального окисления - патогенетический подход к лечению острого ишемического инсульта" // Журнал Неврологии и Психиатрии, 2009, № 10, Вып.2).

При этом предполагается, что свободнорадикальное окисление (оксидативный стресс) способствует прогрессированию также и бокового амиотрофического склероза (БАС) (S.C. Barber, R.J. Mead, P.J. Shaw. "Oxidative stress in ALS: A mechanism of neurodegeneration and a therapeutic target" // Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Molecular Basis of Disease, 2006, vol. 1762 (11-12), pp. 1051-1067), а основная роль принадлежит изменению свойств супероксиддисмутаза-1, фермента, который предохраняет клетки организма от разрушения под воздействием кислородных радикалов, т.е. осуществляет антиоксидантную функцию (D.Liu "The roles of free radicals in amyotrophic lateral sclerosis" // J. Mol. Neurosci. 1996, vol.7(3), pp. 159-67).

Таким образом, способность композиций по настоящему изобретению эффективно связывать сво-

бодные радикалы может рассматриваться как их способность к лечению нейродегенеративных заболеваний, острого нарушения мозгового кровообращения (ОНМК), бокового амиотрофического склероза (БАС), транзиторной ишемической атаки (ТИА) в остром периоде и после перенесенной атаки хронической ишемии мозга, когнитивных и поведенческих расстройств при сосудистых заболеваниях головного мозга.

Изобретение может быть использовано в медицине, фармакологии.

Литература

1. WO 2009109132 A1 (JIANGSU SIMCERE PHARMACEUTICAL), 11.09.2009.
2. Parnham M., Sies H., "Ebselen: prospective therapy for cerebral ischaemia", Expert Opin. Investig. Drugs., 2000, v.9, is.3, p.: 607-619. PMID 11060699. doi:10.1517/13543784.9.3.607.
3. Yamaguchi T., Sano K., et al., "Ebselen in acute ischemic stroke: a placebo-controlled, double-blind clinical trial. Ebselen Study Group", Stroke, 1998, v.29, is.1, p:12-17.
4. Terlinden R., Feige M., Römer A. et al., Determination of the two major metabolites of ebselen in human plasma by high-performance liquid chromatography, J. Chromatogr., 1988, v.430, is2, p:438-442.
5. Ogawa A. et al., Ebselen in acute middle cerebral artery occlusion: a placebo-controlled, double-blind clinical trial. Cerebrovasc. Dis., 1999, v.9, is.2, p:112-118.
6. Parnham M.J. et al., The pharmacology of ebselen, Agents Actions, 1991, v.32, is.1-2, p:4-9.
7. Schewe T., Molecular actions of ebselen - an antiinflammatory antioxidant, Gen. Pharmacol., 1995, v.26, is.6, p:1153-1169.
8. Sies H., Ebselen, a selenoorganic compound as glutathione peroxidase mimic, Free Radic. Biol. Med., 1993, v.14, is.3, p:313-323.
9. Lopez M.S., Dempsey R.J., Vemuganti R., Resveratrol neuroprotection in stroke and traumatic CNS injury, Neurochem. Int., 2015, v.89, p:75-82.
10. US 6515020 B1 (SIGMA TAU HEALTHSCIENCE SPA), 04.02.2003 - Комбинация карнитинов и ресвератрола для профилактики или лечения нарушений мозгового и старческого возраста (Combination of carnitines and resveratrol for prevention or treatment of cerebral and ageing disorders).
11. Yu Z.F., Bruce-Keller A.J., Goodman Y., Mattson M.P., Uric acid protects neurons against excitotoxic and metabolic insults in cell culture, and against focal ischemic brain injury in vivo, J. Neurosci. Res., 1998, v.53, is.5, p:613-625.
12. WO 2001089520 A2 (PROGENICS PHARM INC), 29.11.2001
13. Huang J. et al., Dehydroascorbic acid, a blood brain barrier transportable form of vitamin C, mediates potent cerebroprotection in experimental stroke, PNAS, 2001, v.98, is.20, p:11720-11724.

ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Комбинация с антиоксидантной активностью для лечения заболевания головного мозга, выбранного из острого нарушения мозгового кровообращения (ОНМК), бокового амиотрофического склероза (БАС), транзиторной ишемической атаки (ТИА) в остром периоде и после перенесенной атаки, хронической ишемии мозга, когнитивных и поведенческих расстройств при сосудистых заболеваниях головного мозга или нейродегенеративных заболеваний, отличающаяся тем, что упомянутая комбинация содержит в эффективных количествах:

(а) Эдаравон и

(б) по меньшей мере одно вещество, выбранное из группы, состоящей из эбселена, ресвератрола, мочевой кислоты, дегидроаскорбиновой кислоты и дисульфентона,

характеризующаяся тем, что действующие вещества находятся в массовых соотношениях:

Эдаравон:эбселен от 1:120 до 3,5:1,

Эдаравон:ресвератрол от 1:166,6 до 350:1,

Эдаравон:мочевая кислота от 1: 66,6 до 2,8:1,

Эдаравон:дегидроаскорбиновая кислота от 1:1166,6 до 1:10,

Эдаравон:дисульфентон натрия от 1:200 до 1,4:1.

2. Комбинация по п.1, отличающаяся тем, что упомянутая комбинация находится в форме раствора для инъекций.

3. Комбинация по п.1, отличающаяся тем, что упомянутая комбинация находится в липосомальной форме.

4. Комбинация по п.1, отличающаяся тем, что упомянутая комбинация дополнительно содержит вещества, выбранные из группы, включающей стильбузуленилнитрон, оксиресвератрол, N-трет-бутилфенилнитрон, скутелларин, холин альфосцерат, цитиколин натрия, пирацетам, липоевая кислота, N-ацетилцистеин, аскорбиновая кислота, янтарная кислота, таурин, инозин, кофеин, натрия (Е)-3-[4-(1Н-имидазол-1-илметил)фенил]-2-пропеноат и другие ингибиторы тромбоксансинтазы, аргатробан и другие

ингибиторы тромбина, моноэтиловый эфир глутатиона, пуэрарин, бутилфталид и пальмитоилэтаноламид.

5. Фармацевтическая композиция с антиоксидантной активностью для лечения заболеваний головного мозга, выбранных из ОНМК, БАС, ТИА в остром периоде и после перенесенной атаки, хронической ишемии мозга, когнитивных и поведенческих расстройств при сосудистых заболеваниях головного мозга или нейродегенеративных заболеваний, отличающаяся тем, что упомянутая композиция содержит в эффективных количествах комбинацию по любому пп.1-4, характеризующаяся тем, что действующие вещества находятся в массовых соотношениях:

Эдаравон:эбселен от 1:120 до 3,5:1,

Эдаравон:ресвератрол от 1:166,6 до 350:1,

Эдаравон:мочевая кислота от 1:66,6 до 2,8:1,

Эдаравон:дегидроаскорбиновая кислота от 1:166,6 до 1:10,

Эдаравон:дисульфентон натрия от 1:200 до 1,4:1.

а также по меньшей мере одно вспомогательное вещество и/или по меньшей мере один фармацевтически приемлемый носитель.

6. Композиция по п.5, отличающаяся тем, что упомянутая композиция находится в форме раствора для инъекций.

7. Композиция по п.5, отличающаяся тем, что упомянутая композиция находится в липосомальной форме.

8. Композиция по п.5, отличающаяся тем, что упомянутая композиция дополнительно содержит вещества, выбранные из группы, включающей стильбузуленил нитрон, оксиресвератрол, N-трет-бутилфенилнитрон, skutellarin, холин альфосцерат, цитиколин натрия, пираретам, липоевая кислота, N-ацетилцистеин, аскорбиновая кислота, янтарная кислота, таурин, инозин, кофеин, натрия (E)-3-[4-(1H-имидазол-1-илметил)фенил]-2-пропеноат и другие ингибиторы тромбоксансинтазы, аргатробан и другие ингибиторы тромбина, моноэтиловый эфир глутатиона, пуэрарин, бутилфталид и пальмитоилэтаноламид.

9. Набор с антиоксидантной активностью для лечения заболеваний головного мозга, выбранных из ОНМК, БАС, ТИА в остром периоде и после перенесенной атаки, хронической ишемии мозга, когнитивных и поведенческих расстройств при сосудистых заболеваниях головного мозга или нейродегенеративных заболеваний, отличающийся тем, что упомянутый набор содержит в эффективном количестве фармацевтическую композицию по пп.5-8, характеризующуюся тем, что действующие вещества находятся в массовых соотношениях:

Эдаравон:эбселен от 1:120 до 3,5:1,

Эдаравон:ресвератрол от 1:166,6 до 350:1,

Эдаравон:мочевая кислота от 1:66,6 до 2,8:1,

Эдаравон:дегидроаскорбиновая кислота от 1:166,6 до 1:10,

Эдаравон:дисульфентон натрия от 1:200 до 1,4:1,

а также инструкцию по применению и необязательно по меньшей мере одно фармацевтически приемлемое вспомогательное вещество.

10. Набор по п.9, отличающийся тем, что упомянутый набор дополнительно содержит вещества, выбранные из группы, включающей стильбузуленил нитрон, оксиресвератрол, N-трет-бутилфенилнитрон, skutellarin, холин альфосцерат, цитиколин натрия, пираретам, липоевая кислота, N-ацетилцистеин, аскорбиновая кислота, янтарная кислота, таурин, инозин, кофеин, натрия (E)-3-[4-(1H-имидазол-1-илметил)фенил]-2-пропеноат и другие ингибиторы тромбоксансинтазы, аргатробан и другие ингибиторы тромбина, моноэтиловый эфир глутатиона, пуэрарин, бутилфталид и пальмитоилэтаноламид.

11. Применение комбинации по п.1 с антиоксидантной активностью для лечения заболеваний головного мозга, выбранных из ОНМК, БАС, ТИА в остром периоде и после перенесенной атаки, хронической ишемии мозга, когнитивных и поведенческих расстройств при сосудистых заболеваниях головного мозга или нейродегенеративных заболеваний.

12. Применение по п.11, отличающееся тем, что ОНМК представляет собой инсульт по ишемическому типу, а также функциональные расстройства ЦНС, связанные с инсультом.

13. Применение композиции по п.5 с антиоксидантной активностью для лечения заболеваний головного мозга, выбранных из ОНМК, БАС, ТИА в остром периоде и после перенесенной атаки, хронической ишемии мозга, когнитивных и поведенческих расстройств при сосудистых заболеваниях головного мозга или нейродегенеративных заболеваний.

14. Применение по п.13, отличающееся тем, что ОНМК представляет собой инсульт по ишемическому типу, а также функциональные расстройства ЦНС, связанные с инсультом.

15. Применение набора по п.9 с антиоксидантной активностью для лечения заболеваний головного мозга, выбранных из ОНМК, БАС, ТИА в остром периоде и после перенесенной атаки, хронической ишемии мозга, когнитивных и поведенческих расстройств при сосудистых заболеваниях головного мозга или нейродегенеративных заболеваний.

16. Применение по п.15, отличающееся тем, что ОНМК представляет собой инсульт по ишемическому типу, а также функциональные расстройства ЦНС, связанные с инсультом.

скому типу, а также функциональные расстройства ЦНС, связанные с инсультом.

17. Способ лечения заболеваний головного мозга, выбранного из ОНМК, БАС, ТИА в остром периоде и после перенесенной атаки, хронической ишемии мозга, когнитивных и поведенческих расстройств при сосудистых заболеваниях головного мозга или нейродегенеративных заболеваний, отличающийся тем, что в качестве нейропротекторных препаратов используются в эффективных количествах комбинация по п.1, композиция по п.5 или набор по п.9, характеризующийся тем, что действующие вещества находятся в массовых соотношениях:

Эдаравон:эбселен от 1:120 до 3,5:1,

Эдаравон:ресвератрол от 1:166,6 до 350:1,

Эдаравон:мочевая кислота от 1:66,6 до 2,8:1,

Эдаравон:дегидроаскорбиновая кислота от 1:1166,6 до 1:10,

Эдаравон:дисуфентон натрия от 1:200 до 1,4:1.

18. Способ по п.17, отличающийся тем, что ОНМК представляет собой инсульт по ишемическому типу, а также функциональные расстройства ЦНС, связанные с инсультом.

19. Способ по п.17, отличающийся тем, что введение комбинации по п.1, композиции по п.5 или набора по п.9 осуществляется инъекционно.

