

(12) МЕЖДУНАРОДНАЯ ЗАЯВКА, ОПУБЛИКОВАННАЯ В СООТВЕТСТВИИ С
ДОГОВОРом О ПАТЕНТНОЙ КООПЕРАЦИИ (РСТ)

(19) Всемирная Организация
Интеллектуальной Собственности
Международное бюро



(10) Номер международной публикации
WO 2012/154076 A1

(43) Дата международной публикации
15 ноября 2012 (15.11.2012)

WIPO | РСТ

- (51) Международная патентная классификация:
A61K 31/545 (2006.01) *A61K 47/04* (2006.01)
A61K 31/43 (2006.01) *A61P 31/04* (2006.01)
A61K 31/665 (2006.01) *B82B 1/00* (2006.01)
A61K 9/14 (2006.01) *B82Y 5/00* (2011.01)
- (21) Номер международной заявки: РСТ/RU2011/000779
- (22) Дата международной подачи:
05 октября 2011 (05.10.2011)
- (25) Язык подачи: Русский
- (26) Язык публикации: Русский
- (30) Данные о приоритете:
201100735 11 мая 2011 (11.05.2011) ЕА
- (72) Изобретатель; и
(71) Заявитель : ЛИМОНОВ, Виктор Львович (LI-MONOV, Viktor Lvovich) [RU/RU]; ул. Ращупкина, 10, кв. 62, Москва, 121374, Moscow (RU).
- (72) Изобретатели: ГАЙДУЛЬ, Константин Валентинович (GAIDUL, Konstantin Valentinovich); ул. Богаткова, 260-71, Новосибирск, 630089, Novosibirsk (RU). ДУШКИН, Александр Валерьевич (DUSHKIN, Aleksandr Valerevich); ул. Арбузова, 5-144, Новосибирск, 630117, Novosibirsk (RU).

(74) Агент: ЛАНЦОВА, Любовь Ивановна (LANTSOVA, Lyubov Ivanovna); ул. Люсиновская, 4-50, Москва, 115093, Moscow (RU).

(81) Указанные государства (если не указано иначе, для каждого вида национальной охраны): AE, AG, AL, AM, AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CL, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KM, KN, KP, KR, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LY, MA, MD, ME, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PE, PG, PH, PL, PT, QA, RO, RS, RU, RW, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, ZA, ZM, ZW.

(84) Указанные государства (если не указано иначе, для каждого вида региональной охраны): ARIPO (BW, GH, GM, KE, LR, LS, MW, MZ, NA, RW, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), евразийский (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), европейский патент (AL, AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, MK, MT, NL, NO, PL, PT, RO, RS, SE, SI, SK, SM, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

Опубликована:

— с отчётом о международном поиске (статья 21.3)

(54) Title: ANTIBACTERIALLY ACTIVE PHARMACEUTICAL COMPOSITION FOR PARENTERAL USE, AND METHOD FOR PRODUCING SAID COMPOSITION

(54) Название изобретения : ФАРМАЦЕВТИЧЕСКАЯ КОМПОЗИЦИЯ АНТИБАКТЕРИАЛЬНОГО ДЕЙСТВИЯ ДЛЯ ПАРЕНТЕРАЛЬНОГО ПРИМЕНЕНИЯ, СПОСОБ ЕЁ ПОЛУЧЕНИЯ

(57) Abstract: The invention relates to pharmacology, medicine, veterinary medicine and to the pharmaceutical industry, in particular to a method for producing original composite antibacterial preparations for parenteral use, said preparations having increased therapeutic effectiveness in the treatment of severe forms of infectious inflammatory diseases. The proposed pharmaceutical composition comprises a complex (beta-lactam antibiotic+phosphomycin) and highly dispersed nano-structured silicon dioxide as the active substance. The claimed method for the production of the pharmaceutical composition consists in mixing the complex (beta-lactam antibiotic+phosphomycin) with the highly dispersed nano-structured silicon dioxide in a weight ratio of 10:1 to 75:1 by weight, respectively, and subjecting the mixture produced to mechanical processing by means of impact-abrading actions to increase the finely dispersed fraction portion. The mixture produced is used for preparing injection solutions.

(57) Реферат: Изобретение относится к фармакологии, медицине, ветеринарии и к фармацевтической промышленности, в частности, к способу получения оригинальных композитных антибактериальных препаратов для парентерального применения, которые обладают повышенной терапевтической эффективностью при лечении тяжёлых форм инфекционно-воспалительных заболеваний. Предложенная фармацевтическая композиция содержит в качестве действующего вещества комплекс (бета-лактамный антибиотик+фосфомицин) и высокодисперсный наноструктурированный диоксид кремния. Заявляемый способ получения фармацевтической композиции заключается в смешивании комплекса (бета-лактамный антибиотик+фосфомицин) с высокодисперсным наноструктурированным диоксидом кремния в весовом соотношении, от 10:1 до 75:1 по весу, соответственно, а полученную смесь подвергают механической обработке путем ударно-истирающих воздействий для увеличения доли мелкодисперсной фракции. Полученную смесь используют для приготовления инъекционных растворов.

WO 2012/154076 A1

**ФАРМАЦЕВТИЧЕСКАЯ КОМПОЗИЦИЯ АНТИБАКТЕРИАЛЬНОГО
ДЕЙСТВИЯ ДЛЯ ПАРЕНТЕРАЛЬНОГО ПРИМЕНЕНИЯ, СПОСОБ ЕЁ
ПОЛУЧЕНИЯ**

5

Изобретение относится к антимикробным лекарственным препаратам и технологиям их приготовления и может использоваться в медицине и ветеринарии для лечения инфекционно-воспалительных заболеваний, а также в
10 фармацевтической промышленности для производства лекарственных средств.

В настоящее время успешная терапия большинства инфекционно-воспалительных заболеваний основана на применении различных антибактериальных препаратов, обладающих широким спектром антимикробного действия и высокой противомикробной активностью в отношении многочисленных
15 штаммов грам-положительных и грам-отрицательных микроорганизмов, к которым, том числе, относятся бета-лактамы антибиотики, имеющие общим фрагментом в химической структуре бета-лактамоное кольцо (цефалоспорины, цефамицины, карбапенемы, монобактамы и пенициллины), а также антибиотик фосфомицин [1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8].

Однако, необходимо отметить, что в тех случаях, когда инфекционно-воспалительный процесс вызывается резистентными к фосфомицину и бета-лактамам микроорганизмами, проводимая антибактериальная монотерапия данными
20 препаратами далеко не всегда является эффективной, что вынуждает врачей различных специальностей заменять их антибиотиками из других групп или менять тактику лечения [9, 10, 11, 12, 13].

В связи с этим, разработка новых химико-фармацевтических подходов с целью существенного повышения антимикробной активности фосфомицина и бета-лактамов является актуальной задачей современной экспериментальной фармакологии и практической медицины.

В этом направлении, особого внимания заслуживают результаты исследований, полученные и опубликованные, преимущественно, в последние годы.

Во-первых, показано, что комбинации фосфомицина с антибиотиками из других групп (фосфомицин+фторхинолоны, фосфомицин+аминогликозиды, фосфомицин+ бета-лактамы) обладают выраженным эффектом антибактериального
35 синергизма в отношении грам-положительных (в том числе, метициллин-

резистентных *Staphylococcus aureus*) и грам-отрицательных (в том числе, *Pseudomonas aeruginosa*) микроорганизмов [14, 15, 16].

Во-вторых, обнаружено, что самые разнообразные наночастицы могут служить в качестве носителей для доставки различных антибиотиков в очаги инфекционного воспаления с целью повышения их локальной концентрации, и, соответственно, с целью усиления их антибактериального действия, а также в качестве стимуляторов антимикробной активности фагоцитов (преимущественно, макрофагов) и их дополнительного рекрутирования в инфицированные ткани, что, несомненно, может явиться перспективной основой для разработки новых высокоэффективных противомикробных лекарственных средств [17, 18, 19, 20, 21].

Сущность изобретения заключается в том, что с целью усиления терапевтической эффективности фосфомицина и бета-лактамов предлагается использовать наночастицы SiO₂ (диоксида кремния), которые, отличаясь фармакологически выгодными свойствами биосовместимости, биораспределения, биodeградации и малотоксичности (независимо от степени выраженности пористости структуры), способны служить в качестве носителя антибиотиков для внутриклеточной доставки в макрофаги, которые концентрированно расположены в очагах воспаления, наблюдаемых в легких, печени, почках, селезёнке, лимфоузлах, сердце, коже и других органах млекопитающих (т.е. значительно повышать локальную концентрацию антибиотиков в инфицированных зонах), а также существенно увеличивать противомикробную активность этих клеток иммунной системы (в частности, посредством стимуляции выработки оксида азота), тем самым достоверно усиливать терапевтический эффект антимикробных препаратов при лечении инфекционно-воспалительных заболеваний [22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31, 32, 33, 34].

Изобретение решает задачу создания фармацевтической композиции антимикробного действия для инъекций на основе использования антибиотиков из группы бета-лактамов, антибиотика фосфомицина и наночастиц диоксида кремния, обладающей повышенной терапевтической эффективностью (по сравнению с обычными бета-лактамами и фосфомицином, которые рассматриваются в данном изобретении в качестве прототипа) при лечении инфекционно-воспалительных заболеваний, вызываемых грамм-положительными и грамм-отрицательными микроорганизмами.

Поставленная задача решается тем, что предлагается фармацевтическая композиция антибактериального действия для инъекций, которая содержит комплекс, состоящий из бета-лактамого антибиотика (50%) + фосфомицина (50%), и высокодисперсный наноструктурированный диоксид кремния в весовом соотношении, равном (10-75) : 1.

Поставленная задача решается также тем, что предлагается способ получения фармацевтической композиции антибактериального действия для инъекций, включающий смешивание комплекса (бета-лактамоный антибиотик + фосфомицин) с другими компонентами, по которому комплекс (бета-лактамоный антибиотик + фосфомицин) в форме порошка смешивают с порошковым высокодисперсным наноструктурированным диоксидом кремния в весовом соотношении, равном (10-75) : 1, и полученную смесь подвергают механической обработке путем ударно-истирающих воздействий.

Терапевтическая эффективность предлагаемой фармацевтической композиции повышается, если полученную смесь подвергают механической обработке путем ударно-истирающих воздействий таким образом, чтобы доля частиц высокодисперсного наноструктурированного диоксида кремния, имеющих размер не более 5 мкм, составляла не менее 35%.

Для приготовления фармацевтической композиции использовался фосфомицин и бета-лактамоные антибиотики (цефазолин, цефуроксим, цефокситин, цефтриаксон, цефтазидим, цефепим, меропенем, азтреонам), предоставленные российским фармпроизводителем ООО «АБОЛмед».

В качестве высокодисперсного наноструктурированного диоксида кремния (далее по тексту: BHSiO_2) использовался применяемый в фармации АЭРОСИЛ 200 (МНН – кремния диоксид коллоидный), производимый фирмой «Evonik Degussa Corporation» (Германия), состоящий из наночастиц диоксида кремния округлой формы (средний диаметр 7-40 нм), объединённых в микрочастицы неправильной формы, имеющие размеры < 100 мкм.

В основу выбора состава композиции положено явление обратимой сорбции молекул бета-лактамов и фосфомицина нано- и микроразмерными частицами BHSiO_2 , а также уменьшение размеров микрочастиц BHSiO_2 при механической активации его смесей с субстанциями бета-лактамов и фосфомицина интенсивными ударно-истирающими механическими воздействиями.

Заявляемый способ получения вышеуказанной фармацевтической композиции путем механической активации порошкообразной смеси комплекса (бета-лактамы́ный антибиотик + фосфомицин) и BHSiO_2 интенсивными ударно-истирающими воздействиями позволяет по сравнению с известными способами

5 повысить долю мелкодисперсных (размером ≤ 5 мкм) частиц BHSiO_2 , на которых адсорбируются молекулы бета-лактамов и фосфомицина и которые фагоцитируются преимущественно макрофагами [35].

Для этого смесь вышеуказанных веществ в весовом соотношении комплекс (бета-лактамы́ный антибиотик + фосфомицин) : BHSiO_2 , равном (10-75) : 1,

10 подвергают механической активации путем ударно-истирающих воздействий до увеличения весовой доли мелкодисперсной фракции (размер частиц ≤ 5 мкм), не менее, чем до 35%.

Из полученной порошкообразной композиции готовят инъекционные растворы для парентерального введения (разведением её любым известным

15 способом, принятым для бета-лактамов и фосфомицина), состоящие из мелкодисперсных частиц BHSiO_2 с обратимо сорбированными на их поверхности молекулами того или иного бета-лактама и фосфомицина.

Введение в предлагаемую композицию высокодисперсного наноструктурированного диоксида кремния в соотношениях комплекс (бета-лактамы́ный антибиотик + фосфомицин) : BHSiO_2 от 10:1 до 75:1 по весу,

20 соответственно, определяется сочетанием двух факторов: 1) при увеличении содержания BHSiO_2 более 10% от веса композиции у лабораторных животных при её внутривенном введении наблюдаются явления интоксикации; 2) при уменьшении содержания BHSiO_2 ниже 1% от веса композиции, её терапевтическая

25 эффективность (в частности, при лечении бактериального сепсиса у мышей) фактически не отличается от базовой эффективности комплекса (бета-лактамы́ный антибиотик + фосфомицин).

Для получения композиций использован механохимический подход, заключающийся в обработке смеси твердых компонентов интенсивными

30 механическими воздействиями – давлением и сдвиговыми деформациями, реализуемыми преимущественно в различного типа мельницах, осуществляющих ударно-истирающие воздействия на вещества. Смесь твердой субстанции комплекса (бета-лактамы́ный антибиотик + фосфомицин) и высокодисперсного наноструктурированного диоксида кремния, взятых преимущественно в

соотношениях от 10:1 до 75:1 по весу, подвергают механической активации в шаровых мельницах. И использованный способ получения смесей позволяет в значительной мере избежать химического разложения бета-лактамовых антибиотиков и фосфомицина, достичь полной гомогенности порошкообразных компонентов по сравнению с получением смесей простым смешением компонентов, или выпариванием их растворов и, как следствие, обуславливает высокую фармакологическую активность фармацевтической композиции.

В качестве количественного критерия минимально необходимой дозы механического воздействия удобно использовать метод гранулометрии суспензии получаемой композиции. При этом необходимо, чтобы массовая доля частиц размером не более 5 мкм составила не менее 35%. Механическую обработку порошкообразных смесей осуществляют в ротационных, вибрационных или планетарных мельницах. В качестве мелющих тел могут использоваться шары, стержни и др.

Фармакологические испытания полученной композиции на лабораторных животных (мышьях) показали, что заявляемая композиция, приготовленная заявляемым способом, обладает значительно повышенной терапевтической эффективностью при лечении бактериального сепсиса, вызванного *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* и *Pseudomonas aeruginosa*, по сравнению с обычными бета-лактамами и фосфомицином.

Таким образом, использование заявляемой фармацевтической композиции и способ её получения обеспечивает следующие преимущества:

- 1) клинически значимое повышение эффективности и качества антимикробной терапии тяжёлых форм инфекционно-воспалительных заболеваний, снижение смертности;
- 2) экологическая безопасность, безотходность и малозатратность технологии фармацевтического производства.

Предлагаемое изобретение иллюстрируется следующими примерами.

30

Пример 1. Получение твердой композиции (бета-лактамы + фосфомицин)/ BHSiO_2 .

Смесь комплекса (бета-лактамы + фосфомицин) и BHSiO_2 в весовых соотношениях 30:1 и 50:1 по весу обрабатывается в течение 1, 2 и 4 часов в шаровой ротационной мельнице. Данные гранулометрического состава водных суспензий полученных вариантов композиции (использовался лазерный гранулометр Micro-Sizer 201), а также ВЭЖХ анализа содержания в них антибиотиков (в % от исходной субстанции) и степени сорбции антибиотиков (в %) частицами BHSiO_2 , приведены в табл. 1.

Таблица 1.

10 Гранулометрический состав водных суспензий, степень сорбции и содержание бета-лактамов и фосфомицина в различных вариантах композиции

Состав композиции	Размер и % содержания частиц BHSiO_2^*	Степень сорбции бета-лактама/фосфомицина частицами BHSiO_2 (%)	Содержание бета-лактама/фосфомицина от исходных значений (%)
	% ≤ 5 мкм		
Исходный BHSiO_2	6,5	-	-
(Цефазолин+Ф**) : BHSiO_2 (30:1), мехактивация 1 час	37,7	43,7/4,1	97/99
(Цефазолин+Ф**) : BHSiO_2 (30:1), мехактивация 2 часа	40,4	53,2/51,7	99/99
(Цефазолин+Ф**) : BHSiO_2 (30:1), мехактивация 4 часа	38,3	49,3/52,1	95/98
(Цефазолин+Ф**) : BHSiO_2 (50:1), мехактивация 2 часа	39,8	54,7/48,3	97/97
(Цефазолин+Ф**) : BHSiO_2 (50:1), мехактивация 4 часа	38,9	48,5/53,4	98/97
(Цефтриаксон+Ф**) : BHSiO_2 (30:1), мехактивация 2 часа	39,3	53,6/57,8	97/98
(Цефтазидим+Ф**) : BHSiO_2 (30:1), мехактивация 2 часа	41,5	51,5/49,6	98/99
(Цефепим+Ф**) : BHSiO_2 (30:1), мехактивация 2 часа	39,6	52,7/52,1	97/98
(Меропенем+Ф**) : BHSiO_2 (30:1), мехактивация 2 часа	42,5	47,4/51,9	98/97
(Азтреонам+Ф**) : BHSiO_2 (30:1), мехактивация 2 часа	38,3	50,3/53,5	97/99

* - высокодисперсный наноструктурированный диоксид кремния; ** - фосфомицин

Как видно из табл. 1, выбранные условия получения предлагаемой композиции позволяют увеличить до необходимой величины (не менее 35% от общего веса) долю мелкодисперсной фракции BHSiO_2 (размер частиц ≤ 5 мкм) и при этом избежать химического разложения антибиотика.

Пример 2. Определение терапевтической эффективности бета-лактамов, фосфомицина и фармацевтических композиций при лечении сепсиса у экспериментальных животных

5 Исследованы бета-лактамы антибиотики (цефазолин, цефуроксим, цефокситин, цефтриаксон, цефтазидим, цефепим, меропенем, азтреонам) и их мехактивированные в течение 2-х часов композиции, состоящие из смеси комплекса (бета-лактамы+фосфомицин) и BHSiO_2 в весовых соотношениях 30:1, соответственно
10 Для определения терапевтической эффективности бета-лактамов, фосфомицина и их фармацевтических композиций с BHSiO_2 , в качестве основы, использовали экспериментальные модели тестирования терапевтической эффективности антибактериальных препаратов на лабораторных животных и метод статистической обработки полученных результатов (χ^2) согласно [36, 37, 38, 39].

Микроорганизмы: *Staphylococcus aureus* (ATCC № 25923 F-49), *Escherichia coli* (ATCC №25922 F-50), *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC №27853 F-51).
15

Животные: эксперименты проводили на гибридных мышцах-самцах (СВА х $\text{C}_{57}\text{Black}/6$) CBF_1 в соответствии с «Правилами работ с использованием экспериментальных животных» (Приложение к приказу Министерства здравоохранения СССР от 12.08. 1977 г., № 755).

20 Экспериментальные модели сепсиса и схема лечения

Мышам внутривенно в объеме 0,5 мл вводилась взвесь суточной культуры *Pseudomonas aeruginosa* в дозе 5×10^8 КОЕ/мышь или взвесь суточной культуры *Staphylococcus aureus* в дозе 10^{10} КОЕ/мышь или взвесь суточной культуры *Escherichia coli* в дозе 8×10^8 КОЕ/мышь. Контрольной группе мышей вводился физ. р-р (0,9% раствор натрия хлорида) в объеме 0,5 мл. Через сутки после инфицирования, мышам внутривенно ежедневно однократно в течение 3-х дней вводились различные антибиотики и их порошковые смеси (бета-лактамы+фосфомицин, в весовом соотношении 1:1), а также предлагаемая фармацевтическая композиция (бета-лактамы+фосфомицин, в весовом соотношении
25 1:1)/ BHSiO_2 , в одинаковой дозе 100 мг/кг, разведенной в 0,25 мл физ. р-ра. Контрольной группе мышей по этой же схеме вводился физ. р-р в объеме 0,25 мл.
30

Эффективность антибактериальной терапии оценивали по количеству выживших мышей на 7-е сутки после инфицирования.

Полученные данные, представленные в табл. 2, отражают результаты трёх независимых экспериментов, выполненных для каждой исследуемой группы (для исследования группы контроля, а также каждого антибиотика и каждой композиции использовано не менее 40 мышей).

5

Таблица 2.

Терапевтическая эффективность антимикробной терапии бактериального сепсиса

Исследуемые антибиотики и композиции*	Выживаемость мышей на 7-е сутки после инфицирования**			χ^2
	<i>S. aureus</i>	<i>E. coli</i>	<i>P. aeruginosa</i>	
Физ. р-р (контроль)	0% (0/42)	0% (0/40)	0% (0/40)	
Ф (фосфомицин)	38,1% (16/42)	46,3% (19/41)	37,5% (15/40)	
Цефазолин	37,5% (15/40)	-	-	
Цефуросксим	40,0% (16/40)	42,5% (17/40)	-	
Цефокситин	41,5% (17/41)	40,0% (16/40)	-	
Цефтриаксон	41,8% (18/43)	42,5% (17/40)	-	
Цефтазидим	40,0% (16/40)	50,0% (20/40)	47,5% (19/40)	
Цефепим	47,5 % (19/40)	57,5% (23/40)	50,0% (20/40)	
Меропенем	69,0% (29/42)	70,0% (28/40)	67,5% (27/40)	
Азтреонам	-	73,2% (30/41)	70,0% (28/40)	
Цефазолин+Ф	55,0% (22/40)	-	-	P<0,01
Цефазолин+Ф / BHSiO ₂	97,5% (39/40)	-	-	P<0,01
Цефуросксим+Ф	57,5 % (23/40)	60,0% (24/40)	-	
Цефуросксим+Ф / BHSiO ₂	95,0% (38/40)	95,1% (39/41)	-	P<0,01
Цефокситин+Ф	60,0% (24/40)	57,5% (23/40)	-	
Цефокситин+Ф / BHSiO ₂	95,1% (39/41)	92,8% (39/42)	-	P<0,01
Цефтриаксон+Ф	57,5% (23/40)	58,5% (24/41)	-	
Цефтриаксон+Ф / BHSiO ₂	100% (42/42)	97,5% (39/40)	-	P<0,01
Цефтазидим+Ф	52,5% (21/40)	60,0% (24/40)	57,5% (23/40)	
Цефтазидим+Ф / BHSiO ₂	92,5% (37/40)	100% (40/40)	97,5% (39/40)	P<0,01
Цефепим+Ф	61,0% (25/41)	61,9% (26/42)	60,0% (24/40)	
Цефепим+Ф / BHSiO ₂	97,5% (39/40)	100% (41/41)	100% (42/42)	P<0,01
Меропенем+Ф	72,5% (29/40)	75,6% (31/41)	75,6% (31/41)	
Меропенем+Ф / BHSiO ₂	100% (42/42)	100% (40/40)	100% (40/40)	P<0,01
Азтреонам+Ф	-	77,5% (31/40)	76,7% (33/43)	
Азтреонам+Ф / BHSiO ₂	-	100% (41/41)	100% (40/40)	

* - мехактивированные в течение 2 часов смеси - (бета-лактамы + фосфомицин, в весовом соотношении 1:1) / высокодисперсный наноструктурированный кремнезём (BHSiO₂), в весовом соотношении 30/1.

** - в % и в абсолютных значениях (число выживших мышей/число инфицированных мышей).

(-) - опыты не проводились, ввиду исходно низкой чувствительности микроорганизмов к исследуемым антибиотикам.

10

15

Как видно из табл. 2, все предлагаемые фармацевтические композиции антибактериального действия (бета-лактамы+фосфомицин)/BHSiO₂ обладают достоверно повышенной терапевтической эффективностью, по сравнению с

обычными бета-лактамами и по сравнению с комбинациями бета-лактамы+фосфомицин, при лечении сепсиса у экспериментальных животных, вызванного грам-положительными (*Staphylococcus aureus*) и грам-отрицательными (*Escherichia coli* и *Pseudomonas aeruginosa*) микроорганизмами (в зависимости от
5 состава).

Литература

1. Asbel L.E., Levison M.E. Cephalosporins, carbapenems, and monobactams // Infectious Disease Clinics of North America . – 2000. – Vol.14. – P.435-447.
- 5 2. Clarke M., Wordsworth S., Emmas C., Edwards S. Carbapenems versus other beta-lactams in treating severe infections in intensive care: a systematic review of randomised controlled trials // European Journal of Clinical Microbiology&Infectious Diseases. – 2008. – Vol.27. – P.531-543.
3. Paul M., Yahav D., Bivas A. et al. Anti-pseudomonal beta-lactams for the initial,
10 empirical, treatment of febrile neutropenia: comparison of beta-lactams // Cochrane Database of Systematic Reviews . – 2010. – Issue 11. – Art. No.: CD005197.
4. Falagas M.E., Kastoris A.C., Karageorgopoulos D.E., Rafailidis P.I. Fosfomycin for for the treatment of infections caused by multidrug-resistant non-fermenting Gram-negative bacilli: a systematic review of microbiological, animal and clinical studies//
15 International Journal of Antimicrobial Agents. – 2009. – Vol.34. – P.111-120.
5. Falagas M.E., Roussos N., Gkegkes I.D. et al. Fosfomycin for the treatment of infections caused by Gram-positive cocci with advanced antimicrobial drug resistance: a review of microbiological, animal and clinical studies// Expert Opinion on Investigational Drugs. – 2009. – Vol.18. – P.921-944.
- 20 6. Michalopoulos A., Vartzili S., Rafailidis P. et al. Intravenous fosfomycin for the treatment of nosocomial infections caused by carbapenem-resistant *Klebsiella pneumonia* in critically ill patients: a prospective evaluation// Clinical Microbiology and Infection. – 2010. – Vol.16. – P.184-186.
7. Traunmuller F., Steinort D., Gattringer R., Graninger W. Fosfomycin intravenous//
25 Chemotherapie. – 2011. – Jahr. 20. – P.9-17.
8. Maraki S., Samonis G., Rafailidis P.I. et al. Susceptibility of urinary tract bacteria to fosfomycin// Antimicrobial Agents and Chemotherapy. – 2009. – Vol.53. – P.4508-4510.
9. O'Hara K. The resistance of recent clinical isolates against isepamycin, other
30 aminoglycosides and injectable beta-lactams// Japanese Journal of Antibiotics. – 2000. – Vol.53. – P.46-59.
10. Rozgonyi F., Ostorhazi E., Marodi E., Ghidan A. Resistance to beta-lactams and glycopeptides in staphylococci and streptococci (A review) // Acta Microbiologica et Immunologica. – 2001. – Vol. 48. – P.359-392.

11. Katayama Y., Zhang H.-Z., Chambers H.F. PBP 2a mutations producing very-high-level resistance to beta-lactams // *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. – 2004. – Vol.48. – P.453-459.
12. Takahata S., Ida T., Hiraishi T. et al. Molecular mechanisms of fosfomycin resistance
5 in clinical isolates of *Escherichia coli*// *International Journal of Antimicrobial Agents*. – 2010. – Vol.35. – P.333-337.
13. De Groote V.N., Fauvart M., Kint C.I. et al. *Pseudomonas aeruginosa* fosfomycin resistance mechanisms affect non-inherited fluoroquinolone tolerance // *Journal of Medical Microbiology*. – 2011. – Vol. 60. – P.329-336.
- 10 14. Song X., Liu Y., Ju H. Antibacterial activity of levofloxacin combined with fosfomycin against *Staphylococcus aureus*// *Chinese Journal of Clinical Pharmacology*. – 2009. – Vol.25. – P.505-508.
- 15 15. MacLeod D.L., Barker L.M., Sutherland J.L. et al. Antibacterial activities of a fosfomycin/tobramycin combination: a novel inhaled antibiotic for bronchiectasis// *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*. – 2009. – Vol.64. – P.829-836.
16. Kastoris A.C., Rafailidis P.I., Vouloumanou E.K. et al. Synergy of fosfomycin with other antibiotics for Gram-positive and Gram-negative bacteria// *European Journal of Clinical Pharmacology*. – 2010. – Vol.66. – P.359-368.
- 20 17. Abeylath S.C., Turos E. Drug delivery approaches to overcome bacterial resistance to β -lactam antibiotics // *Expert Opinion on Drug Delivery*. – 2008. – Vol.5. - P.931-949.
18. Bastus N.G., Sanchez-Tillo E., Pujals S. et al. Peptides conjugated to gold nanoparticles induce macrophage activation // *Molecular Immunology*. – 2009. – Vol.46. – P.743-748.
- 25 19. Pinto-Alphandary H., Andreumont A., Couvreur P. Targeted delivery of antibiotics using liposomes and nanoparticles: research and applications // *International Journal of Antimicrobial Agents*. – 2000. – Vol.13. – P.155-168.
20. Ulbrich W., Lamprech A. Targeted drug-delivery approaches by nanoparticulate carriers in the therapy of inflammatory diseases // *Journal Royal Society Interface*. – 2010. – Vol.7, Suppl. 1. – P.S55-S66.
- 30 21. Rai A., Prabhune A., Perry C.C. Antibiotic mediated synthesis of gold nanoparticles with potent antimicrobial activity and their application in antimicrobial coatings // *Journal of Materials Chemistry*. – 2010. – Vol.20. – P.6789-6798.
22. Park J-H., Gu L., Maltzahn G. et al. Biodegradable luminescent porous silicon nanoparticles for in vivo applications // *Nature Materials*. – 2009. – Vol.8. – P.331-336.

23. Pernis B. Silica and the immune system // *Acta Biomed.* – 2005. – Vol.76, Suppl. 2.- P.38-44.
24. Tasciotti E., Liu X., Bhavane R. Et et al. Mesoporous silicon particles as a multistage delivery system for imaging and therapeutic applications // *Nature Nanotechnology.* – 2008. – Vol.3. – P.151-157.
25. Seleem M.N., Munusamy P., Ranjan A et al. Silica-antibiotic hybrid nanoparticles for targeting intracellular pathogens // *Antimicrobial Agents and Chemotherapy.* – 2009. – Vol.53. – P.4270-4274.
26. Chuiko A., Pentyuk A., Shtat'ko E., Chuiko N. Medical aspects of application of highly disperse amorphous silica // *Surface Chemistry in Biomedical and Environmental Science.* Edited by J.P.Blitz and V. Gun'ko.II. Mathematics, Physics and Chemistry. – 2006. – Vol.228. – P.191-204.
27. Waters K. M., Masiello L.M., Zangar R.C. et al. Macrophage responses to silica nanoparticles are highly conserved across particle sizes // *Toxicological Sciences.* – 2009. – Vol.107. – P. 553-569.
28. Lucarelli M., Gatti A.M., Savarino G. et al. Innate defence functions of macrophages can be biased by nano-sized ceramic and metallic particles // *European Cytokine Network.* – 2004. – Vol.15. – P.339-346.
29. Zolnik B.S., Gonzalez-Fernandez A., Sadrieh N., Dobrovolskaia V. Minireview: Nanoparticles and the immune system // *Endocrinology.* – 2010. – Vol.151. – P.458-465.
30. Hetrick E.M., Shin J.H., Stasko N.A. et al. Bactericidal efficacy of nitric oxide-releasing silica nanoparticles// *ACS Nano.* – 2008. – Vol.2. – P.235-246.
31. Nathan C.F., Hibbs J.B. Role of nitric oxide synthesis in macrophage antimicrobial activity// *Current Opinion in Immunology.* – 1991. – Vol.3. – P.65-70.
32. McMullin B.B., Chittock D.R., Roscoe D.L. et al. The antimicrobial effect of nitric oxide on the bacteria that cause nosocomial pneumonia in mechanically ventilated patients in the intensive care unit// *Respiratory Care.* – 2005. – Vol.50. – P.1451-1456.
33. DeGroote M.A., Fang F.C. Antimicrobial properties of nitric oxide// *Nitric oxide and infection.* – 2002. – Part C. – P.231-261.
34. Eue I., Rumar R., Dong Z. et al. Induction of nitric oxide production and tumoricidal properties in murine macrophage by a new synthetic lipopeptide JBT3002 encapsulated in liposomes// *Journal of Immunotherapy.* – 1998. – Vol. 21. – P.340-351.

35. Hamilton R.F., Thakur S.A., Mayfair J.K., Holian A. MARCO mediates silica uptake and toxicity in alveolar macrophages from C57BL/6 mice // J. Biological Chemistry. – 2006. – Vol.281. – P. 34218-34226.
36. Tarkowski A., Collins L.V., Gjerdtsson I. et al. Model systems: Modeling human staphylococcal arthritis and sepsis in the mouse// Trends in Microbiology. – 2001. – Vol.9. – P.321-326.
37. Hultgren O., Kopf M., Tarkowski A. Outcome of Staphylococcus aureus-triggered sepsis and arthritis in IL-4-deficient mice depends on the genetic background of the host// Eur J Immunology/ - 1999. – Vol.29. – P.2400-2405.
- 10 38. Eckhardt C., Fickweiler K., Schaumann R. et al. Therapeutic efficacy of moxifloxacin in a murine model of severe systemic mixed infection with *E.coli* and *B.fragilis* // Anaerobe. - 2003. - Vol.9. - P.157-160.
- 15 39. Schaumann R., Blatz R., Beer J. et al. Effect of moxifloxacin versus imipenem/cilastatin treatment on the mortality of mice infected intravenously with different strains of *Bacteroides fragilis* and *Escherichia coli* // Journal of Antimicrobial Chemotherapy. – 2004. – Vol.53. – P.318-324.

Формула изобретения

1. Фармацевтическая композиция антибактериального действия для парентерального применения, содержащая в качестве терапевтического вещества комплекс (бета-лактамы+фосфомицин), отличающаяся тем, что она выполнена в форме порошка для приготовления инъекционных растворов и содержит высокодисперсный наноструктурированный диоксид кремния коллоидный в весовом соотношении (бета-лактамы+фосфомицин) : высокодисперсный наноструктурированный диоксид кремния коллоидный, равном (10-75) : 1.
2. Способ получения фармацевтической композиции антибактериального действия для парентерального применения, включающий смешение комплекса (бета-лактамы+фосфомицин) с другими компонентами, отличающийся тем, что комплекс (бета-лактамы+фосфомицин) в форме порошка смешивают с порошкообразным высокодисперсным наноструктурированным диоксидом кремния коллоидным в весовом соотношении (бета-лактамы+фосфомицин) : высокодисперсный наноструктурированный диоксид кремния коллоидный, равном (10-75) : 1, и полученную смесь подвергают механической обработке путем ударно-истирающих воздействий.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/RU 2011/000779

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

A61K 31/545, 31/43, 31/665, 9/08, 9/14, 47/00, 47/04, A61P 31/00, 31/04, B82B 1/00, B82Y 5/00

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)

PatSearch, RUPAT, PAJ, Esp@cenet, PubMed, ScienceDirect, SpringerLink

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	EP 1313451 B1 (JAGOTEC AG) 11.03.2009, paragraphs [0075] -[0077], [0085]- [0086], [0223]-[0225], [0240]-[0241], p.p. 1, 2, 6, 7, 9 the claims	1-2
Y	EVAN M. HETRICK. Antimicrobial and wound healing properties of nitric oxide-releasing xerogels and silica nanoparticles. The University of North Carolina at Chapel Hill, 2008, p. 119 -120	1-2
Y	KYOICHI TOTSUKA et al. In Vitro Combined Effects of Fosfomycin and fl-Lactam Antibiotics Against Penicillin-Resistant Streptococcus pneumoniae. Journal of Infection and Chemotherapy, 1997, Vol. 3, No. 1, pp. 49 -54	1-2



Further documents are listed in the continuation of Box C.



See patent family annex.

* Special categories of cited documents:

“A” document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance

“E” earlier application or patent but published on or after the international filing date

“L” document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)

“O” document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means

“P” document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

“T” later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention

“X” document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone

“Y” document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art

“&” document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

31 January 2012 (31.01.2012)

Date of mailing of the international search report

16 February 2012 (16.02.2012)

Name and mailing address of the ISA/
RU

Authorized officer

Facsimile No.

Telephone No.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/RU 2011/000779

C (Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	JIAN-FENG CHEN et al. Preparation and characterization of porous hollow silica nanoparticles for drug delivery application. Biomaterials, 2004, Vol. 25, No. 4, pp. 723 -727	1-2

ОТЧЕТ О МЕЖДУНАРОДНОМ ПОИСКЕ

Номер международной заявки

PCT/RU 2011/000779

A. КЛАССИФИКАЦИЯ ПРЕДМЕТА ИЗОБРЕТЕНИЯ		<i>A61K 31/545 (2006.01)</i> <i>A61K 31/43 (2006.01)</i> <i>A61K 31/665 (2006.01)</i> <i>A61K 9/14 (2006.01)</i> <i>A61K 47/04 (2006.01)</i> <i>A61P 31/04 (2006.01)</i> <i>B82B 1/00 (2006.01)</i> <i>B82Y 5/00 (2011.01)</i>
Согласно Международной патентной классификации МПК		
B. ОБЛАСТЬ ПОИСКА		
Проверенный минимум документации (система классификации с индексами классификации)		
A61K 31/545, 31/43, 31/665, 9/08, 9/14, 47/00, 47/04, A61P 31/00, 31/04, B82B 1/00, B82Y 5/00		
Другая проверенная документация в той мере, в какой она включена в поисковые подборки		
Электронная база данных, использовавшаяся при поиске (название базы и, если, возможно, используемые поисковые термины)		
PatSearch, RUPAT, PAJ, Esp@cenet, PubMed, ScienceDirect, SpringerLink		
C. ДОКУМЕНТЫ, СЧИТАЮЩИЕСЯ РЕЛЕВАНТНЫМИ:		
Категория*	Цитируемые документы с указанием, где это возможно, релевантных частей	Относится к пункту №
Y	EP 1313451 B1 (JAGOTEC AG) 11.03.2009, параграфы [0075]–[0077], [0085]–[0086], [0223]–[0225], [0240]–[0241], п.п. 1, 2, 6, 7, 9 формулы	1-2
Y	EVAN M. HETRICK. Antimicrobial and wound healing properties of nitric oxide-releasing xerogels and silica nanoparticles. The University of North Carolina at Chapel Hill, 2008, с. 119–120	1-2
Y	KYOICHI TOTSUKA et al. In Vitro Combined Effects of Fosfomycin and fl-Lactam Antibiotics Against Penicillin-Resistant Streptococcus pneumoniae. Journal of Infection and Chemotherapy, 1997, Vol. 3, No. 1, pp. 49–54	1-2
☒ последующие документы указаны в продолжении графы C. ☐ данные о патентах-аналогах указаны в приложении		
* Особые категории ссылочных документов:	“Т” более поздний документ, опубликованный после даты международной подачи или приоритета, но приведенный для понимания принципа или теории, на которых основывается изобретение “Х” документ, имеющий наиболее близкое отношение к предмету поиска; заявленное изобретение не обладает новизной или изобретательским уровнем, в сравнении с документом, взятым в отдельности “У” документ, имеющий наиболее близкое отношение к предмету поиска; заявленное изобретение не обладает изобретательским уровнем, когда документ взят в сочетании с одним или несколькими документами той же категории, такая комбинация документов очевидна для специалиста “&” документ, являющийся патентом-аналогом	
“А” документ, определяющий общий уровень техники и не считающийся особо релевантным		
“Е” более ранняя заявка или патент, но опубликованная на дату международной подачи или после нее		
“L” документ, подвергающий сомнению притязание(я) на приоритет, или который приводится с целью установления даты публикации другого ссылочного документа, а также в других целях (как указано)		
“O” документ, относящийся к устному раскрытию, использованию, экспонированию и т.д.		
“Р” документ, опубликованный до даты международной подачи, но после даты испрашиваемого приоритета		
Дата действительного завершения международного поиска	Дата отправки настоящего отчета о международном поиске	
31 января 2012 (31.01.2012)	16 февраля 2012 (16.02.2012)	
Наименование и адрес ISA/RU: ФИПС, РФ, 123995, Москва, Г-59, ГСП-5, Бережковская наб., 30-1 Факс: (499) 243-33-37	Уполномоченное лицо: М. Костюшенкова Телефон № (495) 531-65-15	

С. (Продолжение). ДОКУМЕНТЫ СЧИТАЮЩИЕСЯ РЕВАЛЕНТНЫМИ

Категория*	Цитируемые документы с указанием, где это возможно, релевантных частей	Относится к пункту №
A	JIAN-FENG CHEN et al. Preparation and characterization of porous hollow silica nanoparticles for drug delivery application. Biomaterials, 2004, Vol. 25, No. 4, pp. 723 –727	1-2