

ФЕДЕРАЛЬНАЯ СЛУЖБА
ПО ИНТЕЛЛЕКТУАЛЬНОЙ СОБСТВЕННОСТИ

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ПАТЕНТУ

(21)(22) Заявка: 2011148757/15, 03.06.2010

(24) Дата начала отсчета срока действия патента:
03.06.2010

Приоритет(ы):

(22) Дата подачи заявки: 03.06.2010

(30) Конвенционный приоритет:

03.06.2009 GB 0909557.1;

07.08.2009 GB 0913829.8;

14.10.2009 GB 0917995.3

(43) Дата публикации заявки: 20.07.2013 Бюл. № 20

(45) Опубликовано: 27.04.2016 Бюл. № 12

(56) Список документов, цитированных в отчете о
поиске: WO 2008071407 A2, 19.06.2008. EP
0035770 A2, 16.09.1981. RU 2167654 C1,
27.05.2001.(85) Дата начала рассмотрения заявки РСТ на
национальной фазе: 10.01.2012(86) Заявка РСТ:
GB 2010/001097 (03.06.2010)(87) Публикация заявки РСТ:
WO 2010/139957 (09.12.2010)

Адрес для переписки:

191036, Санкт-Петербург, а/я 24, "НЕВИНПАТ"

(72) Автор(ы):

ОНСОЙЕН, Эдвар (NO),
МИРВОЛЬД, Рольф (NO),
ДЕССЕН, Арне (NO),
ТОМАС, Дэвид (GB),
УОЛШ, Тимоти (GB)

(73) Патентообладатель(и):

АльгиФарма АС (NO)

(54) АЛЬГИНАТНЫЕ ОЛИГОМЕРЫ ДЛЯ ПРИМЕНЕНИЯ В ПРЕОДОЛЕНИИ МНОЖЕСТВЕННОЙ
ЛЕКАРСТВЕННОЙ УСТОЙЧИВОСТИ У БАКТЕРИЙ

(57) Реферат:

Предложенная группа изобретений относится к области санитарии и гигиены. Предложены способ преодоления устойчивости к по меньшей мере одному антибиотику у обладающей множественной лекарственной устойчивостью (MDR) грамотрицательной бактерии, способ *in vitro* борьбы с контаминацией участка MDR грамотрицательными бактериями и применение альгинатного олигомера для преодоления устойчивости к антибиотику у MDR грамотрицательной бактерии. Предложен продукт, содержащий альгинатный олигомер и

антибиотик в виде комбинированного препарата для раздельного, одновременного или последовательного применения для преодоления устойчивости к антибиотику у MDR грамотрицательной бактерии, где указанный альгинатный олигомер имеет степень полимеризации от 2 до 100 и (1) по меньшей мере 70% остатков гулурановой кислоты или гулураната (остатков G) или (2) по меньшей мере 70% остатков маннурановой кислоты или маннураната (остатков M). Предложенная группа изобретений обеспечивает эффективное

подавление развития множественной бактерий. 4 н. и 14 з.п. ф-лы, 12 табл., 4 пр.
лекарственной устойчивости грамотрицательных

R U 2 5 8 2 9 3 8 C 2

R U 2 5 8 2 9 3 8 C 2



FEDERAL SERVICE
FOR INTELLECTUAL PROPERTY

(12) **ABSTRACT OF INVENTION**(21)(22) Application: **2011148757/15, 03.06.2010**(24) Effective date for property rights:
03.06.2010

Priority:

(22) Date of filing: **03.06.2010**(30) Convention priority:
03.06.2009 GB 0909557.1;
07.08.2009 GB 0913829.8;
14.10.2009 GB 0917995.3(43) Application published: **20.07.2013 Bull. № 20**(45) Date of publication: **27.04.2016 Bull. № 12**(85) Commencement of national phase: **10.01.2012**(86) PCT application:
GB 2010/001097 (03.06.2010)(87) PCT publication:
WO 2010/139957 (09.12.2010)Mail address:
191036, Sankt-Peterburg, a/ja 24, "NEVINPAT"

(72) Inventor(s):

ONSOYEN Edvar (NO),
MYRVOLD Rolf (NO),
DESSEN Arne (NO),
THOMAS David (GB),
WALSH Timothy (GB)

(73) Proprietor(s):

AlgiPharma IPR AS (NO)(54) **ALGINATE OLIGOMERS APPLICABLE IN OVERCOMING MULTIPLE DRUG RESISTANCE IN BACTERIA**

(57) Abstract:

FIELD: medicine, pharmaceuticals.

SUBSTANCE: presented group of inventions refers to health work. There is presented a method for overcoming resistance to at least one antibiotic in a gram-negative bacterium having multiple drug resistance (MDR), a method for controlling in vitro a site contamination with the MDR gram-negative bacterium, and using an alginate oligomer for overcoming the antibiotic resistance in the MDR gram-negative bacterium. Presented is a product containing the alginate oligomer and antibiotic in the form of a co-

formulated drug for separate, simultaneous or sequential use for overcoming the antibiotic resistance in the MDR gram-negative bacterium, wherein the above alginate oligomer has a degree of polymerisation from 2 to 100 and (1) at least 70% of residues of guluronic acid or guluronate (G residues) or (2) at least 70% of residues of mannuronic acid or mannuronate (M residues).

EFFECT: presented group of inventions provides the effective suppression of the multiple drug resistance development in gram-negative bacteria.

18 cl, 12 tbl, 4 ex

Настоящее изобретение относится к альгинатным олигомерам для применения вместе (или в комбинации или совместно) с антибиотиком для преодоления (в смысле снижения) устойчивости к антибиотику у бактерии, обладающей множественной лекарственной устойчивостью (MDR). Хотя принципиальное и важное применение настоящего изобретения состоит в лечении или предупреждении бактериальных инфекций, вызываемых MDR-бактериями, т.е. в медицинском применении, изобретение также охватывает применение альгинатных олигомеров для немедицинских ситуаций (например, *in vitro*). Таким образом, в изобретении предложены альгинатные олигомеры для применения вместе (или в комбинации или совместно) с антибиотиком для лечения или предупреждения MDR-бактериальной инфекции у субъекта, субъекта, или для борьбы с MDR-резистентными бактериями *in vitro* (например, для борьбы с микробной контаминацией (т.е. колонизацией) абиотического участка MDR-бактериями).

С тех пор, как впервые использовали антибиотики, стало понятно, что бактерии могут демонстрировать естественную устойчивость к этим лекарственным средствам или могут развивать устойчивость к этим лекарственным средствам. Устойчивость бактерии к антибиотику можно рассматривать как по существу большую толерантность, или сниженную чувствительность, к антибиотику по сравнению с чувствительной бактерией или типичным вариантом бактерии или вариантом бактерии дикого типа. В некоторых случаях бактерия может совершенно не поддаваться воздействию антибиотика. В этом случае бактерию можно считать полностью резистентной к этому антибиотику.

Множественная лекарственная устойчивость (MDR) у бактерий описывает ситуацию, когда бактерия устойчива по меньшей мере к трем классам лекарственных средств, особенно в контексте бактерий, по меньшей мере к трем классам противомикробных (или более конкретно антибактериальных) агентов и, особенно в контексте настоящего изобретения, по меньшей мере к трем классам антибиотиков. Антибиотики одного класса функционально не связаны, структурно не связаны, или и то и другое, с антибиотиками другого класса. Таким образом, MDR у бактерий часто называют множественной антибактериальной лекарственной устойчивостью или множественной устойчивостью к антибиотикам. Эти термины используются взаимозаменяемо в данной области и в данной заявке. Бактерии, демонстрирующие фенотипы множественной лекарственной устойчивости (или фенотипы множественной устойчивости к антибактериальным/антибиотическим лекарственным средствам) называются MDR-бактериями (или иногда MAR-бактериями). Опять же, эти термины используются взаимозаменяемо в данной области и данной заявке.

Механизмы устойчивости к антибиотикам многочисленны. Например, устойчивость может возникнуть благодаря механизмам непроницаемости, которые физически предотвращают достижение антибиотиком участка его воздействия в или на бактерии; механизмам выведения, которые предотвращают достижение антибиотиком эффективных количеств в участке его воздействия в или на бактерии посредством быстрого удаления антибиотика из бактерии; метаболическим механизмам, которые разрушают антибиотик или превращают антибиотик в безвредное (или менее вредное) соединение, или соединение, которое легче выводится из организма; обходным механизмам, в которых бактерия использует пути, альтернативные тем, которые ингибирует антибиотик; или посредством бактерии, имеющей форму мишени антибиотика (например, фермента), которая является менее чувствительной к антибиотику, или вовсе не имеющей мишени.

Устойчивость к конкретному антибиотику или классу антибиотиков может быть

присуща бактерии, но может также развиваться или приобретаться. Как правило, естественную устойчивость можно наблюдать к конкретному типу или классу антибиотиков, но число различных классов антибиотиков, к которым наблюдается устойчивость, обычно ограничено. Устойчивость к многочисленным классам антибиотиков (включая множественные классы антибиотиков, которые определены здесь как по меньшей мере три класса антибиотиков) может быть приобретенным (или развившимся) явлением, но это не исключительный случай. Таким образом, в случае MDR-бактерий, бактерии могут приобретать или развивать устойчивость к конкретным классам антибиотиков (например, к одному или более, или двум или более классам, например, дополнительным классам, или к 3 или более классам) или в некоторых случаях бактерии могут быть по своей природе устойчивы к многочисленным классам. Резистентный фенотип MDR-бактерий может отличаться от типичных бактерий или бактерий дикого типа, но некоторые бактерии можно рассматривать как MDR с учетом профиля присущей им устойчивости, например, виды *Burkholderia*, включая *Burkholderia ceracia*, *Burkholderia mallei* и *Burkholderia pseudomallei*.

Развитие (или приобретение) устойчивости может вызываться мутацией. Например, она может подразумевать изменения в структуре мишени антибиотика, которые уменьшают чувствительность мишени к антибиотик. Она также может представлять собой мутацию пути, вовлеченного в регуляцию клеточного аппарата, вовлеченного в метаболизм или выведение антибиотика. Она может представлять собой мутацию компонентов наружных слоев (например, мембран/стенок) бактерий, которые влияют на проникновение антибиотика в бактерию. В некоторых случаях множественные мутации должны накапливаться для того, чтобы бактерия стала резистентной к конкретному антибиотик. или его классу.

Развитие устойчивости также может возникать в результате передачи механизма устойчивости от другого организма, например, другой бактерии (иногда это называют приобретенной устойчивостью, но используемый здесь термин "приобретенная устойчивость" включает любые способы или механизмы, посредством которых возникает устойчивость, включая передачу или мутацию). Это происходит обычно, хотя и не исключительно, за счет передачи от организма к организму подвижных нуклеиновых кислот, кодирующих механизм устойчивости (например, β -лактамазу).

Как следствие присущего селективного давления антибиотиков, оказываемого на бактериальную популяцию, применение антибиотиков вызывает селекцию устойчивых членов данной популяции. Поэтому последовательное применение различных антибиотиков в схеме лечения может привести к появлению MDR-бактерий.

В настоящее время существует множество MDR-видов и штаммов бактерий. Рода бактерий, из которых MDR-виды и штаммы создают существенные проблемы для здоровья людей и животных, включают, но не ограничиваются этим, *Pseudomonas*, *Acinetobacter*, *Burkholderia*, *Klebsiella*, *Providencia* и *Staphylococcus*.

Pseudomonas представляет собой род строго аэробных, грамотрицательных бактерий с относительно низкой вирулентностью. Тем не менее, виды *Pseudomonas* могут действовать в качестве условно-патогенных микроорганизмов, и инфекции были зарегистрированы с *Pseudomonas aeruginosa*, *Pseudomonas oryzae*, *Pseudomonas luteola*, *Pseudomonas anguilliseptica* и *Pseudomonas plecoglossicida*.

P. plecoglossicida и *P. anguilliseptica* являются патогенами рыб. *P. oryzae* может представлять собой человеческий патоген, вызывающий перитонит, эндофтальмит, септицемии и бактериемии. Сходные инфекции могут вызываться *P. luteola*. Однако большинство инфекций *Pseudomonas* у людей вызываются *P. aeruginosa*.

P. aeruginosa представляет собой широко распространенные и чрезвычайно изменчивые бактерии, которые можно считать частью природной флоры здорового субъекта, и способна колонизировать большинство антропогенных сред. Эта повсеместность и изменчивость видна из колонизации медицинских сред *P. aeruginosa*.

5 Проблематично, та же изменчивость позволяет *P. aeruginosa* действовать в качестве условно-патогенного человеческого болезнетворного микроорганизма у ослабленных субъектов, наиболее часто у пациентов с иммунодефицитом (например, пациентов с муковисцидозом или СПИД) и пациентов с дефектным барьером к инфекциям (например, таким как хронические раны и ожоги, а также внутренним частям медицинских
10 устройств, таким как капельницы, мочевые катетеры, диализные катетеры, эндотрахеальные трубки).

Инфекция *P. aeruginosa* может влиять на многочисленные различные части организма, но инфекции обычно нацелены на дыхательные пути, ЖК (желудочно-кишечный) тракт, мочевые пути и поверхностные раны и ожоги, а также "вживленные" медицинские
15 устройства. Эта проблема усугубляется наличием природной устойчивости ко многим β-лактамам антибиотикам. Также сообщается о приобретенной устойчивости некоторых штаммов к другим антибиотикам. Способность некоторых штаммов *P. aeruginosa* образовывать биопленки создает дополнительные проблемы, так как живущие в биопленке (biofilm-dwelling) бактерии часто являются более устойчивыми к
20 противомикробным средствам, чем их штаммы, лишённые биопленок. В связи с этим существует настоятельная потребность в безопасных и эффективных способах лечения инфекций и контаминации *Pseudomonas* и, в частности, способов лечения, которые позволяют преодолеть устойчивость к антибиотикам, в частности, устойчивость к β-лактамам у видов *Pseudomonas*.

25 *Burkholderia* представляют собой род грамотрицательных, подвижных, облигатных аэробных, неферментирующих палочковидных бактерий. Виды *Burkholderia* широко распространены в природе и включают патогены животных и растений. *Burkholderia cepacia* является новым примечательным человеческим патогеном. По сообщениям, *B. cepacia* вызывает некротическую пневмонию; пневмонию, ассоциированную с аппаратом
30 искусственной вентиляции легких, бактериемию и инфекции кожи, мягких тканей, кровотока, дыхательных путей и мочевых путей у пациентов с муковисцидозом и госпитализированных пациентов. *Burkholderia cepacia* является частью группы из по меньшей мере девяти различных видов, образующих *Burkholderia cepacia* комплекс (BCC), включая *B. multivorans*, *B. cenocepacia*, *B. vietnamiensis*, *B. stabilis*, *B. ambifaria*, *B. dolosa*, *B. anthina* и *B. pyrrocinia*.
35

Burkholderia pseudomallei является возбудителем мелиоидоза, потенциально смертельного внебольничного инфекционного заболевания, эндемичного для Юго-Восточной Азии, Тайваня и северной Австралии. Случаи заболевания также были описаны в Китае, Индии, Центральной и Южной Америке, на Ближнем Востоке и в
40 некоторых странах Африки. Были зарегистрированы случаи заболевания среди военнослужащих, занятых в конфликтах в этих регионах, и было обнаружено распространение этого заболевания в стране происхождения этих военнослужащих, что является следствием того, что рецидивы являются общими и заболевание может оставаться латентным в течение длительных периодов времени до клинического
45 проявления.

Burkholderia mallei является возбудителем сапа, инфекционного заболевания, которое, в первую очередь, действует на лошадей, мулов и ослов, но оно также было зарегистрировано и у других животных, например, собак, кошек и коз и, в частности,

может происходить передача человеку. Передача от животного человеку обычно происходит при непосредственном контакте через ссадины на кожи, слизистые поверхности носа и полости рта или при вдыхании.

Кроме того, патогенные виды *Burkholderia* часто демонстрируют естественную
 5 устойчивость ко многим антибиотикам и классам антибиотиков (например, к одному или более аминогликозидам, β -лактамам и макролидам), и было обнаружено выживание в бетадине (местный антисептик, обычно используемый в больницах). Также сообщается о приобретенной устойчивости некоторых штаммов к другим антибиотикам. В связи с этим, существует настоятельная потребность в безопасных и эффективных способах
 10 лечения инфекций и контаминации *Burkholderia* и, в частности, в способах лечения, которые позволяют преодолеть устойчивость к антибиотикам, особенно устойчивость к β -лактамам и макролидам у видов *Burkholderia*.

Providencia представляет собой род грамотрицательных палочковидных бактерий, которые отвечают за широкий спектр человеческих инфекций. Инфекции *Providencia*
 15 являются обычно нозокомиальными и обнаруживаются преимущественно в мочевых путях, часто вследствие катетеризации. Инфекции *Providencia* также ассоциированы с гастроэнтеритом и бактериемией и поверхностными инфекциями хронических ран и ожогов. Они представляют новую проблему из-за увеличивающегося распространения штаммов с устойчивостью к β -лактамам антибиотикам в связи с распространением
 20 в популяциях *Providencia* бета-лактамаз расширенного спектра (ESBL).

Виды *Providencia* включают *Providencia stuartii*, *Providencia sneebia*, *Providencia rettgeri*, *Providencia rustigianii*, *Providencia heimbachae*, *Providencia burhododranaria* и *Providencia alcalifaciens*. Виды *Providencia* были обнаружены в почве, воде и сточных водах и в многочисленных животных резервуарах. Примеры инфекций *Providencia* у животных
 25 включают неонатальную диарею у крупного рогатого скота вследствие инфекции *P. stuartii* и энтерита, вызванного инфекцией *P. alcalifaciens* у собак. *P. rettgeri* был выделен от крокодилов с менингитом/септициемией и от кур с энтеритом. *P. heimbachae* был выделен из фекалий пингвинов и абортированных плодов крупного рогатого скота.

У людей виды *Providencia* были выделены из мочи, кала и крови, а также из мокроты,
 30 кожи и раневых культур. *P. stuartii* часто выделяется от пациентов с постоянными (indwelling) мочевыми катетерами и, как известно, персистирует в мочевых путях после получения доступа к мочевому пузырю. *P. stuartii* может вызвать септицемию и обычно это вторично по отношению к инфекции мочевых путей. Сообщалось также, что *P. stuartii* является причиной инфекционного эндокардита. Сообщалось, что *P. rettgeri*
 35 вызывает глазные инфекции, включая кератит, конъюнктивит и эндофтальмит. *P. alcalifaciens*, *P. rettgeri* и *P. stuartii* также могут быть связаны с гастроэнтеритом.

Инфекции *Providencia* с паттернами противомикробной устойчивости увеличиваются и ESBL-положительные *P. stuartii* представляют растущую проблему у
 40 госпитализированных пациентов. В связи с этим существует настоятельная потребность в безопасных и эффективных способах лечения инфекций и контаминации *Providencia* и, в частности, способах лечения, которые позволяют преодолеть устойчивость к антибиотикам, особенно устойчивость к β -лактамам, у видов *Providencia*.

Acinetobacter представляет собой род бактерий, которые являются строго аэробными, неферментирующими, грамотрицательными бациллами. Виды *Acinetobacter* широко
 45 распространены в природе и могут выживать в течение продолжительных периодов времени на влажных и сухих поверхностях. Считается, что виды *Acinetobacter* не являются патогенными для здоровых субъектов, но становится все более очевидным, что виды *Acinetobacter* сохраняются в больничных условиях в течение продолжительного периода

времени и могут быть ответственны за нозокомиальные инфекции у ослабленных пациентов. *Acinetobacter baumannii* является частой причиной нозокомиальной пневмонии, особенно поздней пневмонией, ассоциированной с аппаратом искусственной вентиляции легких, и может вызывать различные другие инфекции, включая кожные и раневые инфекции, бактериемию и менингит. *Acinetobacter Iwoffii* также был ассоциирован с менингитом. Другие виды, включая *Acinetobacter haemolyticus*, *Acinetobacter johnsonii*, *Acinetobacter junii*, *Acinetobacter radioresistens*, *Acinetobacter tandoii*, *Acinetobacter tjernbergiae*, *Acinetobacter towneri* или *Acinetobacter ursingii*, также были связаны с инфекцией. Особенно следует отметить распространенность инфекций *Acinetobacter baumannii* у военнотружущих США, дислоцированных на Ближнем Востоке, например, в Ираке. Вызывает озабоченность тот факт, что многие штаммы *Acinetobacter*, по-видимому, обладают множественной лекарственной устойчивостью, что затрудняет борьбу с инфекциями и контаминацией *Acinetobacter*. В связи с этим существует настоятельная потребность в безопасных и эффективных способах лечения инфекций и контаминации *Acinetobacter*.

Klebsiella представляет собой род неподвижных, грамотрицательных, палочковидных бактерий. Виды *Klebsiella* повсеместно распространены в природе. У людей они могут колонизировать кожу, глотку и желудочно-кишечный тракт и могут считаться нормальной флорой во многих частях толстой кишки, в желудочно-кишечном тракте и желчных путях.

Виды *Klebsiella* включают *Klebsiella granulomatis*, *Klebsiella oxytoca*, *Klebsiella pneumoniae*, *Klebsiella singaporensis* и *Klebsiella variicola*, хотя *K. pneumoniae* и *K. oxytoca* являются членами этого рода, ответственными за большинство человеческих инфекций. Такие инфекции включают пневмонию, бактериемию, тромбофлебит, инфекцию мочевых путей, холецистит, диарею, инфекцию верхних дыхательных путей, раневую инфекцию, остеомиелит и менингит. Риносклерома и озола являются двумя другими инфекциями, вызываемыми видами *Klebsiella*. Риносклерома представляет собой хронический воспалительный процесс с участием носоглотки, тогда как озола представляет собой хронический атрофический ринит, характеризующийся некрозом слизистой оболочки носа и слизисто-гнойными выделениями из носа.

Klebsiellae часто вносит вклад в нозокомиальные инфекции. Обычные участки включают мочевые пути, нижние дыхательные пути, желчные пути и раны. Присутствие инвазивных устройств, в частности, устройств для вспомогательной искусственной вентиляции легких и мочевых катетеров, увеличивает вероятность нозокомиальной инфекции, вызываемой видами *Klebsiella*. Попадание организмов из этих источников в кровь может вызвать сепсис и септический шок.

K. pneumoniae представляет собой важную причину внебольничных пневмоний у пожилых людей и лиц с нарушенными респираторными защитными механизмами. *K. oxytoca* был вовлечен в неонатальную бактериемию, особенно среди недоношенных детей и в отделениях интенсивной неонатальной терапии. Все чаще этот организм выделяют от пациентов с неонатальной септициемией.

Более того, устойчивость видов *Klebsiella* к антибиотикам увеличивается. В связи с этим существует настоятельная потребность в безопасных и эффективных способах лечения инфекций и контаминации *Klebsiella* и, в частности, в способах лечения, которое позволяет преодолеть устойчивость к антибиотикам у видов *Klebsiella*.

Антибиотики являются ключевым инструментом в клиническом лечении бактериальных инфекций, например, вызываемых вышеупомянутыми родами. К сожалению, число антибиотиков, доступных врачам, является ограниченным и

оставалось в основном неизменным в течение многих лет. Устойчивость бактерии к антибиотикам уменьшает число антибиотиков, доступных для лечения данной бактерии. Поэтому бактерии, устойчивые ко многим антибиотикам, пропорционально труднее лечатся. Продолжающееся применение антибиотиков неизбежно селектирует MDR-бактерии, и, таким образом, существует настоятельная потребность в способах, позволяющих преодолеть MDR-фенотипы. Авторы изобретения неожиданно обнаружили, что альгинатные олигомеры могут этого достигать. Альгинаты представляют собой линейные полимеры (1-4)-связанной β -D-маннуроносовой кислоты (М) и/или ее C-5 эпимера α -L-гулууроносовой кислоты (G). Первичная структура альгинатов может значительно варьировать. Остатки М и G могут быть организованы в виде гомополимерных блоков последовательных остатков G или М, в виде блоков чередующихся остатков М и G, и одиночные остатки М или G могут быть обнаружены в промежутках, разделяющих эти блочные структуры. Альгинатная молекула может содержать некоторые или все эти структуры, и такие структуры могут быть неравномерно распределены в полимере. В крайнем случае, существует гомополимер гулууроносовой кислоты (полигулуруонат) или гомополимер маннуроносовой кислоты (полиманнуронат).

Альгинаты были выделены из морских бурых водорослей (например, некоторых видов *Durvillea*, *Lessonia* и *Laminaria*) и бактерий, таких как *Pseudomonas aeruginosa* и *Azotobacter vinelandii*. Другие псевдомонады (например, *Pseudomonas fluorescens*, *Pseudomonas putida* и *Pseudomonas mendocina*) сохраняют генетическую способность продуцировать альгинаты, но в естественных условиях они не продуцируют заметных уровней альгината. С помощью мутации в этих непродуцирующих псевдомонадах можно индуцировать производство стабильно высоких количеств альгината.

Альгинат синтезируется в виде полиманнуроната, и остатки G образуются под действием эпимераз (а именно, C-5 эпимераз) на остатках М в полимере. В случае альгинатов, экстрагированных из водорослей, остатки G преимущественно организованы в виде G-блоков, поскольку ферменты, вовлеченные в биосинтез альгината в водорослях, предпочтительно вводят G рядом с другим G, таким образом превращая участки остатков М в G-блоки. Выяснение этих биосинтетических систем сделало возможным продукцию альгинатов с конкретной первичной структурой (WO 94/09124, Gimmetstad, M et al, Journal of Bacteriology, 2003, Vol 185(12) 3515-3523 и WO 2004/011628).

Альгинаты обычно выделяют из природных источников в виде высокомолекулярных полимеров (например, со средней молекулярной массой в диапазоне от 300000 до 500000 Дальтон). Однако известно, что такие большие альгинатные полимеры могут подвергаться деградации или разрушению, например, в результате химического или ферментативного гидролиза с получением альгинатных структур с низкой молекулярной массой. Альгинаты, которые используются в промышленности, имеют среднюю молекулярную массу в диапазоне от 100000 до 300000 Дальтон (такие альгинаты все еще считаются большими полимерами), хотя альгинаты со средней молекулярной массой приблизительно 35000 Дальтон используются в фармацевтических средствах.

В настоящее время установлено, что альгинатные олигомеры могут быть использованы для преодоления устойчивости к антибиотикам и превращения бактерий, которые являются MDR (устойчивыми к многочисленным классам антибиотиков), в чувствительные к антибиотикам (в частности, чувствительные к антибиотикам), к которым они резистентны), и, таким образом, применение альгинатных олигомеров вместе с антибиотиками является высокоэффективным подходом в борьбе с контаминацией и инфекциями, вызываемыми MDR-бактериями.

Соответственно, в первом аспекте в изобретении предложен способ преодоления устойчивости по меньшей мере к одному антибиотику у MDR-бактерии, включающий приведение указанной бактерии в контакт с альгинатным олигомером вместе (или в сочетании или комбинации) с антибиотиком.

5 Более конкретно, стадия приведения в контакт может включать приведение бактерии (более конкретно, бактерий) в контакт с альгинатным олигомером в то же время или по существу в то же время или перед приведением бактерии в контакт с антибиотиком в количестве, эффективном для преодоления устойчивости бактерии к антибиотику. В частности, стадия приведения бактерии в контакт с альгинатным олигомером может
10 включать введение альгинатного олигомера субъекту и, в частности, субъекту, нуждающемуся в таком лечении (например, субъекту, инфицированному, предположительно инфицированному или подверженному риску заражения MDR-бактерией).

Таким образом, в изобретении предложен альгинатный олигомер для применения
15 вместе (или в комбинации или совместно) с по меньшей мере одним антибиотиком в лечении субъекта, инфицированного, предположительно инфицированного или подверженного риску заражения MDR-бактерией, для преодоления устойчивости к антибиотику у указанной MDR-бактерии.

В этом аспекте в изобретении также предложен способ лечения субъекта,
20 инфицированного, предположительно инфицированного или подверженного риску заражения MDR-бактерией, для преодоления устойчивости к антибиотику у указанной MDR-бактерии, включающий введение эффективного количества антибиотика указанному субъекту вместе с эффективным количеством указанного альгинатного олигомера.

25 Под "применением вместе", в частности, подразумевают, что фармацевтически эффективное количество альгинатного олигомера и фармацевтически эффективное количество антибиотика вводят таким образом, что бактерия (более конкретно, бактерии) приводится в контакт с альгинатным олигомером в то же время или по существу в то же время или перед приведением в контакт с антибиотиком. Для
30 достижения этой цели можно использовать любой клинически приемлемый режим введения доз. Специалист сможет принять во внимание любые соответствующие переменные факторы (например, пути введения, биодоступность и фармакокинетику используемых олигомера и антибиотика, физическое состояние субъекта, локализацию бактерии, и т.д.) с целью разработки соответствующего режима введения доз для
35 конкретного субъекта. В одном воплощении фармацевтически эффективное количество альгинатного олигомера вводят в то же время или по существу в то же время или перед введением фармацевтически эффективного количества антибиотика. В других воплощениях олигомер вводят отдельно и после антибиотика. Специалист сможет легко разработать режим введения доз для максимизации эффекта альгинатного олигомера
40 и антибиотика, которые используют для преодоления устойчивости целевой MDR-бактерии к антибиотику. Он также сможет выбрать оптимальные комбинации двух активных агентов в зависимости от конкретной клинической ситуации, с которой он столкнется. "Применение вместе" не означает, что соответствующие агенты присутствуют в одном и том же препарате или композиции и, соответственно, даже
45 если используются или вводятся в то же время или по существу в то же время, альгинатный олигомер и антибиотик не должны, и вряд ли будут, находиться в одной и той же композиции или препарате, но могут вводиться раздельно. Таким образом, "раздельное" применение/введение включает применение/введение в то же время или

по существу в то же время или в разное время, например, последовательно или через разные промежутки времени в зависимости от желаемого режима введения или приема доз.

Термин "инфицирован" (или "заражен"), широко используемый в данной заявке, означает, что субъект может содержать, или включать, или переносить интересующую бактерию, т.е. что бактерия может просто находиться в субъекте или на субъекте, и это может включать любой участок или локализацию в или на организме субъекта. Не обязательно, чтобы инфекция субъекта проявлялась в виде клинического заболевания (т.е. чтобы инфекция приводила к клиническим симптомам у субъекта), хотя это, конечно, включено. Субъект, который предположительно инфицирован или который подвержен риску заражения, может представлять собой субъекта, который контактировал с бактерией или инфицированным субъектом, или субъекта, демонстрирующего клинические признаки или симптомы инфекции (в случае подозрения на инфекцию), или субъекта, который восприимчив к инфекции (обычно, например, из-за клинического статуса субъекта), или, в частности, к интересующей бактерии.

Альтернативно, в изобретении предложено применение альгинатного олигомера для изготовления лекарственного средства для применения вместе с по меньшей мере одним антибиотиком в лечении субъекта, инфицированного, предположительно инфицированного или подверженного риску заражения MDR-бактерией, для преодоления устойчивости к антибиотику у указанной MDR-бактерии.

Лекарственное средство может дополнительно содержать антибиотик (или антибиотики). Лекарственное средство может находиться в форме единой композиции или препарата, содержащих альгинатный олигомер и антибиотик(и), или может быть приготовлено и использовано в виде отдельных композиций или препаратов, где каждая (ый) содержит, соответственно, альгинатный олигомер или антибиотик(и).

Таким образом, в более конкретном аспекте в настоящем изобретении предложено применение альгинатного олигомера и по меньшей мере одного антибиотика для изготовления лекарственного средства для применения в лечении субъекта, инфицированного, предположительно инфицированного или подверженного риску заражения MDR-бактерией, для преодоления устойчивости к антибиотику у указанной MDR-бактерии.

Как указано выше, антибиотик можно применять или вводить отдельно от альгинатного олигомера.

Таким образом, в дополнительном аспекте в настоящем изобретении предложен продукт, содержащий альгинатный олигомер и антибиотик (например, один или более антибиотиков) в виде комбинированного препарата для раздельного, одновременного или последовательного применения в лечении субъекта, инфицированного, предположительно инфицированного или подверженного риску заражения MDR-бактерией, для преодоления устойчивости к антибиотику у указанной MDR-бактерии.

Антибиотик можно применять или вводить одновременно с альгинатным олигомером или последовательно. Как указано выше, в одном воплощении антибиотик вводят в то же время или по существу в то же время, что и альгинатный олигомер, а в другом воплощении его вводят после альгинатного олигомера. В других воплощениях олигомер вводят отдельно и после антибиотика. В рамки "по существу в то же время" включены применение или введение антибиотика немедленно или почти немедленно до или после альгинатного олигомера. Термин "почти немедленно" можно толковать как включающий применение или введение в пределах одного часа предыдущего применения или введения, предпочтительно в пределах 30 минут. Однако антибиотик можно применять или

вводить по меньшей мере через 1 час, по меньшей мере через 3 часа или по меньшей мере через 6 часов или более после альгинатного олигомера. В этих воплощениях антибиотик можно применять или вводить с дополнительным применением или без дополнительного применения альгинатного олигомера. Альгинатный олигомер можно 5 применять или вводить в большинстве применений перед антибиотиком или с антибиотиком, включая, как указано выше, применение или введение немедленно или почти немедленно после антибиотика. В других воплощениях антибиотик(и) обычно применяют или вводят перед альгинатным олигомером, например, по меньшей мере за 1 час, по меньшей мере за 3 часа, по меньшей мере за 6 часов перед альгинатным 10 олигомером. В этих воплощениях альгинатный олигомер можно применять или вводить вместе или без дополнительного применения антибиотика. Антибиотик можно применять или вводить во многих применениях перед или с альгинатным олигомером.

Как указано выше, альгинаты обычно встречаются в виде полимеров со средней молекулярной массой по меньшей мере 35000 Дальтон, т.е. от приблизительно 175 до 15 10 приблизительно 190 мономерных остатков, хотя обычно гораздо выше, и альгинатный олигомер согласно настоящему изобретению можно определить как материал, полученный путем фракционирования (т.е. уменьшения размера) альгинатного полимера, обычно природного альгината. Альгинатный олигомер можно рассматривать как альгинат со средней молекулярной массой менее 35000 Дальтон (т.е. менее чем 20 25 приблизительно 190 или менее чем приблизительно 175 мономерных остатков), в частности, альгинат со средней молекулярной массой менее 30000 Дальтон (т.е. менее чем приблизительно 175 или менее чем приблизительно 150 мономерных остатков), более конкретно со средней молекулярной массой менее 25000 или 20000 Дальтон (т.е. менее чем приблизительно 135 или 125 мономерных остатков или менее чем 25 30 приблизительно 110 или 100 мономерных остатков).

Альтернативно, олигомер обычно содержит 2 или более звеньев или остатков, и альгинатный олигомер для применения согласно изобретению обычно содержит от 2 до 100 мономерных остатков, предпочтительно от 2 до 75, предпочтительно от 2 до 50, более предпочтительно от 2 до 40, от 2 до 35 или от 2 до 30 остатков. Таким образом, 30 альгинатный олигомер для применения согласно изобретению обычно имеет среднюю молекулярную массу от 350 до 20000 Дальтон, предпочтительно от 350 до 15000 Дальтон, предпочтительно от 350 до 10000 Дальтон, и более предпочтительно от 350 до 8000 Дальтон, от 350 до 7000 Дальтон или от 350 до 6000 Дальтон.

Альтернативно, альгинатный олигомер может иметь степень полимеризации (DP) 35 или среднечисловую степень полимеризации (DP_n) от 2 до 100, предпочтительно от 2 до 75, предпочтительно от 2 до 50, более предпочтительно от 2 до 40, от 2 до 35, от 2 до 30, от 2 до 28, от 2 до 25, от 2 до 22, от 2 до 20, от 2 до 18, от 2 до 17, от 2 до 15 или от 2 до 12.

Другие типичные диапазоны (будь то число остатков, DP или DP_n) включают от 40 50 любого из 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10 или 11 до любого из 50, 45, 40, 39, 38, 37, 36, 35, 34, 33, 32, 31, 30, 29, 28, 27, 26, 25, 24, 23, 22, 21, 20, 19, 18, 17, 16, 15, 14, 13 или 12.

Другие типичные диапазоны (будь то число остатков, DP или DP_n) включают от любого из 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14 или 15 до любого из 50, 45, 40, 39,

38, 37, 36, 35, 34, 33, 32, 31, 30, 29, 28, 27, 26, 25, 24, 23, 22, 21, 20, 19, 18, 17 или 16.

Другие типичные диапазоны (будь то число остатков, DP или DP_n) включают от 45 50 любого из 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17 или 18 до любого из 50, 45, 40,

39, 38, 37, 36, 35, 34, 33, 32, 31, 30, 29, 28, 27, 26, 25, 24, 23, 22, 21, 20 или 19.

Альгинатный олигомер, как указано выше, будет включать (или содержать) остатки

или звенья гулуруоната или гулуруоновой кислоты (G) и/или маннуруоната или маннуруоновой кислотой (M). Альгинатный олигомер согласно изобретению будет предпочтительно состоять только или по существу только (т.е. состоять в основном) из остатков уроната/уроновой кислоты, более конкретно только или по существу только из остатков G и/или M. Альтернативно, в альгинатном олигомере, используемом в настоящем изобретении, по меньшей мере на 80%, более конкретно по меньшей мере 85, 90, 95 или 99% мономерных остатков представляют собой остатки уроната/уроновой кислоты, или более конкретно, остатков G и/или M. Другими словами, предпочтительно, чтобы альгинатный олигомер не содержал другие остатки или звенья (например, другие сахаридные остатки или, более конкретно, другие остатки уроновой кислоты/уроната).

Альгинатный олигомер представляет собой предпочтительно линейный олигомер.

Более конкретно, в предпочтительном воплощении по меньшей мере 30% мономерных остатков альгинатного олигомера представляют собой остатки G (т.е. гулуруоната или гулуруоновой кислоты). Другими словами, альгинатный олигомер будет содержать по меньшей мере 30% остатков гулуруоната (или гулуруоновой кислоты). Конкретные воплощения, таким образом, включают альгинатные олигомеры с (например, содержащие) от 30 до 70% остатков G (гулуруоната) или от 70 до 100% остатков G (гулуруоната). Таким образом, типичный альгинатный олигомер для применения согласно настоящему изобретению может содержать по меньшей мере 70% остатков G (т.е. по меньшей мере 70% мономерных остатков альгинатного олигомера будет представлять собой остатки G).

Предпочтительно, по меньшей мере 50% или 60%, более конкретно по меньшей мере 70% или 75%, еще более конкретно по меньшей мере 80, 85, 90, 91, 92, 93, 94, 95, 96, 97, 98 или 99% мономерных остатков представляют собой гулуруонат. В одном воплощении альгинатный олигомер может представлять собой олигогулуруонат (т.е. гомоолигомер из G, или 100% G).

В другом предпочтительном воплощении описанные выше альгинаты по изобретению имеют первичную структуру, где большинство остатков G находятся в так называемых G-блоках. Предпочтительно, по меньшей мере 50%, более предпочтительно по меньшей мере 70 или 75% и наиболее предпочтительно по меньшей мере 80, 85, 90, 92 или 95% остатков G находятся в G-блоках. G-блок представляет собой непрерывную последовательность из по меньшей мере двух остатков G, предпочтительно по меньшей мере 3 последовательных остатков G, более предпочтительно по меньшей мере 4 или 5 последовательных остатков G, наиболее предпочтительно по меньшей мере 7 последовательных остатков G.

В частности, по меньшей мере 90% остатков G связаны 1-4-связью с другим остатком G. Более конкретно, по меньшей мере 95%, более предпочтительно по меньшей мере 98% и наиболее предпочтительно по меньшей мере 99% остатков G альгината связаны 1-4-связью с другим остатком G.

Альгинатный олигомер, используемый в изобретении, представляет собой предпочтительно 3-35-мер, более предпочтительно 3-28-мер, в частности 4-25-мер, особенно 6-22-мер, в частности 8-20-мер, особенно 10-15-мер, например, имеющий молекулярную массу в диапазоне от 350 до 6400 Дальтон или от 350 до 6000 Дальтон, предпочтительно от 550 до 5500 Дальтон, предпочтительно от 750 до 5000 Дальтон и особенно от 750 до 4500 Дальтон, или от 2000 до 3000 Дальтон. Другие типичные альгинатные олигомеры включают, как упомянуто выше, олигомеры из 7, 8, 9, 10, 11 или 12 до 50, 45, 40, 35, 28, 25, 22 или 20 остатков.

Это может быть одиночное соединение или это может быть смесь соединений,

например, с диапазоном степеней полимеризации. Как указано выше, мономерные остатки в альгинатном олигомере могут быть одинаковыми или разными и не все должны нести электрически заряженные группы, хотя предпочтительно, чтобы большинство (например, по меньшей мере 60%, предпочтительно по меньшей мере 80%, более предпочтительно по меньшей мере 90%) имели их. Предпочтительно, чтобы значительное большинство, например, по меньшей мере 80%, более предпочтительно по меньшей мере 90% заряженных групп имели одинаковую полярность. В альгинатном олигомере отношение гидроксильных групп к заряженным группам составляет предпочтительно по меньшей мере 2:1, более предпочтительно по меньшей мере 3:1.

Альгинатный олигомер по изобретению может иметь степень полимеризации (DP), или среднечисловую степень полимеризации (DP_n), 3-28, 4-25, 6-22, 8-20 или 10-15, или от 5 до 18, или от 7 до 15, или от 8 до 12, особенно 10.

Альгинатный олигомер по изобретению может иметь степень полимеризации (DP), или среднечисловую степень полимеризации (DP_n), 8-50, 8-40, 8-35, 8-30, 8-28, 8-25, 8-22, 8-20, 8-18, 8-16 или 8-14.

Альгинатный олигомер по изобретению может иметь степень полимеризации (DP), или среднечисловую степень полимеризации (DP_n), 9-50, 9-40, 9-35, 9-30, 9-28, 9-25, 9-22, 9-20, 9-18, 9-16 или 9-14.

Альгинатный олигомер по изобретению может иметь степень полимеризации (DP), или среднечисловую степень полимеризации (DP_n), 10-50, 10-40, 10-35, 10-30, 10-28, 10-25, 10-22, 10-20, 10-18, 10-16 или 10-14.

Альгинатный олигомер по изобретению может иметь степень полимеризации (DP), или среднечисловую степень полимеризации (DP_n), 12-50, 12-40, 12-35, 12-30, 12-28, 12-25, 12-22, 12-20, 12-18, 12-16 или 12-14.

Альгинатный олигомер по изобретению может иметь степень полимеризации (DP), или среднечисловую степень полимеризации (DP_n), 15-50, 15-40, 15-35, 15-30, 15-28, 15-25, 15-22, 15-20, 15-18 или 15-16.

Альгинатный олигомер по изобретению может иметь степень полимеризации (DP), или среднечисловую степень полимеризации (DP_n), 18-50, 18-40, 18-35, 18-30, 18-28, 18-25, 18-22 или 18-20.

Предпочтительно, альгинатный олигомер по изобретению по существу свободен, предпочтительно в значительной степени свободен от альгинатных олигомеров, имеющих степень полимеризации за пределами диапазона, раскрытого в данной заявке. Это можно выразить в терминах распределения молекулярных масс альгинатного олигомера по изобретению, например, процент каждого моля альгинатного олигомера, используемого в соответствии с изобретением, который имеет DP за пределами соответствующего диапазона. Распределение молекулярных масс является предпочтительно таким, чтобы не более 10%, предпочтительно не более 9, 8, 7, 6, 5, 4, 3, 2 или 1 мольн.% имели DP на три, два или один больше соответствующего верхнего предела для DP_n . Также предпочтительно, чтобы не более 10%, предпочтительно не более 9, 8, 7, 6, 5, 4, 3, 2 или 1 мольн.% имели DP на число три, два или один меньше соответствующего нижнего предела для DP_n .

Подходящие альгинатные олигомеры описаны в WO 2007/039754, WO 2007/039760, WO 2008/125828 и WO 2009/068841, описания которых непосредственно включены посредством ссылки в данную заявку во всей своей полноте.

Типичные подходящие альгинатные олигомеры имеют DP_n в диапазоне от 5 до 30,

гулуронат/галактуронатную фракцию (F_G) по меньшей мере 0,80, маннуронатную фракцию (F_M) не более 0,20 и по меньшей мере 95 мольн.% DP не более 25.

Другие подходящие альгинатные олигомеры имеют среднечисловую степень полимеризации в диапазоне от 7 до 15 (предпочтительно от 8 до 12), гулуронат/галактуронатную фракцию (F_G) по меньшей мере 0,85 (предпочтительно по меньшей мере 0,90), маннуронатную фракцию (F_M) не более 0,15 (предпочтительно не более 0,10) и имеют по меньшей мере 95 мольн.% со степенью полимеризации менее 17 (предпочтительно менее 14).

Другие подходящие альгинатные олигомеры имеют среднечисловую степень полимеризации в диапазоне от 5 до 18 (особенно от 7 до 15), гулуронат/галактуронатную фракцию (F_G) по меньшей мере 0,80 (предпочтительно по меньшей мере 0,85, особенно по меньшей мере 0,92), маннуронатную фракцию (F_M) не более 0,20 (предпочтительно не более 0,15, особенно не более 0,08) и имеют по меньшей мере 95 мольн.% со степенью полимеризации менее 20 (предпочтительно менее 17).

Другие подходящие альгинатные олигомеры имеют среднечисловую степень полимеризации в диапазоне от 5 до 18, гулуронат/галактуронатную фракцию (F_G) по меньшей мере 0,92, маннуронатную фракцию (F_M) не более 0,08 и имеют по меньшей мере 95 мольн.% со степенью полимеризации менее 20.

Другие подходящие альгинатные олигомеры имеют среднечисловую степень полимеризации в диапазоне от 5 до 18 (предпочтительно от 7 до 15, более предпочтительно от 8 до 12, наиболее предпочтительно примерно 10), гулуронат/галактуронатную фракцию (F_G) по меньшей мере 0,80 (предпочтительно по меньшей мере 0,85, более предпочтительно по меньшей мере 0,90, особенно по меньшей мере 0,92, наиболее предпочтительно по меньшей мере 0,95), маннуронатную фракцию (F_M) не более 0,20 (предпочтительно не более 0,15, более предпочтительно не более 0,10, особенно не более 0,08, наиболее предпочтительно не более 0,05) и имеют по меньшей мере 95 мольн.% со степенью полимеризации менее 20 (предпочтительно менее 17, более предпочтительно менее 14).

Другие подходящие альгинатные олигомеры имеют среднечисловую степень полимеризации в диапазоне от 7 до 15 (предпочтительно от 8 до 12), гулуронат/галактуронатную фракцию (F_G) по меньшей мере 0,92 (предпочтительно по меньшей мере 0,95), маннуронатную фракцию (F_M) не более 0,08 (предпочтительно не более 0,05) и имеют по меньшей мере 95 мольн.% со степенью полимеризации менее 17 (предпочтительно менее 14).

Другие подходящие альгинатные олигомеры имеют среднечисловую степень полимеризации в диапазоне от 5 до 18, гулуронат/галактуронатную фракцию (F_G) по меньшей мере 0,80, маннуронатную фракцию (F_M) не более 0,20, и имеют по меньшей мере 95 мольн.% со степенью полимеризации менее 20.

Другие подходящие альгинатные олигомеры имеют среднечисловую степень полимеризации в диапазоне от 7 до 15, гулуронат/галактуронатную фракцию (F_G) по меньшей мере 0,85, маннуронатную фракцию (F_M) не более 0,15, и имеют по меньшей мере 95 мольн.% со степенью полимеризации менее 17.

Другие подходящие альгинатные олигомеры имеют среднечисловую степень полимеризации в диапазоне от 7 до 15, гулуронат/галактуронатную фракцию (F_G) по меньшей мере 0,92, маннуронатную фракцию (F_M) не более 0,08, и имеют по меньшей мере 95 мольн.% со степенью полимеризации менее 17.

мере 95 мольн.% со степенью полимеризации менее 17.

Таким образом, будет видно, что конкретный класс алыгинатных олигомеров, предпочтительный согласно настоящему изобретению, представляет собой алыгинатные олигомеры, определенные как так называемый "обогащенные G" или "G-блок"- олигомеры, т.е. имеющие высокое содержание остатков G или G-блоков (например, где по меньшей мере 70% мономерных остатков представляют собой G, предпочтительно организованные в G-блоки). Однако также могут быть использованы и другие типы алыгинатного олигомера, включая, в частности, "обогащенные M" или "M-блок"- олигомеры или MG-блок-олигомеры, как описано ниже. Соответственно, это алыгинатные олигомеры с высокими соотношениями одного типа мономеров и с указанными мономерами этого типа, присутствующими преимущественно в непрерывной последовательности этого типа мономеров, которые представляют олигомеры, которые являются особенно предпочтительными, например, олигомеры, где по меньшей мере 70% мономерных остатков в олигомере представляют собой остатки G, связанные 1-4-связью с другим G-остатком, или более предпочтительно по меньшей мере 75% и наиболее предпочтительно по меньшей мере 80, 85, 90, 92, 93, 94, 95, 96, 97, 98, 99% мономерных остатков олигомера представляют собой остатки G, связанные 1-4-связью с другим остатком G. Эту 1-4-связь двух остатков G можно альтернативно представить в виде гулуринового звена, связанного со смежным гулуриновым звеном.

В дополнительном воплощении по меньшей мере или более конкретно более 50% мономерных остатков алыгинатного олигомера могут представлять собой остатки M (т.е. маннуронат или маннуриновую кислоту). Другими словами, алыгинатный олигомер будет содержать по меньшей мере или альтернативно более 50% остатков маннуроната (или маннуриновой кислоты). Таким образом, конкретные воплощения включают алыгинатные олигомеры с (например, содержащие) от 50 до 70% остатков M (маннуроната) или, например, от 70 до 100% остатков M (маннуроната). Дополнительные конкретные воплощения также включают олигомеры, содержащие от 71 до 85% остатков M или от 85 до 100% остатков M. Таким образом, типичный алыгинатный олигомер для применения согласно этому воплощению настоящего изобретения будет содержать более 70% остатков M (т.е. более 70% мономерных остатков алыгинатного олигомера будут представлять собой остатки M).

В других воплощениях по меньшей мере 50% или 60%, более конкретно по меньшей мере 70% или 75%, еще более конкретно по меньшей мере 80, 85, 90, 95 или 99% мономерных остатков представляют собой маннуронат. В одном воплощении алыгинатный олигомер может представлять собой олигоманнуронат (т.е. гомоолигомер M или 100% M).

В дополнительном воплощении вышеописанные алыгинаты по изобретению имеют первичную структуру, где большинство остатков M находятся в так называемых M-блоках. В этом воплощении предпочтительно по меньшей мере 50%, более предпочтительно по меньшей мере 70 или 75% и наиболее предпочтительно по меньшей мере 80, 85, 90 или 95% остатков M организовано в M-блоки. M-блок представляет собой непрерывную последовательность из по меньшей мере двух остатков M, предпочтительно по меньшей мере 3 последовательных остатков M, более предпочтительно по меньшей мере 4 или 5 последовательных остатков M, наиболее предпочтительно по меньшей мере 7 последовательных остатков M.

В частности, по меньшей мере 90% остатков M связаны 1-4-связью с другим остатком M. Более конкретно, по меньшей мере 95%, более предпочтительно по меньшей мере

98% и наиболее предпочтительно по меньшей мере 99% остатков М альгината связаны 1-4-связью с другим остатком М.

Другими предпочтительными олигомерами являются альгинатные олигомеры, где по меньшей мере 70% мономерных остатков в олигомере представляют собой остатки М, связанные 1-4-связью с другим остатком М, или более предпочтительно по меньшей мере 75% и наиболее предпочтительно по меньшей мере 80, 85, 90, 92, 93, 94, 95, 96, 97, 98, 99% мономерных остатков олигомера представляют собой остатки М, связанные 1-4-связью с другими остатками М. Эту 1-4-связь из двух остатков М можно альтернативно представить в виде маннуронового звена, связанного со смежным маннуроновым звеном.

В еще одном воплощении альгинатные олигомеры по изобретению содержат последовательность чередующихся остатков М и G. Последовательность из по меньшей мере трех, предпочтительно по меньшей мере четырех чередующихся остатков М и G представляет MG-блок. Предпочтительно, альгинатные олигомеры по изобретению содержат MG-блок. Выражаясь более конкретно, MG-блок представляет собой последовательность из по меньшей мере трех последовательных остатков, состоящих из остатков G и М, и где каждый неконцевой (внутренний) остаток G в непрерывной последовательности связан 1-4-связью и 4-1-связью с остатком М, и каждый не концевой (внутренний) остаток М в непрерывной последовательности связан 1-4-связью и 4-1-связью с остатком G. Предпочтительно, MG-блок представляет собой по меньшей мере 5 или 6 последовательных остатков, более предпочтительно по меньшей мере 7 или 8 последовательных остатков.

В дополнительном воплощении меньшая часть уроната в альгинатном олигомере (т.е. маннуронате или гулуронате) обнаруживается преимущественно в MG-блоках. В этом воплощении предпочтительно по меньшей мере 50%, более предпочтительно по меньшей мере 70 или 75% и наиболее предпочтительно по меньшей мере 80, 85, 90 или 95% меньшей части уронатных мономеров в MG-блок-альгинатном олигомере присутствует в MG-блоках. В другом воплощении альгинатный олигомер организован таким образом, что по меньшей мере 50%, по меньшей мере 60%, по меньшей мере 70%, по меньшей мере 80%, по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 99%, например, 100% остатков G и М в олигомере организовываны в MG-блоки.

Хотя в его наиболее широком значении изобретение распространяется на воплощения, где по меньшей мере 1%, но менее 100%, мономерных остатков олигомера представляют собой остатки G (т.е. гулуронат или гулуруновую кислоту), более конкретно и как определено ниже, по меньшей мере 30% мономерных остатков представляют собой остатки G. Таким образом, в его наиболее широком значении MG-блок-содержащий альгинатный олигомер может содержать по меньшей мере 1%, но менее 100%, остатков гулуроната (или гулуруновой кислоты), но обычно MG-блок-содержащий альгинатный олигомер будет содержать по меньшей мере 30% (или по меньшей мере 35, 40 или 45% или 50% G), но менее 100% G. Таким образом, конкретные воплощения включают MG-блок-содержащие альгинатные олигомеры с (например, содержащие) от 1 до 30% остатков G (гулуроната), от 30 до 70% остатков G (гулуроната) или от 70 до 99% остатков G (гулуроната). Таким образом, типичный MG-блок-содержащий альгинатный олигомер для применения согласно настоящему изобретению может содержать более 30%, но менее 70% остатков G (т.е. более 30%, но менее 70% мономерных остатков MG-блок-альгинатного олигомера являются остатками G).

Предпочтительно, более 30%, более конкретно более 35% или 40%, еще более

конкретно более 45, 50, 55, 60 или 65%, но в каждом случае менее 70% мономерных остатков MG-блок-содержащего альгинатного олигомера представляют собой гулуруонат. Альтернативно, менее 70%, более предпочтительно менее 65% или 60%, еще более предпочтительно менее 55, 50, 45, 40 или 35%, но в каждом случае более 30%

5 мономерных остатков MG-блок-содержащего альгинатного олигомера представляют собой гулуруонат. Можно выбрать любой диапазон, формируемый любой комбинацией этих значений. Поэтому, например, MG-блок-содержащий альгинатный олигомер может иметь, например, от 35% до 65%, 40% и 60%, или 45% и 55% остатков G.

В другом воплощении MG-блок-содержащий альгинатный олигомер может иметь

10 приблизительно равные количества остатков G и M (например, соотношения 65% G/35% M и 35% G/65% M, например, 60% G/40% M и 40% G/60% M; 55% G/45% M и 45% G/55% M; 53% G/47% M и 47% G/53% M; 51% G/49% M и 49% G/51% M; например, примерно 50% G и примерно 50% M) и эти остатки расположены преимущественно, предпочтительно полностью или насколько возможно в чередующейся картине MG

15 (например, по меньшей мере 50% или по меньшей мере 60, 70, 80, 85, 90 или 95% или 100% остатков M и G расположены в чередующейся последовательности MG).

В некоторых воплощениях концевые остатки уроновой кислоты олигомеров по изобретению не имеют двойной связи, особенно двойной связи, расположенной между атомами C₄ и C₅. Такие олигомеры могут быть описаны как имеющие насыщенные

20 концевые остатки уроновой кислоты. Специалист сможет получить олигомеры с насыщенными концевыми остатками уроновой кислоты без излишних трудностей. Это может быть за счет применения способов получения, которые дают такие олигомеры, или путем превращения (насыщения) олигомеров, полученных способами, которые дают олигомеры с ненасыщенными концевыми остатками уроновой кислоты.

Альгинатный олигомер обычно несет заряд и поэтому противоионами для данного альгинатного олигомера может быть любой физиологически приемлемый ион, особенно ионы, которые обычно используются для заряженных лекарственных веществ, например, натрия, калия, аммония, хлорида, мезилата, меглумина и т.д. Могут быть использованы ионы, которые способствуют гелеобразованию альгината, например, ионы металлов

25 2 группы.

Хотя альгинатный олигомер может представлять собой синтетический материал, образовавшийся в результате полимеризации соответствующего числа гулуруонатных и маннуронатных остатков, альгинатные олигомеры, используемые в изобретении, могут быть соответственно получены, произведены или могут происходить из

35 природных источников, таких как упомянутые выше, а именно, природных источников альгинатных материалов.

Расщепление полисахаридов до олигосахаридов для получения альгинатного олигомера, используемого согласно настоящему изобретению, можно выполнить с использованием стандартных способов лизиса полисахаридов, таких как ферментативное

40 расщепление и кислотный гидролиз. В одном предпочтительном воплощении кислотный гидролиз используют для получения альгинатных олигомеров по изобретению. В других воплощениях ферментативное расщепление используют с дополнительной(ыми) стадией(ями) обработки для насыщения концевых уроновых кислот в олигомерах.

Олигомеры затем могут быть отделены от продуктов распада полисахаридов

45 хроматографически с использованием ионнообменных смол или фракционированного осаждения, или солюбилизации, или фильтрации. В US 6121441 и WO 2008/125828, которые непосредственно включены в данную заявку посредством ссылки во всей своей полноте, описан способ, подходящий для получения альгинатных олигомеров,

используемых в данном изобретении. Дополнительную информацию и обсуждение можно найти, например, в "Handbooks of Hydrocolloids", Ed. Phillips и Williams, CRC, Boca Raton, Florida, USA, 2000, который непосредственно включен в данную заявку посредством ссылки во всей своей полноте.

5 Альгинатные олигомеры также могут быть химически модифицированы, включая, но не ограничиваясь этим, модификацию с целью добавления заряженных групп (таких как карбоксилированные или карбоксиметилированные гликаны), и альгинатные олигомеры, модифицированные для изменения гибкости (например, путем периодатного окисления).

10 Альгинатные олигомеры (например, олигогулурановые кислоты), подходящие для применения согласно изобретению, можно легко получить посредством кислотного гидролиза альгиновой кислоты из, но не ограничиваясь этим, *Laminaria hyperbora* и *Lessonia nigrescens*, растворения при нейтральном pH, добавления минеральной кислоты для снижения pH до 3,4 для осаждения альгинатного олигомера (олигогулурановой
15 кислоты), промывания слабой кислотой, ресуспендирования при нейтральном pH и лиофилизации.

Альгинаты для получения альгинатных олигомеров по изобретению также могут быть получены непосредственно из подходящих бактериальных источников, например, *Pseudomonas aeruginosa* или *Azotobacter vinelandii*.

20 В воплощениях, где требуются альгинатные олигомеры, которые имеют первичные структуры, в которых большинство остатков G организовано в G-блоки, а не в виде отдельных остатков, ожидается, что водорослевые источники являются наиболее подходящими вследствие того, что альгинаты, продуцируемые в этих организмах, проявляют тенденцию к тому, чтобы иметь эти структуры. Бактериальные источники
25 могут быть более подходящими для получения альгинатных олигомеров с другими структурами.

Молекулярный аппарат, вовлеченный в биосинтез альгинатов в *Pseudomonas fluorescens* и *Azotobacter vinelandii*, был клонирован и охарактеризован (WO 94/09124; Ertesvåg, H., et al, Metabolic Engineering, 1999, Vol 1, 262-269; WO 2004/011628; Gimmetstad,
30 M., et al (выше); Remminghorst and Rehm, Biotechnology Letters, 2006, Vol 28, 1701-1712; Gimmetstad, M. et al, Journal of Bacteriology, 2006, Vol 188(15), 5551-5560), и альгинаты со специализированными первичными структурами можно легко получить в результате манипулирования этими системами.

Содержание G в альгинатах (например, водорослевом исходном материале) можно
35 увеличить за счет эпимеризации, например, с помощью маннуронан-С-5-эпимераз из *A. vinelandii* или других эпимеразных ферментов. Таким образом, например, эпимеризацию *in vitro* можно выполнить с помощью выделенных эпимераз из *Pseudomonas* или *Azotobacter*, например, AlgG из *Pseudomonas fluorescens* или *Azotobacter vinelandii* или AlgE ферментов (от AlgE1 до AlgE7) из *Azotobacter vinelandii*. Применение
40 эпимераз из других организмов, которые могут продуцировать альгинат, в частности, водорослей, также конкретно рассмотрено. Эпимеризация *in vitro* альгинатов с низким содержанием G с помощью эпимераз AlgE из *Azotobacter vinelandii* подробно описана в Ertesvåg et al (см. выше) и Strugala et al (Gums and Stabilisers for the Food Industry, 2004, 12, The Royal Society of Chemistry, 84-94).

45 Для получения G-блок-содержащих альгинатов или альгинатных олигомеров предпочтительной является эпимеризация с помощью одной или более эпимераз AlgE из *Azotobacter vinelandii*, отличных от AlgE4, поскольку эти ферменты способны производить G-блок-структуры. С другой стороны, эпимеразу AlgE4 можно

использовать для создания альгинатов или алыгинатных олигомеров с чередующимися участками M/G последовательности или первичных структур, содержащих одиночный остаток G, так как было обнаружено, что этот фермент, по-видимому, предпочтительно эпимеризует отдельные остатки M с получением, таким образом, отдельных остатков G, связанных с остатками M, а не с получением G-блоков. Конкретные первичные структуры могут быть получены с использованием различных комбинаций этих ферментов.

Мутантные варианты этих ферментов или гомологи из других организмов также специально рассматриваются для применения. В WO 94/09124 описаны рекомбинантные и модифицированные ферменты маннуронан-С-5-эпимеразы (ферменты AlgE), например, кодируемые последовательностями эпимераз, в которых ДНК последовательности, кодирующие различные домены или модули эпимераз, были перетасованы, удалены и подвергнуты рекомбинации. Альтернативно, могут быть использованы мутанты природных эпимеразных ферментов (AlgG или AlgE), полученные, например, посредством сайт-направленного или случайного мутагенеза генов AlgG или AlgE.

Другой подход заключается в создании организмов *Pseudomonas* и *Azotobacter*, которые являются мутантными по некоторым или всем своим эпимеразным генам так, что эти мутанты продуцируют альгинаты с желаемой структурой для последующего получения альгинатного олигомера или даже алыгинатных олигомеров с желаемыми структурой и размером (или молекулярной массой). Создание ряда организмов *Pseudomonas fluorescens* с мутациями генов AlgG подробно описано в WO 2004/011628 и Gimmestad, M., et al, 2003 (см. выше). Создание ряда организмов *Azotobacter vinelandii* с мутациями генов AlgE раскрыто в Gimmestad, M., et al, 2006 (см. выше). Специалист способен использовать это руководство для получения новых мутантов, которые могут быть использованы для создания альгинатных олигомеров по изобретению без излишних трудностей.

Другой подход заключается в делеции или инактивации эндогенных эпимеразных генов из организма *Azotobacter* или *Pseudomonas* и последующего введения одного или более экзогенных эпимеразных генов, которые могут быть или могут не быть мутантными (т.е. могут быть дикого типа или модифицированными) и экспрессию которых можно контролировать, например, за счет применения индуцибельных или других "управляемых промоторов". Посредством выбора соответствующих комбинаций генов можно получить альгинаты с заданной первичной структурой.

Еще один подход заключается во введении некоторых или всех систем биосинтеза альгинатов из *Pseudomonas* и/или *Azotobacter* в организм, не продуцирующий альгинаты (например, *E.coli*) и в индукции продукции альгината из этих генетически модифицированных организмов.

При использовании этих культуральных систем, на первичную структуру альгинатных продуктов или альгинатных олигомерных продуктов можно влиять с помощью условий культивирования. Специалист в данной области сможет подобрать параметры культивирования, такие как температура, осмолярность, уровни/источники питательных веществ и параметров атмосферы, с целью управления первичной структурой альгинатов, продуцируемых конкретным организмом.

Ссылки на "G/остатки G" и "M/остатки M" или на гулуруоновую кислоту или маннуруоновую кислоту, или гулуруонат или маннуруонат, следует считать взаимозаменяемыми, как и ссылки на гулуруоновую кислоту/гулуруонат и маннуруоновую кислоту/маннуруонат (конкретно, α -L-гулуруоновую кислоту/гулуруонат и β -D-маннуруоновую кислоту/маннуруонат), а также включают их производные, в которых

одна или более доступных боковых цепей или групп были модифицированы, за исключением способности преодолевать устойчивость к антибиотикам, которая значительно ниже, чем у немодифицированного олигомера. Общие сахарид-модифицирующие группы включают в себя ацетил, сульфат, аминок-, дезокси-, спиртовую, альдегидную, кетонную, сложноэфирную и ангидрогруппы. Альгинатные олигомеры также могут быть химически модифицированы для добавления заряженных групп (таких как карбоксилированные или карбоксиметилированные гликаны) и для изменения гибкости (например, путем периодатного окисления). Специалист знает о дополнительных химических модификациях, которые можно внести в моносахаридные субединицы олигосахаридов, и они могут быть применены к альгинатным олигомерам по изобретению.

Бактерия, на которую направлен способ по изобретению, может представлять собой любую бактерию, которая является MDR, что согласно настоящему изобретению означает, что бактерия устойчива по меньшей мере к 3 или по меньшей мере 4, 5, 6, 7, 8, 9 или 10 классам антибиотиков. Как указано выше, антибиотики в различных классах являются структурно и/или функционально различными. В других воплощениях бактерия, на которую направлен способ по изобретению, может представлять собой любую бактерию, которая обладает высокой лекарственной устойчивостью, что согласно настоящему изобретению означает, что бактерия устойчива к большинству или ко всем антибиотикам. В частности, бактерии с высокой лекарственной устойчивостью являются устойчивыми по меньшей мере к одному антибиотику последнего поколения (например, ванкомицину, линезолиду и т.д.). Специалист обычно знает примеры антибиотиков последнего поколения.

Классы антибиотиков и их соответствующие компоненты включают, но не ограничиваются этим, аминогликозиды (например, амикацин, гентамицин, канамицин, неомицин, нетилмицин, стрептомицин, тобрамицин); карбацевемы (например, лоракарбеф); цефалоспорины 1-го поколения (например, цефадроксил, цефазолин, цефалексин); цефалоспорины 2-го поколения (например, цефаклор, цефамандол, цефалексин, цефокситин, цефprozил, цефуроксим); цефалоспорины 3-го поколения (например, цефиксим, цефдинир, цефдиторен, цефоперазон, цефотаксим, цефподоксим, цефтазидим, цефтибутен, цефтизоксим, цефтриаксон); цефалоспорины 4-го поколения (например, цефепим); макролиды (например, азитромицин, кларитромицин, диригитромицин, эритромицин, тролеандомицин); монобактамы (например, азтреонам); пенициллины (например, амоксициллин, ампициллин, карбенициллин, клоксациллин, диклоксациллин, нафциллин, оксациллин, пенициллин G, пенициллин V, пиперациллин, тикарциллин); полипептидные антибиотики (например, бацитрацин, колистин, полимиксин В); хинолоны (например, ципрофлоксацин, эноксацин, гатифлоксацин, левофлоксацин, ломефлоксацин, моксифлоксацин, норфлоксацин, офлоксацин, тровафлоксацин); сульфаниламиды (например, мафенид, сульфацетамид, сульфаметизол, сульфасалазин, сульфисоксазол, триметоприм-сульфаметоксазол); тетрациклины (например, демеклоциклин, доксициклин, миноциклин, окситетрациклин, тетрациклин); глицилциклины (например, тигециклин); карбапенемы (например, имипенем, меропенем, эртапенем, дорипенем, панипенем/бетамипрон, биапенем, PZ-601); другие антибиотики включают хлорамфеникол; клиндамицин, этамбутол; фосфомицин; изониазид; линезолид; метронидазол; нитрофурантоин; пипразинамид; хинупристин/далфопристин; рифампин; спектиномицин и ванкомицин.

В предпочтительных воплощениях изобретения MDR-бактерии устойчивы к трем или более классам антибиотиков, выбранным из макролидов, β -лактамов (которые

могут включать карбапенемы и/или монобактамы и/или карбацефемы), тетрациклинов, полипептидных антибиотиков и хинолонов. В других воплощениях классы могут включать аминогликозиды. В еще одних воплощениях классы могут включать макролиды, β -лактамы и хинолоны. Следует отметить, что изобретение может привести к преодолению устойчивости к одному или более классам, к которым устойчива MDR-бактерия, но это не обязательно подразумевает преодоление устойчивости ко всем классам антибиотиков, к которым MDR-бактерия может быть устойчива. Таким образом, например, устойчивость к макролиду и/или β -лактаму и/или хинолону может быть преодолена в MDR-штамме, который также устойчив к другим антибиотикам, например, аминогликозидам.

Более конкретно, в этих воплощениях классы антибиотиков могут быть выбраны из макролидов, монобактамов, карбапенемов, карбацефемов, цефалоспоринов 3-го и 4-го поколения, тетрациклинов, полипептидных антибиотиков и хинолонов. В более конкретных типичных воплощениях бактерии могут быть устойчивы к трем или более классам антибиотиков, выбранным из макролидов, β -лактамов и хинолонов, например, трем или более классам антибиотиков, выбранным из макролидов, монобактамов, карбапенемов, карбацефемов, цефалоспоринов 3-го и 4-го поколения и хинолонов. В других воплощениях классы антибиотиков, перечисленные выше, также могут включать аминогликозиды. Например, антибиотики могут быть выбраны из амикацина, гентамицина, канамицина, неомицина, нетилмицина, стрептомицина, тобрамицина, азитромицина, кларитромицина, диритромицина, эритромицина, рокситромицина, телитромицина, карбомицина А, джозамицина, китазамицина, мидекамицина, олеандомицина, спирамицина, тилозина, тролеандомицина, азтреонама, имипенема, меропенема, эртапенема, дорипенема, панипенема/бетамипрона, биапенема, PZ-601, цефиксима, цефдинира, цефдиторена, цефоперазона, цефотаксима, цефподоксима, цефтазидима, цефтибутена, цефтизоксима, цефтриаксона, цефепима, демеклоциклина, доксициклина, миноциклина, окситетрациклина, тетрациклина, бацитрацина, колистина, полимиксина В, цiproфлоксацина, эноксацина, гатифлоксацина, левофлоксацина, ломефлоксацина, моксифлоксацина, норфлоксацина, офлоксацина и/или тровафлоксацина. В частности, MDR-бактерии могут быть устойчивы к одному или более антибиотикам, выбранным из амикацина, тобрамицина, цефтазидима, имипенема/циластатина, меропенема, азтреонама, окситетрациклина, колистина, азитромицина, кларитромицина, диритромицина, эритромицина, рокситромицина, спирамицина и цiproфлоксацина, и особенно предпочтительно, чтобы MDR-бактерии были устойчивы к одному или более антибиотикам, выбранным из цефтазидима, имипенема/циластатина, меропенема, азтреонама, азитромицина, кларитромицина, диритромицина, эритромицина, рокситромицина, спирамицина и цiproфлоксацина. Более предпочтительно, MDR-бактерии устойчивы к одному или более антибиотикам, выбранным из азтреонама, азитромицина, кларитромицина, диритромицина, эритромицина, рокситромицина, спирамицина и цiproфлоксацина.

В других воплощениях MDR-бактерии по меньшей мере устойчивы к классам антибиотиков, выбранному из β -лактамов (например, цефалоспоринов 1-го и 2-го поколения и/или монобактамов) и макролидов. Такие бактерии также могут быть устойчивы к аминогликозидам и/или хинолонам (например, фторхинолонам). В других воплощениях MDR-бактерии по меньшей мере устойчивы к антибиотикам, выбранному из амикацина, гентамицина, канамицина, неомицина, нетилмицина, стрептомицина, тобрамицина, цефадроксила, цефазолина, цефалексина, цефаклора, цефамандола, цефалексина, цефокситина, цефпрозила, цефуроксима, азитромицина, кларитромицина,

диритромицина, эритромицина, рокситромицина, телитромицина, карбомицина А, джозамицина, китазамицина, мидекамицина, олеандомицина, спирамицина, тролеандомицина и тилозина или любой их комбинации; например, амикацина, тобрамицина, гентамицина и нетилмицина, или любой их комбинации.

5 В конкретном воплощении альгинатные олигомеры могут быть использованы согласно настоящему изобретению для преодоления устойчивости к азитромицину и/или цiproфлоксацину, или чаще всего к классам антибиотиков, к которым они принадлежат, а именно, к макролидам (например, азитромицину, кларитромицину, диритромицину, эритромицину, рокситромицину, телитромицину, карбомицину А, 10 джозамицину, китазамицину, мидекамицину, олеандомицину, спирамицину, тролеандомицину, тилозину) и хинолонам (например, цiproфлоксацину, эноксацину, гатифлоксацину, левофлоксацину, ломефлоксацину, моксифлоксацину, норфлоксацину, офлоксацину, тровафлоксацину).

Как показано в Примерах ниже, альгинатные олигомеры, как было обнаружено, 15 являются особенно эффективными в потенцировании эффектов этих классов антибиотиков (а именно, макролидов и/или хинолонов). Кроме того, альгинатные олигомеры являются особенно эффективными в потенцировании эффектов β -лактамных антибиотиков и могут потенцировать эффекты других антибиотиков. В случае трех классов антибиотиков, упомянутых выше, а именно макролидов, хинолонов и/или В- 20 лактамов, можно видеть, что альгинатные олигомеры имеют синергетический эффект с антибиотиками. Более конкретно, потенцирующий эффект альгинатных олигомеров можно также видеть с бактериями, которые не являются MDR. Соответственно, при более широком рассмотрении, изобретение может быть связано с применением альгинатных олигомеров в сочетании (или комбинации) с макролидным, хинолоновым 25 и/или β -лактамным антибиотиком, например, для борьбы с бактериями, более конкретно, для лечения или борьбы с бактериальной инфекцией и/или контаминацией (т.е. колонизацией) или альтернативно, например, для потенцирования эффекта антибиотика. Это обсуждается более подробно ниже.

В контексте "MDR" аспектов настоящего изобретения, альгинатные олигомеры по 30 изобретению могут быть использованы для преодоления устойчивости у MDR-бактерий к одному или более из любых вышеупомянутых антибиотиков, и поэтому способы по изобретению охватывают применение альгинатных олигомеров по изобретению вместе с антибиотиком, к которому MDR-бактерия устойчива, для борьбы с этой MDR-бактерией. В предпочтительных воплощениях способов по изобретению используемый 35 антибиотик представляет собой антибиотик, выбранный из макролидов, β -лактамов, тетрациклинов и хинолонов. В дополнительном воплощении могут быть включены полипептидные антибиотики и/или аминогликозиды. В альтернативных воплощениях антибиотик не включает аминогликозид и/или полипептидный антибиотик (например, колистин). Более конкретно, в воплощениях, изложенных выше, антибиотик может 40 быть выбран из макролидов, монобактамов, карбапенемов, карбацефемов, цефалоспоринов 3-го и 4-го поколения, тетрациклинов и хинолонов. В более конкретных типичных воплощениях антибиотик может быть выбран из макролидов, β -лактамов, тетрациклинов и хинолонов, например, макролидов, монобактамов, карбапенемов, карбацефемов, цефалоспоринов 3-го и 4-го поколения, тетрациклинов и хинолонов. В 45 более конкретных типичных воплощениях антибиотик может быть выбран из макролидов, β -лактамов и хинолонов например, макролидов, монобактамов, карбапенемов, карбацефемов, цефалоспоринов 3-го и 4-го поколения и хинолонов. Например, антибиотик может быть выбран из амикацина, гентамицина, канамицина,

неомицина, нетилмицина, стрептомицина, тобрамицина, азитромицина, кларитромицина, диритромицина, эритромицина, рокситромицина, телитромицина, карбомицина А, джозамицина, китазамицина, мидекамицина, олеандомицина, спирамицина, тилозина, тролеандомицина, азтреонама, имипенема, меропенема, эртапенема, дорипенема, панипенема/бетамипрона, биапенема, PZ-601, цефиксима, цефдинира, цефдиторена, цефоперазона, цефотаксима, цефподоксима, цефтазидима, цефтибутена, цефтизоксима, цефтриаксона, цефепима, демеклоциклина, доксициклина, миноциклина, окситетрациклина, тетрациклина, бацитрацина, колистина, полимиксина В, цiproфлуксацина, энноксацина, гатифлуксацина, левофлуксацина, ломефлуксацина, моксифлуксацина, норфлуксацина, офлуксацина и тровафлуксацина. В частности, антибиотик может быть выбран из цефтазидима, имипенема/циластатина, меропенема, азтреонама, окситетрациклина, азитромицина, кларитромицина, диритромицина, эритромицина, рокситромицина, спирамицина и цiproфлуксацина, и особенно предпочтительно, антибиотик выбран из цефтазидима, имипенема/циластатина, меропенема, азтреонама, азитромицина, кларитромицина, диритромицина, эритромицина, рокситромицина, спирамицина и цiproфлуксацина. Более предпочтительно, антибиотик выбран из азтреонама, азитромицина, кларитромицина, диритромицина, эритромицина, рокситромицина, спирамицина и цiproфлуксацина. В других воплощениях используемый антибиотик не является тобрамицином, амикацином и/или колистином. В других воплощениях используемый антибиотик не является аминокликозидом или полипептидным антибиотиком. В других воплощениях используемый антибиотик не является антибиотиком, который имеет положительный заряд в условиях, когда его будут использовать вместе с альгинатным олигомером, например, антибиотиками с по меньшей мере 3, например, по меньшей мере 4, 5, 6 или 7 amino (-NH₂) группами.

Как указано выше, в более общих терминах альгинатные олигомеры по изобретению являются эффективными при потенцировании эффектов антибиотиков, например, любых из описанных выше. Таким образом, альгинатные олигомеры по изобретению могут быть использованы для увеличения (или улучшения) эффективности антибиотиков вообще. Особенно хорошие эффекты наблюдали с макролидами, β-лактамами, тетрациклинами и хинолонами, например, макролидами, монобактамами, карбапенемами, цефалоспоридами 3-го и 4-го поколения, тетрациклинами и хинолонами; и, в частности, цефтазидимом, имипенемом/циластатином, меропенемом, азтреонамом, окситетрациклином, азитромицином, кларитромицином, диритромицином, эритромицином, рокситромицином, спирамицином и цiproфлуксацином. Поэтому альгинатные олигомеры по изобретению могут быть использованы для увеличения (или улучшения) эффективности (или эффективности действия) антибиотиков, описанных в данной заявке, или, более конкретно, их специализированных подгрупп, в частности, для ингибирования роста бактерий, особенно MDR-бактерий. Например, дозу антибиотика, используемого вместе с альгинатными олигомерами по изобретению, можно в результате снизить.

Что касается азитромицина, кларитромицина, диритромицина, эритромицина, рокситромицина и спирамицина (или в более общем виде, макролидов в качестве класса антибиотиков), то, как указано выше, данные, представленные в Примерах, показывают в общем, что альгинатные олигомеры могут потенцировать эффекты этих антибиотиков (и этого класса) против целого ряда различных бактерий. Таким образом, альгинатные олигомеры могут быть использованы для увеличения (или улучшения) эффективности этих антибиотиков (или особенно антибиотиков класса макролидов), например, с тем

чтобы позволить использовать более низкую дозу антибиотика.

Таким образом, в другом аспекте в изобретении предложен способ увеличения эффективности макролидного антибиотика и, в частности, эффективности (или эффективности действия) макролидного антибиотика для ингибирования роста и/или жизнеспособности бактерий (который включает ингибирование роста бактериальной популяции, а также роста бактерии), включающий применение указанного антибиотика вместе (в сочетании или в комбинации) с альгинатным олигомером (который может представлять собой любой альгинатный олигомер, как определено в данной заявке). Более конкретно, используемая стадия может включать приведение бактерий в контакт с альгинатным олигомером в то же время или по существу в то же время или перед приведением бактерий в контакт с макролидным антибиотиком. В частности и в соответствии с описанным в данной заявке (и конкретно с определениями, предложенными в данной заявке), которое можно прочесть как относящееся ко всем аспектам настоящего изобретения, стадия приведения бактерии в контакт с альгинатным олигомером может включать введение альгинатного олигомера субъекту. Обычно макролидный антибиотик используют или вводят одновременно с олигомером или почти немедленно до или после олигомера. Однако макролидный антибиотик можно применять или вводить по меньшей мере через 1 час, по меньшей мере через 3 часа, по меньшей мере через 6 часов после олигомера. В этих воплощениях макролидный антибиотик можно применять или вводить с дальнейшим применением или без дальнейшего применения альгинатного олигомера. Олигомер можно применять или вводить в большинстве случаев перед или с макролидным антибиотиком. Другие режимы введения доз (например, где антибиотик вводят перед олигомером) описаны более подробно выше и с соответствующими изменениями используются в данном аспекте изобретения.

Макролидный антибиотик может быть выбран из группы азитромицина, кларитромицина, диригтромицина, эритромицина, рокситромицина, телитромицина, карбомицина А, джозамицина, китазамицина, мидекамицина, олеандомицина, спирамицина, тролеандомицина, тилозина. Предпочтительно, макролидный антибиотик представляет собой азалидный макролид, предпочтительно азитромицин. Бактерия может быть из семейства, рода или вида бактерий (например, она может представлять собой любую из бактерий, обсужденных и рассмотренных выше). Предпочтительно, она представляет собой MDR-бактерию, как определено выше. Предпочтительно, она выбрана из группы *Pseudomonas* (например, *Pseudomonas aeruginosa*), *Staphylococcus* (например, *Staphylococcus aureus*), *Streptococcus* (например, *Streptococcus agalactiae*, *Streptococcus pneumoniae*, *Streptococcus pyogenes*), *Haemophilus* (например, *Haemophilus ducreyi*, *Haemophilus influenzae*), *Moraxella* (например, *Moraxella catarrhalis*), *Neisseria* (например, *Neisseria gonorrhoeae*), *Chlamydia* (например, *Chlamydia pneumoniae*, *Chlamydia trachomatis*), *Mycoplasma* (например, *Mycoplasma pneumoniae*), *Helicobacter* (например, *Helicobacter pylori*), *Salmonella* (например, *Salmonella typhi*) *Burkholderia* (например, *Burkholderia cepacia*, *Burkholderia mallei*, *Burkholderia pseudomallei*), *Acinetobacter* (например, *Acinetobacter baumannii*, *Acinetobacter Iwoffii*), *Providencia* (например, *Providencia stuartii*, *Providencia rettgeri*, *Providencia alcalifaciens*) и *Klebsiella* (например, *Klebsiella oxytoca*).

Локализация бактерии или популяции не ограничена (например, она может представлять собой любую из локализаций, обсужденных и рассмотренных ниже). В одном воплощении бактерия или популяция не будет находиться в биопленке. В одном воплощении бактерия или популяция будет находиться в биопленке. Таким образом, способ может представлять собой способ *in vitro* или *in vivo*. В последнем случае способ

можно рассматривать как способ лечения бактериальной инфекции у субъекта (например, тех бактериальных инфекций и субъектов, описанных и рассмотренных выше или где-либо в другом месте данной заявки), включающий введение субъекту фармацевтически эффективного количества альгинатного олигомера по существу в то же время или перед введением фармацевтически эффективного количества макролидного антибиотика.

Таким образом, в изобретении предложен альгинатный олигомер для применения вместе (или в комбинации или совместно) с макролидным антибиотиком для лечения бактериальной инфекции у субъекта. "Применение вместе" является таким, как определено выше.

Альтернативно, в изобретении предложено применение альгинатного олигомера для изготовления лекарственного средства для применения вместе с макролидным антибиотиком в лечении бактериальной инфекции у субъекта. Лекарственное средство может дополнительно содержать макролидный антибиотик.

Лекарственное средство может быть в форме отдельной композиции или препарата, содержащих альгинатный олигомер и макролидный(е) антибиотик(и), или могут быть получены или использованы отдельные композиции или препараты, каждый из которых содержит альгинатный олигомер или макролидный(е) антибиотик(и), соответственно.

Таким образом, в более конкретном аспекте в настоящем изобретении предложено применение альгинатного олигомера и по меньшей мере одного макролидного антибиотика для изготовления лекарственного средства для применения в лечении бактериальной инфекции у субъекта.

Таким образом, в дополнительном аспекте в настоящем изобретении предложен продукт, содержащий альгинатный олигомер и макролидный антибиотик (или один или более макролидных антибиотиков) в виде комбинированного препарата для раздельного, одновременного или последовательного применения в лечении бактериальной инфекции у субъекта.

Как указано выше, в этих аспектах изобретения альгинатный олигомер может улучшить эффективность антибиотика и, в частности, эффективность (или эффективность действия) антибиотика в ингибировании бактериального роста.

Улучшение эффективности антибиотика включает любой аспект улучшения или усиления действия антибиотика, например, таким образом, чтобы антибактериальное действие антибиотика увеличивалось или усиливалось любым путем относительно действия антибиотика, наблюдаемого в отсутствие альгинатного олигомера. Это можно видеть, например, в более сильном воздействии антибиотика на ингибирование роста бактерий, требующего меньше антибиотика для достижения такого же эффекта, наблюдаемого в отсутствие альгинатного олигомера, или увеличенная эффективность видна по увеличению скорости или уровня действия, причем ингибирующее действие наблюдается в более короткие сроки, чем в отсутствие олигомера.

Ссылки на "улучшение эффективности макролидного антибиотика в отношении ингибирования роста и/или жизнеспособности бактерий" и т.д. соответственно могут означать, что альгинатный олигомер делает макролидный антибиотик по меньшей мере в два раза, или по меньшей мере в четыре раза, по меньшей мере в восемь раз, по меньшей мере в шестнадцать раз или по меньшей мере в тридцать два раза более эффективным в ингибировании бактериального роста (например, действия в качестве бактериостатического агента). Другими словами, олигомер может по меньшей мере в два раза, по меньшей мере в четыре раза, по меньшей мере в восемь раз, по меньшей мере в шестнадцать раз или по меньшей мере в тридцать два раза увеличивать

эффективность макролидного антибиотика в ингибировании роста бактерий.

Ингибиторный эффект макролидного антибиотика можно измерить путем оценки минимальной ингибирующей концентрации (МИС), т.е. такой концентрации макролидного антибиотика, которая полностью ингибирует рост бактерий. Уменьшение в два раза МИС соответствует двукратному увеличению ингибиторного эффекта макролидного антибиотика. Уменьшение в четыре раза МИС соответствует четырехкратному увеличению ингибиторного эффекта.

Этот аспект также позволяет уменьшать концентрацию макролидного антибиотика, вводимого субъекту или применяемому локально при сохранении такой же эффективности. Это может быть предпочтительно, если макролидный антибиотик является дорогим или ассоциирован с побочными эффектами. Минимизация применения антибиотиков также желательна для минимизации развития резистентности. Согласно изобретению, применение альгинатного олигомера, как описано выше, т.е. в то же время или по существу в то же время или перед введением макролидного антибиотика позволяет использовать антибиотик в концентрации, которая составляет менее 50%, менее 25%, менее 10% или менее 5% количества, в норме вводимого/применяемого для достижения определенного уровня ингибирования роста бактерий в отсутствие альгинатного олигомера.

В этом аспекте альгинатные олигомеры могут представлять собой любые из описанных и, в частности, указанные выше как предпочтительные, и альгинатные олигомеры будут применяться к бактериям и/или к месту их расположения при локальной концентрации по меньшей мере 2%, по меньшей мере 4%, по меньшей мере 6%, по меньшей мере 8% или по меньшей мере 10% массы по объему.

Альгинатные олигомеры могут аналогичным образом потенцировать эффекты ципрофлоксацина (и хинолонов в качестве класса антибиотиков) и азтреонама (и β -лактамов, например, монобактамов в качестве класса антибиотиков) и, таким образом, могут применяться для увеличения (или улучшения) эффективности этих антибиотиков (или в более общем смысле классов антибиотиков хинолонов и β -лактамов, например, монобактамов), например, для обеспечения использования более низкой дозы этих антибиотиков. Соответственно, альгинатные олигомеры могут быть использованы аналогично описанному выше для макролидных антибиотиков для увеличения эффективности этих антибиотиков, и утверждения, сделанные выше в контексте макролидов применяют аналогично также к классам антибиотиков хинолонов и/или β -лактамов.

В контексте "MDR" аспектов изобретения, в других воплощениях MDR-бактерия, на которую направлен способ по изобретению, представляет собой бактерию, устойчивую по меньшей мере к одному антибиотику, который является традиционным или стандартным (например, клинически утвержденным) лечением для (или против) этой бактерии. Специалист обычно знает традиционные и рекомендованные антибиотики для лечения любой конкретной бактериальной инфекции или болезни. Факторы, которые определяют традиционное лечение, хорошо известны специалисту и включают природу и локализацию бактерии, внутреннюю восприимчивость бактерии, необходимый путь введения и соответствующую фармакокинетику антибиотиков. Как правило, антибиотик, используемый для традиционного лечения бактерии, будет представлять собой антибиотик, к которому исходная (т.е. типичная или дикого типа) бактерия данного вида не имеет внутренней резистентности *in vitro* и/или в клинических условиях. Как описано выше, специалист сможет использовать рутинные анализы для определения этой информации для любого антибиотика или бактерии, эту стандартную информацию

он не мог бы получить из литературы или общих знаний.

Альтернативно определено, что в некоторых воплощениях MDR-бактерия, которая является мишенью согласно изобретению, представляет собой бактерию, которая приобрела (развила) некоторую степень устойчивости или полную устойчивость к антибиотикам. В частности, такая устойчивость к антибиотикам приобретается в клинических условиях. Конкретные штаммы бактерии, которые приобрели множественную устойчивость к антибиотикам, иногда называют MDR-штаммами, поскольку их резистентный фенотип отличается от фенотипа соответствующего штамма (например, штамма дикого типа или "типичного" штамма), который не приобрел множественной лекарственной устойчивости, но демонстрирует только природную или внутреннюю устойчивость, которая характеризует данный вид. Поэтому в особенно предпочтительных воплощениях бактерия, на которую нацелено изобретение, представляют собой бактерию из MDR-штамма вида бактерий (например, штамма, известного или идентифицированного в данной области как MDR). В этих воплощениях MDR-бактерия (например, бактерия из MDR-штамма бактерий), на которую нацелен способ по изобретению, приобрела или развила устойчивость по меньшей мере к 1, например, по меньшей мере к 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 или 10 структурно и/или функционально различным антибиотикам или классам антибиотиков. В некоторых случаях полная устойчивость бактерии (например, бактерии из MDR-штамма бактерий) к антибиотикам приобретается или развивается и никакая устойчивость не является внутренней, но, как указано выше, не обязательно, чтобы приобретался MDR-фенотип, и MDR-бактерия, которую лечат согласно настоящему изобретению, может быть MDR по сути (или по своей природе).

MDR-бактерия, на которую нацелено изобретение, может быть выбрана из любых родов или видов бактерий. Примеры родов или видов бактерий включают, но не ограничиваются этим, *Abiotrophia*, *Achromobacter*, *Acidaminococcus*, *Acidovorax*, *Acinetobacter*, *Actinobacillus*, *Actinobaculum*, *Actinomadura*, *Actinomyces*, *Aerococcus*, *Aeromonas*, *Afipia*, *Agrobacterium*, *Alcaligenes*, *Alloiococcus*, *Alteromonas*, *Amycolata*, *Amycolatopsis*, *Anaerobospirillum*, *Anaerorhabdus*, *Arachnia*, *Arcanobacterium*, *Arcobacter*, *Arthrobacter*, *Atopobium*, *Aureobacterium*, *Bacteroides*, *Balneatrix*, *Bartonella*, *Bergeyella*, *Bifidobacterium*, *Bilophila*, *Branhamella*, *Borrelia*, *Bordetella*, *Brachyspira*, *Brevibacillus*, *Brevibacterium*, *Brevundimonas*, *Brucella*, *Burkholderia*, *Buttiauxella*, *Butyrivibrio*, *Calymmatobacterium*, *Campylobacter*, *Capnocytophaga*, *Cardiobacterium*, *Catonella*, *Cedecea*, *Cellulomonas*, *Centipeda*, *Chlamydia*, *Chlamydophila*, *Chromobacterium*, *Chyseeobacterium*, *Chryseomonas*, *Citrobacter*, *Clostridium*, *Collinsella*, *Comamonas*, *Corynebacterium*, *Coxiella*, *Cryptobacterium*, *Delftia*, *Dermabacter*, *Dermatophilus*, *Desulfomonas*, *Desulfovibrio*, *Dialister*, *Dichelobacter*, *Dolosicoccus*, *Dolosigranulum*, *Edwardsiella*, *Eggerthella*, *Ehrlichia*, *Eikenella*, *Empedobacter*, *Enterobacter*, *Enterococcus*, *Erwinia*, *Erysipelothrix*, *Escherichia*, *Eubacterium*, *Ewingella*, *Exiguobacterium*, *Facklamia*, *Filifactor*, *Flavimonas*, *Flavobacterium*, *Francisella*, *Fusobacterium*, *Gardnerella*, *Globicatella*, *Gemella*, *Gordona*, *Haemophilus*, *Hafnia*, *Helicobacter*, *Helococcus*, *Holdemania*, *Ignavigranum*, *Johnsonella*, *Kingella*, *Klebsiella*, *Kocuria*, *Koserella*, *Kurthia*, *Kytococcus*, *Lactobacillus*, *Lactococcus*, *Lautropia*, *Leclercia*, *Legionella*, *Leminorella*, *Leptospira*, *Leptotrichia*, *Leuconostoc*, *Listeria*, *Listonella*, *Megasphaera*, *Methylobacterium*, *Microbacterium*, *Micrococcus*, *Mitsuokella*, *Mobiluncus*, *Moellerella*, *Moraxella*, *Morganella*, *Mycobacterium*, *Mycoplasma*, *Myroides*, *Neisseria*, *Nocardia*, *Nocardiosis*, *Ochrobactrum*, *Oeskovia*, *Oligella*, *Orientia*, *Paenibacillus*, *Pantoea*, *Parachlamydia*, *Pasteurella*, *Pediococcus*, *Peptococcus*, *Peptostreptococcus*, *Photobacterium*, *Photorhabdus*, *Plesiomonas*, *Porphyrimonas*, *Prevotella*, *Propionibacterium*, *Proteus*, *Providencia*, *Pseudomonas*, *Pseudonocardia*,

Pseudoramibacter, Psychrobacter, Rahnella, Ralstonia, Rhodococcus, Rickettsia, Rochalimaea, Roseomonas, Rothia, Ruminococcus, Salmonella, Selenomonas, Serpulina, Serratia, Shewanella, Shigella, Simkania, Slackia, Sphingobacterium, Sphingomonas, Spirillum, Staphylococcus, Stenotrophomonas, Stomatococcus, Streptobacillus, Streptococcus, Streptomyces, Succinivibrio, Sutterella, Suttonella, Tatumella, Tissierella, Trabulsiella, Treponema, Tropheryma, Tsakamurella, Turicella, Ureaplasma, Vagococcus, Veillonella, Vibrio, Weeksella, Wolinella, Xanthomonas, Xenorhabdus, Yersinia и Yokenella; например, грамположительные бактерии, такие как *M. tuberculosis*, *M. bovis*, *M. typhimurium*, *M. bovis* strain BCG, BCG substrains, *M. avium*, *M. intracellulare*, *M. africanum*, *M. kansasii*, *M. marinum*, *M. ulcerans*, *M. avium* subsp. *paratuberculosis*, *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Staphylococcus equi*, *Streptococcus pyogenes*, *Streptococcus agalactiae*, *Listeria monocytogenes*, *Listeria ivanovii*, *Bacillus anthracis*, *B. subtilis*, *Nocardia asteroides*, *Actinomyces israelii*, *Propionibacterium acnes*, *Clostridium tetani*, *Clostridium perfringens*, *Clostridium botulinum* и *Enterococcus* species, и грамотрицательные бактерии, такие как *Pseudomonas aeruginosa*, *Vibrio cholerae*, *Actinobacillus pleuropneumoniae*, *Pasteurella haemolytica*, *Pasteurella multocida*, *Legionella pneumophila*, *Salmonella typhi*, *Brucella abortus*, *Coxiella burnetti*, *Escherichia coli*, *Neisseria meningitidis*, *Neisseria gonorrhoea*, *Haemophilus influenzae*, *Haemophilus ducreyi*, *Yersinia pestis*, *Yersinia enterocolitica*, *Escherichia hirae*, *Burkholderia cepacia*, *Burkholderia mallei*, *Burkholderia pseudomallei*, *Francisella tularensis*, *Bacteroides fragilis*, *Fusobacterium nucleatum*, *Cowdria ruminantium*, *Moraxella catarrhalis*, *Klebsiella pneumoniae*, *Proteus mirabilis*, *Enterobacter cloacae*, *Serratia marcescens*, *Helicobacter pylori*, *Salmonella enteritidis*, *Salmonella typhi* и *Acinetobacter baumannii*, *Acinetobacter Iwoffii*, *Providencia stuartii*, *Providencia rettgeri*, *Providencia alcalifaciens* и *Klebsiella oxytoca*, и не определяющиеся по Граму бактерии, такие как *Chlamydia trachomatis*, *Chlamydia psittaci*.

Предпочтительно, MDR-бактерия, на которую нацелено изобретение, выбрана из следующих родов: *Achromobacter*, *Acinetobacter*, *Actinobacillus*, *Aeromonas*, *Agrobacterium*, *Alcaligenes*, *Alteromonas*, *Bacteroides*, *Bartonella*, *Borrelia*, *Bordetella*, *Brucella*, *Burkholderia*, *Campylobacter*, *Cardiobacterium*, *Chlamydia*, *Chlamydophila*, *Chromobacterium*, *Chryseobacterium*, *Chryseomonas*, *Citrobacter*, *Clostridium*, *Comamonas*, *Corynebacterium*, *Coxiella*, *Cryptobacterium*, *Edwardsiella*, *Eikenella*, *Enterobacter*, *Enterococcus*, *Erwinia*, *Kingella*, *Klebsiella*, *Lactobacillus*, *Lactococcus*, *Legionella*, *Leptospira*, *Leptotrichia*, *Leuconostoc*, *Listeria*, *Listonella*, *Mobiluncus*, *Moraxella*, *Morganella*, *Mycobacterium*, *Mycoplasma*, *Neisseria*, *Nocardia*, *Nocardiosis*, *Pantoea*, *Parachlamydia*, *Pasteurella*, *Peptococcus*, *Peptostreptococcus*, *Prevotella*, *Propionibacterium*, *Proteus*, *Providencia*, *Pseudomonas*, *Ralstonia*, *Rickettsia*, *Salmonella*, *Shewanella*, *Shigella*, *Sphingobacterium*, *Sphingomonas*, *Staphylococcus*, *Stenotrophomonas*, *Streptobacillus*, *Streptococcus*, *Streptomyces*, *Treponema* и *Yersinia*.

Как указано выше, изобретение включает как медицинское, так и немедицинское применения и, следовательно, бактерии, от которых можно лечить или с которыми можно бороться согласно настоящему изобретению, включают не только клинически значимые штаммы, но любые бактерии, которые могут представлять проблему колонизации или контаминации. В некоторых аспектах клинически значимые роды, виды или штаммы бактерий являются предпочтительными.

В некоторых воплощениях MDR-бактерия выбрана из родов *Acinetobacter*, *Klebsiella*, *Providencia*, *Pseudomonas* и *Burkholderia*, например, бактерия представляет собой вид, выбранный из *Acinetobacter baumannii*, *Acinetobacter baylyi*, *Acinetobacter bouvetii*, *Acinetobacter calcoaceticus*, *Acinetobacter gerneri*, *Acinetobacter grimontii*, *Acinetobacter haemolyticus*, *Acinetobacter johnsonii*, *Acinetobacter junii*, *Acinetobacter Iwoffii*, *Acinetobacter parvus*, *Acinetobacter radioresistens*, *Acinetobacter schindleri*, *Acinetobacter tandoii*, *Acinetobacter*

tjernbergiae, *Acinetobacter townieri*, *Acinetobacter ursingii*, *Klebsiella granulomatis*, *Klebsiella oxytoca*, *Klebsiella pneumoniae*, *Klebsiella singaporensis*, *Klebsiella variicola*, *Providencia stuartii*, *Providencia sneebia*, *Providencia rettgeri*, *Providencia rustigianii*, *Providencia heimbachae*, *Providencia burhodogranariae*, *Providencia alcalifaciens*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Pseudomonas alcaligenes*, *Pseudomonas anguilliseptica*, *Pseudomonas argentinensis*, *Pseudomonas borbori*, *Pseudomonas citronellolis*, *Pseudomonas flavescens*, *Pseudomonas mendocina*, *Pseudomonas nitroreducens*, *Pseudomonas oleovorans*, *Pseudomonas pseudoalcaligenes*, *Pseudomonas resinovorans*, *Pseudomonas straminea*, *Pseudomonas cremoricolorata*, *Pseudomonas fulva*, *Pseudomonas monteili*, *Pseudomonas mosselii*, *Pseudomonas oryzae*, *Pseudomonas parafulva*, *Pseudomonas plecoglossicida*, *Pseudomonas putida*, *Pseudomonas balearica*, *Pseudomonas luteola*, и *Pseudomonas stutzeri*, *Burkholderia ambifaria*, *Burkholderia andropogonis*, *Burkholderia anthina*, *Burkholderia brasiliensis*, *Burkholderia caledonica*, *Burkholderia caribensis*, *Burkholderia caryophylli*, *Burkholderia cenocepacia*, *Burkholderia cepacia*, *Burkholderia dolosa*, *Burkholderia fungorum*, *Burkholderia gladioli*, *Burkholderia glathei*, *Burkholderia glumae*, *Burkholderia graminis*, *Burkholderia hospita*, *Burkholderia kururiensis*, *Burkholderia mallei*, *Burkholderia multivorans*, *Burkholderia phenazinium*, *Burkholderia phenoliruptrix*, *Burkholderia phymatum*, *Burkholderia phytofirmans*, *Burkholderia plantarii*, *Burkholderia pseudomallei*, *Burkholderia pyrrocinia*, *Burkholderia sacchari*, *Burkholderia singaporensis*, *Burkholderia sordidicola*, *Burkholderia stabilis*, *Burkholderia terricola*, *Burkholderia thailandensis*, *Burkholderia tropica*, *Burkholderia tuberum*, *Burkholderia ubonensis*, *Burkholderia unamae*, *Burkholderia vietnamiensis*, и *Burkholderia xenovorans*. Виды *Burkholderia* имеют особое значение, особенно *Burkholderia cepacia*, *Burkholderia pseudomallei* и *Burkholderia mallei*; например, *Burkholderia cepacia*.

Таким образом, изобретение можно использовать против грамположительных или грамотрицательных бактерий или же не определенных по Граму бактерий. Грамотрицательные бактерии, например, перечисленные выше, имеют важное значение. Среди грамотрицательных бактерий *Enterobacteriaceae* и грамотрицательные бактерии неферментирующие бактерии имеют особое значение.

Enterobacteriaceae включают, но не ограничиваются этим, бактерии из родов *Alishewanella*, *Alterococcus*, *Aquamonas*, *Aranicola*, *Azotivirga*, *Brenneria*, *Budvicia*, *Buttiauxella*, *Cedecea*, *Citrobacter*, *Cronobacter*, *Dickeya*, *Edwardsiella*, *Enterobacter*, *Erwinia*, *Escherichia*, *Ewingella*, *Grimontella*, *Hafnia*, *Klebsiella*, *Kluyvera*, *Leclercia*, *Leminorella*, *Moellerella*, *Morganella*, *Obesumbacterium*, *Pantoea*, *Pectobacterium*, *Phlomobacter*, *Photorhabdus*, *Plesiomonas*, *Pragia*, *Proteus*, *Providencia*, *Rahnella*, *Raoultella*, *Salmonella*, *Samsonia*, *Serratia*, *Shigella*, *Sodalis*, *Tatumella*, *Trabulsiella*, *Wigglesworthia*, *Xenorhabdus*, *Yersinia*, *Yokenella*. Предпочтительные роды *Enterobacteriaceae* включают *Escherichia*, *Klebsiella*, *Salmonella*, *Shigella*, *Yersinia* и *Providencia*.

Неферментирующие грамотрицательные бактерии включают, но не ограничиваются этим, бактерии из родов *Pseudomonas*, *Acinetobacter*, *Stenotrophomonas* и *Burkholderia*, *Achromobacter*, *Alcaligenes*, *Bordetella*, *Brevundimonas*, *Comamonas*, *Elizabethkingia* (раньше *Chryseobacterium*), *Methylobacterium*, *Moraxella*, *Ochrobactrum*, *Oligella*, *Psychrobacter*, *Ralstonia*, *Roseomonas*, *Shewanella*, *Sphingobacterium*, например, *Pseudomonas aeruginosa*, *Acinetobacter baumannii*, *Stenotrophomonas maltophilia* и *Burkholderia* spp.

Предпочтительно, бактерия может быть выбрана из родов *Pseudomonas*, *Acinetobacter*, *Stenotrophomonas*, *Burkholderia*, *Escherichia*, *Klebsiella*, *Providencia*, *Streptococcus*, *Staphylococcus*, например, *Pseudomonas aeruginosa*, *Acinetobacter baumannii*, *Stenotrophomonas maltophilia*, *Burkholderia* spp, *E.coli*, *Klebsiella pneumoniae* и *Burkholderia cepacia*, *Burkholderia mallei*, *Burkholderia pseudomallei*, *Acinetobacter Iwoffii*, *Providencia stuartii*, *Providencia rettgeri*,

Providencia alcalifaciens, *Klebsiella oxytoca*, *Pseudomonas anguilliseptica*, *Pseudomonas oryzae*, *Pseudomonas plecoglossicida*, *Pseudomonas luteola*, и MRSA.

Результаты, представленные в Примерах ниже, показывают, в частности, что альгинатные олигомеры могут быть использованы вместе с различными антибиотиками против MDR-штаммов *Pseudomonas* и особенно MDR-штаммов *P. aeruginosa*. Результаты также показывают, что альгинатные олигомеры можно эффективно использовать с различными антибиотиками против видов *Acinetobacter* и особенно *A. baumannii* и *A. Iwoffii*; против видов *Burkholderia*, и особенно *B. cepacia*; против видов *Providencia* и особенно *P. stuartii*; против видов *Klebsiella* и особенно *Klebsiella pneumoniae*; против *Streptococcus* и особенно *Streptococcus oralis*; против *Staphylococcus* и особенно MRSA; против *Escherichia* и особенно *Escherichia coli*, и эту устойчивость к антибиотикам в этих родах/видах можно преодолеть.

В этой связи, данные в целом показывают, что альгинатные олигомеры могут быть особенно эффективными в потенцировании (или улучшении/увеличении эффективности) действия антибиотиков против видов *Acinetobacter* и особенно *A. baumannii*, и видов *Burkholderia* и особенно *B. cepacia*. Это приводит к предположению, что в одном аспекте изобретение в более общем плане относится к применению альгинатных олигомеров в сочетании (или комбинации) с антибиотиком для борьбы (или для ингибирования роста и/или жизнеспособности) *Acinetobacter* и/или *Burkholderia* (т.е. видов *Acinetobacter* и/или *Burkholderia* в целом), например, для лечения или борьбы с инфекцией и/или контаминацией (т.е. колонизацией) этими бактериями.

В некоторых аспектах бактерия, на которую нацелено изобретение, может альтернативно рассматриваться как клинически значимая бактерия, например, бактерия, которая, как известно, связана с заболеванием и/или инфекцией у субъектов; особенно с заболеваниями и инфекциями, которые не отвечают по меньшей мере на 3 структурно и/или функционально различных антибиотика или по меньшей мере 3 класса антибиотиков, более конкретно, по меньшей мере на 4, 5, 6, 7, 8, 9 или 10 структурно и/или функционально различных антибиотиков или классов антибиотиков, обычно используемых в лечении этого заболевания и/или инфекции. Более конкретно, бактерия, на которую нацелено изобретение, может быть из клинически значимого MDR-штамма бактерий. Бактерия может вызывать или приводить к клинически значимым или клинически важным инфекциям, другими словами, инфекциям, которые являются причиной значительных клинических проблем. Например, бактерия может представлять собой бактерию, ассоциированную с нозокомиальными инфекциями, инфекциями в дыхательных путях пациентов, например, пациентов, страдающих от муковисцидоза, хронической обструктивной болезни легких, застойной обструктивной болезни дыхательных путей/застойной обструктивной пневмонии дыхательных путей (COAD/COAP), пневмоний, эмфиземы, бронхита и синусита; инфекциями в хронических ранах (включая ожоги); связанными с устройством инфекциями, ассоциированными с имплантируемыми или протезными медицинскими устройствами, например, эндокардитом протезированных клапанов или инфекцией трубок (lines), или катетеров, или искусственных суставов, или тканевых реплантаций, или эндотрахеальных или трахеотомических трубок. Примеры этих типов бактерий включают *Pseudomonas aeruginosa*, *Acinetobacter baumannii*, *Stenotrophomonas maltophilia*, *Burkholderia* spp (например, *B. cepacia*), *E. coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Staphylococcus aureus*, метициллин-устойчивые *Staphylococcus aureus* (MRSA), *Clostridium difficile*, *Mycobacterium tuberculosis*, *Enterococcus* и Ванкомицин-устойчивые *Enterococcus* и *Providencia stuartii*.

Бактерия, на которую направлен способ по изобретению, может представлять собой

такую же бактерию, которую ранее выделили от субъекта. Таким образом, бактерия представляет собой предпочтительно клинический штамм или клинический изолят. Бактерия, на которую направлен способ по изобретению, может присутствовать в субъекте или на поверхности субъекта. Бактерия может быть известна или обнаружена как MDR, или бактерии может стать MDR во время лечения субъекта. В свете требования для MDR (или MDR статуса), который может быть, а может и не быть, или может включать приобретенную устойчивость, бактерия, от которой лечат согласно настоящему изобретению, обычно не будет стандартным лабораторным штаммом или эталонным штаммом, например, таким штаммом, как *Pseudomonas aeruginosa* PA01 (ATCC 15692) или *Staphylococcus aureus* ATCC 6538. В другом воплощении бактерия не является MRSA (метициллин-устойчивый *Staphylococcus aureus*), например, штаммом 1103.

В типичных воплощениях бактерия может представлять собой MDR-штамм *Pseudomonas aeruginosa*, который устойчив к одному или более антибиотикам, выбранным из пенициллинов, цефалоспоринов, карбапенемов, монобактамов, аминогликозидов, фторхинолонов, макролидов или полипептидов (например, полимиксинов), более конкретно цефалоспоринов, карбапенемов, монобактамов, аминогликозидов, фторхинолонов или макролидов, например, амикацина, цiproфлоксацина, гентамицина, тобрамицина, пиперациллина, тикарциллина, колистина, окситетрациклина, меропенема, цефтазидима, азтреонама, азитромицина, кларитромицина, диритромицина, эритромицина, рокситромицина, спирамицина и имипенема/циластатина; в частности, цiproфлоксацина, колистина, окситетрациклина, меропенема, цефтазидима, азтреонама, азитромицина, кларитромицина, диритромицина, эритромицина, рокситромицина, спирамицина и имипенема/циластатина, и особенно цiproфлоксацина, меропенема, цефтазидима, азтреонама, азитромицина, кларитромицина, диритромицина, эритромицина, рокситромицина, спирамицина и имипенема/циластатина, например, азтреонама, цiproфлоксацина, азитромицина, кларитромицина, диритромицина, эритромицина, рокситромицина и спирамицина.

В других воплощениях бактерия может представлять собой MDR-штамм *Klebsiella pneumoniae*, который устойчив к одному или более антибиотикам, выбранным из пенициллинов, цефалоспоринов, карбапенемов, монобактамов, аминогликозидов, фторхинолонов, макролидов или полипептидов (например, полимиксинов), например, цефотаксима, цефтриаксона, амикацина, гентамицина, цiproфлоксацина, тобрамицина, ампициллина, пиперациллина, тикарциллина, колистина, меропенема, цефтазидима, азтреонама, азитромицина, кларитромицина, диритромицина, эритромицина, рокситромицина, спирамицина, имипенема/циластатина; цефепима, левофлоксацина, норфлоксацина, гатифлоксацина, моксифлоксацина и эртапенема, особенно цiproфлоксацина, колистина, меропенема, цефтазидима, азтреонама, азитромицина, кларитромицина, диритромицина, эритромицина, рокситромицина, спирамицина и имипенема/циластатина, и особенно цiproфлоксацина, меропенема, цефтазидима, азтреонама, азитромицина и имипенема/циластатина, например, азтреонама, цiproфлоксацина, азитромицина, кларитромицина, диритромицина, эритромицина, рокситромицина и спирамицина.

В других воплощениях бактерия может представлять собой MDR-штамм *Acinetobacter baumannii*, который устойчив к одному или более антибиотикам, выбранным из пенициллинов, цефалоспоринов, карбапенемов, монобактамов, глицилциклинов, аминогликозидов, фторхинолонов, макролидов или полипептидов (например, полимиксинов), например, имипенема/циластатина, ампициллина, цефепима, колистина,

рифампина, тигециклина, амикацина, цiproфлoксaцинa, мерoпeнeмa, цeфтaзидимa, азтрeонaмa, азитрoмицинa, клaритрoмицинa, диритрoмицинa, эритрoмицинa, рoкситрoмицинa, спирамицинa и имипeнeмa/цилaстaтинa; в чaстнoсти, coлистинa, цiproфлoксaцинa, мерoпeнeмa, цeфтaзидимa, азтрeонaмa, азитрoмицинa, клaритрoмицинa, диритрoмицинa, эритрoмицинa, рoкситрoмицинa, спирамицинa и имипeнeмa/цилaстaтинa, нaпpимep, азтрeонaмa, цiproфлoксaцинa, азитрoмицинa, клaритрoмицинa, диритрoмицинa, эритрoмицинa, рoкситрoмицинa и спирамицинa.

В других воплощениях бактерия может представлять собой MDR-штамм *Providencia stuartii*, который устойчив к одному или более антибиотикам, выбранным из пенициллинов, цефалоспоринов, карбапенемов, монобактамов, аминогликозидов, фторхинолонов, макролидов или полипептидов (например, полимиксинов), например, цефотаксима, цефтриаксона, амикацина, гентамицина, цiproфлoксaцинa, тобрамицинa, ампициллина, пиперациллина, тикарциллина, колистина, мерoпeнeмa, цeфтaзидимa, азтрeонaмa, азитрoмицинa, клaритрoмицинa, диритрoмицинa, эритрoмицинa, рoкситрoмицинa, спирамицинa, имипeнeмa/цилaстaтинa; цeфeпимa, лeвoфлoксaцинa, нoрфлoксaцинa, гaтифлoксaцинa, мoксифлoксaцинa и эртaпeнeмa, в чaстнoсти, цiproфлoксaцинa, coлистинa, цiproфлoксaцинa, мерoпeнeмa, цeфтaзидимa, азтрeонaмa, азитрoмицинa, клaритрoмицинa, диритрoмицинa, эритрoмицинa, рoкситрoмицинa, спирамицинa и имипeнeмa/цилaстaтинa, и oсoбeннo цiproфлoксaцинa, мерoпeнeмa, цeфтaзидимa, азтрeонaмa, азитрoмицинa и имипeнeмa/цилaстaтинa, нaпpимep, азтрeонaмa, цiproфлoксaцинa, азитрoмицинa, клaритрoмицинa, диритрoмицинa, эритрoмицинa, рoкситрoмицинa и спирамицинa.

В других воплощениях бактерия может представлять собой MDR-штамм *Burkholderia cepacia*, который устойчив к одному или более антибиотикам, выбранным из пенициллинов, цефалоспоринов, карбапенемов, монобактамов, аминогликозидов, фторхинолонов, макролидов или полипептидов (например, полимиксинов), например, цефотаксима, цефтриаксона, амикацина, гентамицина, цiproфлoксaцинa, тобрамицинa, ампициллина, пиперациллина, тикарциллина, колистина, мерoпeнeмa, цeфтaзидимa, азтрeонaмa, азитрoмицинa, клaритрoмицинa, диритрoмицинa, эритрoмицинa, рoкситрoмицинa, спирамицинa, имипeнeмa/цилaстaтинa; цeфeпимa, лeвoфлoксaцинa, нoрфлoксaцинa, гaтифлoксaцинa, мoксифлoксaцинa и эртaпeнeмa, в чaстнoсти, цiproфлoксaцинa, coлистинa, цiproфлoксaцинa, мерoпeнeмa, цeфтaзидимa, азтрeонaмa, азитрoмицинa, клaритрoмицинa, диритрoмицинa, эритрoмицинa, рoкситрoмицинa, спирамицинa и имипeнeмa/цилaстaтинa, и oсoбeннo цiproфлoксaцинa, мерoпeнeмa, цeфтaзидимa, азтрeонaмa, азитрoмицинa и имипeнeмa/цилaстaтинa, нaпpимep, азтрeонaмa, цiproфлoксaцинa, азитрoмицинa, клaритрoмицинa, диритрoмицинa, эритрoмицинa, рoкситрoмицинa и спирамицинa.

Данные из Примеров неожиданно показали, что альгинатные олигомеры по изобретению являются особенно эффективными в усилении (увеличении эффективности (или эффективности действия)) антибиотиков против бактерий рода *Burkholderia*. Как обсуждалось выше, *Burkholderia* представляет важный род бактерий, так как они вызывают заболевание у людей и животных, и они демонстрируют внутреннюю устойчивость к многочисленным классам антибиотиков (например, аминогликозидам, р-лактамам и/или макролидам). Поэтому организмы *Burkholderia*, особенно *Burkholderia cepacia*, *Burkholderia pseudomallei* и *Burkholderia mallei* считаются MDR-бактериями в

естественных условиях благодаря внутренней устойчивости, проявляемой в виде их природного фенотипа. Конечно, штаммы видов *Burkholderia* могут приобретать дополнительные фенотипы устойчивости. Соответственно, способы лечения против видов *Burkholderia*, которые усиливают эффекты антибиотиков против таких видов,

5 пользуются высоким спросом.

Таким образом, предпочтительным воплощением изобретения является такое, где целевой бактерией является организм *Burkholderia*, например, выбранный из *Burkholderia ambifaria*, *Burkholderia andropogonis*, *Burkholderia anthina*, *Burkholderia brasiliensis*, *Burkholderia caledonica*, *Burkholderia caribensis*, *Burkholderia caryophylli*, *Burkholderia cenocepacia*,
 10 *Burkholderia cepacia*, *Burkholderia dolosa*, *Burkholderia fungorum*, *Burkholderia gladioli*, *Burkholderia glathei*, *Burkholderia glumae*, *Burkholderia graminis*, *Burkholderia hospita*, *Burkholderia kururiensis*, *Burkholderia mallei*, *Burkholderia multivorans*, *Burkholderia phenazinium*, *Burkholderia phenoliruptrix*, *Burkholderia phymatum*, *Burkholderia phytofirmans*, *Burkholderia plantarii*, *Burkholderia pseudomallei*, *Burkholderia pyrrocinia*, *Burkholderia sacchari*,
 15 *Burkholderia singaporensis*, *Burkholderia sordidicola*, *Burkholderia stabilis*, *Burkholderia terricola*, *Burkholderia thailandensis*, *Burkholderia tropica*, *Burkholderia tuberum*, *Burkholderia ubonensis*, *Burkholderia unamae*, *Burkholderia vietnamiensis* и *Burkholderia xenovorans*, в частности *Burkholderia cepacia*, *Burkholderia mallei* и *Burkholderia pseudomallei*, и особенно *Burkholderia cepacia*.

20 В целом, применение альгинатных олигомеров для борьбы с *Burkholderia* (например, для лечения и борьбы с инфекцией и/или контаминацией (т.е. колонизацией) *Burkholderia*) или увеличения (или улучшения) эффективности антибиотика против *Burkholderia* представляет особенно предпочтительный и отдельный аспект этого изобретения.

Соответственно, в другом аспекте в изобретении предложен способ улучшения
 25 эффективности антибиотика и, в частности, эффективности (или эффективности действия) антибиотика в отношении ингибирования роста и/или жизнеспособности организма *Burkholderia* (который включает ингибирование роста популяции *Burkholderia*, а также роста организма *Burkholderia*), включающий применение указанного антибиотика вместе (в сочетании или комбинации) с альгинатным олигомером (который может представлять
 30 собой любой альгинатный олигомер, как определено в данной заявке, и особенно указанные уже как предпочтительные; например, "обогащенные G", "обогащенные M", "G-блок" и "M-блок" олигомеры). Олигомеры, используемые в этом аспекте, могут представлять собой преимущественно олигомеры с размерами, диапазоном размеров и распределением молекулярных масс, указанными выше в качестве предпочтительных.
 35 Обсуждение предпочтительных альгинатных олигомеров по изобретению используют с соответствующими изменениями к данному аспекту изобретения.

Более конкретно, используемая стадия может включать приведение организма *Burkholderia* в контакт с альгинатным олигомером в то же время или по существу в то же время или перед приведением организма *Burkholderia* в контакт с антибиотиком. В
 40 частности и согласно описаниям, представленным выше (и особенно определениям, приведенным в настоящей заявке), которые можно рассматривать как относящиеся ко всем аспектам настоящего изобретения, стадия приведения бактерии в контакт с альгинатным олигомером может включать введение альгинатного олигомера и антибиотика субъекту.

45 Антибиотик может быть выбран из любого антибиотика, раскрытого выше. Предпочтительные антибиотики могут быть выбраны из р-лактамов (например, карбецефемов (например, лоракарбефа); цефалоспоринов 1-го поколения (например, цефадроксила, цефазолина, цефалексина); цефалоспоринов 2-го поколения (например,

цефаклора, цефамандола, цефалексина, цефокситина, цефпрозила, цефуроксима); цефалоспоринов 3-го поколения (например, цефиксима, цефдинира, цефдиторена, цефоперазона, цефотаксима, цефподоксима, цефтазидима, цефтибутена, цефтизоксима, цефтриаксона); цефалоспоринов 4-го поколения (например, цефепима); монобактамов (например, азтреонама); пенициллинов (например, амоксициллина, ампициллина, карбенициллина, клоксациллина, диклоксациллина, нафциллина, оксациллина, пенициллина G, пенициллина V, пиперациллина, тикарциллина), карбапенемов (например, имипенема, меропенема, эртапенема, дорипенема, панипенема/бетамипрона, биапенема, PZ-601); макролидов (например, азитромицина, кларитромицина, дири-
 10 тритромицина, эритромицина, тролеандомицина); хинолонов (например, цiproфлораксацина, эноксацина, гатифлораксацина, левофлораксацина, ломефлораксацина, моксифлораксацина, норфлораксацина, офлораксацина, тровафлораксацина); и тетрациклинов (например, демеклоциклина, доксициклина, миноциклина, окситетрациклина, тетрациклина).

Более предпочтительно, антибиотик выбран из азитромицина, кларитромицина, дири-
 15 тритромицина, эритромицина, рокситромицина, телитромицина, карбомицина A, джозамицина, китазамицина, мидекамицина, олеандомицина, спирамицина, тролеандомицина, тилозина, цефиксима, цефдинира, цефдиторена, цефоперазона, цефотаксима, цефподоксима, цефтазидима, цефтибутена, цефтизоксима, цефтриаксона, цефепима, азтреонама, имипенема, меропенема, эртапенема, дорипенема, панипенема/
 20 бетамипрона, биапенема, PZ-601, цiproфлораксацина, эноксацина, гатифлораксацина, левофлораксацина, ломефлораксацина, моксифлораксацина, норфлораксацина, офлораксацина, тровафлораксацина, демеклоциклина, доксициклина, миноциклина, окситетрациклина и тетрациклина, например, азтреонама, цiproфлораксацина, азитромицина, кларитромицина, дири-
 25 тритромицина, эритромицина, рокситромицина, спирамицина, окситетрациклина, цефтазидима и имипенема. В особенно предпочтительных воплощениях антибиотик выбран из азтреонама, цефтазидима, азитромицина, кларитромицина и эритромицина.

В других воплощениях используемый антибиотик не является тобрамицином, амикацином и/или колистином. В других воплощениях используемый антибиотик не
 30 является аминокликозидом или полипептидным антибиотиком. В других воплощениях используемый антибиотик не является антибиотиком, который имеет положительный заряд в условиях, когда его будут использовать с альгинатным олигомером, например, антибиотиками с по меньшей мере 3, например, по меньшей мере 4, 5, 6 или 7 амино (-NH₂) группами.

Организм *Burkholderia* может представлять собой любой вид *Burkholderia*, например, любой из раскрытых в данной заявке, в частности, организм *Burkholderia* может представлять собой *Burkholderia cepacia*, *Burkholderia* или *mallei* или *Burkholderia pseudomallei*, особенно *Burkholderia cepacia*. В некоторых воплощениях организм *Burkholderia* устойчив к антибиотик.

В одном воплощении организм *Burkholderia* или его популяция не будет находиться в биопленке или в процессе формирования биопленки. В другом воплощении организм *Burkholderia* или его популяция будет находиться в биопленке.

Способ может представлять собой способ *in vitro* или способ *in vivo* и может иметь как немедицинское, так и медицинское применения. В последнем случае способ можно
 45 рассматривать как способ лечения инфекции *Burkholderia* (например, инфекции *Burkholderia cepacia*, *Burkholderia mallei* или *Burkholderia pseudomallei*) у субъекта (например, у субъектов, описанных и предпочтительных в данной заявке), включающий введение субъекту фармацевтически эффективного количества альгинатного олигомера

вместе с фармацевтически эффективным количеством антибиотика. Это воплощение распространяется на любые и все медицинские применения, заболевания и локализации инфекции, описанные в данной заявке, когда это касается организмов *Burkholderia*.

Таким образом, в изобретении предложен альгинатный олигомер для применения вместе (или в комбинации или совместно) с антибиотиком в лечении или предупреждении инфекции *Burkholderia* у субъекта. Субъект может быть инфицированным, предположительно инфицированным или подверженным риску заражения *Burkholderia*. *Burkholderia* может представлять собой любой вид, упомянутый в данной заявке. Термин "применение вместе" следует толковать, как обсуждалось выше.

Альтернативно, в изобретении предложено применение альгинатного олигомера для изготовления лекарственного средства для применения вместе с антибиотиком в лечении инфекции *Burkholderia* у субъекта. Лекарственное средство может дополнительно содержать антибиотик.

Лекарственное средство может быть в форме единой композиции или препарата, содержащих альгинатный олигомер и антибиотик(и), или могут быть приготовлены и использованы отдельные композиции или препараты, каждый из которых содержит альгинатный олигомер или антибиотик(и), соответственно.

Таким образом, в более конкретном аспекте в настоящем изобретении предложено применение альгинатного олигомера и по меньшей мере одного антибиотика для изготовления лекарственного средства для применения в лечении инфекции *Burkholderia* у субъекта.

Таким образом, в дополнительном аспекте в настоящем изобретении предложен продукт, содержащий альгинатный олигомер и антибиотик (или антибиотики), в виде комбинированного препарата для раздельного, одновременного или последовательного применения в лечении инфекции *Burkholderia* у субъекта.

В дополнительном воплощении этого аспекта изобретения предложен способ борьбы с контаминацией участка организмом *Burkholderia*, включающий приведение участка и/или организма *Burkholderia* в контакт с (эффективным количеством) альгинатным олигомером вместе с (эффективным количеством) по меньшей мере одним антибиотиком. Такой способ может представлять собой, в частности, способ *in vitro*, и участок может представлять собой любую поверхность или локализацию, описанную в данной заявке.

Как указано выше, в этих аспектах изобретения альгинатный олигомер может улучшать эффективность антибиотика и, в частности, эффективность (или эффективность действия) антибиотика в ингибировании роста организма *Burkholderia*.

Ссылки на "улучшение эффективности антибиотика в отношении ингибирования роста и/или жизнеспособности организма *Burkholderia*" следует рассматривать в соответствии с предыдущим обсуждением того, что подразумевается под "улучшением эффективности макролидного антибиотика в отношении ингибирования роста и/или жизнеспособности бактерий".

Этот аспект также позволяет сохранять концентрацию антибиотика, вводимого субъекту или применяемого местно для борьбы с организмом *Burkholderia*, подлежащим удалению, при сохранении той же эффективности. Это может быть полезно, если антибиотик стоит дорого или ассоциирован с побочными эффектами. Минимизация применения антибиотиков также желательна для минимизации развития резистентности. Согласно изобретению, применение альгинатного олигомера вместе с антибиотиком позволяет использовать антибиотик в концентрации, которая составляет менее 50%, менее 25%, менее 10% или менее 5% количества, обычно вводимого/используемого для достижения определенного уровня ингибирования роста организма *Burkholderia* в

отсутствие альгинатного олигомера.

В этом аспекте альгинатные олигомеры могут представлять собой любые из обсужденных и, в частности, указанных выше в качестве предпочтительных, и альгинатные олигомеры будут применяться к организму *Burkholderia* и/или их локализации в локальной концентрации по меньшей мере 2%, по меньшей мере 4%, по меньшей мере 6%, по меньшей мере 8% или по меньшей мере 10% массы по объему.

Хотя в некоторых аспектах изобретения, как обсуждалось выше, бактерия может представлять собой *Acinetobacter*, в некоторых конкретных воплощениях MDR-бактерия, на которую нацелен способ по изобретению, не является *Acinetobacter baumannii* или каким-либо видом *Acinetobacter*. В другом воплощении антибиотик, используемый против *Acinetobacter baumannii* или любого вида *Acinetobacter*, не является азитромицином или каким-либо макролидом.

"Устойчивая к антибиотикам" означает, что бактерия демонстрирует значительно более высокую толерантность (пониженную чувствительность) к антибиотикам по сравнению с эталонной бактерией, чувствительной к антибиотикам, или типичным вариантом или вариантом дикого типа данной бактерии. Такая существенно более высокая толерантность может представлять собой статистически значимое снижение чувствительности к антибиотикам, как измерено, например, в стандартных анализах, таких как анализы МИС (минимальная ингибирующая концентрация). В некоторых случаях бактерия может быть полностью не поддаваться воздействию антибиотика. В этом случае бактерию можно считать полностью резистентной к этому антибиотикам.

Подходящая эталонная бактерия представляет собой Oxford *Staphylococcus aureus* (NCTC 6571), хотя многие другие известны в данной области и легко доступны.

Типичные, или дикого типа, варианты бактерии могут быть легко получены из лабораторий и коллекций культур по всему миру.

Чувствительность (и, напротив, резистентность и толерантность) к антибиотикам можно измерить любым удобным путем, например, с помощью тестов на чувствительность при разведении и/или диско-диффузионных тестов. Специалисту понятно, что степень различия в толерантности/чувствительности, достаточной для определения резистентности, будет зависеть от антибиотика и организма при тестировании и в используемом тесте. Однако резистентная бактерия предпочтительно будет по меньшей мере в два раза, например, по меньшей мере в 3, 4, 5, 6, 10, 20 или 50 раз более толерантна к антибиотикам, чем эталонная бактерия, чувствительная к антибиотикам, или типичный вариант или вариант дикого типа данной бактерии.

Предпочтительно, резистентность конкретных бактерий к антибиотикам определяется с использованием бактерий, которые не находятся в биопленке или которые не имеют фенотипа биопленки.

Анализ минимальной ингибирующей концентрации (MIC) (Jorgensen et al., *Manual of Clinical Microbiology*, 7th ed. Washington, D.C: American Society for Microbiology, 1999; 1526-43) представляет собой удобный для применения тест на чувствительность при разведении. В этом анализе измеряют соответствующую толерантность бактерии к антибиотикам посредством определения наименьшей концентрации антибиотика, которая вызывает полное ингибирование роста. Бактерия, устойчивая к антибиотикам, будет иметь значительно более высокое значение MIC для антибиотика, чем таковое для эталонной бактерии, чувствительной к антибиотикам, или типичного варианта или варианта дикого типа данной бактерии, например, устойчивые бактерии будут иметь значение MIC для антибиотика, которое по меньшей мере в два раза или по меньшей мере в четыре раза, по меньшей мере в восемь раз, по меньшей мере в шестнадцать раз,

по меньшей мере в тридцать два раза или по меньшей мере в шестьдесят четыре раза выше. Другими словами, значение МИС устойчивой бактерии для антибиотика может быть по меньшей мере в два раза, по меньшей мере в четыре раза, по меньшей мере в восемь раз, по меньшей мере в шестнадцать раз или по меньшей мере в тридцать два
 5 раза выше значения МИС для эталонной бактерии, чувствительной к антибиотику, или типичного варианта или варианта дикого типа данной бактерии.

Альтернативно и в контексте бактерии *in vivo* и/или лечения бактериальной инфекции, которая устойчива к многочисленным классам антибиотиков, бактерию можно считать резистентной к антибиотику, если данная бактерия имеет значение МИС для антибиотика,
 10 которое выше, чем максимальная безопасная циркулирующая концентрация антибиотика у субъекта (которая может быть легко определена специалистом). Более функционально, бактерия является резистентной к антибиотику, если инфекция, ассоциированная с бактерией, не отвечает (т.е. нет изменений в клинических признаках инфекции) на максимальную безопасную дозу антибиотика.

"Преодоление устойчивости" следует истолковывать соответственно как измеряемое уменьшение описанных выше показателей устойчивости (или измеряемое увеличение чувствительности или измеряемое уменьшение устойчивости) к антибиотику, демонстрируемое бактерией. Поэтому "преодоление устойчивости" может альтернативно выражаться как "уменьшение устойчивости". Это относится к наблюдаемому фенотипу
 20 целевой бактерии и не должно считаться адекватным для обращения, в какой-либо степени, на механистическом уровне какого-либо конкретного механизма устойчивости. Как можно видеть из Примеров, альгинатные олигомеры и антибиотики имеют сочетательный, например, синергетический эффект, который делает бактерии с фенотипом, который устойчив к антибиотику, более чувствительными к этому
 25 антибиотику. В одном воплощении альгинатный олигомер будет заметно уменьшать значение МИС устойчивой бактерии к антибиотику, например, значение МИС будет составлять по меньшей мере 50%, 25%, 20%, 15%, 10%, 5%, 2% или 1% значения МИС бактерии для антибиотика перед лечением в соответствии с изобретением.

Таким образом, применение альгинатных олигомеров согласно настоящему изобретению может потенцировать эффект антибиотика (или увеличивать или улучшать его эффективность). Это можно сделать пригодным (или эффективным) антибиотик,
 30 который ранее не считался пригодным/эффективным против конкретного организма, или антибиотик, который обычно не эффективен против данного организма (например, рассматриваемых бактерий или бактериального вида). Это также может позволить
 35 использовать антибиотик в сниженной дозе.

Эффекты альгинатных олигомеров в преодолении устойчивости к антибиотикам или в потенцировании (и т.д.) эффектов антибиотиков можно видеть независимо от механизма устойчивости к рассматриваемому антибиотику. Тем не менее, особенно хорошие результаты были получены с ципрофлоксацином. Устойчивость к этому
 40 антибиотику может включать накопление мутаций, в частности, в генах, кодирующих ДНК-гиразу или топоизомеразу IV. Не желая быть связанными теорией, альгинатные олигомеры по изобретению могут, следовательно, влиять на процесс накопления, например, путем его предупреждения, замедления или прекращения. Однако не следует полагать или подразумевать, что альгинатные олигомеры могут оказывать какой-либо
 45 любой эффект на какой-либо механизм устойчивости.

В предпочтительном воплощении способа по изобретению альгинатный олигомер преодолевает устойчивость по меньшей мере к двум, например, по меньшей мере к 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10 или всем структурно и/или функционально различным антибиотикам

или классам антибиотиков, к которым бактерия устойчива. Однако, как указано выше, не обязательно или не подразумевается, что устойчивость любого данного MDR-штамма полностью преодолевается. Изобретение может быть, например, эффективным в преодолении устойчивости к определенным классам антибиотиков у данного MDR-штамма (например, к макролидам и/или хинолонам и/или Р-лактамам), и это может быть клинически полезным, даже если устойчивость к другим антибиотикам может сохраняться. Это воплощение будет предпочтительно приводить к применению множества антибиотиков, соответствующих по числу и идентичности некоторым или всем антибиотикам, к которым преодолена устойчивость.

В других воплощениях способ по изобретению преодолевает устойчивость у MDR-бактерии (например, бактерии из MDR-штамма бактерий) по меньшей мере к одному антибиотику, который является стандартным лечением от этой бактерии. Другими словами, способ по изобретению может преодолеть устойчивость у MDR-бактерии (например, бактерии из MDR-штамма бактерий) к антибиотику, к которому данная бактерия приобрела или развила устойчивость. В этих воплощениях способ по изобретению преодолевает по меньшей мере одну приобретенную устойчивость у MDR-бактерии (например, бактерии из MDR-штамма бактерий), которая имеет приобретенную устойчивость по меньшей мере к одному, например, по меньшей мере к 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 или 10 структурно и/или функционально различным антибиотикам или классам антибиотиков. Предпочтительно, все приобретенные бактерией устойчивости к антибиотикам преодолеваются. Поэтому специалисту ясно, что изобретение делает возможным лечение против MDR-бактерии (например, бактерии из MDR-штамма бактерий) антибиотиком, который стал неэффективным при лечении от этой бактерии. Однако, как указано выше, не всякая устойчивость в MDR-фенотипе может приобретаться, и изобретение не ограничивается этим. Таким образом, изобретение можно использовать в лечении против бактерий, которые по своей природе являются MDR.

Способ по изобретению может повлечь за собой приведение бактерии в контакт с более чем одним антибиотиком. Дополнительный(е) антибиотик(и) может(могут) представлять собой любой антибиотик, например, из перечисленных выше. Дополнительный(е) антибиотик(и) может(могут) представлять собой антибиотик, к которому бактерия чувствительна. Дополнительный(е) антибиотик(и) может(могут) представлять собой антибиотик, к которому бактерия устойчива. Дополнительный(е) антибиотик(и) можно использовать вместе (в сочетании или комбинации) с первым или другими антибиотиками и/или альгинатным олигомером. В частности, стадия использования может включать приведение бактерии в контакт с альгинатным олигомером в то же время или по существу в то же время или перед приведением бактерии в контакт с некоторыми или всеми антибиотиками в количестве, эффективном для преодоления устойчивости бактерии к данному(ым) антибиотик(ам).

Как указано выше, антибиотик(и) можно удобно применять или вводить одновременно с альгинатным олигомером или сразу или почти сразу до или после альгинатного олигомера. Однако антибиотик(и) можно применять или вводить в другое время, например, по меньшей мере через 1 час, по меньшей мере через 3 часа, по меньшей мере через 6 часов после альгинатного олигомера. Разработка режимов введения, которые оптимизируют эффект альгинатного олигомера и антибиотика, находится в пределах квалификации врача. В этих воплощениях антибиотик(и) можно применять или вводить с или без дополнительного применения альгинатного олигомера. Альгинатный олигомер можно применять или вводить во многих применениях перед

или с антибиотиком(ами). В других воплощениях антибиотик(и) обычно используют или вводят перед альгинатным олигомером, например, по меньшей мере за 1 час, по меньшей мере за 3 часа, по меньшей мере за 6 часов до альгинатного олигомера. В этих воплощениях альгинатный олигомер можно применять или вводить с или без

5 дополнительного применения антибиотика(ов). Антибиотик(и) можно применять или вводить во многих применениях перед или с альгинатным олигомером. Специалист может легко определить, какой подходящий режим приема доз для альгинатного олигомера и антибиотика(ов) следует использовать.

Предпочтительные комбинации могут включать два или более антибиотиков,

10 выбранных из колистина, цiproфлоксацина, меропенема, цефтазидим, азтреонама, азитромицина, кларитромицина, диритромицина, эритромицина, рокситромицина, спирамицина и имипенема/циластатина, амикацина, гентамицина, окситетрациклина, тобрамицина и ванкомицина. Более конкретно, они могут быть выбраны из цiproфлоксацина, меропенема, цефтазидима, азтреонама, азитромицина,

15 кларитромицина, диритромицина, эритромицина, рокситромицина, спирамицина имипенема/циластатина или окситетрациклина, и еще более конкретно, из цiproфлоксацина, меропенема, цефтазидима, азтреонама, азитромицина, кларитромицина, диритромицина, эритромицина, рокситромицина, спирамицина и имипенема/циластатина.

В предпочтительных воплощениях бактерии представляют собой MDR *Acinetobacter*, *Klebsiella* или *Pseudomonas* (например, *Acinetobacter baumannii*, *Klebsiella pneumoniae* или *Pseudomonas aeruginosa*), устойчивые к цефтазидиму, цiproфлоксацину и азитромицину, и используемые антибиотики представляют собой цефтазидим или цiproфлоксацин

20 вместе с азитромицином или все вместе цефтазидим, цiproфлоксацин и азитромицин.

Локализация бактерии, которая может быть мишенью в любом аспекте настоящего изобретения, не ограничена и, таким образом, как указано выше, включено не только медицинское применение, но также немедицинское применение, где бактерия не присутствует на клиническом субъекте или в пределах клинического субъекта, но может, например, иметь абиотическую локализацию, т.е. изобретение можно осуществлять *in*

25 *vitro*. Бактерия может присутствовать на поверхности. Поверхность не ограничена и включает любую поверхность, на которой может встретиться бактерии. Поверхность может быть биотической или абиотической, и неживые (или абиотические) поверхности включают любую поверхность, которая может контактировать с микробами или загрязняться микробами. Таким образом, в частности, включены поверхности на

30 медицинском оборудовании или производственном оборудовании, например промышленном оборудовании, или любая поверхность, подверженная воздействию водной среды (например, судового оборудования или кораблей или лодок, или их частей или компонентов), или любая поверхность, подверженная воздействию окружающей среды, например, трубы или здания. Такие неживые поверхности, подверженные

35 контакту с микробами или контаминации, включают, в частности, любую часть: аппаратуры или оборудования для переработки, приготовления, хранения или дозирования пищевых продуктов или напитков, аппарата для кондиционирования воздуха, промышленного оборудования, например, в химических или биотехнологических установках, резервуаров для хранения, медицинского или

40 хирургического оборудования и оборудования для культивирования клеток и тканей. Любые аппараты или оборудование для переноса, транспортировки или доставки материалов подвержены микробной контаминации. Такие поверхности будут включать, в частности, трубы (этот термин широко используется в данной заявке для включения

любого трубопровода или линии). Типичные неживые или абиотические поверхности включают, но не ограничиваются этим, оборудование или поверхности для переработки, хранения, дозирования или приготовления пищевых продуктов, резервуары, конвейеры, полы, водоотводы, холодильники, морозильники, поверхности оборудования, стены, вентили, ремни, трубы, трубопроводы систем кондиционирования воздуха, холодильную установку, линии дозирования пищевых продуктов или напитков, теплообменники, корпуса судов или любую часть судна, которая подвергается воздействию воды, линии подачи воды в стоматологические установки, трубопроводы для бурения нефти, контактные линзы и контейнеры для хранения.

Как указано выше, медицинское или хирургическое оборудование или устройства представляют конкретный класс поверхности, на которой может наблюдаться бактериальное загрязнение. Она может включать любой вид линии, включая катетеры (например, центральные венозные и мочевые катетеры), протезные устройства, например, сердечные клапаны, искусственные суставы, искусственные зубы, зубные коронки, защитные прокладки на обнаженную пульпу зуба и импланты мягких тканей (например, импланты груди, ягодиц и губ). Включен любой вид имплантируемого (или постоянного ("in-dwelling")) медицинского устройства (например, стентов, внутриматочных устройств, кардиостимуляторов, интубационных трубок (например, эндотрахеальных или трахеостомических трубок), протезов или протезных устройств, линий или катетеров). "Постоянное" медицинское устройство может включать устройство, в котором любая его часть находится внутри организма, т.е. устройство может быть полностью или частично постоянным.

Поверхность может быть изготовлена из любого материала. Например, она может быть металлической, например, из алюминия, стали, нержавеющей стали, хрома, титана, железа, их сплавов, и тому подобного. Поверхность может быть также из пластика, например, полиолефина (например, полиэтилена, (сверхвысокомолекулярного) полиэтилена, полипропилена, полистирола, поли(мет)акрилата, акрилонитрила, бутадиена, ABS (акрилонитрил-бутадиен-стирола), акрилонитрил-бутадиена и т.д.), полиэфира (например, полиэтилентерефталата и т.д.) и полиамида (например, нейлона), их комбинаций и тому подобного. Другие примеры включают сополимер ацетала, полифенилсульфон, полисульфон, политермид, поликарбонат, полиэфирэфиркетон, поливинилиденфторид, поли(метилметакрилат) и поли(тетрафторэтилен). Поверхность может быть из кирпича, черепицы, керамики, фарфора, дерева, винила, линолеума или коврового покрытия, их комбинаций и тому подобного. Поверхностями также может быть пища, например, говядина, птица, свинина, овощи, фрукты, рыба, моллюски, их комбинации, и тому подобное. "Обработка" любой такой поверхности (т.е. применение к любой такой поверхности альгинатного олигомера вместе с антибиотиком) для борьбы с инфекцией MDR-бактерии входит в объем настоящего изобретения.

При инфекции, вызываемой MDR-бактерией, которую можно лечить согласно настоящему изобретению, бактерия может находиться внутри или на поверхности субъекта. Кроме того, вне контекста медицинского лечения, бактерии также могут находиться на биотических поверхностях. Таким образом, изобретение включает обработку биотических поверхностей. Биотическая или живая поверхность может включать любую поверхность или границу раздела внутри или на организме животного, растения или грибов. Ее можно, соответственно, рассматривать как "физиологическую" или "биологическую" поверхность. Она может представлять собой любую внутреннюю или наружную поверхность организма, включая любую ткань или орган, который, в случае организма животного, может включать гематологическую или кроветворную

ткань (например, кровь). Мертвая или погибшая (например, некротическая) или поврежденная (например, в результате воспаления или разрушения или раздробления) ткань особенно восприимчива к бактериальной контаминации, и такая ткань охвачена термином "живая" или "биотическая". Поверхность может представлять собой слизистую или неслизистую поверхность.

Типичные биотические поверхности, включают, но не ограничиваются этим, любую поверхность в полости рта (например, зубы, десны, десневая борозда, зубодесневой карман), в половых путях (например, шейка матки, матка, маточные трубы), брюшины, в среднем ухе, в предстательной железе, внутренней оболочки сосудов, в глазу, т.е. глазной ткани (например, конъюнктивы, ткань роговицы, слезный проток, слезные железы, веко), дыхательных путях, в легочной ткани (например, бронхиальной и альвеолярной), в сердечных клапанах, желудочно-кишечного тракта, кожи, волосистой части кожи головы, ногтей и во внутренней части ран, особенно хронических ран и хирургических ран, которые могут быть поверхностными или внутренними ранами. Другие поверхности включают наружные поверхности органов, в частности, органов, подвергающихся трансплантации, например, сердца, легких, почки, печени, сердечного клапана, поджелудочной железы, кишечника, ткани роговицы, артериальных и венозных трансплантатов и кожи.

В одном аспекте поверхность не является слизистой оболочкой или, более конкретно, не будет иметь сверхвязкого слизистого покрытия. Специалист способен определить, является ли слизь на данной поверхности сверхвязкой. В одном воплощении поверхность не является поверхностью ткани, секретирующей слизь. Более конкретно, в таком воплощении поверхность не будет поверхностью ткани, покрытой слизью. Специалисту известны из общих знаний ткани, которые секретируют слизь, и ткани, которые покрыты слизью.

Место локализации также может представлять собой место, которое не является поверхностью. Другими словами, бактерию можно обнаружить внутри материала, а также на его поверхности. Материал может быть химически неоднородным, а также химически однородным. Материал также может быть сконструирован или образован или может содержать различные части или компоненты. Материал может быть частью более крупного материала или объекта. Материал может представлять или содержать материалы, из которых образуются вышеупомянутые поверхности. В некоторых случаях материал можно рассматривать как объект, показатели которого покрывают объемы жидкости, где бы они не находились. Материал может содержать любую из описанных выше поверхностей. Материал может быть абиотическим или биотическим (неживым или живым), как это обсуждалось выше в отношении поверхности. Например, материал может быть полностью или частично твердым, жидким, полутвердым, гелем или гелем. Таким образом, например, бактерия может присутствовать в жидкостях организма (например, крови, плазме, сыворотке, спинномозговой жидкости, содержимом ЖК (желудочно-кишечного) тракта, сперме, мокроте и других легочных секретах); тканях (например, надпочечников, печени, почки, поджелудочной железы, гипофиза, щитовидной железы, иммунной ткани, яичника, яичка, предстательной железы, эндометрия, глаза, молочной железы, жировой, эпителиальной, эндотелиальной, нервной, мышечной, легочной ткани, эпидермиса, костной ткани); средах для клеточных и тканевых культур; клеточных и тканевых культурах; клинических/научных отходах (которые могут содержать любые из предыдущих материалов); фармацевтических средствах (например, таблетках, пилюлях, порошках, пастилках, саше, облатках, эликсирах, суспензиях, эмульсии, растворах, сиропах, аэрозолях, спреях, композициях

для применения в небулайзерах, мазях, мягких и твердых желатиновых капсулах, суппозиториях, стерильных растворах для инъекций, стерильных упакованных порошках); в продуктах питания человека и животных (например, мясе, рыбе, моллюсках, овощах, крупах, молочных продуктах, фруктовых соках, овощных соках, соусах, концентратах, супах, кондитерских изделиях, алкогольных напитках, приправах); в средствах личной гигиены (например, в зубной пасте, жидкости для полоскания рта, шампуне, мыле, дезодоранте, геле для душа); в косметических средствах (например, блеске для губ, тенях для век, тональном креме); в источниках питьевой воды; источниках сточных вод; источниках сельскохозяйственных кормов и воды; инсектицидных, пестицидных и гербицидных композициях, промышленных смазочных материалах и так далее. Следует отметить жидкости, полутвердые вещества, гели или гели-золи. Жидкости и ткани организма могут обрабатываться *in vitro*, *ex vivo*, а также, если возможно, для обработки того же *in vivo*.

В некоторых воплощениях бактерия будет находиться в биопленке. В других воплощениях бактерия не будет находиться в биопленке (например, будет расти в планктоне). Другими словами, бактерия будет или не будет расти в биопленке; или будет или не будет расти не в биопленке.

Под "биопленкой" подразумевают сообщество микроорганизмов, характеризующееся преобладанием неподвижных клеток, которые прикреплены к субстрату, или границе раздела, или друг к другу (некоторые подвижные клетки также могут присутствовать), и которые погружены в матрикс внеклеточных полимеров (более конкретно, внеклеточных полимеров, которые они произвели), характеризующееся тем, что микроорганизмы этой колонии демонстрируют измененный фенотип в отношении скорости роста и транскрипции генов (например, по сравнению с их неимеющими "биопленки", или свободно плавающими, или планктонными представителями). Под термином "в биопленке" подразумевают, что бактерия, на которую направлен способ по изобретению, находится внутри (полностью или частично), на или ассоциирована с полимерным матриксом биопленки. Другими словами, бактерии, которые находятся "не в биопленке", представляют собой организмы, которые находятся либо в изоляции, например планктонные, либо, при агрегации множества организмов, эта совокупность является неорганизованной и/или лишенной матрикса, характерного для биопленки. В каждом случае отдельные бактерии не демонстрируют измененный фенотип, который наблюдается у бактерий, живущих в биопленке.

Следует понимать, что организмы *Acinetobacter* могут образовывать капсулу из внеклеточных полимеров (например, полисахаридов), которые они произвели, и организмы *Acinetobacter* обычно обнаруживаются с такой капсулой. Также следует понимать, что простое присутствие полимерной капсулы организма *Acinetobacter* не является функционально эквивалентным способу роста в биопленке, и поэтому присутствие такой капсулы само по себе не свидетельствует о биопленочном фенотипе. Таким образом, также следует понимать, что организмы *Acinetobacter*, которые не находятся "в биопленке", все же могут быть в контакте с матриксом из внеклеточных полимеров, которые они произвели (т.е. с капсулой), но такие организмы не демонстрируют измененный фенотип, который наблюдается у бактерий, живущих в биопленке. Таким образом, в конкретном случае *Acinetobacter*, термин "в биопленке" означает, что организм *Acinetobacter* находится внутри (полностью или частично), на или ассоциирован с полимерным матриксом биопленки и имеет фенотип, характерный для организмов *Acinetobacter* в биопленке (т.е. фенотип, который изменяется относительно скорости роста и транскрипции генов, например, по сравнению с

"небиоопленочными", или свободно плавающими, или планктонными организмами *Acinetobacter*. Организмы *Acinetobacter*, которые находятся "не в биопленке" представляют собой организмы, которые находятся либо в изоляции, например, планктонные, либо, при агрегации множества организмов, эта агрегация является неорганизованной. В каждом случае отдельные организмы *Acinetobacter* не демонстрируют измененный фенотип, который наблюдается у бактерий, живущих в биопленке.

Из указанного выше ясно, что способы по изобретению, т.е. описанные выше, имеют медицинские и немедицинские применения. В частности, в изобретении предложен способ борьбы с контаминацией участка бактериями, которые являются MDR, в частности, лечения субъекта от бактериальной инфекции, которая является MDR, а также способ борьбы с популяцией MDR-бактерий. Таким образом, способ может представлять собой способ *in vitro* или *in vivo*. Как объясняется более подробно ниже, термин "борьба" включает как лечение существующей контаминации или инфекции, так и лечение с целью предупреждения возникновения контаминации или инфекции, т.е. как "терапевтическое" Упротиводействующее, так и профилактическое лечение.

Соответственно, в одном аспекте изобретения предложен способ лечения или предупреждения инфекции у субъекта, вызываемой MDR-бактерией, включающий введение указанному субъекту фармацевтически эффективного количества альгинатного олигомера вместе с фармацевтически эффективным количеством по меньшей мере одного антибиотика, к которому бактерия устойчива.

Таким образом, в изобретении предложен альгинатный олигомер для применения вместе (или в комбинации или совместно) с по меньшей мере одним антибиотиком в лечении или предупреждении инфекции у субъекта, вызываемой MDR-бактерией, где указанная бактерия устойчива к антибиотику.

Термин "применение вместе" следует толковать, как описано выше, хотя особенно подразумевается, что фармацевтически эффективное количество альгинатного олигомера вводят в то же время или по существу в то же время или до, или после введения фармацевтически эффективного количества антибиотика.

Альтернативно, в изобретении предложено применение альгинатного олигомера для изготовления лекарственного средства для применения вместе с антибиотиком в лечении или предупреждении инфекции у субъекта, вызываемой MDR-бактерией, где указанная бактерия устойчива к антибиотику.

Как указано выше, лекарственное средство может дополнительно содержать антибиотик, и единые или отдельные композиции или препараты могут быть предложены и использованы, как обсуждалось выше.

В этом аспекте изобретения также предложено применение альгинатного олигомера вместе с антибиотиком в изготовлении лекарственного средства для применения в лечении инфекции у субъекта, вызываемой MDR-бактерией, где указанная бактерия устойчива к антибиотику.

Также согласно этому аспекту изобретения предложен продукт, содержащий альгинатный олигомер и антибиотик в виде комбинированного препарата для раздельного, одновременного или последовательного применения в лечении или предупреждении инфекции у субъекта, вызываемой MDR-бактерией с множественной лекарственной устойчивостью, где указанная бактерия устойчива к данному антибиотику.

MDR-бактерия может представлять собой любой вид бактерий, например бактерий, которые обсуждались выше и упоминались в качестве предпочтительных, например,

организм Burkholderia, например Burkholderia cepacia. Антибиотик может представлять собой любой антибиотик, например, из тех, которые обсуждались выше и упоминались в качестве предпочтительных, например макролид, например азитромицин, кларитромицин, диритромицин, эритромицин, рокситромицин или спирамицин.

5 Субъектом может быть любой человек или животное, не являющееся человеком, но более конкретно, может представлять собой позвоночное, например животное, выбранное из млекопитающих, птиц, амфибий, рыб и рептилий. Животное может представлять собой домашний скот или домашнее животное или животное, имеющее коммерческую ценность, в том числе лабораторные животные или животное в зоопарке
10 или заповеднике. Поэтому типичные животные включают собак, кошек, кроликов, мышей, морских свинок, хомяков, лошадей, свиней, овец, коз, коров, кур, индеек, цесарок, уток, гусей, попугаев, волнистых попугайчиков, голубей, лососей, форель, треску, пикшу, морского окуня и карпа. Таким образом, включены ветеринарные применения данного изобретения. Субъекта можно рассматривать в качестве пациента.
15 Предпочтительно, субъектом является человек.

Термин "у субъекта" широко используется в данной заявке для включения участков или мест локализации внутри субъекта или на субъекте, например, на наружной поверхности тела, и может включать, в частности, заражение медицинского устройства, например, имплантированного или "постоянного" медицинского устройства. Термин
20 "у пациента" следует толковать в соответствии с этим.

Локализация инфекции не ограничена и может представлять собой любые из участков или мест локализации у субъекта, описанные выше. Введение альгинатного олигомера и антибиотика субъекту предпочтительно приводит к тому, что инфицированный участок приводят в контакт с альгинатным олигомером и антибиотиком в количествах,
25 эффективных для лечения инфекции.

Инфекция может быть острой или, напротив, хронической, например, инфекция, которая сохранялась в течение по меньшей мере 5 или по меньшей мере 10 суток, в частности, по меньшей мере 20 суток, более конкретно, по меньшей мере 30 суток, в особенности по меньшей мере 40 суток.

30 В этом аспекте изобретения инфекция может наблюдаться на поверхности или на субъекте (т.е. биотической поверхности, как описано выше) и/или поверхности медицинского устройства, в частности, имплантируемого или "постоянного" медицинского устройства, типичные примеры которого описаны выше.

В одном воплощении способы или применения по изобретению могут включать стадию, на которой субъекта идентифицируют (например, диагностируют) как имеющего или предположительно имеющего MDR-бактериальную инфекцию или являющегося кандидатом, который подвержен риску или чувствителен к MDR-бактериальной инфекции.

В конкретных воплощениях в изобретении может быть предложено лечение
40 респираторных инфекций, например, муковисцидоза, пневмонии, COPD, COAD, COAP, бактериемии, септицемии, септического шока, сепсиса, менингита или отравления токсинами бактериального происхождения.

MDR-бактериальная инфекция может иметь место у любого субъекта, но некоторые субъекты будут более восприимчивы к инфекции, чем другие. Субъекты, которые чувствительны к MDR-бактериальной инфекции, включают, но не ограничиваются
45 этим, субъектов, эпителиальный и/или эндотелиальный барьер которых ослаблен или нарушен; субъектов, у которых защитные силы, основанные на секреции против микробной инфекции, были уничтожены, разрушены, ослаблены или подорваны, и

субъектов с ослабленным иммунитетом, иммунодефицитом или подавленным иммунитетом (т.е. субъект, у которого какая-либо часть иммунной системы не работает нормально, или работает недостаточно, другими словами, у которого какая-либо стадия иммунного ответа, или иммунная активность снижена или нарушена, в результате

5 заболевания или клинического вмешательства, или другого лечения, или в любом случае).

Типичные примеры субъектов, которые чувствительны к MDR-бактериальной инфекции, включают, но не ограничиваются этим, субъектов с ранее установленной инфекцией (например, вызванной бактериями, вирусами, грибами или паразитами,

10 такими как простейшие), особенно субъектов с ВИЧ, субъектов с бактериемией, сепсисом и субъектов с септическим шоком; субъектов с иммунодефицитом, например, субъектов, которые готовятся к химиотерапии и/или радиотерапии, подвергаются химиотерапии и/или радиотерапии или восстанавливаются после химиотерапии и/или радиотерапии, субъектов с трансплантированным органом (например, костным мозгом, печени,

15 легким, сердцем, сердечным клапаном, почкой и т.д.) (включая пациентов с аутооттрансплантатом, аллотрансплантатом и ксенотрансплантатом); субъектов со СПИДом; субъектов, находящихся в учреждении здравоохранения, например в больнице, особенно субъектов, подвергающихся реанимации или интенсивной терапии (т.е. в подразделениях, связанных с обеспечением систем жизнеобеспечения или

20 поддержания органов у пациентов); субъектов, подключенных к аппаратам искусственной вентиляции легких; субъектов, страдающих от травмы; субъектов с ожогами, субъектов с острыми и/или хроническими ранами; новорожденных субъектов; пожилых субъектов; субъектов с раковым заболеванием (широко определенным в данной заявке как включающее любое неопластическое состояние; злокачественное

25 или доброкачественное), особенно субъектов с раковыми заболеваниями иммунной системы (например, лейкозами, лимфомами и другими раковыми заболеваниями крови); субъектов, страдающих от аутоиммунных состояний, таких как ревматоидный артрит, сахарный диабет I типа, болезнь Крона, особенно субъектов, которые подвергаются иммуносупрессивной терапии по поводу этих заболеваний; субъектов с пониженной

30 или прекращенной эпителиальной или эндотелиальной секрецией (например, слезы, слюны) и/или клиренсом секретов (например, субъектов с плохо функционирующими ресничками на слизистой ткани и/или пациентов со сверхвязкой слизью (например, курильщиков и субъектов с COPD, COAD, COAP, бронхитом, муковисцидозом, эмфиземой, раком легкого, астмой, пневмонией или синуситом)) и

35 субъектов, которым установлено медицинское устройство.

MDR-бактерии обычно встречаются в медицинских учреждениях отчасти вследствие непосредственной близости субъектов с бактериальными инфекциями и широкого применения антибиотиков. Поэтому MDR-бактерии, например, из родов *Pseudomonas*,

40 *Klebsiella*, *Burkholderia*, *Providencia* и *Acinetobacter* часто вовлечены в нозокомиальные инфекции, и, соответственно, изобретение можно рассматривать как обеспечивающее способы лечения MDR-нозокомиальных инфекций.

Таким образом, субъекты, у которых MDR-инфекции особенно могут подвергаться сопротивлению, согласно настоящему изобретению включают пациентов, которые имеют нарушение либо вследствие плохой перфузии, либо повторяющейся травмы,

45 либо плохого питания, либо плохого насыщения кислородом, либо дисфункции лейкоцитов.

Особое внимание уделяют субъектам которые подверглись физической травме. Травма сама по себе может привести к ослаблению или дефекту эпителиального и/или

эндотелиального барьера субъекта, или иммунитет субъекта может стать ослабленным в ответ на травму (шоковая реакция). Термин "травма" относится в широком смысле к атаке чужеродных тел на клетки и/или к физическому повреждению клеток.

Чужеродные тела включают микроорганизмы, твердые частицы, химические агенты и тому подобное. Физические повреждения включают механические повреждения; термические повреждения, такие, которые являются результатом чрезмерного нагревания или охлаждения; электрические повреждения, такие, которые вызваны контактом с источниками электрического напряжения; и радиационное поражение, вызванное, например, продолжительным, обширным воздействием инфракрасного, ультрафиолетового или ионизирующего излучения.

Также особый интерес вызывают субъекты, которые имеют ожог. Любой ожог, в частности тяжелый ожог, оказывает значительное влияние на целостность эпителиального и/или эндотелиального барьера субъекта, и иммунитет субъекта часто становится ослабленным в ответ на ожог (шоковая реакция).

Типичные агенты, вызывающие ожог, представляют собой экстремальные значения температуры (например, экстремальные температуры огня, жидкостей и газов), электричество, агрессивные химические вещества, трение и радиацию. Степень и продолжительность воздействия вместе с интенсивностью/силой агента приводят к ожогам различной тяжести. Ошпаривание (т.е. травму, ассоциированную с высокотемпературными жидкостями и/или газами) считают ожогом.

Как правило, тяжесть эпидермальных ожогов классифицируют двумя способами. Наиболее распространенной является классификация по степени. Ожоги первой степени обычно ограничиваются эритемой (покраснением) на общей площади поражения и белым пятном в участке поражения. Травма клеток при этих ожогах распространяется только на эпидермис. Ожоги второй степени также характеризуются эритемой на общей площади поражения, но с образованием поверхностных пузырей на эпидермисе. Травма клеток при ожогах второй степени затрагивает поверхностный (папиллярный) слой дермы и также может затрагивать глубокий (ретикулярный) слой дермы. Ожоги третьей степени представляют собой ожоги, при которых происходит потеря эпидермиса вместе с повреждением гиподермы. Повреждение является обычно критическим, включая обугливание. Иногда присутствует струп (сухая, черная некротическая ткань). Ожоги третьей степени могут потребовать пересадки. При ожогах четвертой степени имеет место катастрофическое повреждение гиподермы, например, гиподерма полностью утрачивается, с распространением повреждения на подлежащие мышечную ткань, сухожилия и связки. Наблюдаются обугливание и струп. Требуется пересадка, если ожог не является смертельным.

Другой распространенной системой классификации является классификация по толщине. Ожоги с "поверхностной толщиной" ("superficial thickness") соответствуют ожогам первой степени. Спектр ожогов второй степени охватывается двумя классами ожогов с "частичной толщиной" ("partial thickness"). Поверхностные ожоги с "частичной толщиной" представляют собой ожоги, которые затрагивают эпидермис только до сосочкового слоя дермы. Ожоги на "неполную толщину кожи" ("partial thickness-deep") представляют собой ожоги, которые затрагивают дерму вплоть до ретикулярной дермы. Глубокие ожоги ("на всю толщину кожи", от англ. "full thickness") соответствуют ожогам третьей и четвертой степени.

Некоторые физические повреждения, например, некоторые ожоги и атаки на клетки со стороны чужеродных тел приводят к образованию раны. Более конкретно, рану можно рассматривать как повреждение или нарушение ткани. Раны могут быть также

вызваны спонтанно образующимся поражением, таким как кожная язва (например, венозная, диабетическая или пролежневая язва), трещина заднего прохода или язва в полости рта.

Раны обычно определяют как острые или хронические. Острые раны представляют собой раны, которые проходят последовательно через три известных стадии процесса заживления (т.е. воспалительную стадию, пролиферативную стадию и стадию ремоделирования) без затяжной динамики. Однако, хронические раны представляют собой такие раны, в которых не завершается упорядоченная последовательность биохимических событий процесса заживления, поскольку рана останавливается на одной из стадии заживления. Обычно хронические раны останавливаются на воспалительной стадии. В соответствии с определенным аспектом настоящего изобретения хроническая рана представляет собой рану, которая не заживает в течение по меньшей мере 40 дней, в частности по меньшей мере 50 дней, более конкретно по меньшей мере 60 дней, особенно по меньшей мере 70 дней.

Как уже говорилось выше, раны представляют собой идеальную среду для MDR-бактериальной инфекции, особенно хронической инфекции, благодаря отсутствию эпителиального барьера и доступности субстрата и поверхности для прикрепления и колонизации микробов. Проблематично, что инфекция раны часто замедляет дальнейшее заживление и, таким образом, делает эту рану более восприимчивой к установленной инфекции. Поэтому способы по изобретению эффективны в лечении и предупреждении MDR-бактериальной инфекции ран, и применение способов по изобретению в лечении ран, особенно хронических ран, является одним из предпочтительных аспектов настоящего изобретения.

Поэтому в воплощении изобретения предложен альгинатный олигомер для применения вместе (или в комбинации или совместно) с антибиотиком в лечении или предупреждении инфекции у субъекта, вызываемой MDR-бактерией, где указанная бактерия устойчива к антибиотикам, особенно хронической инфекции, вызываемой MDR-бактерией у вышеупомянутых субъектов, в частности, у субъектов с респираторными заболеваниями или расстройствами, например, муковисцидозом, COPD, COAD, COAP, пневмонией, ранами, ожогами и/или травмами.

Благодаря возможности лечить и предупреждать инфекцию ран MDR-бактерией, альгинатные олигомеры и антибиотики по изобретению, как определено в данной заявке, могут удалять одно из препятствий на пути заживления раны, и поэтому альгинатные олигомеры и антибиотики, определенные выше, также являются эффективными в стимуляции заживления острых и хронических ран, инфицированных или подверженных риску инфекции MDR-бактерией, которая устойчива к указанным антибиотикам.

Под стимуляцией заживления подразумевают, что лечение ускоряет процесс заживления данной раны (т.е. прохождение раны через три известных стадии процесса заживления). Ускорение процесса заживления может проявляться в виде увеличения скорости прохождения через одну, две или все стадии заживления (т.е. воспалительную стадию, пролиферативную стадию и/или стадию ремоделирования). Если рана является хронической раной, которая останавливается на одной из стадий заживления, то ускорение может проявляться в виде повторного запуска линейного, последовательного процесса заживления после остановки. Другими словами, лечение сдвигает рану из незаживающего состояния в состояние, когда рана начинает проходить через стадии заживления. Это продвижение вперед после перезапуска может проходить с нормальной скоростью или даже медленнее по сравнению со скоростью заживления нормальной

острой раны.

Альгинатные олигомеры и антибиотики по изобретению могут быть использованы вместе (или в комбинации или совместно) для лечения или предупреждения MDR-бактериальных инфекций там, где они могут наблюдаться внутри организма или на 5 организме. Таким образом, в другом воплощении инфекция может представлять собой заражение медицинского устройства MDR-бактерией, особенно постоянного медицинского устройства, например, эндотрахеальных и трахеостомических трубок.

Альгинатные олигомеры и антибиотики по изобретению могут быть использованы вместе (или в комбинации или совместно) в виде пероральных медицинских агентов, 10 например, для борьбы с зубным налетом, например, для его уменьшения или предупреждения, для уменьшения или замедления его развития путем ингибирования роста MDR-бактерий из налета на зубах или зубных/внутриротовых протезах.

Альгинатные олигомеры и антибиотики по изобретению также могут быть использованы вместе (или в комбинации или совместно) для лечения и предупреждения MDR-инфекций 15 или MDR-инфекционного заболевания, которые могут наблюдаться в полости рта, например, гингивита и пародонтита.

Соответственно, альгинатные олигомеры и/или антибиотики можно применять с помощью любой пероральной медицинской системы/пероральной гигиеничной системы доставки. Это может быть с помощью зубных паст, зубных гелей, зубных пен и 20 жидкостей для полоскания рта. Съёмные искусственные зубы и другие съёмные зубные протезы можно обрабатывать вне полости рта с использованием тех же композиций или других подходящих фармацевтически приемлемых композиций. Альгинатные олигомеры и/или антибиотики также могут быть включены в композиции, которые используются для полости рта (или используются для съёмных искусственных зубов 25 или других съёмных зубных протезов вне полости рта) для формирования покрытия, которое сохраняется на поверхностях в течение времени, или которые высвобождают альгинатные олигомеры и/или антибиотики из покрытых поверхностей в течение времени, и которые подавляют рост MDR-бактерий в полости рта и на поверхностях съёмных искусственных зубов и других съёмных зубных протезов.

Хотя лечение MDR-бактериальных инфекций легких и дыхательных путей и всех 30 участков организма обычно включено в настоящее изобретение, в одном воплощении медицинские применения по изобретению не направлены на лечение: (1) инфекций в дыхательных путях, например, у пациентов, страдающих от COPD (хроническая обструктивная болезнь легких), в частности синусах и легких, в частности, при лечении 35 муковисцидоза, хронической обструктивной болезни легких, эмфиземы, бронхита и синусита; (2) среднего уха пациентов, страдающих от экссудативного отита; или (3) половых путей пациентов-женщин с нарушенной фертильностью; или (4) желудочно-кишечного тракта пациентов с дисфункцией желудочно-кишечного тракта (например, запорами).

В определенных воплощениях изобретения альгинатные олигомеры и антибиотики по изобретению могут быть использованы вместе (или в комбинации или совместно) 40 в лечении или предупреждении эндокардита нативных клапанов, острого отита среднего уха, хронического бактериального простатита, пневмонии (в частности пневмонии, ассоциированной с аппаратом искусственной вентиляции легких), ассоциированной с MDR-бактериями; респираторными заболеваниями, ассоциированными с MDR- 45 бактериями (которые могут включать COPD, COAD, COAP, пневмонию, муковисцидоз и астму); и связанных с устройством MDR-бактериальных инфекций, ассоциированных с имплантируемыми или протезными медицинскими устройствами (например,

эндокардита протезированных клапанов или инфекции трубок, или катетеров, или искусственных суставов, или тканевых реплантаций, или эндотрахеальных или трахеотомических трубок).

В дополнительных воплощениях альгинатные олигомеры и антибиотики по изобретению используют вместе для контроля MDR-инфекций в глазу, например, для их уменьшения или предупреждения, уменьшения или замедления их развития. В частности, альгинат и антибиотики по изобретению используют вместе для лечения или предупреждения MDR-бактериального конъюнктивита и результирующего сухого кератоконъюнктивита (также известного как сухость глаз), которые могут быть следствием блокирования слезной железы.

Как уже упоминалось ранее, в некоторых воплощениях упомянутые выше MDR-бактериальные инфекции и ассоциированные условия представляют собой или включают биопленку, другими словами, они являются биопленочными инфекциями. В других воплощениях вышеупомянутые MDR-бактериальные инфекции и ассоциированные условия не являются и не включают биопленку.

В другом аспекте в изобретении предложен способ борьбы с контаминацией участка MDR-бактериями, включающий приведение участка и/или MDR-бактерий в контакт с (эффективным количеством) альгинатным олигомером вместе с (эффективным количеством) по меньшей мере одного антибиотика, к которому устойчивы бактерии. Такой способ, в частности, может представлять собой способ *in vitro*, и участок может представлять собой любую поверхность или место локализации, о которой говорилось выше.

"Борьба с контаминацией" включает в себя как профилактические, так и реактивные меры и процедуры и поэтому охватывает профилактику, а также сокращение, ограничение или устранение загрязнения.

Под "контаминацией" подразумевают нежелательное присутствие бактерии (например, MDR-бактерии) в конкретном участке или месте локализации. Контаминацию можно рассматривать как включающую колонизацию места локализации бактерии (например, MDR-бактерии), т.е. развитие бактерии (например, MDR-бактерии) в месте локализации и увеличение количеств данного организма в результате размножения или рекрутинга дополнительных бактерий, которые могут быть того же или другого типа. В одном воплощении процесс колонизации не включает образование биопленки.

Участок или место локализации контаминации или потенциальной контаминации не ограничены и могут представлять собой любые из различных участков или мест локализации, описанных или упомянутых выше, например, они могут быть *in vitro* или *in vivo*, но особенно в этом аспекте изобретения они будут представлять собой участок или место локализации "*in vitro*" или "*ex vivo*" (например, неживой или абиотический участок или место локализации). Однако участок или место локализации могут находиться в субъекте, и в этом случае указанному субъекту, вводят фармацевтически эффективные количества альгинатного олигомера и антибиотика.

В одном конкретном воплощении можно применять различные аспекты изобретения к деконтаминации клинических, научных и промышленных отходов. В другом конкретном воплощении различные аспекты изобретения можно использовать для деконтаминации трансплантируемых тканей (например, сердца, легких, почки, печени, сердечного клапана, поджелудочной железы, кишечника, ткани роговицы, артериальных и венозных трансплантатов и кожи) и медицинских устройств (например, эндотрахеальных и трахеостомических трубок) перед имплантацией. В другом воплощении можно рассматривать различные аспекты изобретения для охвата

применения альгинатных олигомеров вместе с антибиотиками в качестве анти-MDR-бактериальных консервантов в материалах, особенно растворах и жидкостях.

В другом воплощении способы по изобретению могут дополнительно включать стадию, на которой бактерии-мишени определяют как находящиеся или, альтернативно, не находящиеся в биопленке, или включающие биопленку.

В других воплощениях способов по изобретению, способы могут включать стадию, на которой определяют (например, устанавливают или определяют), что бактерия является устойчивой к определенному(ым) антибиотику(ам). На стадии вместо или в дополнение к предварительно описанной стадии, может быть стадия, на которой определяют, что бактерия представляет собой MDR-бактерию. Здесь можно использовать любой удобный тест, например тесты, описанные выше, или любой метод выявления известных и охарактеризованных бактерий (например, бактерий, уже идентифицированных как устойчивые к антибиотику и/или обладающие множественной лекарственной устойчивостью). На другой стадии может быть установлено, является ли конкретная устойчивость приобретенной или врожденной, например, по сравнению с типичными бактериями или бактериями дикого типа того же вида.

В любом из этих аспектов, применений или способов по изобретению MDR-бактерии и антибиотики могут представлять собой любые из бактерий и антибиотиков, описанных выше, и особенно любые, или их комбинации, указанные в качестве предпочтительных. Например, MDR-бактерии могут представлять собой бактерии из MDR-штамма бактерий. Также, например, MDR-бактерии могут представлять собой организм *Burkholderia*, например, *Burkholderia ceracia*. Также, например, антибиотик может представлять собой макролид, например, азитромицин, кларитромицин, диритромицин, эритромицин, рокситромицин или спирамицин.

Термин "приведение в контакт" охватывает любые способы доставки альгинатного олигомера и антибиотика к MDR-бактерии, прямо или опосредованно, и, таким образом, любые способы применения альгинатного олигомера и антибиотика к MDR-бактерии или воздействия альгинатного олигомера и антибиотика на MDR-бактерию, например, применения альгинатного олигомера и антибиотика непосредственно к MDR-бактерии или введения альгинатного олигомера и антибиотика субъекту, внутри которого или на котором присутствует MDR-бактерия, например, субъекту, инфицированному MDR-бактерией.

Более конкретно, MDR-бактерию будут приводить в контакт с эффективным количеством альгинатного олигомера и антибиотика, более конкретно, с количеством альгинатного олигомера и количеством антибиотика, которые вместе (или в комбинации или совместно) помогают преодолеть устойчивость MDR-бактерии к антибиотику и, следовательно, ингибируют жизнеспособность и/или рост MDR-бактерии и поэтому лечат или предупреждают инфекцию/контаминацию.

"Эффективное количество" альгинатного олигомера и антибиотика представляет собой такое количество альгинатного олигомера и такое количество антибиотика, которые вместе (или в комбинации или совместно) обеспечивают измеримое сокращение устойчивости (или измеримое увеличение чувствительности или измеримое снижение толерантности) к антибиотику, демонстрируемое бактерией (например, с использованием выше описанных индикаторов устойчивости). В некоторых воплощениях "эффективное количество" альгинатного олигомера и антибиотика представляет такое количество альгинатного олигомера и такое количество антибиотика, которые вместе (или в комбинации или совместно) обеспечивают измеримое ингибирование роста MDR-бактерии или их популяций, на которые нацелено воздействие, например, которые

устойчивы к антибиотику.

"Фармацевтически эффективное" количество альгинатного олигомера и антибиотика представляет такое количество альгинатного олигомера и такое количество антибиотика, которые вместе (или в комбинации или совместно) обеспечивают измеримое снижение устойчивости (или измеримое увеличение чувствительности или измеримое уменьшение толерантности) к антибиотику, демонстрируемое MDR-бактерией (например, с использованием описанных выше индикаторов устойчивости) у субъекта, и/или измеримое лечение или предупреждение инфекции, вызываемой MDR-бактерией, на которую нацелено воздействие.

Специалист сможет легко определить эффективное/фармацевтически эффективное количество альгинатного олигомера и антибиотика на основе рутинных протоколов доза-ответ и, соответственно, стандартных способов оценки ингибирования микробного роста и т.д., как описано ниже. Специалист может без излишней нагрузки также оптимизировать эти количества для максимизации комбинаторных эффектов альгинатного олигомера и антибиотика в целевой системе.

Под "ростом MDR-бактерии" подразумевают увеличение размера MDR-бактерии или количества и/или объема компонентов MDR-бактерии (например, количества нуклеиновой кислоты, количества белка, числа ядер, числа и размера органелл, объема цитоплазмы), так и увеличение количества MDR-бактерии, т.е. увеличение репликации MDR-бактерии.

Как правило, рост MDR-бактерии сопровождается увеличением организма. Рост MDR-бактерии можно измерить рутинными методами. Например, микроскопическое исследование морфологии микроорганизма в течение времени или анализы для оценки изменений в количестве белка или нуклеиновой кислоты (например, ДНК), в целом, или могут быть использованы изменения количеств специфических белков или нуклеиновых кислот. Специалист может легко выбрать подходящие маркеры для сравнения. Удобно, что можно контролировать так называемые гены "домашнего хозяйства" (например, β -актин, GAPDH (глицеральдегид-3-фосфатдегидрогеназа), SDHA (сукцинатдегидрогеназа), HPRT1 (гипоксантин-фосфорибозил-трансфераза 1), HBS1L (HBS1-подобный белок), AHSP (альфа-гемоглобин-стабилизирующий белок) и β 2M (бета-2-микроглобулин)), 16S РНК и вирусные гены, и продукты их экспрессии.

Под "репликацией MDR-бактерии" или "репликацией бактерии" подразумевают акт, посредством которого MDR-бактерия размножается. Как правило, это бинарное деление, когда микроорганизм делится на два. Чтобы обеспечить деление микроорганизма на два, бинарному делению обычно предшествует увеличение делящегося микроорганизма и увеличение количества и/или объема клеточных компонентов. Репликация приводит к увеличению числа клеток и, таким образом, может отслеживаться любым способом оценки числа микроорганизмов в популяции. Другая возможность состоит в отслеживании процесса в режиме реального времени посредством визуальной оценки под микроскопом. Время, которое требуется микроорганизму для репликации (т.е. для получения другого варианта самого себя), представляет собой время удвоения. Время удвоения будет зависеть от условий, в которых обнаруживается (MDR) бактерия. Скорость репликации может выражаться в терминах времени удвоения.

"Ингибирование роста MDR-бактерии" или "ингибирование роста бактерии" означает, что измеримый рост (например, репликация) (MDR) бактерии, или его скорость, уменьшается. Предпочтительно, измеримый рост (например, репликация) (MDR) бактерии, или его скорость, уменьшается по меньшей мере на 50%, более предпочтительно по меньшей мере на 60%, 70%, 80% или 90%, например, по меньшей

мере на 95%. Предпочтительно, измеримый рост (например, репликация) прекращается. Рост в терминах увеличения микробного размера или распространения и т.д. можно ингибировать независимо от репликации и наоборот.

Подходящие дозы альгинатного олигомера и антибиотика будут варьироваться от субъекта к субъекту и могут быть определены врачом или ветеринаром в соответствии с массой, возрастом и полом субъекта, тяжестью состояния, способом введения, а также выбранными конкретными альгинатным олигомером или антибиотиком. Как правило, альгинатные олигомеры по изобретению будут применяться к месту локализации, которое подвергают лечению, при локальной концентрации по меньшей мере 0,5%, предпочтительно по меньшей мере 2% или по меньшей мере 4%, более предпочтительно по меньшей мере 6% и наиболее предпочтительно по меньшей мере 10% массы по объему. Как правило, антибиотик по изобретению будет применяться к месту локализации, которое подвергают лечению, при локальной концентрации по меньшей мере 1 мкг/мл, предпочтительно по меньшей мере 4, по меньшей мере 8, по меньшей мере 16, по меньшей мере 32, по меньшей мере 64, по меньшей мере 128, по меньшей мере 256 или по меньшей мере 512, 1024, 2048 или 4096 мкг/мл.

"Лечение", при использовании в отношении лечения медицинского состояния/инфекции у субъекта согласно изобретению, широко используется в данной заявке для обозначения любого терапевтического эффекта, т.е. любого благоприятного эффекта на состояние или в отношении инфекции. Таким образом, включено не только уничтожение или удаление инфекции, или лечение субъекта или инфекции, но также ослабление инфекции или улучшение состояния субъекта. Таким образом, включено, например, ослабление какого-либо симптома или признака инфекции или состояния, или любого клинически принятого показателя инфекции/состояния (например, уменьшение размера раны или ускорение времени заживления). Лечение, таким образом, включает как куративную, так и паллиативную терапию, например, уже существующей или диагностированной инфекции/состояния, т.е. консервативное лечение.

"Предупреждение", как использовано в данной заявке, относится к любому профилактическому или превентивному эффекту. Таким образом, он включает замедление, ограничение, уменьшение или предупреждение состояния (которое включают инфекцию и контаминацию, при соответствующих условиях, в различных аспектах изобретения) или начала состояния, или одного или более симптомов или их признаков, например, относительно состояния, или симптома, или признака до профилактического лечения. Профилактика, таким образом, ясно включает как абсолютное предупреждение возникновения или развития состояния, или его симптома или признака, так и любое замедление начала или развития состояния, или симптома, или признака, или уменьшение или ограничение развития или прогрессирования состояния, или симптома, или признака.

В частности, альгинатные олигомеры и антибиотики по изобретению могут быть взяты вместе (или в комбинации или совместно) для профилактического лечения, например, для предупреждения или по меньшей мере минимизации риска инфекции или контаминации MDR-бактерией, резистентной к антибиотику.

Аспект изобретения, касающийся борьбы (лечения или предупреждения) с инфекцией, вызываемой MDR-бактерией, имеет особую полезность в лечении госпитализированных пациентов, поскольку риск контакта с нозокомиальной инфекцией (обычно известной как связанная с больницей/внутрибольничная инфекция или инфекция, ассоциированная со здравоохранением), вызываемой MDR-бактерией, можно минимизировать с помощью профилактической схемы альгинатных олигомеров и антибиотиков, определенных в

данной заявке. Этот аспект изобретения также представляет определенную пользу для лечения субъектов, страдающих от травмы; субъектов с ожогом и субъектов с ранами, которые все, как указано выше, в большей степени подвержены инфекции MDR-бактерией, чем субъекты, которые не подвергаются такому воздействию.

5 Как правило, субъекты, нуждающиеся в лечении или профилактике согласно изобретению, будут диагностироваться как страдающие или подвергающиеся риску заражения MDR-бактерией, например, идентифицированные как имеющие или подвергающиеся риску развития инфекции, вызываемой MDR-бактерией.

Конкретно, альгинатные олигомеры и антибиотики по изобретению можно
10 использовать вместе (или в комбинации или совместно) в качестве профилактического лечения для предупреждения или по меньшей мере минимизации риска развития инфекции, вызываемой MDR-бактерией, резистентной к выбранному(ым) антибиотику(ам), включая, например, инфекцию ран, вызываемую MDR-бактерией; эндокардит нативных клапанов, острый отит среднего уха, хронический бактериальный простатит,
15 ассоциированный с MDR-бактерией; инфекции дыхательных путей и легких, вызываемые MDR-бактерией (например, муковисцидоз, COPD, COAD, COAP, пневмонию или другие респираторные заболевания) или заражение медицинского (например, постоянного) устройства MDR-бактерией.

Изобретение охватывает применение одного альгинатного олигомера или смеси
20 (большого количества/некоторого количества) различных альгинатных олигомеров. Таким образом, например, можно использовать комбинацию различных альгинатных олигомеров (например, двух или более).

Изобретение охватывает применение одного антибиотика или смеси
(большого количества/некоторого количества) различных антибиотиков. Таким
25 образом, например, можно использовать комбинацию различных антибиотиков (например, двух или более). MDR-бактерия может быть чувствительна к другому(им) используемому(ым) антибиотику(ам) или может быть устойчива к другому(им) используемому(ым) антибиотику(ам).

В одном предпочтительном воплощении изобретения альгинатные олигомеры и
30 антибиотик могут быть использованы в способах по изобретению в сочетании или в комбинации с дополнительным противомикробным агентом (в дальнейшем "дополнительный противомикробный агент").

В контексте медицинского применения такой противомикробный агент может представлять собой любой клинически полезный противомикробный агент и, в
35 частности, антибиотик или противовирусный и противогрибковый агент. В контексте неклинических применений противомикробный агент может представлять собой любой противомикробный агент, используемый для таких целей, например, любое дезинфицирующее средство, или антисептик, или очищающий или стерилизующий агент. Агенты могут быть использованы раздельно, или вместе в одной и той же композиции,
40 одновременно, или последовательно, или раздельно, например, с любым желаемым интервалом времени.

Таким образом, посредством типичного примера, дополнительный
противомикробный агент можно использовать после альгинатного олигомера и/или антибиотика, но предшествующее, или одновременное, или промежуточное применение
45 может быть полезным в некоторых случаях.

Выбор противомикробного агента должен, конечно, соответствовать месту локализации, которое обрабатывают, так, например, могут быть использованы противомикробные агенты, например, антибиотики, противогрибковые,

противовирусные средства, антисептики и/или стерилизующие условия, такие как облучение (например, УФ, рентгеновское, гамма), экстремальные значения температуры и экстремальные значения pH.

Типичные антибиотики включают перечисленные выше, особенно указанные в качестве предпочтительных.

Типичные антисептики включают, но не ограничиваются этим, хлорный отбеливатель (гипохлорит натрия), четвертичные аммониевые соединения (например, бензалкония хлорид, цетилтриметиламмония бромид, цетилпиридиния хлорид), перекись водорода, фенольные соединения (например, ТСП), спирты (например, этанол), Virkon™, соединения йода (например, повидон-йод), соединения серебра (например, нано/микрочастицы элементарного серебра).

Противомикробные поверхностно-активные вещества представляют собой другой класс антисептиков. Это соединения, которые разрушают мембраны и другие структурные компоненты микробных клеток и, следовательно, ингибируют рост и/или жизнеспособность микроорганизмов. Противомикробные поверхностно-активные вещества и их применение в противомикробных композициях хорошо известно в данной области, если потребуется дополнительное руководство, то обсуждение противомикробных поверхностно-активных веществ в "Preservative-free and self-preserving cosmetics and drugs - Principles and practice", Ed. Kabara and Orth, Marcel Dekker, NY, NY, 1997, ясно включено посредством ссылки во всей своей полноте. Противомикробные поверхностно-активные вещества могут быть анионными, катионными, неионогенными или амфотерными. Примеры противомикробных анионных поверхностно-активных веществ включают, но не ограничиваются этим, додецил сульфат натрия (лаурилсульфат натрия), натрий-додециламинопропионовую кислоту, рицинолеат натрия, желчные кислоты, алкиларилсульфонаты, GrilloSan DS7911, динатрия ундециленовая кислота-моноэтанол-амидосульфосукцинат. Примеры противомикробных катионных поверхностно-активных веществ включают, но не ограничиваются этим, четвертичные аммониевые соединения, аминимиды и соединения хлоргексидина. Примеры противомикробных неионогенных поверхностно-активных веществ включают, но не ограничиваются этим, моноэфиры жирных кислот, полиэтиленгликомоноэфиры алкилдигидроксibenзойных кислот, производные глюкозамина и диэтаноламида N-лауроилдипептидов. Примеры противомикробных амфотерных поверхностно-активных веществ включают, но не ограничиваются этим, алкилбетаины, алкиламидопропилбетаины алкиламинопропионаты, алкилиминодипропионаты и алкилимидазолины.

Типичные противогрибковые средства включают, но не ограничиваются этим, полиены (например, натамицин, римоцидин, филипин, нистатин, амфотерицин В, кандицин; имидазолы (например, миконазол, кетоконазол, клотримазол, эконазол, бифоназол, бутконазол, фентиконазол, изоконазол, оксиконазол, сертаконазол, сульконазол, тиокконазол); триазолы (например, флуконазол, итраконазол, исавуконазол, равуконазол, позаконазол, вориконазол, терконазол); аллиламины (например, тербинафин, аморолфин, нафтифин, бутенафин); и эхинокандины (например, анидулафунгин, каспофунгин, микафунгин).

Типичные антивирусные средства включают, но не ограничиваются этим, абакавир, ацикловир, адефовир, амантадин, ампренавир, арбидол, атазанавир, атриплу, боцепревир, цидофовир, комбивир, дарунавир, делапирдин, диданозин, докозанол, эдоксудин, эфавиренц, эмтрицитабин, энфувиртид, энтекавир, фамцикловир, фомивирсен, фосампренавир, фоскарнет, фосфонет, ганцикловир, ибацитабин, имуновир,

идоксуридин, имихимод, индинавир, инозин, интерферон III типа, интерферон II типа, интерферон I типа, ламивудин, лопинавир, ловирид, маравирик, мороксидин, нелфинавир, невирапин, нексавир, осельтамивир, пенцикловир, перамивир, плеконарил, подофиллотоксин, ралтегравир, рибавирин, ремантадин, ритонавир, саквинавир, ставудин, тенофовир, тенофовир дизопроксил, типранавир, трифлуридин, тризивир, тромантадин, труваду, валацикловир, валганцикловир, викривирик, видарабин, вирамидин, залцитабин, занамивир и зидовудин.

Дополнительный противомикробный агент можно удобно применять до, одновременно, после или между альгинатным олигомером и/или антибиотиком.

Соответственно, дополнительный противомикробный агент применяют по существу в то же время, что и альгинатный олигомер и/или антибиотик, или после них. Например, дополнительный противомикробный агент применяют по меньшей мере через 1 час, предпочтительно по меньшей мере через 3 часа, более предпочтительно по меньшей мере через 5 и наиболее предпочтительно по меньшей мере через 6 часов после введения альгинатного олигомера и/или антибиотика. В других воплощениях дополнительный противомикробный агент можно удобно применять или вводить до альгинатного олигомера и/или антибиотика, например, по меньшей мере за 1 час, по меньшей мере за 3 часа, по меньшей мере за 6 часов до альгинатного олигомера и/или антибиотика. В этих воплощениях альгинатный олигомер и/или антибиотик можно применять или вводить вместе или без дополнительного применения дополнительного противомикробного агента. Чтобы оптимизировать противомикробный эффект дополнительного противомикробного агента, его следует давать (например, вводить или доставлять) повторно во временные точки, соответствующие используемому агенту. Специалист способен подобрать подходящую дозировку или схему применения. При длительном лечении альгинатный олигомер и/или антибиотик можно использовать многократно. Альгинатный олигомер можно применять так же часто, как и антибиотик и/или дополнительный противомикробный агент, но обычно менее часто. Необходимая частота будет зависеть от локализации MDR-бактерии, состава колонии и используемого противомикробного средства, и специалист способен оптимизировать дозировку или схемы применения для оптимизации результатов.

В предпочтительном воплощении альгинатный олигомер и/или антибиотик можно использовать или применять после физического удаления или уменьшения (например, хирургической обработки раны) колонии/популяции, содержащей MDR-бактерию, вызывающей инфекцию в участке, подвергаемом обработке.

После удаления или попытки удаления, колонию/популяцию, содержащую MDR-бактерию, место локализации можно привести в контакт с альгинатным олигомером в течение от 0 до 24 часов, конкретно от 2 до 12 часов, более конкретно от 4 до 8 часов, наиболее конкретно от 5 до 7 часов, например, 6 часов. После этого можно применить антибиотик и, при желании, дополнительный противомикробный агент. Такой сценарий может быть желательным или особенно применимым в клинических условиях. В случае ран, инфицированных MDR-бактерией, продолжительность инкубации может быть удобно рассчитана для соответствия запланированным изменениям в раневой повязке.

Физическое удаление колонии/популяции, содержащей MDR-бактерию, может осуществляться любым подходящим хирургическим, механическим или химическим путем. Для этого удобно использовать жидкость, гель, гель-золь, полутвердые композиции или газ, используемый при давлении на колонию/популяцию, обработку ультразвуком, лазерное или абразивное устройство. Композиция, используемая для самого удаления или в качестве промывочного раствора до, во время или после может

соответственно содержать альгинатный олигомер и/или антибиотик.

Соответственно, в одном конкретном воплощении предложена композиция для обработки раны или промывки, например, раствор для ран, содержащий альгинатный олигомер, в частности, любой альгинатный олигомер, как определено в данной заявке, и/или антибиотик, в частности, любой антибиотик, как определено в данной заявке (например, макролид, предпочтительно выбранный из азитромицина, кларитромицина, дири트로мицина, эритромицина, рокситромицина или спирамицина), для применения в обработках и способах по изобретению. Такая композиция для обработки раны обычно будет представлять собой стерильный раствор, в частности, водный стерильный раствор или масляный стерильный раствор, и дополнительно может содержать протеолитические ферменты (например, коллагеназу, трипсин, пепсин, эластазу), абразивную твердую фазу (например, коллоидный диоксид кремния, размолотую пемзу, размолотое растение или раковины животных).

Применение альгинатных олигомеров и антибиотика в сочетании или совместно с иммуностимулирующими агентами также может быть полезным при применении способов по изобретению в клинических условиях. Эти иммуностимулирующие агенты могут быть предпочтительно использованы в моменты времени, соответствующие описанным выше в отношении противомикробных агентов, и могут быть возможно использованы в комбинации с альгинатным олигомером и/или антибиотиком и/или дополнительным противомикробным агентом. Подходящие иммуностимулирующие агенты включают, но не ограничиваются этим, цитокины, например TNF, IL-1, IL-6, IL-8, и иммуностимулирующие альгинаты, такие как альгинаты с высоким содержанием М, как описано, например, в US 5169840, WO 91/11205 и WO 03/045402, которые ясно включены в данную заявку посредством ссылки во всей своей полноте, в том числе любой альгинат с иммуностимулирующими свойствами.

Применение альгинатных олигомеров и антибиотика в комбинации или совместно с факторами роста, например, PDGF, FGF, EGF, TGF, hGF и ферментами, также может быть полезным для медицинских применений по изобретению. Типичные примеры подходящих ферментов включают, но не ограничиваются этим, протеазы, например, сериновые протеазы, металлопротеазы и цистеиновые протеазы (примеры этих типов протеаз перечислены в EP 0590746, полное содержание которого включено здесь посредством ссылки); нуклеазы, например, ДНКазу I и II, РНКазу А, Н, I, II, III, Р, Р_hуМ, R, липазы и ферменты, способные разлагать полисахариды.

Также может быть полезным применение альгинатных олигомеров и антибиотика в комбинации или совместно с физиологически приемлемым агентом, снижающим вязкость слизи, например с ферментом, расщепляющим нуклеиновую кислоту (например, ДНКазой, такой как ДНКазу I), гельзолином, тиол-восстанавливающим агентом, ацетил цистеином, хлоридом натрия, незаряженным низкомолекулярным полисахаридом (например, декстраном), аргинином (или другими предшественниками или стимуляторами синтеза оксида азота) или анионной полиаминокислотой (например, поли-ASP или поли-GLU). Амброксол, бромгексин, карбоцистеин, домиодол, эпразинон, эрдостеин, летостеин, месна, нелтенецин, соберол, степронин, тиопронин являются специфическими муколитиками, достойными внимания.

Применение альгинатных олигомеров и антибиотика в комбинации или совместно с альфа-блокаторами также может быть полезным в медицинских применениях по изобретению, особенно в лечении хронического бактериального простатита. Типичные примеры подходящих альфа-блокаторов включают, но не ограничиваются этим, селективные альфа-1-блокаторы (например, доксазозин, дилодозин, празозин,

тамсулозин, алфузозин, теразозин), и неселективные адренергические блокаторы (например, феноксibenзамин, фентоламин).

5 Применение альгинатных олигомеров и антибиотика в комбинации или совместно с бронходилататорами также может быть полезным в медицинских применениях по изобретению, в лечении респираторных заболеваний, особенно ассоциированных с MDR-бактерией (которые могут включать COPD, COAD, COAP, пневмонию, муковисцидоз, эмфизему и астму). Типичные примеры подходящих бронходилататоров включают, но не ограничиваются этим, β_2 -агонисты (например, пирбутерол, эпинефрин, сальбутамол, сальметерол, левосальбутамол, кленбутерол), антихолинергические средства (например, ипратропий, окситропий, тиотропий) и теофиллин.

10 Применение альгинатных олигомеров и антибиотика в комбинации или совместно с кортикостероидами также может быть полезным в медицинских применениях по изобретению, в лечении респираторных заболеваний, особенно ассоциированных с MDR-бактерией (которые могут включать COPD, COAD, COAP, пневмонию, муковисцидоз, эмфизему и астму). Типичные примеры подходящих кортикостероидов включают, но не ограничиваются этим, преднизон, флунизолит, триамцинолон, флутиказон, будесонид, мометазон, беклометазон, амцинонид, будесонид, десонид, флуоцинонид, флуоцинолон, галцинонид, гидрокортизон, кортизон, тиксокортол, преднизолон, метилпреднизолон, преднизон, бетаметазон, дексаметазон, флуоокртолон, аклометазон, предникарбат, клобетазон, клобетазол и флупредниден.

15 Альгинатные олигомеры и антибиотик могут быть возможно использованы с любым другим терапевтически активным агентом, который желательно использовать, например, противомикробным агентом, противовоспалительным агентом (например, противовоспалительным стероидом), иммуностимулирующим агентом; агентом, снижающим вязкость слизи, ингибитором роста, или ферментом, или альфа-блокатором, бронходилататором или кортикостероидом. Комбинированное применение альгинатного олигомера и антибиотика с дополнительным терапевтически активным агентом (например, противомикробным или противовоспалительным агентом, иммуностимулирующим агентом; агентом, снижающим вязкость слизи, ингибитором роста, или ферментом, или альфа-блокатором, бронходилататором или кортикостероидом) может улучшить клинические эффекты активного агента, и это может предпочтительно снизить дозу (например, обычную или нормальную дозу) дополнительного терапевтически активного агента, например, его можно использовать при его нормальной или обычной дозе или при более низкой дозе, например, вплоть до 50% (или при 50%) от нормальной дозы.

20 В случае медицинского применения, альгинатные олигомеры и антибиотики по изобретению можно вводить субъекту в любой удобной форме или любым удобным способом, например, местным, пероральным, парентеральным, энтеральным, парентеральным путями или посредством ингаляции. Предпочтительно, альгинат и антибиотики будут вводить местным, пероральным или парентеральным путями или посредством ингаляции. Альгинатные олигомеры и антибиотики не обязательно должны находиться в одной и той же композиции и не обязательно должны вводиться одним и тем же путем.

25 Специалист сможет приготовить альгинатные олигомеры и антибиотики по изобретению в виде фармацевтических композиций, которые адаптированы для путей введения в соответствии с любым из традиционных способов, известных в данной области и широко описанных в литературе.

В настоящем изобретении также предложена фармацевтическая композиция для

применения в любом из вышеупомянутых способов или применений, содержащая альгинатный олигомер, как определено в данной заявке, вместе с по меньшей мере одним фармацевтически приемлемым носителем, разбавителем или эксципиентом. Эта композиция также может содержать антибиотик, как определено в данной заявке.

5 В настоящем изобретении также предложена фармацевтическая композиция для применения в любом из вышеупомянутых способов или применений, содержащая антибиотик, как определено в данной заявке, вместе с по меньшей мере одним фармацевтически приемлемым носителем, разбавителем или эксципиентом. Эта композиция также может содержать альгинатный олигомер, как определено в данной

10 заявке.

В изобретении также предложены продукты (например, фармацевтический набор или комбинированный ("комбинация") продукт) или композиции (например, фармацевтическая композиция), где продукт или композиция содержит альгинатный олигомер, как определено в данной заявке, и антибиотик, например, выбранный из

15 группы, включающей азитромицин, кларитромицин, диритромицин, эритромицин, тролеандомицин, азтреонам, имипенем, меропенем, эртапенем, дорипенем, панипенем/бетамипрон, биапенем, PZ-601, цефиксим, цефдинир, цефдиторен, цефоперазон, цефотаксим, цефподоксим, цефтазидим, цефтибутен, цефтизоксим, цефтриаксон, цефепим, демеклоциклин, доксициклин, миноциклин, окситетрациклин, тетрациклин, бацитрацин,

20 колистин, полимиксин В, ципрофлоксацин, эноксацин, гатифлоксацин, левофлоксацин, ломефлоксацин, моксифлоксацин, норфлоксацин, офлоксацин и тровафлоксацин. Предпочтительно, антибиотик выбран из группы, включающей цефтазидим, имипенем/циластатин, меропенем, азтреонам, окситетрациклин, колистин, азитромицин и ципрофлоксацин, предпочтительно, это азитромицин. Например, антибиотик может

25 быть выбран из амикацина, гентамицина, канамицина, неомицина, нетилмицина, стрептомицина, тобрамицина, азитромицина, кларитромицина, диритромицина, эритромицина, рокситромицина, телитромицина, карбомицина А, джозамицина, китазамицина, мидекамицина, олеандомицина, спирамицина, тилозина, тролеандомицина, азтреонама, имипенема, меропенема, эртапенема, дорипенема, панипенема/бетамипрона,

30 биапенема, PZ-601, цефиксима, цефдинира, цефдиторена, цефоперазона, цефотаксима, цефподоксима, цефтазидима, цефтибутена, цефтизоксима, цефтриаксона, цефепима, демеклоциклина, доксициклина, миноциклина, окситетрациклина, тетрациклина, бацитрацина, колистина, полимиксина В, ципрофлоксацина, эноксацина, гатифлоксацина, левофлоксацина, ломефлоксацина, моксифлоксацина, норфлоксацина, офлоксацина и

35 тровафлоксацина. В частности, антибиотик может быть выбран из цефтазидима, имипенема/циластатина, меропенема, азтреонама, окситетрациклина, азитромицина, кларитромицина, диритромицина, эритромицина, рокситромицина, спирамицина и ципрофлоксацина, и особенно предпочтительно, чтобы антибиотик был выбран из цефтазидима, имипенема/циластатина, меропенема, азтреонама, азитромицина,

40 кларитромицина, диритромицина, эритромицина, рокситромицина, спирамицина и ципрофлоксацина. Более предпочтительно, антибиотик выбран из азтреонама, азитромицина, кларитромицина, диритромицина, эритромицина, рокситромицина, спирамицина и ципрофлоксацина. В других воплощениях используемый антибиотик не является тобрамицином, амикацином и/или колистином. В других воплощениях

45 используемый антибиотик не является аминогликозидом или полипептидным антибиотиком. В других воплощениях используемый антибиотик не является антибиотиком, который имеет положительный заряд в условиях, в которых он будет использоваться вместе с альгинатным олигомером, например, антибиотиками с по

меньшей мере 3, например, по меньшей мере 4, 5, 6 или 7 амино (-NH₂) группами. Эти продукты и композиции специально рассматриваются для применения в способах по изобретению. Продукты и композиции могут быть фармацевтическими или нефармацевтическими. Поэтому продукты и композиции данного аспекта изобретения можно использовать в любом из способов по изобретению.

Как уже говорилось выше, альгинатные олигомеры и антибиотики, предложенные для применения согласно изобретению, можно использовать в комбинации друг с другом, например, вводить вместе, в одном фармацевтическом препарате или композиции, или раздельно (т.е. для раздельного, последовательного или одновременного введения). Таким образом, альгинатные олигомеры и антибиотики по изобретению могут быть объединены, например, в фармацевтическом наборе или в виде комбинированного ("комбинация") продукта.

Таким образом, как указано выше, в дополнительных аспектах настоящего изобретения предложены продукты, содержащие альгинатный олигомер и антибиотик в виде комбинированного препарата для применений, определенных в данной заявке. Такие продукты могут возможно дополнительно содержать дополнительный активный агент.

Также рассматривается применение альгинатных олигомеров, как определено в данной заявке, для изготовления таких фармацевтических продуктов и фармацевтических композиций для применения в медицинских способах по изобретению.

Также могут быть включены дополнительные активные агенты. Выше упомянутое и последующее обсуждение дополнительных активных агентов и эксципиентов и тому подобного непосредственно применимы во всей своей полноте в этом аспекте изобретения.

Активный ингредиент может быть включен, возможно вместе с другими активными агентами, с одним или более традиционными носителями, разбавителями и/или эксципиентами для изготовления традиционных галеновых препаратов, таких как таблетки, пилюли, порошки (например, порошки для ингаляции), пастилки, саше, облатки, эликсиры, суспензии, эмульсии, растворы, сиропы, аэрозоли (в твердой или в жидкой среде), спреи (например, назальные спреи), композиции для применения в небулайзерах, мазей, мягких и твердых желатиновых капсулах, суппозиториях, стерильных растворах для инъекций, стерильных упакованных порошках и тому подобном. Стерильные композиции для ингаляции имеют особое значение для применения в лечении респираторных заболеваний, ассоциированных с MDR-бактерией (которые могут включать COPD, COAD, COAP, пневмонию, муковисцидоз, эмфизему и астму).

Примеры подходящих носителей, эксципиентов и разбавителей представляют собой лактозу, глюкозу, сахарозу, сорбит, маннит, крахмалы, гуммиарабик, фосфат кальция, инертные альгинаты, трагакант, желатин, силикат кальция, микрокристаллическую целлюлозу, поливинилпирролидон, целлюлозу, водный сироп, воду, воду/этанол, воду/гликоль, воду/полиэтилен, гипертонический солевой раствор, глицерин, пропиленгликоль, метилцеллюлозу, метилгидроксibenзоаты, пропилгидроксibenзоаты, тальк, стеарат магния, минеральное масло или жирные вещества, таких как твердый жир, или их подходящие смеси. Эксципиентами и разбавителями, представляющими интерес, являются маннит и гипертонический солевой раствор (солевой раствор).

Композиции могут дополнительно включать смазывающие агенты, увлажняющие агенты, эмульгаторы, суспендирующие агенты, консерванты, подсластители, ароматизаторы и тому подобное. Дополнительные терапевтически активные агенты

можно включать в фармацевтические композиции, как описано выше в отношении вышеупомянутых комбинированных терапий.

В некоторых случаях может быть полезно вводить альгинатные олигомеры и/или антибиотики, как определено в данной заявке, животным, например, для стимуляции прироста массы/роста. Введение можно осуществлять в форме фармацевтических композиций, описанных выше, но удобно, когда альгинатные олигомеры и/или антибиотики, как определено в данной заявке, могут быть использованы в виде стандартной пищевой добавки, т.е. соединения, которое добавляют в корм для животных в небольших, несущественных для питания количествах. Применение пищевых добавок в кормах для животных хорошо известно, и определение и применение подходящих количеств альгинатов по изобретению для достижения желаемых эффектов, например, прироста массы/роста, является рутинным для специалиста.

Относительное содержание альгинатного олигомера и антибиотика может варьироваться в зависимости от требуемой дозы и последующей схемы введения доз и будет зависеть от субъекта, которого лечат, и локализации и особенностей MDR-бактерии и/или компонентов контаминации или популяции, содержащей MDR-бактерию. Предпочтительно, композиция будет содержать такое количество альгинатного олигомера и такое количество антибиотика, которые будут обеспечивать измеримое уменьшение устойчивости (или измеримое увеличение чувствительности или измеримое снижение толерантности) к антибиотику, демонстрируемое бактерией, например, количество альгинатного олигомера, которое будет по меньшей мере в два раза, по меньшей мере в четыре раза, по меньшей мере в восемь раз, по меньшей мере в шестнадцать раз или по меньшей мере в тридцать два раза увеличивать чувствительность MDR-бактерии к антибиотику. Другими словами, композиция будет содержать такое количество альгинатного олигомера и такое количество антибиотика, которые обеспечивают измеримое лечение инфекции, являющейся мишенью. Предпочтительно, композиция или продукт будут содержать достаточное количество альгинатного олигомера, при введении которого субъекту или применении к участку локализации, локальная концентрация олигомера будет составлять по меньшей мере 2%, предпочтительно по меньшей мере 4%, 6% или 8% и наиболее предпочтительно по меньшей мере 10% (массы по объему). Антибиотик предпочтительно будет присутствовать в количестве, которое является достаточным для обеспечения локальной концентрации по меньшей мере 0,03125, 0,0625, 0,125, 0,25, 0,5, 1, 2, 4, 8, 16, 64, 128, 256, 512, 1024, 2048 или 4096 мкг/мл. Специалист обычно знает, что количества альгинатного олигомера и/или антибиотика могут быть уменьшены в случае схемы введения многократных доз или увеличены для минимизации числа введений или применений.

Композиции и продукты из данного аспекта обычно будут содержать от 1% до 99%, от 5% до 95%, от 10% до 90% или от 25% до 75% альгинатного олигомера и от 1% до 99%, от 5% до 95%, от 10% до 90% или от 25% до 75% антибиотика, с поправкой на другие ингредиенты.

Парентерально вводимые формы, например, внутривенные растворы, должны быть стерильными и свободными от физиологически неприемлемых агентов и должны иметь низкую осмолярность для минимизации раздражения или других побочных эффектов при введении и, таким образом, раствор должен быть предпочтительно изотоническим или слегка гипертоническим, например, гипертоническим солевым раствором (солевым раствором). Подходящие носители включают водные носители, обычно используемые для введения парентеральных растворов, такие как хлорид натрия для инъекций, раствор Рингера для инъекций, декстроза для инъекций, декстроза и хлорид натрия для инъекций,

раствор Рингера с лактатом для инъекций и другие растворы, такие как описано в Remington's Pharmaceutical Sciences, 15th ed., Easton: Mack Publishing Co., pp. 1405-1412 и 1461-1487 (1975) и The National Formulary XIV, 14th ed. Washington: American Pharmaceutical Association (1975). Растворы могут содержать консерванты, противомикробные агенты, 5 буферы и антиоксиданты, обычно используемые для парентеральных растворов, эксципиенты и другие добавки, которые совместимы с биополимерами и которые не влияют на производство, хранение или применение продуктов.

Для местного введения альгинатный олигомер и/или антибиотик могут быть включены в кремы, мази, гели, трансдермальные пластыри и тому подобное.

10 Альгинатные олигомеры и/или антибиотик также могут быть включены в медицинские перевязочные материалы, например, повязки для ран, например, тканые (например, тканевые) повязки или нетканые перевязочные материалы (например, гели и повязки с гелевым компонентом). Применение альгинатных полимеров в перевязочных материалах известно, и такие повязки, или фактически любые повязки могут 15 дополнительно включать альгинатные олигомеры по изобретению.

Соответственно, в дополнительном конкретном воплощении в изобретении также предложена повязка для раны, содержащая альгинатный олигомер (который может представлять собой любой альгинатный олигомер, как определено в данной заявке) и/ 20 или антибиотик (который может представлять собой любой антибиотик, как определено в данной заявке) для применения, при необходимости, в обработках и способах по изобретению.

Другие местные системы, которые считаются подходящими, представляют собой системы доставки лекарственных средств *in situ*, например, гели, где твердые, полутвердые, аморфные или жидкокристаллические гелевые матрицы образуются *in* 25 *situ* и могут содержать альгинатный олигомер и/или антибиотик. Такие матрицы можно удобно конструировать для контроля за высвобождением альгинатного олигомера и/или антибиотика из матрицы, например, высвобождение может быть замедлено и/или может поддерживаться в течение выбранного периода времени. Такие системы могут образовывать гели только при контакте с биологическими тканями или жидкостями. 30 Как правило, гели являются биоадгезивными. Доставка в любой участок организма, который может сохранять или может быть адаптирован для сохранения предварительной гелевой композиции, может быть мишенью для такого способа доставки. Такие системы описаны в WO 2005/023176.

Для применения к ротовой, трансбуккальной и зубной поверхностям специально 35 упоминаются зубные пасты, зубные гели, зубные пены и жидкости для полоскания рта. Таким образом, в одном конкретном аспекте включена композиция для ухода за полостью рта или гигиены полости рта, содержащая альгинатный олигомер и антибиотик (который может представлять собой любой альгинатный олигомер или антибиотик, как определено в данной заявке), в частности, жидкость для полоскания 40 рта, зубная паста, зубной гель или зубная пена для применения, при необходимости, в обработках и способах по изобретению.

Также следует отметить композиции для ингаляции. Приготовление композиций, пригодных для ингаляции, является рутинным для специалиста и уже давно стало стандартной практикой в лечении заболеваний респираторных заболеваний. Например, 45 композиции для ингаляции могут принимать форму порошков, растворов или суспензий для ингаляции. Специалист может выбрать наиболее подходящий тип системы доставки для своих нужд и приготовить подходящий препарат альгинатов и/или антибиотиков по изобретению для применения в этой системе. Особенно предпочтительными являются

растворы без пропеллентов для использования в небулайзерах и порошковые препараты для ингаляции.

Как указано выше, предпочтительная композиция по изобретению представляет собой композицию для обработки раны, которую используют в процесса обработки раны для удаления колонии или популяции, содержащей MDR-бактерию, например, из ткани. Как правило, такая композиция будет жидкой, но могут быть использованы гели, гель-золи или полутвердые композиции. Композиция может быть использована для удаления колонии/популяции (например, посредством применения к ткани под давлением) и/или может быть использована для промывания ткани до, во время и/или после обработки раны другими средствами, такими как хирургические, механические или химические способы. Специалист может легко приготовить композиции для обработки раны в соответствии с изобретением.

В случае MDR-бактерии на неживой поверхности или в неживом материале, альгинатный олигомер и/или антибиотик можно применять к поверхности или материалу, которые подлежат обработке, в любой удобной композиции или препарате, или с помощью любого удобного средства. Таким образом, альгинатный олигомер и/или антибиотик может находиться в форме жидкости, геля, гель-золя, в полутвердой и твердой форме (например, растворы, суспензии, гомогенаты, эмульсии, пасты, порошки, аэрозоли, пары). Как правило, композиции для обработки таких неживых поверхностей или материалов будут находиться в нефармацевтически приемлемой композиции. Выбор формы композиции будет определяться особенностями MDR-бактерии на поверхности или в материале и локализацией поверхности или материала. Например, если местом локализации является трубопровод для жидкости, то удобно использовать жидкую композицию. Также предпочтительно использовать композицию, которая сохраняется на поверхности или в части трубопровода для жидкости, подлежащего обработке, но которая не будет вытекать в жидкость для нормального применения, например, адгезивный гель. Специалист может легко приготовить подходящие композиции на основании общих знаний. Например, альгинатный олигомер и/или антибиотик можно добавлять к составу краски и применять к обрабатываемой поверхности, например, корпусу судна или другой части структуры судна, которая подвергается воздействию воды, или к зданию или любой его части, резервуару (например, резервуару для хранения или переработки) или даже к любой части промышленного оборудования. Такие композиции могут для удобства также содержать дополнительный противомикробный агент, как описано выше, например, антибиотик, хлорный отбеливатель, ТСР, этанол, Virkon™, повидон-йод, соединения серебра, противомикробные поверхностно-активные вещества и т.д. Поскольку данные композиции не обязательно должны быть фармацевтически приемлемыми, могут быть использованы более жесткие противомикробные средства, принимая во внимание повреждение поверхности, экологическое загрязнение, безопасность пользователя и контаминацию обработанной поверхности и взаимодействие с другими компонентами композиция.

Композиции по изобретению могут быть приготовлены так, чтобы обеспечить быстрое, постоянное или замедленное высвобождение активного ингредиента после введения субъекту/нанесения на поверхность с использованием процедур, хорошо известных в данной области. Адгезивные композиции также являются предпочтительными. Адгезивные препараты, препараты с постоянным и/или замедленным высвобождением могут быть особенно удобны.

В другом аспекте в изобретении предложены продукты, чувствительные к контаминации/колонизации MDR-бактериями, чувствительные поверхности которых

были предварительно обработаны альгинатным олигомером и антибиотиком, как определено в данной заявке.

Под "предварительно обработанной" подразумевают, что чувствительную поверхность подвергают воздействию альгинатного олигомера и/или антибиотика перед воздействием MDR-бактерии, и что альгинатный олигомер и/или антибиотик остается на поверхности в течение периода времени, достаточного для предупреждения контаминации/колонизации MDR-бактерией в течение значительного периода времени. Предпочтительно, альгинатный олигомер и/или антибиотик будет сохраняться в течение по существу периода эксплуатации поверхности, например, предварительная обработка приводит по существу к постоянному покрытию из альгинатного олигомера и/или антибиотика. Таким образом, предварительно обработанные поверхность/продукт представляют собой то, к чему применяют альгинатный олигомер и/или антибиотик, и на чем они остаются. Такой продукт/поверхность могут представлять собой покрытые продукт/поверхность.

Выше описаны неограничивающие примеры продуктов и поверхностей, чувствительных к контаминации/колонизации MDR-бактерией. Особо следует упомянуть о медицинских устройствах (например, эндотрахеальных или трахеостомических трубках) и оборудовании для переработки, хранения или дозирования пищевых продуктов или напитков. Предварительная обработка может обеспечиваться любым удобным способом, например, любой формой нанесения альгинатного олигомера и/или антибиотика на поверхность, а именно нанесения покрытия на поверхность, например, распылительной сушкой, полимерного покрытия с полимером, включающим альгинатный олигомер и/или антибиотик, и окрашивания, пропитки или лакировки с помощью красящей, пропитывающей или лакирующей композиций, содержащих альгинатный олигомер и/или антибиотик. Такая "покрывающая" композиция (например, краска, пропитка или лак), содержащая альгинатный олигомер и/или антибиотик, представляет собой дополнительный аспект настоящего изобретения. Альтернативно, альгинатный олигомер и/или антибиотик можно включать в материал, из которого изготавливается объект или его чувствительные детали. Такой подход годится для объектов или их составных частей, изготовленных из полимеров, таких как пластики и силиконы, например, медицинских и хирургических устройств, описанных выше. Поэтому рассматриваются продукты, содержащие неживую поверхность, содержащую покрытие или композицию покрытия с альгинатным олигомером и/или антибиотиком, или включающую альгинатный олигомер и/или антибиотик. Неограничивающие примеры таких продуктов и поверхностей описаны выше. Особое внимание уделяют медицинским и хирургическим устройствам. Они могут включать любой вид линии, включая катетеры (например, центральные венозные и мочевые катетеры), протезные устройства, например сердечные клапаны, искусственные суставы, искусственные зубы, зубные коронки, защитные прокладки на обнаженную пульпу зуба и импланты мягких тканей (например, импланты груди, ягодиц и губ). Включен любой вид имплантируемого (или "постоянного") медицинского устройства (например, стентов, внутриматочных устройств, кардиостимуляторов, интубационных трубок (например, эндотрахеальных или трахеостомических трубок), протезов или протезных устройств, линий или катетеров). Дополнительные продукты включают оборудование для переработки, хранения, дозирования или приготовления пищевых продуктов или поверхности, резервуары, конвейеры, полы, водоотводы, холодильники, морозильники, поверхности оборудования, стены, вентили, ремни, трубы, трубопроводы систем кондиционирования воздуха, холодильную установку, линии дозирования пищевых продуктов или напитков,

теплообменники, корпуса судов или любую часть судна, которая подвергается воздействию воды, линии подачи воды в стоматологические установки, трубопроводы для бурения нефти, контактные линзы и контейнеры для хранения.

Изобретение будет описано со ссылкой на следующие неограничивающие примеры.

ПРИМЕРЫ

Пример 1 - Влияние G-блок-альгинатных олигомеров на минимальные ингибирующие концентрации различных антибиотиков для различных бактериальных штаммов

МАТЕРИАЛЫ И СПОСОБЫ

Используемые бактериальные штаммы:

- PA01 *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 15692
- *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 39324, мукоидный штамм (R79)*
- *Pseudomonas aeruginosa* CFA 24-1, клинический мукоидный штамм (R80)*
- *Pseudomonas aeruginosa* MDR R22 из Китая (V1)*
- *Pseudomonas aeruginosa* MDR 301 из Польши (V2)*
- *Klebsiella pneumoniae* KP05 506 из Индии (V3)*
- *Acinetobacter baumannii* MDR ACB из Ливии (V4)*

*Неофициальные маркеры, предназначенные только для внутренней идентификации.

Используемые сокращения: *Pseudomonas aeruginosa* (PA); *Klebsiella pneumoniae* (KP); *Acinetobacter baumannii* (ACB)

Используемые среды и бактериальные штаммы:

После извлечения из хранилища при -80°C, бактериальные колонии выращивали на кровяном агаре с 5% овечьей крови и использовали для инокуляции триптонного соевого бульона (TBS) для роста в течение ночи. Антибиотики разбавляли катион-стандартизированным бульоном (Мюллера-Хинтона) (Mueller-Hinton) (САННВ) или САННВ с G-фрагментами (OligoCF-5/20 90-95% остатков G) при 2%, 6% или 10%. Антибиотики фармацевтической чистоты покупали у Sigma-Aldrich. G-фрагменты OligoG CF-5/20 были предоставлены фирмой Algipharma AS, Норвегия.

Анализ минимальной ингибирующей концентрации (Jorgensen et al., Manual of Clinical Microbiology, 7th ed. Washington, D.C: American Society for Microbiology. 1999; 1526-43):

Ночные бактериальные культуры, как описано выше, разбавляли в стерильной воде до тех пор, пока OD₆₂₅ не составила от 0,08 до 0,10 для того, чтобы подтвердить, что плотность клеток была эквивалентна 0,5 стандарта Мак-Фарланда (McFarland).

В экспериментах с одними антибиотиками готовили двухкратные серийные разведения антибиотика в САННВ или САННВ, дополненном G-фрагментами (OligoCF-5/20 90-95% остатков G) при 0%, 2%, 6% или 10%, и помещали в двух повторностях в лунки 96-луночных плоскодонных микротитрационных планшетов (по 100 мкл в каждую лунку).

В экспериментах с двумя антибиотиками (цефтазидимом и азитромицином или ципрофлоксацином и азитромицином) готовили двухкратные серийные разведения антибиотика в САННВ или САННВ, дополненном азитромицином при 1, 2, 4 или 8 мкг/мл и G-фрагментами при 0%, 2%, 6% или 10% и помещали в двух повторностях в лунки 96-луночных плоскодонных микротитрационных планшетов (по 100 мкл в каждую лунку).

Бактериальные культуры, соответствующие 0,5 стандарту Мак-Фарланда, разбавляли в десять раз в САННВ и 5 мкл добавляли в микротитрационные планшеты, содержащие серийные разведения антибиотика. Планшеты заворачивали в парафильм и инкубировали при 37°C в течение 16-20 часов. Значения МИС для каждого антибиотика/комбинации антибиотиков определяли при наименьшей концентрации, при которой не было видимого роста. Результаты показаны в Таблицах 1, 2 и 3.

Таблица 1. Минимальная ингибирующая концентрация (MIC) различных антибиотиков для различных штаммов *Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella pneumoniae* и *Acinetobacter baumannii* в присутствии различных концентраций OligoCF-5/20 (0-10%). (Значения MIC выражены в мкг·мл⁻¹).

	Антибиотик		PA01	R79	R80	V1*	V2*	V3*	V4*
			PA	Мукоидный PA	Мукоидный PA	MDR R22 PA (Китай)	MDR 301 PA (Польша)	KP05 506 (Индия)	ACB (Ливия)
5	Окситетра- циклин	0G	8	8	8				
		+2%G	4	4	8	ND	ND	ND	ND
		+6%G	4	4	4				
		+10%G	4	2	4				
10	Азитромицин	0G	128	128	256	64	64	32	8
		+2%G	64	64	128	64	64	16	2
		+6%G	16	16	64	64	32	16	<0,25
		+10%G	4	4	8	32	16	8	<0,25
15	Ципрофлокса- цин	0G	0,125	0,125	1	16	16	128	64
		+2%G	0,0625	0,0625	0,125	16	16	128	32
		+6%G	0,0625	0,03125	0,125	8	8	128	16
		+10%G	0,03125	0,03125	0,125	4	8	128	16
20	Примахин (Имипенем/ циластатин)	0G	<1	<1	<1	128	512	32	<1
		+2%G	<1	<1	<1	128	256	64	<1
		+6%G	<1	<1	<1	64	256	64	<1
		+10%G	<1	<1	<1	32	128	64	<1
25	Меропенем	0G	2	<1	<1	32	64	64	<4
		+2%G	2	<1	<1	32	64	64	<4
		+6%G	<1	<1	<1	16	128	128	<4
		+10%G	<1	<1	<1	4	128	128	<4
30	Цефтазидим	0G	<1	<1	<1	128	32	>1024	512
		+2%G	<1	<1	<1	64	16	>1024	512
		+6%G	<1	<1	<1	32	8	>1024	512
		+10%G	<1	<1	<1	8	4	>1024	256
35	Азтреонам	0G	8	2	<1	32	64	2048	1024
		+2%G	16	2	<1	16	16	2048	512
		+6%G	4	<1	<1	4	8	512	256
		+10%G	2	<1	<1	4	8	256	128

 Указывает на увеличение значений MIC с увеличением концентрации G-фрагмента

 Указывает на уменьшение значений MIC с увеличением концентрация G-фрагмента

Таблица 2. Минимальная ингибирующая концентрация (MIC) азитромицина для MDR *Acinetobacter baumannii* и различных штаммов *Pseudomonas aeruginosa* и *Klebsiella pneumoniae* в присутствии различных концентраций OligoCF-5/20 (0-10%).

	Антибиотик		PA01	R79	R80	V1*	V2*	V3*	V4*
			PA	Мукоидный PA	Мукоидный PA	MDR R22 PA (Китай)	MDR 301 PA (Польша)	KP05 506 (Индия)	ACB (Ливия)
40	Азитромицин	0G	128	128	256	64	64	32	8
		+2%G	64	64	128	64	64	16	2
		+6%G	16	16	64	64	32	16	<0,25
		+10%G	4	4	8	32	16	8	<0,25

 Указывает на увеличение значений MIC с увеличением концентрации G-фрагмента

 Указывает на уменьшение значений MIC с увеличением концентрации G-фрагмента

Таблица 3. Минимальные ингибирующие концентрации (MIC) двух антибиотиков в комбинации друг с другом (азитромицин либо с цефтазидимом, либо с цiproфлоксацином) для штаммов с множественной лекарственной устойчивостью (MDR) *Pseudomonas aeruginosa* и *Acinetobacter baumannii* в присутствии различных концентраций OligoCF-5/20 (0-10%) (Значения MIC выражены в мкг·мл⁻¹).

Антибиотик		V1*	V4*
		MDR R22 PA (Китай)	ACB (Ливия)
Цефтазидим с азитромицином при 8 мкг/мл	0G	256	512
	+2%G	128	< 8 мкг/мл Az
	+6%G	32	< 8 мкг/мл Az
	+10%G	16	< 8 мкг/мл Az
Цефтазидим с азитромицином при 4 мкг/мл	0G	128	1024
	+2%G	128	<4 мкг/мл Az
	+6%G	64	<4 мкг/мл Az
	+10%G	8	<4 мкг/мл Az
Цефтазидим с азитромицином при 2 мкг/мл	0G	128	1024
	+2%G	64	256
	+6%G	32	2
	+10%G	16	<1 Cf
Цефтазидим с азитромицином при 1 мкг/мл	0G	128	1024
	+2%G	64	512
	+6%G	16	128
	+10%G	16	<1 Cf
Цiproфлоксацин с азитромицином при 8 мкг/мл	0G	16	128
	+2%G	16	< 8 мкг/мл Az
	+6%G	16	< 8 мкг/мл Az
	+10%G	< 8 мкг/мл Az	< 8 мкг/мл Az
Цiproфлоксацин с азитромицином при 4 мкг/мл	0G	16	128
	+2%G	16	64 Cpr, 4 Az
	+6%G	8	< 4 мкг/мл Az
	+10%G	4	< 4 мкг/мл Az

Ципрофлоксацин с	0G	32	128
азитромицином	+2%G	16	<0,25 Cpr 2Az
при 2 мкг/мл	+6%G	16	<0,25 Cpr
	+10%G	8	<0,25 Cpr
Ципрофлоксацин с	0G	16	64
азитромицином	+2%G	16	32
при 1 мкг/мл	+6%G	8	<0,25 Cpr
	+10%G	8	<0,25 Cpr

■ Указывает на увеличение значений MIC с увеличением концентрации G-фрагментов

▤ Указывает на уменьшение значений MIC с увеличением концентрации G-фрагментов

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

В общем, обработка растущих в планктоне MDR-штаммов *Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella pneumoniae* и *Acinetobacter baumannii* увеличивающимися концентрациями OligoG CF-5/20 снижало значения MIC используемых антибиотиков (Таблицы 1 и 2). Показано, что окситетрациклин, азитромицин и ципрофлоксацин имеют уменьшающиеся MIC с увеличением количеств используемого OligoG CF-5/20. Таким образом, в случае этих антибиотиков, данные, как представляется, демонстрируют, что альгинатные олигомеры могут потенцировать их эффекты. Протестированные антибиотики включают антибиотики, характерные для лечения муковисцидоза.

Величина эффекта была наиболее четко выражена для MDR-штамма *Pseudomonas aeruginosa* штамма R22, хотя все исследуемые штаммы отвечали на обработку альгинатными олигомерами и азитромицином. Результаты также показывают, что альгинатные олигомеры потенцируют действие антибиотика азитромицина со всеми протестированными штаммами. Такой эффект можно видеть с одним азитромицином или его комбинацией с другими антибиотиками.

Более конкретно, для MDR-штаммов *Pseudomonas*, примахин (комбинация имипенема и циластатина), азитромицин, цефтазидим, ципрофлоксацин и азтреонам были наиболее эффективными, когда использовались в комбинации с альгинатными олигомерами. Два антибиотика в сочетании с альгинатными олигомерами были наиболее эффективными против KP05 506, а именно азитромицин и азтреонам, но данные из экспериментов с использованием примахина и меропенема неубедительны. В комбинации с альгинатными олигомерами, азитромицин, цефтазидим, ципрофлоксацин и азтреонам показали более положительный эффект на изолят *Acinetobacter baumannii*.

Исследовали эффекты азитромицина в сочетании либо с цефтазидимом, либо с ципрофлоксацином в присутствии альгинатных олигомеров на MDR-штамм R22 PA и MDR-изолят *Acinetobacter baumannii* и результаты показаны в Таблице 3. Во всех случаях значения MIC для цефтазидима или ципрофлоксацина в комбинациях антибиотиков уменьшались различными концентрациями альгинатного олигомера.

Пример 2

Исследование, описанное в Примере 1, повторяли со следующими штаммами бактерий и антибиотиками, как подробно показано в Таблицах 4, 5 и 6.

БАКТЕРИАЛЬНЫЕ ШТАММЫ

- PA01 *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 15692 (E77)

5 - R79* Мукоидный *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 39324 ИЗОЛЯЦИЯ: мокрота от пациента с муковисцидозом, Бостон, МА

- R80* Мукоидный *Pseudomonas aeruginosa* CFA 24-1 (КЛИНИЧЕСКИЙ ИЗОЛЯТ от пациента с CF (муковисцидоз))

- V1* R22 PSA (Китай) *Pseudomonas aeruginosa*

10 - V2* MDR 301 PSA (Польша) *Pseudomonas aeruginosa*

- V3* KP05 506 (Индия) *Klebsiella pneumoniae*

- V4* MDR ACB (Ливия) *Acinetobacter baumannii*

- V5* AIM-1 *E.coli*

- V9* (Египет) *Acinetobacter baumannii*

15 - V10* (Египет) *Acinetobacter Iwoffii*

- V11* 5702 (Уэльс) *E.coli*

- V12* 5725 (Уэльс) *Klebsiella pneumoniae*

- V22* 6056 *Acinetobacter*

- V23* 1322 *Burkholderia ceracia*

20 * Неофициальные маркеры, предназначенные только для внутреннего пользования.

25

30

35

40

45

Таблица 4. Минимальная ингибирующая концентрация (MIC) различных макролидных антибиотиков для различных штаммов *Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella pneumoniae*, *Acinetobacter baumannii* и *E. coli*, демонстрирующих MDR-фенотипы, в присутствии различных концентраций OligoCF-5/20 (0-10%). (Значения MIC выражены в мкг·мл⁻¹).

Штамм →		PA01	R79	R80	V1	V2	V3	V4	V5
Антибиотик и значение MIC мкг/мл	%G	не MDR <i>Pseud aerug</i>	не MDR <i>Pseud aerug</i> (мук.)	не MDR <i>Pseud aerug</i> (мук.)	MDR <i>Pseud aerug</i> (Китай)	MDR <i>Pseud aerug</i> (Польша)	MDR <i>Kleb pneum</i> (Индия)	MDR <i>Acin baum</i> (Ливия)	MDR <i>E. coli</i>
Эритромицин	0G	128	128	512	128	128	1024	8	4
	+2%G	64	64	512	128	128	1024	2	4
	+6%G	64	32	128	64	64	1024	≤1	≤1
	+10%G	16	2	32	32	16	1024	≤1	≤1
Кларитромицин	0G	256	256	1024	256	512	256	8	4
	+2%G	128	128	512	128	256	256	4	4
	+6%G	64	32	256	64	128	256	≤1	2
	+10%G	32	4	64	32	32	128	≤1	≤1
Спирамицин	0G	>1024	>1024	>1024	>1024	>1024	1024	512	32
	+2%G	>1024	>1024	>1024	>1024	>1024	1024	64	32
	+6%G	1024	1024	1024	1024	>1024	1024	64	16
	+10%G	512	256	1024	512	1024	512	32	8

 Указывает на уменьшение значений MIC с увеличением концентрации G-фрагментов

 Указывает на увеличение значений MIC с увеличением концентрации G-фрагментов

Таблица 5. Минимальная ингибирующая концентрация (MIC) различных антибиотиков для штаммов *Burkholderia cepacia*, *Klebsiella pneumoniae*, *Acinetobacter baumannii*, *Acinetobacter lwoffii* и *E. coli*, демонстрирующих MDR-фенотипы, в присутствии различных концентраций OligoCF-5/20 (0-10%). (Значения MIC выражены в мкг·мл⁻¹).

 Указывает на уменьшение значений MIC с увеличением концентрации G-фрагментов

 Указывает на увеличение значений MIC с увеличением концентрации G-фрагментов

Антибиотик и значение MIC мкг/мл	%G	V23 MDR <i>Burk cep</i>	V22 MDR <i>Acin. lwoff</i>	V9 MDR <i>Acin. baum</i>	V10 MDR <i>Acin. lwoff</i>	V11 MDR <i>E.coli</i>	V12 MDR <i>Kleb pneu</i>
Окситетрациклин	0G	256	2	2	0,5	0,5	1
	+2%G	128			0,5	1	1
	+6%G	128			0,5	0,5	1
	+10%G	32	8	4	0,25	0,5	1
Азактам (Азтреонам)	0G	>512	256	>512	32	256	256
	+2%G	>512	128	512	16	256	512
	+6%G	512	64	256	4	256	128
	+10%G	128	32	128	1	256	64
Ципрофлоксацин	0G	64	<0,25	64	0,5	128	64
	+2%G	64	<0,25	32	0,5	64	
	+6%G	64	<0,25	32	0,25	128	256
	+10%G	32	<0,25	32	0,25	128	256
ПРИМАХИН (Имипенем/ Циластатин)	0G	32	8	1	<0,5	<0,5	<0,5
	+2%G	32	8	2	<0,5	<0,5	<0,5
	+6%G	32	8	<0,5	<0,5	<0,5	<0,5
	+10%G	8	4	<0,5	<0,5	<0,5	<0,5
Меропенем	0G	64	256	16	1	<0,25	<0,25
	+2%G	64	128	8	0,5	<0,25	<0,25
	+6%G	32	128	8	<0,25	<0,25	<0,25
	+10%G	8	64	4	<0,25	<0,25	<0,25
Цефтазидим	0G	64	16	>512	2	128	64
	+2%G	32	16	512	2	64	64
	+6%G	8	4	512	<0,5	32	16
	+10%G	<0,5	2	256	<0,5	64	16
Азитромицин	0G	128	<0,25	16	<0,25	32	32
	+2%G	64	<0,25	4	<0,25	16	8

		+6%G	16	<0,25	0,5	<0,25	16	32
		+10%G	4	<0,25	<0,25	<0,25	32	32
5	Эритромицин	0G	512	<0,5	8	<0,5	512	512
		+2%G	256	<0,5	4	<0,5	256	256
		+6%G	128	<0,5	1	<0,5	256	512
		+10%G	16	<0,5	<0,5	<0,5	256	512
10	Кларитромицин	0G	512	-	16	<0,5	512	512
		+2%G	256	-	4	<0,5	128	256
		+6%G	128	-	2	<0,5	256	256
		+10%G	32	-	1	<0,5	256	512
15	Спирамицин	0G	>4096	<4	256	<4	128	64
		+2%G	2048	<4	64	<4	64	64
		+6%G	2048	<4	32	<4	32	32
		+10%G	1024	<4	16	<4	32	16

Таблица 6. Минимальная ингибирующая концентрация (MIC) различных антибиотиков для штамма (V23) *Burkholderia ceracia* в присутствии различных концентраций OligoCF-5/20 (0-10%). (Значения MIC выражены в мкг·мл⁻¹).
Результаты трех независимых экспериментов.

Штамм →		Эксперимент 1	Эксперимент 2	Эксперимент 3
Антибиотик и значение MIC мкг/мл	%G	V23 (18-03-10)	V23 (18-03-10)	V23 (19-03-10)
Окситетрациклин	0G	>256	>256	>256
	+2%G	256	>256	256
	+6%G	256	256	256
	+10%G	128	128	256
АЗАКТМ (Азтреонам)	0G	>4096	>4096	>4096
	+2%G	>4096	>4096	>4096
	+6%G	1024	1024	1024
	+10%G	256	512	128
ПРИМАХИН (Имипенем/ Циластатин)	0G	128	256	256
	+2%G	128	128	256
	+6%G	64	128	256
	+10%G	32	64	128
	0G	128	128	128

5

10

15

20

25

Меропенем	+2%G	128	128	64
	+6%G	64	128	128
	+10%G	64	128	64
Цефтазидим	0G	128	64	64
	+2%G	64	64	32
	+6%G	16	32	16
	+10%G	8	32	4
Азитромицин	0G	64	32	16
	+2%G	64	32	16
	+6%G	64	16	16
	+10%G	32	16	16
Эритромицин	0G	512	256	>512
	+2%G	256	256	128
	+6%G	128	64	64
	+10%G	64	64	16
Кларитромицин	0G	256	128	64
	+2%G	256	128	512
	+6%G	128	32	512
	+10%G	128	16	512



Указывает на уменьшение значений MIC с увеличением концентрации G-фрагментов



Указывает на увеличение значений MIC с увеличением концентрации G-фрагментов

35

40

В общем, Таблица 4 подтверждает результаты, представленные в Таблицах 1 и 2 в отношении эффектов OligoG CF-5/20 на MIC макролидных антибиотиков в различных растущих в планктоне бактериях. Практически в каждой комбинации бактерий и макролида значения MIC уменьшаются при увеличении концентраций OligoG CF-5/20. Результаты также показывают, что альгинатные олигомеры потенцируют эффекты макролидных антибиотиков на все протестированные бактерии. Такой эффект можно видеть с азитромицином одним или в комбинации с другими антибиотиками.

45

Из данных, представленных в Таблицах 4, 5 и 6, можно видеть, что в общем увеличивающиеся концентрации OligoG CF-5/20 снижали значения MIC для антибиотиков, используемых против MDR-штаммов *Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella pneumoniae*, *Burkholderia cepacia*, *Acinetobacter Iwoffii*, *Acinetobacter baumannii* и *E.coli*. Протестированные антибиотики включают антибиотики, связанные с лечением муковисцидоза. Было показано, что у всех антибиотиков азтреонама, примаксина (комбинация имипенема и циластатина), ципрофлоксацина, меропенема, цефтазидима, азитромицина, эритромицина, кларитромицина и спирамицина наблюдается снижение

МИС с увеличением количеств используемого OligoG CF-5/20. Таким образом, в случае этих антибиотиков данные, по-видимому, показывают, что альгинатные олигомеры могут потенцировать их эффекты. Макролиды демонстрируют наиболее значительное снижение МИС с увеличением количеств используемого OligoG CF-5/20. Величина эффекта была наиболее четко выражена для протестированного *Burkholderia* и *Acinetobacter baumannii* штамма V9, и в этих штаммах каждый протестированный антибиотик продемонстрировал уменьшение значений МИС с увеличением концентраций альгинатного олигомера.

Таблица 6 также подтверждает результаты с *Burkholderia*, представленные в Таблице 5. Этот антибиотик-потенцирующий эффект, наблюдаемый с альгинатными олигомерами и *Burkholderia*, имеет клиническое значение, поскольку эти организмы ассоциированы с заболеванием человека и животных и трудно поддаются лечению в связи с их тенденцией проявлять устойчивость к антибиотикам.

Пример 3

Исследование, описанное в Примере 1, повторяли со следующими штаммами *Acinetobacter baumannii*, антибиотиками и М-блок-альгинатным олигомером вместо OligoG CF-5/20, как подробно описано в Таблице 7. М-блок-олигомер представляет собой 100% М с DP_n от 15 до 18.

Таблица 7. Минимальная ингибирующая концентрация (MIC) различных антибиотиков для штамма *Acinetobacter baumannii*, демонстрирующего MDR-фенотип, и штамма *Acinetobacter baumannii*, демонстрирующего не-MDR-фенотип, в присутствии различных концентраций М-блок-олигомера (0-10%). (Значения MIC выражены в мкг·мл⁻¹).

Штамм →		V4	V19 не MDR <i>Acin. baum</i>
Антибиотик и значение MIC мкг/мл			
Концентрация М-блока			
Азтреонам	0M	2048	64
	+2%M	512	32
	+6%M	256	8
	+10%M	64	8
Ципрофлоксацин	0M	64	64
	+2%M	64	32
	+6%M	64	16
	+10%M	128	128
Меропенем	0M	16	8
	+2%M	32	4
	+6%M	16	2
	+10%M	8	1
Азитромицин	0M	8	32
	+2%M	8	16
	+6%M	8	16
	+10%M	2	16

 Указывает на уменьшение значений MIC с увеличением концентрации G-фрагментов

 Указывает на увеличение значения МИК с увеличением концентрации G-фрагментов

Результаты, представленные в Таблице 7, показывают, что М-блок-олигомеры, подобно OligoG CF-5/20, также эффективны в снижении значений MIC для целого ряда различных антибиотиков (включая макролид) у MDR- и не-MDR-штаммов *Acinetobacter baumannii*.

Пример 4

Дополнительные анализы MIC проводили с различными штаммами и антибиотиками, описанными в Таблицах 8-11 с использованием следующего протокола.

MIC-анализ

5 G-блок-альгинаты (OligoG CF-5/20) растворяли в бульоне Мюллера-Хинтона (Lab M limited, LAB114 бульон Мюллера-Хинтона) в 1,25 раз желаемых концентраций для анализа (2, 6 и 10%). Антибиотики растворяли в бульоне Мюллера-Хинтона и бульоне Мюллера-Хинтона с G-блок-альгинатом в концентрации 1,25 раз самых высоких желаемых концентраций для анализа. Антибиотики фармацевтической чистоты покупали в Sigma-Aldrich. OligoG CF-5/20 G-фрагменты получали OTAgipharma AS, Норвегия.

10 Двухкратные серийные разведения антибиотиков делали в бульоне Мюллера-Хинтона с различными концентрациями G-блок-альгината, и растворы помещали в четырех параллельных лунки в 384-луночных микропланшетах Nunc (30 мкл на лунку микропланшетов Nunc 242757). Включили группу из 8 лунок без добавления
15 антибиотиков для каждой концентрации G-блока на каждом микропланшете в качестве стандарта роста.

Замороженные концентраты культур делали из ночных культур в TSB-бульоне для всех штаммов путем добавления глицерина до 15%-ной концентрации перед замораживанием при -80°C. В день анализа ночные TSB культуры (6 мл в 50 мл пробирке
20 с наклоном до 45 градусов, 200 об/мин, амплитуда 2,5 см, 37°C) разбавляли в TSB до достижения OD₆₀₀ 0,10 и затем разбавляли 1:40 в бульоне Мюллера-Хинтона. Каждую лунку 384-луночного планшета для анализа инокулировали 7,5 мкл разведенной культуры. Планшеты помещали в пластиковые пакеты и инкубировали при 37°C. Оптическую плотность при 600 нм в микролунках измеряли после приблизительно 18
25 часов инкубации, и относительный рост, полученный в каждой лунке, определяли на основании роста группах сравнения. Значение MIC устанавливали для самой высокой концентрации, дающей менее 30% роста во всех 4 параллельных лунках в группах образцов. Планшеты дополнительно инкубировали в течение 8 часов, и оптическую плотность в культуре измеряли еще раз для подтверждения предполагаемых MIC-
30 значений.

Результаты

В каждой из Таблиц 8-11 есть главная Таблица основных данных и вторичная Таблица, которая является представлением общего эффекта OligoCF-5/20 на значение MIC для каждой конкретной бактерии и комбинации антибиотиков. Во вторичной
35 Таблице темный заштрихованный прямоугольник представляет собой общее снижение значения MIC; заштрихованный прямоугольник представляет собой общее увеличение значения MIC; M указывает на то, что все значения MIC больше максимальной концентрации используемого антибиотика; L указывает на то, что все значения MIC меньше минимальной концентрации используемого антибиотика; NE указывает на то,
40 что никакого эффекта на значения MIC не наблюдалось; ND указывает, что конкретную комбинацию антибиотика и бактерий не тестировали.

Таблица 8. Минимальная ингибирующая концентрация (MIC) различных антибиотиков для штаммов *Burkholderia cephacia* и *Pseudomonas aeruginosa*, демонстрирующих MDR-фенотипы, в присутствии различных концентраций OligoCF-
45 5/20 (0-10%). (Значения MIC выражены в мкг·мл⁻¹).

Таблица 9. Минимальная ингибирующая концентрация (MIC) различных антибиотиков для штаммов *Acinetobacter baumannii* и *Acinetobacter Iwoffii*, демонстрирующих MDR-фенотипы, в присутствии различных концентраций OligoCF-

5/20 (0-10%). (Значения МІС выражены в мкг·мл⁻¹).

Таблица 10. Минимальная ингибирующая концентрация (MIC) различных антибиотиков для штаммов *Klebsiella pneumoniae*, демонстрирующих MDR-фенотипы, в присутствии различных концентраций OligoCF-5/20 (0-10%). (Значения MIC выражены в мкг·мл⁻¹).

Таблица 11. Минимальная ингибирующая концентрация (MIC) различных антибиотиков для штаммов *E. coli* и *Providencia stuartii*, демонстрирующих MDR-фенотипы, в присутствии различных концентраций OligoCF-5/20 (0-10%). (Значения MIC выражены в мкг·мл⁻¹).

Таблица 12. Минимальная ингибирующая концентрация (MIC) различных антибиотиков для штаммов *Streptococcus oralis* и *Staphylococcus aureus* (MRSA), демонстрирующих MDR-фенотипы, в присутствии различных концентраций OligoCF-5/20 (0-10%). (Значения MIC выражены в мкг·мл⁻¹).

Таблица 8

Таблица 8										
Штамм	G-блок	Азитромицин	Эритромицин	Рокситромицин	Дицитромицин	Азтреонам	Цефтазидим	Имипенем	Ципрофлоксацин	Системная чувствительность
Pseudomonas aeruginosa (MDR 301, PSA, V2)	0%	128	>512	>512	>512	0,125	0,5	256	1	16
	2%	64	>512	>512	>512	0,125	0,125	256	0,5	16
	6%	64	512	>512	512	0,125	0,25	128	0,5	8
	10%	32	512	>512	512	0,0625	0,125	128	0,25	8
Pseudomonas aeruginosa (R22, PSA, V1)	0%	128	>512	>512	>512	0,125	>16	128	>8	>128
	2%	32	512	>512	>512	0,125	>16	128	>8	>128
	6%	32	512	512	512	0,0625	>16	64	>8	>128
	10%	8	256	256	256	0,03125	>16	16	>8	>128
Burkholderia cepacia (1322, V23)	0%	64	256	512	256	>16	>16	>16	>8	128
	2%	32	128	512	256	>16	>16	16	>8	128
	6%	32	128	256	128	>16	16	16	>8	64
	10%	8	64	64	64	>16	16	16	>8	64
Burkholderia cepacia (LMG18941, ATCC-BAA-246)	0%	64	128	256	512	>16	>16	>16	>8	32
	2%	32	128	256	256	>16	16	>16	>8	16
	6%	16	64	256	256	>16	16	>16	>8	32
	10%	16	64	128	256	>16	16	>16	>8	32

Pseudomonas aeruginosa (V2)
Pseudomonas aeruginosa (V1)
Burkholderia cepacia (V23)
Burkholderia cepacia (LMG18941)

[illegible]

Таблица 9

Штамм	G-блок	Азитромицин	Эритромицин	Рокситромицин	Диритромицин	Азтреонам	Цефтазидим	Имипенем	Ципрофлоксацин	Оксалин-ди-карбион
Acinetobacter lwoffii (6056, V22) MDR	0%	<2	<2	4	<2	64	8	2	<2	<2
	2%	<2	<2	<2	<2	32	4	2	<2	<2
	6%	<2	<2	<2	<2	16	2	2	<2	<2
	10%	<2	<2	<2	<2	4	2	<2	<2	<2
Acinetobacter baumannii (Египет, V9) MDR	0%	4	8	8	4	>16	>16	2	>8	1
	2%	<1	2	4	<1	>16	>16	<2	>8	0,5
	6%	<1	1	4	<1	>16	>16	2	8	1
	10%	<1	<1	2	<1	>16	>16	<2	8	0,5
Acinetobacter baumannii (MDR АСВ, Ливия, V4)	0%	16	32	128	64	4	16	2	4	2
	2%	2	8	32	8	4	8	2	1	2
	6%	<1	4	16	2	1	8	2	1	2
	10%	<1	2	16	<1	0,5	8	<2	0,5	1
Acinetobacter lwoffii (Египет, V10) MDR	0%	<1	1	4	<1	8	2	<2	0,063	0,5
	2%	<1	<1	<1	<1	4	1	<2	0,031	0,5
	6%	<1	<1	<1	<1	2	0,25	<2	0,031	0,5
	10%	<1	<1	<1	<1	1	0,25	<2	0,031	0,5

Acinetobacter lwoffii (V22)
Acinetobacter baumannii (V9)
Acinetobacter baumannii (V4)
Acinetobacter lwoffii (V10)

L	L		L					L	L
					M	M	NE		NE
L	L		L					L	NE

Таблица 10

Штамм	G-блок	Азитромицин	Эритромицин	Рокситромицин	Диритромицин	Азтреонам	Цефтазидим	Имипенем	Ципрофлоксацин	Оксалин-ди-карбион
Klebsiella pneumoniae (IR25, Индия, V6) MDR	0%	128	512	1024	1024	512	>1024	<2	128	2
	2%	64	512	>1024	1024	256	1024	2	64	2
	6%	32	256	1024	512	128	>1024	2	64	2
	10%	16	256	>1024	256	64	1024	2	64	2
Klebsiella pneumoniae (5712, Уэльс, V12) MDR	0%	16	512	256	128	4	>16	<2	>8	1
	2%	16	256	512	64	4	8	<2	>8	1
	6%	16	256	512	64	4	>16	<2	>8	1
	10%	16	256	512	32	4	>16	<2	>8	1
Klebsiella pneumoniae (K3, Индия, V8) MDR	0%	16	128	512	256	512	>1024	8	32	512
	2%	8	128	256	128	256	>1024	16	32	512
	6%	16	128	>1024	128	128	>1024	16	>1024	512
	10%	16	128	>1024	128	128	>1024	8	>1024	1024

Klebsiella pneumoniae (V6)
Klebsiella pneumoniae (V12)
Klebsiella pneumoniae (V8)

		M			M			NE
NE				NE	M	L	M	NE
NE	NE	M			M	NE	M	

Таблица 11

Штамм	G-блок	Азитромицин	Эритромицин	Рокситромицин	Диритромицин	Азтреонам	Цефтазидим	Имипенем	Ципрофлоксацин	Окситетрациклин
Escherichia coli (5702, Уэльс, V11) MDR	0%	16	512	512	128	256	>16	<2	>8	0,5
	2%	16	256	128	64	256	>16	<2	>8	0,5
	6%	8	256	256	32	128	>16	<2	>8	0,5
	10%	16	256	512	64	64	>16	<2	>8	0,25
Providencia stuartii (IR57 Индия, V7) MDR	0%	<2	32	64	8	>1024	>1024	16	128	128
	2%	<2	16	32	4	>1024	>1024	16	128	128
	6%	<2	16	32	4	>1024	>1024	16	128	128
	10%	<2	16	32	2	>1024	>1024	8	128	128

Escherichia coli (V11)
Providencia stuartii (V7)

NE		NE			M		L	M	
L					M	M		NE	NE

Таблица 12

Штамм	G-блок	Азитромицин	Эритромицин	Рокситромицин	Диритромицин	Азтреонам	Цефтазидим	Имипенем	Ципрофлоксацин	Окситетрациклин
Streptococcus oralis (5610, V17) MDR	0%		2	8	4		8	<0,03125	32	<0,25
	2%		16	8	4		4	16	<0,0625	<0,25
	6%		0,03125	0,03125	<0,03125		0,03125	1	2	0,5
	10%		0,0625	16	0,03125		1	<0,03125	2	<0,25
MRSA 1040s, U50 MDR	0%	512	>1024	>1024	1024	1024	>16	0,0625	32	2
	2%	256	>1024	1024	512	1024	16	0,0625	32	2
	6%	256	1024	512	512	512	8	0,03125	>1024	1
	10%	256	512	256	256	512	2	<0,03125	>1024	0,5

Streptococcus oralis (5610, V17)
MRSA 1040s, U50

ND				ND		NE			
							M		

Данные, представленные в Таблицах 8-12, обычно показывают, что увеличивающиеся концентрации OligoCF-5/20 (0-10%) уменьшают значения МИС для всех протестированных антибиотиков (азитромицин, эритромицин, рокситромицин, диритромицин (макролиды) азтреонам (монобактам) цефтазидим (цефалоспорин) имипенем (карбапенем), ципрофлоксацин (хинолон) и окситетрациклин (тетрациклин)) в одном бактериальном штамме или другом). Примечательно, что в Таблице 12 показано, что OligoCF-5/20 уменьшает значения МИС для грамположительных организмов (MRSA U50 и Streptococcus oralis). Этот эффект особенно заметен для протестированного MRSA штамма. Это свидетельствует об общей применимости использования альгинатных олигомеров вместе с антибиотиками в лечении всех MDR-бактерий (грамотрицательных, грамположительных или не определяющихся по Граму), например, путем преодоления устойчивости MDR-бактерий к лечению антибиотиком или повышению эффективности этих антибиотиков.

Эффект наиболее постоянно наблюдали для протестированных антибиотиков у протестированных видов Pseudomonas, Acinetobacter, Burkholderia и MRSA и, в частности, штаммов V1, V2, V23, V4 и V9. Интересно, что в этом Примере штаммы V23 и V9 продемонстрировали пять случаев NE (нет эффекта) или M (МИС были выше максимальной концентрации используемого антибиотика), однако в Примере 2 данные

показали, что эти пять комбинаций бактерий и антибиотиков действительно демонстрируют уменьшения MIC с увеличением концентраций OligoCF-5/20. Это свидетельствует о более специфической применимости использования альгинатных олигомеров вместе с антибиотиками в лечении MDR *Pseudomonas*, *Acinetobacter*, *Burkholderia* и MRSA, например, путем преодоления устойчивости этих бактерий к лечению антибиотиками или повышению эффективности этих антибиотиков против этих бактерий, в частности.

Этот эффект наиболее постоянно наблюдали для протестированных штаммов с макролидами (азитромицин, эритромицин, рокситромицин, диритромицин) и в несколько меньшей степени с азтреонамом, цефтазидимом и ципрофлоксацином. Это свидетельствует о более специфической применимости альгинатных олигомеров в лечении бактерий вообще, включая MDR-бактерии, макролидами (например, азитромицином, эритромицином, рокситромицином, диритромицином) в частности, а также хинолонами (например, ципрофлоксацином), монобактамами (например, азтреонамом) и цефалоспоридами (например, цефтазидимом), например, путем преодоления устойчивости бактерий к лечению этими антибиотиками или путем повышения эффективности этих антибиотиков против бактерий.

Также следует отметить доказательство, представленное в Таблице 11, которое демонстрирует, что OligoCF-5/20 может снижать значения MIC для β -лактама (имипенема, карбапенема) у MDR *Providencia stuartii*. Устойчивость к β -лактаму в популяциях *Providencia* возрастает, и поэтому альгинатные олигомеры могут представлять новый подход к лечению инфекций *Providencia*.

Формула изобретения

1. Способ преодоления устойчивости к по меньшей мере одному антибиотику у MDR (обладающая множественной лекарственной устойчивостью) грамотрицательной бактерии, включающий приведение указанной бактерии в контакт с альгинатным олигомером вместе с антибиотиком, где указанный альгинатный олигомер имеет степень полимеризации от 2 до 100 и (1) по меньшей мере 70% остатков гулурановой кислоты или гулураната (остатков G) или (2) по меньшей мере 70% остатков маннурановой кислоты или маннураната (остатков M).

2. Способ по п. 1, где бактерия устойчива (1) к трем или более классам антибиотиков, выбранных из макролидов, β -лактамов, тетрациклинов, полипептидных антибиотиков и хинолонов; или (2) к трем или более антибиотикам, выбранным из азитромицина, кларитромицина, диритромицина, эритромицина, тролеандомицина, рокситромицина, спирамицина, азтреонама, имипенема, меропенема, эртапенема, дорипенема, панипенема/бетамипрона, биапенема, PZ-601, цефиксима, цефдинира, цефдиторена, цефоперазона, цефотаксима, цефподоксима, цефтазидима, цефтибутена, цефтизоксима, цефтриаксона, цефепима, демеклоциклина, доксициклина, миноциклина, окситетрациклина, тетрациклина, бацитрацина, колистина, полимиксина В, ципрофлоксацина, эноксацина, гатифлоксацина, левофлоксацина, ломефлоксацина, моксифлоксацина, норфлоксацина, офлоксацина и тровафлоксацина; или (3) к одному или более антибиотикам, выбранным из цефтазидима, имипенема/циластатина, меропенема, азтреонама, азитромицина, кларитромицина, диритромицина, эритромицина, рокситромицина, спирамицина, окситетрациклина и ципрофлоксацина; или (4) к одному или более антибиотикам, которые представляют собой стандартное лечение для данной бактерии.

3. Способ по п. 1, где бактерия (1) относится к семейству Enterobacteriaceae или представляет собой неферментирующую грамотрицательную бактерию; или (2) выбрана

из родов *Pseudomonas*, *Acinetobacter*, *Stenotrophomonas*, *Burkholderia*, *Escherichia*, *Providencia* и *Klebsiella*, предпочтительно, где бактерия представляет собой одну из *Pseudomonas aeruginosa*, *Acinetobacter baumannii*, *Stenotrophomonas maltophilia*, *Burkholderia* spp, *E.coli*, *Providencia stuartii* и *Klebsiella pneumoniae*; или (3) представляет собой MDR-штамм *Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella pneumoniae*, *Burkholderia cepacia*, *Providencia stuartii* или *Acinetobacter baumannii*, который устойчив к одному или более антибиотикам, выбранным из ципрофлоксацина, меропенема, цефтазидима, азтреонама, азитромицина, кларитромицина, диритромицина, эритромицина, рокситромицина, спирамицина, окситетрациклина и имипенема/циластатина; или (4) представляет собой клинический штамм или клинический изолят.

4. Способ по п. 1, где антибиотик выбран из макролидов, β -лактамов, тетрациклинов, полипептидных антибиотиков и хинолонов, предпочтительно из макролидов, β -лактамов, тетрациклинов и хинолонов, более предпочтительно из макролидов, β -лактамов и хинолонов.

5. Способ по п. 4, где антибиотик выбран из азитромицина, кларитромицина, диритромицина, эритромицина, рокситромицина, телитромицина, карбомицина А, джозамицина, китазамицина, мидекамицина, олеандомицина, спирамицина, тилозина, тролеандомицина, азтреонама, имипенема, меропенема, эртапенема, дорипенема, панипенема/бетамипрона, биапенема, PZ-601, цефиксима, цефдинира, цефдиторена, цефоперазона, цефотаксима, цефподоксима, цефтазидима, цефтибутена, цефтизоксима, цефтриаксона, цефепима, демеклоциклина, доксициклина, миноциклина, окситетрациклина, тетрациклина, бацитрацина, колистина, полимиксина В, ципрофлоксацина, эноксацина, гатифлоксацина, левофлоксацина, ломефлоксацина, моксифлоксацина, норфлоксацина, офлоксацина и тровафлоксацина, предпочтительно цефтазидима, имипенема/циластатина, меропенема, азтреонама, окситетрациклина, азитромицина, кларитромицина, диритромицина, эритромицина, рокситромицина, спирамицина и ципрофлоксацина.

6. Способ по п. 4, где антибиотик представляет собой макролид, предпочтительно выбранный из азитромицина, кларитромицина, диритромицина, эритромицина, рокситромицина и спирамицина.

7. Способ по п. 1, где бактерия представляет собой *Burkholderia* sp., предпочтительно выбранную из *Burkholderia cepacia*, *Burkholderia pseudomallei* и *Burkholderia mallei*, предпочтительно *Burkholderia cepacia*.

8. Способ по п. 1, где указанный антибиотик выбран из азитромицина, кларитромицина, диритромицина, эритромицина, рокситромицина, телитромицина, карбомицина А, джозамицина, китазамицина, мидекамицина, олеандомицина, спирамицина, тилозина, тролеандомицина, азтреонама, имипенема, меропенема, эртапенема, дорипенема, панипенема/бетамипрона, биапенема, PZ-601, цефиксима, цефдинира, цефдиторена, цефоперазона, цефотаксима, цефподоксима, цефтазидима, цефтибутена, цефтизоксима, цефтриаксона, цефепима, демеклоциклина, доксициклина, миноциклина, окситетрациклина, тетрациклина, бацитрацина, колистина, полимиксина В, ципрофлоксацина, эноксацина, гатифлоксацина, левофлоксацина, ломефлоксацина, моксифлоксацина, норфлоксацина, офлоксацина и тровафлоксацина, предпочтительно цефтазидима, имипенема/циластатина, меропенема, азтреонама, окситетрациклина, азитромицина, кларитромицина, диритромицина, эритромицина, рокситромицина, спирамицина и ципрофлоксацина.

9. Способ по п. 1, где альгинатный олигомер имеет степень полимеризации от 2 до 75, от 2 до 50, от 2 до 35, от 2 до 30, от 2 до 25 или от 2 до 20.

10. Способ по п. 1, где альгинатный олигомер представляет собой 2-35-мер, 2-30-мер, 3-35-мер, 3-28-мер, 4-25-мер, 6-22-мер, 8-20-мер или 10-15-мер.

11. Способ по п. 1, где альгинатный олигомер имеет по меньшей мере 80% или по меньшей мере 90%, предпочтительно по меньшей мере 95% или 100% остатков G.

5 12. Способ по п. 1, где по меньшей мере 80% остатков G организовано в G-блоки.

13. Способ по п. 1, где альгинатный олигомер имеет по меньшей мере 80% или по меньшей мере 90% остатков M, предпочтительно по меньшей мере 95% или 100% остатков M.

14. Способ по п. 1, где по меньшей мере 80% остатков M организовано в M-блоки.

10 15. Способ по п. 1, где бактерия (1) находится на поверхности, выбранной из поверхностей аппаратуры или оборудования для переработки, приготовления, хранения или дозирования пищевых продуктов или напитков, поверхностей аппарата для кондиционирования воздуха, поверхностей промышленного оборудования, поверхностей резервуаров для хранения, поверхностей медицинского или хирургического
15 оборудования, поверхности водного/морского оборудования или поверхностей зданий и других сооружений; или (2) на поверхности, выбранной из поверхностей оборудования для переработки, хранения, дозирования или приготовления пищевых продуктов; резервуаров, конвейеров, полов, водоотводов, холодильников, морозильников, поверхностей оборудования, стен, вентилях, ремней, труб, трубопроводов систем
20 кондиционирования воздуха, холодильной установки, линий дозирования пищевых продуктов или напитков, теплообменников, корпусов судов, линий подачи воды в стоматологические установки, трубопроводов установок для бурения нефти, контактных линз, контейнеров для хранения контактных линз, катетеров, протезных устройств или имплантируемых медицинских устройств; или (3) в материале, выбранном из
25 клинических/научных отходов, продуктов питания для животных или человека, средств личной гигиены, косметических средств, запасов питьевой воды, хранилищ сточных вод, запасов сельскохозяйственных кормов и воды, инсектицидных композиций, пестицидных композиций, гербицидных композиций, промышленных смазочных материалов, сред для культивирования клеток и тканей и культур клеток и тканей.

30 16. Применение альгинатного олигомера для преодоления устойчивости к антибиотику у MDR грамотрицательной бактерии, где указанный альгинатный олигомер имеет степень полимеризации от 2 до 100 и (1) по меньшей мере 70% остатков гулуруновой кислоты или гулуруната (остатков G) или (2) по меньшей мере 70% остатков маннуруновой кислоты или маннуруната (остатков M).

35 17. Продукт, содержащий альгинатный олигомер и антибиотик в виде комбинированного препарата для отдельного, одновременного или последовательного применения для преодоления устойчивости к антибиотику у MDR грамотрицательной бактерии, где указанный альгинатный олигомер имеет степень полимеризации от 2 до 100 и (1) по меньшей мере 70% остатков гулуруновой кислоты или гулуруната (остатков
40 G) или (2) по меньшей мере 70% остатков маннуруновой кислоты или маннуруната (остатков M).

18. Способ *in vitro* борьбы с контаминацией участка MDR грамотрицательными бактериями, включающий приведение указанного участка и/или указанных бактерий в контакт с альгинатным олигомером вместе с антибиотиком, к которому указанные
45 бактерии устойчивы, где указанный альгинатный олигомер имеет степень полимеризации от 2 до 100 и (1) по меньшей мере 70% остатков гулуруновой кислоты или гулуруната (остатков G) или (2) по меньшей мере 70% остатков маннуруновой кислоты или маннуруната (остатков M).