

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 973 183**

51 Int. Cl.:

A61K 41/00 (2010.01) **C07K 16/24** (2006.01)
A61P 31/04 (2006.01)
A61P 31/12 (2006.01)
C07K 16/28 (2006.01)
A61K 31/43 (2006.01)
A61K 31/496 (2006.01)
A61K 31/5377 (2006.01)
A61K 31/7036 (2006.01)
A61K 39/395 (2006.01)
A61K 39/00 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

- 86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **19.08.2020** **PCT/RU2020/050193**
87 Fecha y número de publicación internacional: **04.03.2021** **WO21040570**
96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **19.08.2020** **E 20800353 (3)**
97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **13.12.2023** **EP 4021505**

54 Título: **Medicamento para tratar enfermedades infecciosas**

30 Prioridad:

29.08.2019 RU 2019127185
29.08.2019 RU 2019127186

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
18.06.2024

73 Titular/es:

EPSHTEIN, OLEG ILIICH (100.0%)
4 Samotyochny Per. D. 3, kv. 72
Moscow 127473, RU

72 Inventor/es:

PUSHKAR, DMITRY YURIEVICH y
EPSHTEIN, OLEG ILIICH

74 Agente/Representante:

GONZÁLEZ PECES, Gustavo Adolfo

ES 2 973 183 T3

Aviso: En el plazo de nueve meses a contar desde la fecha de publicación en el Boletín Europeo de Patentes, de la mención de concesión de la patente europea, cualquier persona podrá oponerse ante la Oficina Europea de Patentes a la patente concedida. La oposición deberá formularse por escrito y estar motivada; sólo se considerará como formulada una vez que se haya realizado el pago de la tasa de oposición (art. 99.1 del Convenio sobre Concesión de Patentes Europeas).

DESCRIPCIÓN

Medicamento para tratar enfermedades infecciosas

La presente invención está relacionada al ámbito farmacéutico, concretamente, a medicamentos y procedimientos de tratar enfermedades infecciosas. En particular, la invención está relacionada a productos para tratar infecciones de origen bacteriana, para aumentar la eficacia de antibióticos, incluso sus efectos contra bacterias resistentes, y reducir las dosis efectivas de antibióticos, y también es un procedimiento de tratar infecciones bacterianas, de reducir la resistencia de bacterias a antibióticos y aumentar la eficacia terapéutica de antibióticos contra bacterias resistentes a antibióticos específicos. La invención también está relacionada a medicamentos y procedimientos para tratar infecciones virales.

Todas las infecciones pueden ser clasificadas como simples, o sea, inducidas por un solo agente, y mixtas, que son inducidas por dos o más agentes. Es importante distinguir infecciones mixtas de infecciones secundarias (superinfecciones) derivadas de una enfermedad ya existente. La reinfección se define por la reaparición de la enfermedad causada por el mismo agente después de recuperación completa y está asociada a la falta de inmunidad.

Infecciones bacterianas son enfermedades causadas por bacterias. Infecciones bacterianas son caracterizadas por la secreción de toxinas por bacterias vivas y muertas que llevan a inflamación, intoxicación y daño tisular. El diagnóstico de infecciones bacterianas requiere prescripción de medicamentos antibacterianos. Eventualmente, las bacterias que causan varias enfermedades desarrollan resistencia a los antibióticos utilizados para el tratamiento. Es un proceso adaptivo natural que se llama resistencia antimicrobiana. El desarrollo de un gran número de bacterias lleva al aumento de la cantidad de infecciones incurables, lo que, a su vez, aumenta el riesgo de infecciones bacterianas, lleva a mayores gastos médicos asociados al tratamiento de infecciones bacterianas, estadías más largas en hospitales y crecimiento de la tasa de mortalidad. [OMS. *The evolving threat of antimicrobial resistance: Options for action*. 2013].

En mayo de 2015, la Organización Mundial de la Salud aprobó el plan de acción global para combatir resistencia antimicrobiana, incluso la resistencia a antibióticos. El objetivo del plan es asegurar el tratamiento y la prevención de enfermedades infecciosas con medicamentos más eficaces y seguros. [<http://www.who.int/mediacentre/factsheets/antibiotic-resistance/ru/>].

El grupo de infecciones agudas de las vías respiratorias superiores (IVRs) es el grupo más común de enfermedades en el mundo que incluye influenza, parainfluenza, infecciones causadas por el virus respiratorio sincitial, rinovirus, adenovirus y otras inflamaciones catarrales de las vías respiratorias superiores. En la mayoría de los casos la transmisión del virus ocurre por autoinoculación de los virus en la mucosa nasal o conjuntival con las manos después de un contacto con un individuo infectado o superficies contaminadas. Otra vía de transmisión es la transmisión aérea que ocurre por inhalación de aerosoles que contienen el virus o mediante la exposición de las mucosas a microgotas infectadas durante un contacto cercano con un individuo infectado. La ausencia de un tratamiento adecuado puede llevar a complicaciones graves como otitis media, sinusitis, tonsilitis, coagulación intravascular diseminada, etc.

El análisis de los datos de la estadística oficial de la Organización Mundial de la Salud (OMS) demostró que, a principios del siglo XXI, enfermedades infecciosas eran responsables por un cuarto de todas las muertes en el mundo, mientras en países subdesarrollados la mortalidad causada por enfermedades infecciosas llegó casi al 50%. Podemos afirmar que enfermedades infecciosas siguen siendo uno de los motivos más importantes de la mortalidad en todo el mundo. El desarrollo de nuevas opciones de tratamiento es una tarea de más alta prioridad para las industrias médica y farmacéutica.

Por lo tanto, el tratamiento de infecciones bacterianas y virales, al igual que las maneras de reducir la resistencia a antibióticos y aumentar la sensibilidad de bacterias a antibióticos, son desafíos muy importantes en la industria sanitaria hoy en día.

El arte previo describe medicamentos para tratamiento de enfermedades infecciosas, y en particular, agentes antivirales, como Arbidol, Amixina, etc. [https://www.rlsnet.ru/tn_index_id_4196.htm, https://www.rlsnet.ru/tn_index_id_1526.htm]. Medicamentos de esta clase pueden tener efectos colaterales y poca eficacia contra algunas enfermedades causadas por virus [Leneva I.A. et al. *Characteristics of arbidol-resistant mutants of influenza virus: implications for the mechanism of anti-influenza action of arbidol*. *Antiviral Res* 2009 81(2):132-40].

El arte previo también describe medicamentos para tratamiento de enfermedades infecciosas, en particular, productos farmacéuticos para tratamiento de infecciones bacterianas, como Amoxicilina, Gentamicina, Tetraciclina, Levomicetina, etc. [https://www.rlsnet.ru/tn_index_id_222.htm // https://www.rlsnet.ru/tn_index_id_876.htm // https://www.rlsnet.ru/mnn_index_id_82.htm // https://www.rlsnet.ru/tn_index_id_4699.htm]. Los antibióticos tienen dos grandes problemas: el número creciente de microorganismos resistentes a antibióticos y una amplia gama de efectos colaterales y contraindicaciones asociadas a su uso [Belozertseva V.N. et al. *Antibiotics: resistance and toxicity*. New St. Petersburg Medical Records, 2017.-N 2. -P.59-61].

De esa forma, el uso inapropiado y descontrolado de antibióticos puede ser extremadamente nocivo para la salud humana. Aparte de efectos adversos como alergias, secuelas tóxicas para el hígado y los riñones, trastornos de los sistemas cardiovascular, sanguíneo y cardiovascular, tratamiento con antibióticos también puede llevar al desarrollo de microbios resistentes a antibióticos. Por lo tanto, un esfuerzo global encaminado a la reducción de la resistencia de microorganismos a antibióticos y promoción de uso racional de antibióticos es de importancia actual.

Un procedimiento conocido de combatir la resistencia de bacterias a antibióticos implica el uso de antibióticos en combinación con inhibidores de enzimas bacterianas. Por ejemplo, el ácido clavulánico (también conocido como clavulanato), un inhibidor de betalactamasa que tiene una estructura química parecida a la de antibióticos betalactámicos. Al igual que los otros beta-lactámicos, el ácido clavulánico se liga a proteínas fijadoras de penicilinas (PBPs) en bacterias grampositivas y gramnegativas y contribuye a la lisis de la pared bacteriana. Además, el ácido clavulánico tiene su propia actividad antibacteriana. Sobre esta base, fueron creados medicamentos combinados que contienen aminopenicilina y alguno de los inhibidores de betalactamasa (amoxicilina/clavulanato). La desventaja de este procedimiento es la gama limitada de efectos antagonistas de las combinaciones de medicamentos utilizadas, o sea, son eficaces solamente contra microbios con resistencia mediada por betalactamasa. Los efectos colaterales del ácido clavulánico son la dispepsia, ictericia colestásica, trastornos funcionales hepáticos, infección de *Clostridium difficile*, candidiasis y alergias (eritema polimorfo, angioedema, dermatitis exfoliativa, urticaria alérgica y choque anafiláctico) [<https://www.kakprosto.ru/kak-899440-klavulanovaya-kislota-deystvie-i-svoystva-#ixzz5eejsFlpF>].

El arte previo describe un procedimiento de combatir la resistencia de bacterias y hongos a medicamentos que permite abordar de una manera más eficaz el problema de la resistencia de bacterias y hongos a medicamentos con diferentes mecanismos de acción debido al efecto combinado de tintas de anilina en bajas concentraciones y agentes antimicrobianos [patente RU2363470C1, 10.08.2009]. Cabe señalar que tintas de anilina son ampliamente utilizados en histología y tienen efectos antibacterianos, pero algunos de ellos demuestran efectos carcinógenos.

El arte previo también describe una combinación farmacéutica de enzimas activos antibacterianos y proteolíticos para aplicación externa y tópica. Esa composición incluye una base (por ejemplo, lisoamidasa) y por lo menos un suplemento activo (antibiótico, agente antibacteriano sintético, incluso un agente para reducir la resistencia microbiana, antimicótico, agente anestésico o estimulador de reparación). La invención asegura el aumento de la actividad terapéutica de la composición en comparación con los agentes conocidos, incluso contra cepas resistentes a componentes individuales de la composición. También mejora el proceso de recuperación, acelera la limpieza de heridas y acorta el período hasta la rehabilitación [patente RU2655808C2, 29.05.2018]. Cabe señalar que las enzimas son susceptibles a varios factores del ambiente (pH, temperatura, presión etc.), y la exposición a cualquier factor externo puede llevar a desnaturalización y cambios irreversibles en la estructura de la enzima seguidos por la pérdida de sus propiedades. Por ejemplo, se recomienda guardar una enzima de lisoamidasa a una temperatura de $\leq +10^{\circ}\text{C}$ en un ambiente seco y oscuro, lo que presenta dificultades adicionales para su producción, transportación y almacenamiento, ya que puede reducir su eficacia en cualquiera de esas etapas.

El arte previo también describe un medicamento que contiene una forma activada de dosis ultra bajas de anticuerpos monoclonales y policlonales, inmunes o naturales, al mayor antígeno de histocompatibilidad (complejo HLA) o al complejo de antígenos HLA y su péptido asociado [patente RU2205025C1, 26.12.2001]. El medicamento inmunotrópico obtenido según la invención es un nuevo agente farmacéutico caracterizado por actividad inmunotrópica, ausencia de efectos colaterales, seguridad para el medio ambiente y costo bajo. Sin embargo, no hay datos sobre la eficacia de este medicamento para el tratamiento de infecciones bacterianas y/o virales.

El arte previo describe un medicamento compuesto para tratamiento de infecciones virales que contiene una forma activada potenciada de anticuerpos al interferón gamma humano y una forma activada potenciada de anticuerpos al receptor de CD4 como componentes activos [patente RU 2521392, 06.08.2010]. Sin embargo, no hay datos sobre la eficacia de ese medicamento para tratamiento de infecciones bacterianas o mixtas.

Ergoferon es el análogo más próximo del medicamento reivindicado [https://www.rlsnet.ru/tn_index_id_46844.htm]. La actividad farmacológica de Ergoferon incluye efectos antiviral e inmunomodulador; además, el medicamento también se utiliza en el tratamiento combinado de infecciones bacterianas. Ergoferon contiene la llamada forma activada potenciada de anticuerpos al interferón gamma (IFN- γ), una forma activada potenciada de anticuerpos a CD4 de las células T (CD4) y una forma activada potenciada de anticuerpos a histamina (His).

Un objetivo de la presente invención es crear un nuevo y eficaz medicamento compuesto que demostrase alta actividad antiviral, antibacteriana e inmunomoduladora y también fuese eficaz contra bacterias resistentes a uno o más medicamentos antibacterianos (antibióticos) conocidos sin cualquier efecto tóxico o mutagénico sobre el organismo del paciente. La invención también está dirigida a la elaboración de un medicamento que pudiera aumentar la eficacia farmacológica de un antibiótico, y en particular su eficacia contra bacterias resistentes, y reducir las dosis eficaces de antibióticos.

La invención es como se define en las reivindicaciones. En una de sus formas, el medicamento de la presente invención es un producto tecnológicamente procesado resultante de diluciones seriadas de las sustancias de base de anticuerpos, concretamente, anticuerpos a HLA-DRB1 y a $\beta 2$ -MG. En su otra forma, el medicamento de la presente invención es un producto tecnológicamente procesado resultante de diluciones seriadas de las sustancias de base de

anticuerpos, concretamente, anticuerpos a a) HLA-DRB1, b) β 2-MG, c) IFN- γ y d) CD4. Las dos formas son eficaces para el tratamiento y la prevención de infecciones bacterianas causadas por varios tipos de patógenos.

Un aspecto de la presente invención es el medicamento reivindicado para el tratamiento de infecciones bacterianas que ayuda a mejorar la eficacia de antibióticos, a reducir la resistencia bacteriana a la terapia con antibióticos y las dosis eficaces de antibióticos y es un producto tecnológicamente procesado resultante de diluciones seriadas de las sustancias de base de anticuerpos, concretamente, anticuerpos al dominio β 1 de la molécula de la clase II del complejo mayor de histocompatibilidad (HLA-DRB1) y anticuerpos a la microglobulina β 2 (β 2-MG).

Otro aspecto de la invención es el medicamento reivindicado con actividad antiviral y antibacteriana para tratamiento de enfermedades infecciosas que es un producto tecnológicamente procesado resultante de diluciones seriadas de las sustancias de base de anticuerpos al dominio β 1 de la molécula de la clase II del complejo mayor de histocompatibilidad (HLA-DRB1), b) anticuerpos a la microglobulina β 2 (β 2-MG), c) anticuerpos al interferón gama (IFN- γ) y d) anticuerpos a CD4.

Los tipos de bacterias mencionadas pueden ser los siguientes, por ejemplo: espiroquetas (como *Treponema*, *Borrelia*, *Leptospira*); bacterias gramnegativas aerobias y microaerófilas, bacterias móviles, curvadas y helicoidales (como *Campylobacter*, *Helicobacter*, *Spirillum*); bacterias gram-negativas aerobias y bastones y cocos microaerófilos (como *Achromobacter*, *Bordetella*, *Kingella*, *Neisseria*); bastones gramnegativos facultativos anaeróbicos (como *Cedecea*, *Escherichia*, *Klebsiella*, *Plesiomona*, *Haemophilus*, *Streptobacillus* (infecciones por coli)); bacterias gramnegativas rectas, curvadas y helicoidales (como *Anaerobiospirillum*, *Bacteroides*, *Porphyromonas*); cocos gramnegativos anaerobios (como *Veillonella*); rickettsias y clamidias (for example, *Ehrlichia*, *Chlamydophila*); cocos grampositivos (como *Aerococcus*, *Staphylococcus*, *Streptococcus*); bastones y cocos grampositivos formadores de endosporos (como *Bacillus*, *Clostridium*); bastones grampositivos de forma regular no formadores de endosporos (como *Erysipelothrix*, *Listeria*); bastones grampositivos de forma irregular no formadores de endosporos (como *Bifidobacterium*, *Corinebacterium*, *Rothia*); micobacterias (como *Mycobacterium*); actinomicetos (como *Actinomadura*, *Nocardia*, *Streptomyces*); micoplasmas (como *Mycoplasma*, *Ureaplasma*), etc. [I.V. Smirnov. *Pathogens of bacterial infections in humans*. Clinical Microbiology and Antimicrobial Chemotherapy, No.2, Vol. 2, 2000, p.4-11].

El medicamento reivindicado que es un producto tecnológicamente procesado resultante de diluciones seriadas de las sustancias de base de anticuerpos a HLA-DRB1 y a β 2-MG, también es eficaz contra bacterias resistentes a uno o más antibióticos.

Infecciones bacterianas que pueden ser manejadas por el medicamento reivindicado pueden ser divididas en clases basándose tanto en el tipo de la bacteria patógena y su modo de transmisión:

Infecciones gastrointestinales e intestinales que pueden ser causadas por shigella, estafilococos, bacilos de cólera, bacilos de tifoidea o salmonela (salmonelosis, fiebre tifoidea, disentería, envenenamiento bacteriano por alimentos, campilobacteriosis, enteritis, escherichiosis, colitis, envenenamiento por alimentos, gastritis, úlceras, botulismo, etc.). La vía de transmisión fecal-oral es predominante para esas infecciones.

Infecciones bacterianas de las vías respiratorias con transmisión aérea pueden ser causadas por estafilococos, neumococos, estreptococos, *Bordetella pertussis*, meningococos, clamidias, micobacterias, micoplasma, etc. (sinusitis, rinitis, amigdalitis aguda, laringitis, traqueítis, tonsilitis, epiglottitis, sinusitis maxilar, neumonía, bronquitis, tuberculosis, etc.).

Infecciones bacterianas del sistema genitourinario, como la vaginosis bacteriana (*gardnerella vaginalis*), clamidia, cistitis, disbacteriosis, pielonefritis, glomerulonefritis, uretritis, balanitis bacteriana, prostatitis, cistitis bacteriana, prostatitis bacteriana, vesiculitis seminal, etc.;

Infecciones bacterianas de la piel y de los tejidos blandos causadas, por ejemplo, por estafilococos y estreptococos, son transmitidas por contacto de piel (erisipelas, impétigo, celulitis, flemón, forunculosis, hidradenitis, etc.).

Infecciones de la sangre causadas, por ejemplo, por rickettsias, yersinia y cocobacilos son transmitidas por vectores (fiebre de los conejos, peste, fiebre maculosa, fiebre de las trincheras, etc.).

Infecciones del sistema linfático, como inflamación de ganglios linfáticos o linfangitis, pueden ser causadas por estreptococos o estafilococos;

Infecciones del sistema nervioso, como meningitis, encefalitis, mielitis y otras, causadas por meningococos, neumococos, *Haemophilus influenzae* tipo b, *Borrelia*, micoplasma, *Candida fungi*, etc., pueden ser transmitidas por vía aérea al igual que a través del sistema linfático;

Infecciones de los huesos y las articulaciones pueden ser causadas por agentes bacterianos de la enfermedad de Lyme, estafilococos, estreptococos, micobacterias y gonococos y transmitidas a través de la sangre, por contacto directo, por ejemplo, con heridas abiertas o durante procedimientos quirúrgicos etc. y a través de

infecciones en las estructuras más próximas del cuerpo (artritis séptica, osteomielitis, síndrome de Reiter, etc.);

Infecciones de los oídos (mastoidea y sinusal) pueden ser causadas por estreptococos, estafilococos, *Candida fungi*, *Haemophilus influenza*, etc. Las vías de transmisión son a través de la trompa de Eustaquio, el conducto auditivo externo o a través de la sangre (laberintitis, pérdida de audición neurosensorial, mastoiditis, etc.).

La composición farmacéutica de la presente invención es una combinación de ingredientes activos para tratamiento de infecciones bacterianas, i.e. un medicamento que es un producto tecnológicamente procesado resultante de diluciones seriadas de las sustancias de base de anticuerpos a HLA-DRB1 y a β 2-MG con el antibiótico correspondiente, administrados en conjunto al paciente. La coadministración del medicamento con el antibiótico correspondiente puede ser realizada tanto como administración simultánea de los medicamentos como dos productos independientes o sucesivamente con intervalos temporales necesarios, especialmente si estos intervalos ayudan a la combinación de los productos a ejercer un efecto mejor. El procedimiento es elegido basándose en experiencia y depende de la enfermedad y del antibiótico utilizado.

El medicamento reivindicado, junto al antibiótico conocido, también puede formar una combinación fija o no fija para el tratamiento de infecciones bacterianas. El término "combinación fija" indica que los ingredientes activos, o sea, el medicamento reivindicado y el medicamento complementario (el antibiótico) son coadministrados simultáneamente al paciente como una única forma o dosis farmacéutica. El término "combinación no fija" o "conjunto de componentes" indica que los ingredientes activos, que son el medicamento reivindicado y el medicamento complementario (el antibiótico) son coadministrados al paciente como componentes separados, simultánea o sucesivamente sin cualquier intervalo de tiempo en los casos cuando tal administración asegura niveles eficaces de los dos ingredientes activos en el cuerpo. La combinación reivindicada del medicamento con antibiótico puede ser administrada simultánea o sucesivamente para tratar infecciones bacterianas, el antibiótico siendo administrado en la conocida dosis efectiva.

El medicamento reivindicado (anticuerpos a HLA-DRB1 y anticuerpos a β 2-MG) se utiliza en la dosis efectiva seleccionada por vía experimental, mientras el antibiótico debe ser administrado en conformidad con el folleto de información del paciente o la prescripción del médico. El antibiótico puede ser seleccionado de los siguientes grupos: antibióticos beta-lactámicos (penicilinas (amoxicilina, metilicina, oxacilina, benzilpenicilina, etc.); cefalosporinas (cefalexina, cefazolina, ceftriaxona, cefepima, etc.); carbapenems (meropenem, doripenem, biapenem, etc.); macrólidos (ketólidos, eritromicina, roxitromicina, claritromicina, etc.); tetraciclinas (tetraciclina, oxitetraciclina, doxiciclina, metaciclina, etc.); aminoglicósidos (estreptomicina, canamicina, amikacina, gentamicina, etc.); cloromicetinas; oxazolidinones; glicopéptidos (targocida, daptomicina, vancomicina, etc.); lincosamidas (dalacina C); fluoroquinolones (levofloxacino, gemifloxacino, esparfloxacino, etc.); antibióticos antimicóticos (nistatina, amfotericina B, etc.); antibióticos antituberculosos (ftivazida, metazida, saluzida, etc.); medicamentos antilepróticos (solusulfona, diucifona, etc.); agentes antineoplásicos (doxorubicina, rubomicina, carminomicina, etc.); otros antibióticos (fosfomicina, fusidina, rifampicina, etc.) [[https:// es.wikipedia.org/wiki/Антибиотики](https://es.wikipedia.org/wiki/Антибиотики)].

La dosis efectiva (ED) o concentración efectiva (EC) se define como la dosis o la concentración del medicamento que produce una respuesta biológica. El término "dosis efectiva" se utiliza en relación a mediciones in vivo, mientras "concentración efectiva" se refiere a mediciones in vitro.

La presente invención está destinada a aumentar la eficacia farmacológica del antibiótico, y en particular sus efectos contra bacterias resistentes, a través de administración simultánea o sucesiva del antibiótico correspondiente y el medicamento reivindicado que es producto tecnológicamente procesado resultante de diluciones seriadas de las sustancias de base de anticuerpos a HLA-DRB1 y a β 2-MG. Por lo tanto, la coadministración del medicamento reivindicado con el antibiótico ayuda a reducir las dosis del antibiótico.

El medicamento de la presente invención que es un producto tecnológicamente procesado resultante de diluciones seriadas de las sustancias de base de anticuerpos a a) HLA-DRB1, b) β 2-MG, c) IFN- γ y d) CD4 puede ser utilizado en el tratamiento de infecciones virales. Estas infecciones virales pueden ser causadas por los siguientes virus: virus de ADN bicatenario (como Herpesvirales, Adenoviridae, Papillomaviridae, Polyomaviridae.); virus de ADN monocatenario (como Circoviridae, Parvoviridae); virus con ARN capaz de replicarse (como Reoviridae, Birnaviridae); virus ARN monocatenarios positivos (como Nidovirales, Picornavirales, Tymovirales, Astroviridae, Caliciviridae, Flaviviridae, Togaviridae, Virgaviridae); virus ARN monocatenarios negativos (como Bunyavirales, Mononegavirales, Arenaviridae, Ophioviridae, Orthomyxoviridae, Deltavirus); virus ARN monocatenarios positivos que se replican a través de un ADN intermediario (como Retroviridae); virus ADN monocatenarios que se replican a través de un ARN monocatenario intermediario (como Caulimoviridae, Hepadnaviridae) [https://es.wikipedia.org/wiki/Классификация_вирусов_по_Балтимору].

Además, el presente medicamento que es un producto tecnológicamente procesado resultante de diluciones seriadas de las sustancias de base de anticuerpos a a) HLA-DRB1, b) β 2-MG, c) IFN- γ y d) CD4 es eficaz contra infecciones mixtas que surgen debido a exposición concurrente a dos o más patógenos diferentes, tanto virus como bacterias, e infecciones secundarias (superinfecciones) que surgen después de infección con otro patógeno.

El resultado técnico de la presente invención es la ampliación de la gama de medicamentos con efectos combinados antivirales y antibacterianos y la creación de un agente antibacteriano de amplio espectro que fuese eficaz contra bacterias resistentes a uno o más antibióticos y demostrase una baja toxicidad o mutagenicidad, reduciendo así la carga sobre el organismo del paciente durante la terapia antibacteriana. Además, el medicamento reivindicado aumenta la eficacia farmacológica de un antibiótico, incluso la eficacia contra bacterias resistentes, y reduce su dosis efectiva, minimizando los efectos colaterales durante y después del tratamiento con el antibiótico.

Los productos tecnológicamente procesados resultantes de diluciones seriadas de las sustancias de base de anticuerpos a HLA-DRB1, a β 2-MG, IFN- γ y a CD4 son soluciones acuosas o hidroalcohólicas de anticuerpos (o una combinación de estas soluciones) obtenida por dilución seriada (potenciación) de la solución matriz de anticuerpos con cada dilución sometida a un proceso de sucesión.

En los trabajos previos [consulte RU2205025C1, 26.12.2001; RU2500422C2 06.08.2010, etc.], el solicitante utilizó los términos “forma activada de anticuerpos”, “forma activada potenciada de anticuerpos”, “diluciones ultra-altas” y “dosis ultra-bajas de anticuerpos” para describir los productos tecnológicamente procesados resultantes de diluciones seriadas de las sustancias de base de anticuerpos. El solicitante también resalta que el término “forma activada liberada” y los términos “forma activada de anticuerpos”, “forma activada potenciada de anticuerpos”, “diluciones ultra-altas”, “dosis ultra-bajas de anticuerpos” y “diluciones activas” pueden ser utilizados de forma intercambiable [Epstein O.I. *Released-activity (contemporary view on homeopathy and non-homeopathy)*. Moscú: RAMS Publishing House, 2017. 48 p. // Epstein O.I. *Ultralow doses (history of one study)*. Moscú: RAMS Publishing House, 2008. 336 p.].

En la presente invención, una dilución de anticuerpos se define como cualquier dilución de la solución matriz de anticuerpos, incluidas las diluciones decimales, centesimales y milésimales, a partir de C2 (o sea, de la solución matriz diluida 100² veces), cualquier combinación de tales soluciones (por ejemplo, C2+D34+M45, D20+C4, etc.) y cualquier proporción de dilución (por ejemplo, 1:1:2, 2:3, etc.).

El medicamento reivindicado se prepara utilizando anticuerpos naturales, monoclonales o, sobre todo, policlonales como la sustancia de base que puede ser obtenida según las tecnologías y procedimientos conocidos, como descrito en: Myagkova M.A., Morozova V.S. *Immunochemical properties of natural antibodies to physiologically active compounds, Fundamental Research* No. 11, 2014, p.1066-1070 e *Immunological methods*, editado por G. Frimel, Moscú, Meditsina, 1987, p.9-33; o, por ejemplo, en el artículo de Laffly E., Sodoyer R. Hum. *Antibodies. Monoclonal and recombinant antibodies, 30 years after.* - 2005 - Vol.14. - N 1-2. P.33-55, y que tienen especificidad de antígeno a los antígenos correspondientes, i.e. HLA-DRB1, β 2-MG, IFN- γ y CD4.

Anticuerpos naturales son inmunoglobulinas secretadas por el cuerpo en cantidades limitadas en ausencia de estimulación exógena de antígenos. Es por eso que estos anticuerpos también están presentes en la circulación de humanos saludables. Anticuerpos naturales parecen ser primariamente polirreactivos con baja afinidad a un cierto conjunto de autoantígenos.

Anticuerpos monoclonales son anticuerpos heterógenos que reconocen el epítipo de un antígeno específico y son producidos por el clon de una única célula B [Lipman NS1, Jackson LR, Trudel LJ, Weis-Garcia F. *Monoclonal versus polyclonal antibodies: distinguishing characteristics, applications, and information resources*. ILAR J. 2005;46(3):258-68. // *IHC Staining Methods. Fifth edition. Preface Chapter 1*. Thomas Boenisch. *Antibodies*. p.1-9]. Anticuerpos monoclonales pueden ser producidas utilizando la tecnología de la hibridoma. El proceso comienza con la inmunización basada en tecnologías desarrolladas anteriormente utilizadas para la producción de antiseros policlonales. Los siguientes pasos del proceso tienen por objetivo el cultivo de células híbridas que producen clones de anticuerpos de especificidad única. Su aislamiento individual se realiza utilizando los mismos procedimientos aplicados para antiseros policlonales.

Anticuerpos policlonales son representados por una colección de inmunoglobulinas que reconocen epítopos múltiples de un antígeno específico y son secretadas en el cuerpo por líneas de células B diferentes [Lipman NS1, Jackson LR, Trudel LJ, Weis-Garcia F. *Monoclonal versus polyclonal antibodies: distinguishing characteristics, applications, and information resources*. ILAR J. 2005;46(3):258-68. // *IHC Staining Methods. Fifth edition. Preface Chapter 1*. Thomas Boenisch. *Antibodies*. p.1-9]. Anticuerpos policlonales pueden ser producidos por inmunización activa de animales. Para tal inmunización, los animales reciben inyecciones de la combinación apropiada requerida por la invención, o sea, el antígeno, según el protocolo de inyección elaborado. Como resultado, el procedimiento da un antisuero mono-específico con una alta concentración de anticuerpos que son utilizados en el procedimiento de diluciones múltiples seriadas para obtener el producto final. La purificación de anticuerpos por afinidad puede ser realizada, por ejemplo, utilizando el procedimiento de precipitación fraccionada o la cromatografía de intercambio iónico, si es necesario.

Teniendo en cuenta lo mencionado, el término “anticuerpos” se refiere a inmunoglobulinas de cualquier origen (naturales, policlonales o monoclonales) que se unen específicamente a la molécula blanco (antígeno). La especificidad, o sea, la capacidad de los antígenos de reconocer e interactuar con un tipo específico de

epítomos antigénicos, es la característica clave de un anticuerpo que define la entera gama de sus efectos [Boyd WC. *Fundamentals of immunology*. Fundam. Immunol. 1946; Langman RE. *The specificity of immunological reactions*. Mol. Immunol. 2000; 37: 555-561]. La especificidad no depende de la naturaleza de los anticuerpos ni del procedimiento de su producción: anticuerpos naturales, policlonales y monoclonales de especificidad idéntica afectarán el mismo blanco [A. Roitt et al., *Essential Immunology. Translated from English*. – Moscú: Mir, 2000, p.149-161, 527-544]; y por esto pueden ser utilizados para producir el medicamento reivindicado.

En una de sus formas, el medicamento reivindicado puede ser preparado utilizando anticuerpos policlonales como solución matriz (base) en una concentración de 0.5+5.0 mg/ml para procesamiento tecnológico realizado a través de diluciones múltiples seriadas de sustancias de base de anticuerpos para obtener el producto final.

El procesamiento tecnológico, o sea, el procedimiento de diluciones múltiples seriadas de sustancias de base de anticuerpos, es una reducción sistemática de la concentración a través de diluciones seriadas de una parte de la dicha solución en 9 partes (para soluciones decimales, D) o 99 partes (para soluciones centesimales, C) o 999 partes (para soluciones milésimales, M) de un solvente neutro en combinación con acción mecánica externa (por ejemplo, agitación) aplicada a cada una de las diluciones obtenidas, y con un nuevo contenedor utilizado para cada dilución sucesiva [consulte W. Shwabe "*Homeopathic medicines*", Moscú, 1967, p.14-29].

Un procedimiento aparentemente sencillo de reducción sucesiva y repetida de la concentración de las sustancias es, en realidad, una tecnología complicada que permite obtener productos de propiedades únicas. Históricamente, los productos de la tecnología de potenciación se llamaban "dosis pequeñas", "preparaciones potenciadas" o "diluciones altas".

El producto final puede ser producido en diferentes formas de administración [OFS.1.6.2.001.18, la Farmacopea Estatal de la Federación de Rusia, ed. XIV] y pueden tener excipientes farmacéuticamente aceptables.

Por ejemplo, el medicamento reivindicado puede ser producido en una forma sólida que contiene la cantidad requerida (efectiva) de un excipiente farmacéuticamente aceptable que es representado por un transportador neutro (por ejemplo, lactosa) impregnada con una mezcla de productos tecnológicamente procesados resultantes de diluciones seriadas de las sustancias de base de anticuerpos, como anticuerpos a HLA-DRB1, β 2-MG, IFN- γ , CD4, y excipientes farmacéuticamente aceptables, como hipromelosa, maltitol, glicerol, sorbato potásico, ácido cítrico anhídrico, isomaltitol, dióxido de silicio, ciclamato sódico, sacarina sódica, celulosa microcristalina, estearato de magnesio, etc.

El producto final de la presente invención es un medicamento que es un producto tecnológicamente procesado resultante de diluciones seriadas de las sustancias de base de: a) tecnológicamente procesado resultante de diluciones seriadas de las sustancias de base de: a) anticuerpos al dominio β 1 de la molécula de la clase II del complejo mayor de histocompatibilidad (HLA-DRB1), b) anticuerpos a la microglobulina β 2 (β 2-MG), c) anticuerpos al interferón gamma (IFN- γ) y d) anticuerpos a CD4. La dilución de las sustancias de base puede variar desde diluciones decimales (D) hasta diluciones milésimales (M) con diferentes proporciones de dilución. Las diluciones y proporciones óptimas son definidas en conformidad con los principios conocidos de farmacología y farmacocinética, en particular, la curva de respuesta según la dosis.

La forma sólida del medicamento reivindicado se prepara en un sistema de lecho fluido (por ejemplo, Hüttlin Pilotlab de Hüttlin GmbH), pulverizando la solución acuosa o hidroalcohólica preparada de antemano (la concentración se elige por vía experimental, OFS.1.6.2.0010.18, Farmacopea Estatal) de productos tecnológicamente procesados resultantes de diluciones seriadas de las sustancias de base de anticuerpos sobre un lecho fluido de gránulos del transportador neutro, i.e. lactosa (azúcar de leche) que son secados simultáneamente por una corriente ascendente de aire calentado de $\leq 40^{\circ}\text{C}$. La mezcla para pastillas obtenida se mezcla uniformemente y después se compacta utilizando el procedimiento de compresión directa seca (por ejemplo, en la máquina de comprimir XL 400 de Korsch) [WO2007105981(A1), 20.09.2007]. Durante el proceso de compresión se producen pastillas de 300 mg impregnadas con una solución acuosa o hidroalcohólica de productos tecnológicamente procesados resultantes de diluciones seriadas de las sustancias de base de anticuerpos a HLA-DRB1, a la microglobulina β 2, al interferón gama y/o a CD4.

Las figuras abajo, con los esquemas adjuntos, sirven para ilustrar la presente invención:

Fig.1. El peso de la vejiga 7 días después de la infección.

Fig.2. La carga bacteriana en la vejiga de ratones 7 días después de la infección.

Fig.3. El peso de los riñones al 7º día después de la infección.

Fig.4. La carga bacteriana en los riñones de ratones 7 días después de la infección.

Fig.5. La carga bacteriana de la urina 1, 3 y 6 días después de la infección.

Fig. 6. La sobrevivencia de ratones (%) después de la infección con *Escherichia coli* en una dosis de 2LD100 (punto 0 en el eje horizontal). NB: * – la diferencia del grupo de control es estadísticamente significativa, $p < 0.05$; # – la diferencia del grupo de enrofloxacin es estadísticamente significativa, $p < 0.05$.

Fig.7. El peso corporal de ratones ($M \pm m$) como marcador de la actividad antibacteriana de la combinación del medicamento reivindicado y AMC después de la infección (punto 0 en el eje horizontal) con la cepa BAA-1705 de *Klebsiella pneumoniae* resistente a AMC en una dosis de 106 UFC/ratón.

Fig.8. La sobrevivencia de ratones (%) como marcador de la actividad antibacteriana de la combinación del medicamento reivindicado y AMC después de la infección (punto 0 en el eje horizontal) con la cepa BAA-1705 de *Klebsiella pneumoniae* resistente a AMC en una dosis de 106 UFC/ratón. NB: * – la diferencia del grupo de control es estadísticamente significativa, $p < 0.05$; # – la diferencia del grupo de control+AMC es estadísticamente significativa, $p < 0.05$; \$ – la diferencia del grupo de AMC es estadísticamente significativa, $p < 0.05$.

Fig.9. La concentración inhibitoria de AMC de 50% (IC50, $M \pm m$) (*Klebsiella pneumoniae*, cepa BAA-1705, 5×10^4 UFC/pozo) y la sensibilidad de bacterias (% de inhibición) a la concentración inhibitoria de AMC de 100% para bacterias intactas y bacterias aisladas de animales que habían recibido los medicamentos testados in vivo. NB: * – la diferencia del valor de 'bacterias intactas' es estadísticamente significativa.

Fig.10 El peso del edema ($M \pm m$) como marcador de la actividad antiinflamatoria del medicamento reivindicado en un modelo de edema de patas inducido por carragenano en ratas. NB: * – la diferencia del grupo de control es estadísticamente significativa, $p < 0.05$; # – la diferencia del grupo de indometacina es estadísticamente significativa, $p < 0.05$.

Fig.11. Comparación entre la cantidad de UFC de la cepa JB270 de *Salmonella enterica* sensible a estreptomicina y de la cepa de *Salmonella enterica* resistente a estreptomicina (JB271 [Strep^R]) por 1 g de bazo de ratones en los días 2-4 después de la infección con JB270 + JB271 [Strep^R] (1:1 en una dosis de 5.0 log10 UFC/ratón). Los datos están presentados como $M \pm SE$. * $p < 0.05$ vs los valores obtenidos en el mismo grupo en los días 2 y 3 del estudio; # $p < 0.05$ vs los valores obtenidos en los grupos 1 y 3 en los días 2, 3, 4 y 5 del estudio (días 1, 2, 3 y 4 después de la infección, respectivamente).

Fig.12. Comparación entre la cantidad de UFC de la cepa JB270 de *Salmonella enterica* sensible al ácido nalidíxico (JB270) y de la cepa de *Salmonella enterica* resistente al ácido nalidíxico (JB285 [NaI^R]) por 1 g de bazo en los días 2-4 después de la infección con JB270 + JB285 [NaI^R] (1:1 en una dosis de 5.0 log10 UFC/ratón). Los datos están presentados como $M \pm SE$. * $p < 0.05$ vs los valores obtenidos en el mismo grupo en el día 3 del estudio; # $p < 0.05$ vs los valores obtenidos en los grupos 4 y 6 en los días 3, 4 y 5 del estudio (días 2, 3 y 4 después de la infección, respectivamente), al igual que en el grupo 4 en el día 2 del estudio.

Fig. 13 La sobrevivencia de ratones (%) como marcador de la actividad antibacteriana del medicamento reivindicado después de la infección (punto 0 en el eje horizontal) con *Clostridium perfringens* (ATCC 13124) por vía intraperitoneal (10^{10} UFC/ratón). * $p < 0.05$ vs los valores obtenidos en los grupos 1, 2, 4 y 5; # $p < 0.05$ vs los valores obtenidos en los grupos 1, 4 y 5; \$ $p < 0.05$ vs los valores obtenidos en los grupos 1 y 5.

Fig. 14. La sobrevivencia de ratones (%) como marcador de la actividad antibacteriana del medicamento reivindicado en el tratamiento de animales infectados con (punto 0 en el eje horizontal) *Chlamydomphila pneumonia* (CM1) por vía intratraqueal (1.5×10^6 UFC/ratón). * $p < 0.05$ los valores obtenidos en los grupos 1 y 2; # $p < 0.05$ vs los valores obtenidos en el grupo 1.

Fig. 15. El número de células HEp2 infectadas con *Chlamydomphila pneumonia* (cepa CM1) después de incubación durante 72 horas con el homogeneizado del tejido pulmonar obtenido de ratones en los días 3, 6 y 12 después de la infección con bacterias idénticas por vía intratraqueal (1.5×10^6 UFC/ratón) que recibían placebo, el medicamento reivindicado o azitromicina. Los datos están presentados como $M \pm SE$, como % del grupo de control – 1 (Placebo). * $p < 0.05$ vs los valores obtenidos en el grupo 1 (Placebo) en el mismo día del estudio; # $p < 0.05$ vs los valores obtenidos en el grupo 2 (Medicamento) en el mismo día del estudio.

Fig. 16. La concentración de la interleucina 1 β en el tejido pulmonar de ratones como marcador de la actividad inmunotrópica del medicamento reivindicado para el tratamiento de animales infectados con (punto 0 en el eje horizontal) *Chlamydomphila pneumonia* (CM1) por vía intratraqueal (1.5×10^6 UFC/ratón). Los datos están presentados como $M \pm SE$. * $p < 0.05$ vs los valores de fondo (intacto); # $p < 0.05$ vs los valores obtenidos en el grupo 1 (Placebo); \$ $p < 0.05$ vs los valores obtenidos en el grupo 2 (Medicamento). Las comparaciones entre los grupos fueron realizadas en el mismo día (el día del estudio).

Fig. 17. La concentración de la interleucina 6 en el tejido pulmonar de ratones como marcador de la actividad inmunotrópica del medicamento reivindicado para el tratamiento de animales infectados con (punto 0 en el eje horizontal) *Chlamydomphila pneumonia* (CM1) por vía intratraqueal (1.5×10^6 UFC/ratón). Los datos están presentados como $M \pm SE$. * $p < 0.05$ los valores de fondo (intacto); # $p < 0.05$ vs los valores obtenidos en el grupo 1 (Placebo); \$ $p < 0.05$ vs los valores obtenidos en el grupo 2 (Medicamento). Las comparaciones entre los grupos fueron realizadas en el mismo día (el día del estudio).

Fig. 18. Los efectos del tratamiento sobre la concentración de TNF- α en el tejido pulmonar de ratones infectados con (punto 0 en el eje horizontal) *Chlamydia pneumoniae* (CM1) por vía intratraqueal ($1,5 \times 10^6$ UFC/ratón). Los datos están presentados como M $\pm$ SE.

5 Fig. 19. La sobrevivencia de ratones (%) como marcador de la actividad antibacteriana del medicamento reivindicado en el tratamiento de animales neutropénicos infectados con (punto 0 en el eje horizontal) *Klebsiella pneumoniae* cepa 8637 por vía intranasal (2×10^7 UFC/ratón). * $p < 0.05$ vs los valores obtenidos en el grupo de control (placebo).

Fig. 20. La carga bacteriana en la sangre y los órganos de ratones infectados con (punto 0 en el eje horizontal) *Klebsiella pneumoniae* cepa 8637 por vía intranasal (2×10^7 UFC/ratón). * $p < 0.05$ vs los valores obtenidos en el grupo de control (placebo).

10 Fig. 21. Los efectos del Medicamento 1 y Medicamento 2 sobre la cantidad de UFC de *S. pneumoniae* en los pulmones de ratones después de la infección secuencial con el virus A/New Jersey/8/76 (H1N1) virus y *S. pneumoniae*. NB: * – la diferencia del grupo “Modelo de control” es estadísticamente significativa, $p < 0.05$; # – la diferencia de los grupos “Control no tratado” y “Control” es estadísticamente significativa, $p < 0.05$; \$ – la diferencia del grupo “Medicamento 1” es estadísticamente significativa, $p < 0.05$.

15 Fig. 22. La sobrevivencia de ratones (%) después de la infección con (punto 0 en el eje horizontal) el virus H1N1/A California 04/2009 y *Staphylococcus aureus* (cepa 1986). NB: * – la diferencia del grupo de control es estadísticamente significativa, $p < 0.05$; # – la diferencia del grupo de control negativo es estadísticamente significativa, $p < 0.05$.

20 Fig. 23. Cambios en la hiperreactividad relativa de los bronquios en ratones infectados con el RSV (cepa A2). NB: en el diagrama, los datos sobre la hiperreactividad bronquial por grupo en el punto “0 mg/ml de metacolina” (línea base) fueron tomados como 1. Los valores obtenidos en otros puntos fueron normalizados a la línea base del grupo correspondiente. Los datos están presentados como M $\pm$ CI 95% normalizados. * – la diferencia del grupo intacto (Grupo 6) es estadísticamente significativa, $p < 0.05$; # – la diferencia del grupo de control (Grupo 3) es estadísticamente significativa, $p < 0.05$; & – la diferencia del grupo del RSV (Grupo 4) es estadísticamente significativa, $p < 0.05$.

25 Fig. 24. El número de copias del ARN viral (M $\pm$ m) en los pulmones de ratones infectados con el RSV (A2). NB: * – la diferencia del grupo de control (Grupo 3) y el del RSV (Grupo 4) es estadísticamente significativa, $p < 0.05$; # – la diferencia del grupo 6 es estadísticamente significativa, $p < 0.05$; \$ – la diferencia del grupo 2 es estadísticamente significativa, $p < 0.05$.

30 Fig. 25. El peso corporal de ratas infectadas con *Pseudomonas aeruginosa* (RP73) por vía intratraqueal en una dosis de 6.5×10^7 UFC/ml que recibían placebo, el medicamento reivindicado o tobramicina para tratamiento y prevención. Los datos están presentados como M $\pm$ SE. * $p < 0.05$ vs los valores obtenidos en el grupo 1 (Animales no tratados) y en el grupo 2 (Placebo); # $p < 0.05$ los valores obtenidos en el grupo 4 (Medicamento).

35 Fig. 26. La carga bacteriana en los pulmones de ratas al día 5 después de infección intratraqueal con *Pseudomonas aeruginosa* (RP73) y la administración del placebo, el medicamento reivindicado o tobramicina para tratamiento y prevención. Los datos están presentados como % de los valores obtenidos en el grupo 1 (Animales no tratados), M $\pm$ SE. * $p < 0.05$ vs los valores obtenidos en el grupo 1 (Animales no tratados) y en el grupo 2 (Placebo).

40 Fig. 27. La carga bacteriana en el lavado broncoalveolar de ratas al día 5 después de infección intratraqueal con *Pseudomonas aeruginosa* (RP73) y la administración del placebo, el medicamento reivindicado o tobramicina para tratamiento y prevención. Los datos están presentados como % de los valores obtenidos en el grupo 1 (Animales no tratados), M $\pm$ SE. * $p < 0.05$ vs los valores obtenidos en el grupo 1 (Animales no tratados) y en el grupo 2 (Placebo); # $p < 0.05$ los valores obtenidos en el grupo 4 (Medicamento).

Fig. 28 La carga bacteriana en fluidos internos implantados subcutáneamente en ratones al día 4 después de la infección *in vivo* con *Porphyromonas gingivalis* (ATCC 33277) en una dosis de 10^8 UFC/animal. Los datos están presentados como M $\pm$ SE. * $p < 0.05$ vs los valores obtenidos en el grupo 1 (Animales no tratados) y en el grupo 2 (Placebo).

45 Fig. 29. La concentración de la interleucina 1 β en fluidos internos implantados subcutáneamente en ratones al día 4 después de la infección *in vivo* con *Porphyromonas gingivalis* (ATCC 33277) en una dosis de 10^8 UFC/animal. Los datos están presentados como M $\pm$ SE*. $p < 0.05$ los valores obtenidos en el grupo 1 (Animales no tratados) y en el grupo 2 (Placebo).

50 Fig. 30. La concentración de la interleucina 6 en fluidos internos implantados subcutáneamente en ratones al día 4 después de la infección *in vivo* con *Porphyromonas gingivalis* (ATCC 33277) en una dosis de 10^8 UFC/animal. Los datos están presentados como M $\pm$ SE*. $p < 0.05$ vs los valores obtenidos en el grupo 1 (Animales no tratados) y en el grupo 2 (Placebo).

Fig. 31. La carga bacteriana en los pulmones de ratones 4 después de la infección con *Mycobacterium tuberculosis* (H37Rv) en una dosis de 5×10^6 UFC/animal y tratamiento con placebo, el medicamento reivindicado o la

combinación de isoniazida + rifampicina + etambutol. Los datos están presentados como $M \pm SE$. * $p < 0.05$ vs los valores obtenidos en el grupo 1 (Animales no tratados) y en el grupo 2 (Placebo).

Fig.32. La proporción de pacientes sin síntomas de IVRA (clínicamente diagnosticados, incluso la PCR confirmada). Datos del análisis PP.

5 Ejemplo 1.

La actividad antituberculosa del medicamento reivindicado contra *Mycobacterium tuberculosis* inducido en cobayas.

El objetivo del estudio es investigar la actividad antituberculosa del medicamento contra *Mycobacterium tuberculosis* en un modelo de tuberculosis experimental en cobayas en comparación con el agente antituberculoso Isoniazid. El medicamento de la presente invención contiene un producto tecnológicamente procesado resultante de diluciones seriadas de la sustancia de base de anticuerpos a HLA-DRB1 (dilución hidroalcohólica C12C150 de anticuerpos monoclonales a HLA-DRB1 en una proporción de 2:3) y un producto tecnológicamente procesado resultante de diluciones seriadas de la sustancia de base de anticuerpos a β 2-MG (dilución acuosa C12C150 de anticuerpos monoclonales a β 2-MG en una proporción de 2:3) en la proporción de volumen de 1:2:

15 A) Un producto tecnológicamente procesado resultante de diluciones seriadas de las sustancias de base de anticuerpos al dominio β 1 de la molécula de la clase II del complejo mayor de histocompatibilidad (HLA-DRB1) obtenido a través de la combinación de dos diferentes diluciones sucesivas de la solución base (matriz) de anticuerpos monoclonales a HLA-DRB1 en un solvente hidroalcohólico (2.5 mg/ml). Las siguientes diluciones fueron mezcladas en una proporción de volumen de 2:3:

Una solución de base (matriz) diluida 100^{12} veces, lo que equivale a una dilución C12, con agitación de cada dilución.

20 Una solución de base (matriz) diluida 100^{150} veces, lo que equivale a una dilución C150, con agitación de cada dilución.

B) Un producto tecnológicamente procesado resultante de diluciones seriadas de las sustancias de base de anticuerpos monoclonales a la microglobulina β 2 (β 2-MG) que es obtenida a través de la combinación de dos diluciones sucesivas de la solución de base (matriz) de anticuerpos monoclonales a β 2-MG en un solvente acuoso (1.0 mg/ml). Las siguientes diluciones fueron mezcladas en una proporción de volumen de 2:3:

25 Una solución de base (matriz) diluida 100^{12} veces, lo que equivale a una dilución C12, con agitación de cada dilución.

Una solución de base (matriz) diluida 100^{150} veces, lo que equivale a una dilución C150, con agitación de cada dilución.

Grupos experimentales:

Grupo 1 – grupo de control intacto, animales no infectados (n=7);

Grupo 2 – grupo de control negativo (animales infectados no tratados) (n=7);

30 Grupo 3 – animales que recibían placebo (agua purificada) por vía oral 2 veces al día durante 5 días antes de la infección y 6 días a la semana durante dos meses después de 2 semanas de infección en el volumen de 4 ml/kg (n=14);

35 Grupo 4 – animales que recibían placebo (agua purificada) por vía oral 2 veces al día durante 5 días antes de la infección y 6 días a la semana durante dos meses después de 2 semanas de infección en el volumen de 4 ml/kg e Isoniazida en una dosis de 10 mg/kg y en el volumen de 0.4 ml 6 días a la semana durante dos meses después de 2 semanas de infección (n=14);

Grupo 5 – animales que recibían el medicamento por vía oral 2 veces al día durante 5 días antes de la infección y 6 días a la semana durante dos meses después de 2 semanas de infección en el volumen de 4 ml/kg (n=14);

Diseño del estudio:

40 El estudio duró 196 días (6.5 meses): septiembre a diciembre – tratamiento y acompañamiento de los animales experimentales; enero a marzo – análisis de las muestras de necropsia utilizando técnicas microbiológicas e histológicas. Examen físico y visual, evaluación de la salud y monitoreo de la mortalidad eran realizados diariamente antes de la alimentación de los animales.

45 Los medicamentos testados eran administrados a cobayas por vía oral utilizando una jeringa sin aguja en un volumen total de 8 ml/kg 2 veces al día durante 5 días antes de la infección y 6 días a la semana (cada día excepto el domingo) durante 2 meses después de la infección. La dosis de los medicamentos testados era ajustada una vez por semana basándose en los pesos corporales de los animales. Una suspensión de Isoniazida en agua y almidón era administrada a los animales a intervalos iguales de tiempo según el mismo régimen que los medicamentos testados. La dosis de isoniazida era de mg/kg del peso corporal en 0.4 ml de la suspensión de agua y almidón.

La mortalidad, el peso corporal, el crecimiento de *M.tuberculosis* en los medios y los cambios histológicos en los órganos de los animales fueron evaluados en todos los grupos de cobayas durante todo el estudio.

Resultados del estudio:

Tabla 1. Evaluación de la influencia sobre los órganos de cobayas.

N o.	Criterios de evaluación	Grupo, M±m*				
		1 Control intacto	2 Control negativo	3 Placebo	4 Placebo +isoniazida	5 Medicame nto
1	Esperanza de vida, unidades	3.0±0	2.3±0.3	1.9±0.2	2.7±0.09	3±0
2	La diferencia entre el peso inicial y final de los animales, g.	153.7±16.7	13.1± 2.7	38.0± 23.3	180.6±28.4	200.0± 11.6
3	Lesiones macroscópicas en los pulmones, unidades.	0±0	3.5±0.4	3.6±0.1	0.2±0.1	0.1±0.1
4	La cantidad de MTB en las muestras del tejido pulmonar teñido según el procedimiento de Ziehl-Neelson, unidades.	0±0	3.6±0.4	2.8±0.3	0±0	0±0
5	Aislamiento de MTB al inocular los homogeneizados del tejido pulmonar en medios de culturas sólidas, unidades.	0±0	2.4±0.3	2.3±0.2	0±0	0±0
6	Cambios macroscópicos en los ganglios linfático en el puesto de administración, unidades.	0±0	1.8±0.4	1.4±0.2	2.07±0.3	1.9±0.07
7	Cambios macroscópicos en los ganglios linfáticos mediastínicos, unidades.	0±0	0.5±0.1	0.6±0	0.85±0.09	0.96± 0.03
8	Cambios macroscópicos en el hígado, unidades.	0±0	3.3±0.1	2.8±0.4	0.03±0.03	0.04±0.02
9	Cambios macroscópicos en el bazo, unidades.	0±0	3.1±0.5	2.3±0.4	0.12±0.07	0.09±0.06
Nota: M±m* - el valor medio del criterio con el error estándar del medio por grupo						

5

Conclusión:

Basándose en los resultados del estudio obtenidos, podemos concluir que el grupo de Isoniazida y el grupo del Medicamento reivindicado demostraron efectos terapéuticos positivos iguales. El examen histológico de los órganos de los animales en los dos grupos demostró señales de patomorfismo terapéutico. El medicamento reivindicado también demostró su eficacia contra infecciones pulmonares.

10

Ejemplo 2.

La actividad antibacteriana del medicamento reivindicado contra *Streptococcus pyogenes* en ratones con y sin antibiótico.

15

Este es un estudio ciego controlado por placebo. El objetivo del estudio es evaluar la eficacia del medicamento reivindicado con o sin linezolid (antibiótico sintético) o telitromicina (antibiótico cetólido) contra *Streptococcus pyogenes* en el modelo de infección del tejido blando en ratones neutropénicos. El medicamento de la presente invención contiene un producto tecnológicamente procesado resultante de diluciones seriadas de la sustancia de base de anticuerpos a HLA-DRB1 (solución hidroalcohólica C4D20 de anticuerpos monoclonales en una proporción de 3:2, (2.5 mg/ml)) y un producto tecnológicamente procesado resultante de diluciones seriadas de anticuerpos a β 2-MG (solución hidroalcohólica C10C150 de anticuerpos naturales en una proporción 1:2, (2.5 mg/ml)) en una proporción de volumen de 2:3.

20

Grupos experimentales:

Grupo 1 – grupo de control negativo: ratones hembras fueron infectadas con *S. pyogenes* y no recibieron ni el medicamento ni el antibiótico durante el estudio; n = 3;

25

Grupo 2 – ratones hembras que recibían placebo (tampón de glicina) por vía oral todos los días en el volumen de 20 ml/kg durante 5 días antes de la infección y en el día de la infección con *S. pyogenes*; n = 6;

Grupo 3 – ratones hembras que recibían placebo (tampón de glicina) por vía oral todos los días en el volumen de 20 ml/kg durante 5 días antes de la infección y en el día de la infección con *S. pyogenes*; en combinación con linezolid (50 mg/kg) 2 y 14 horas después de la infección; n = 6;

5 Grupo 4 – ratones hembras que recibían placebo (tampón de glicina) por vía oral todos los días en el volumen de 20 ml/kg durante 5 días antes de la infección y en el día de la infección con *S. pyogenes*; en combinación con telitromicina (10 mg/kg) 2 y 14 horas después de la infección; n = 6.

Grupo 5 – ratones hembras que recibían el medicamento por vía oral cada día en el volumen de 20 ml/kg durante 5 días antes de la infección y en el día de la infección con *S. pyogenes*; n = 6;

10 Grupo 6 – ratones hembras que recibían el medicamento por vía oral cada día en el volumen de 20 ml/kg durante 5 días antes de la infección y en el día de la infección con *S. pyogenes*; en combinación con linezolid (50 mg/kg) 2 y 14 horas después de la infección; n = 6;

Grupo 7 – ratones hembras que recibían el medicamento por vía oral cada día en el volumen de 20 ml/kg durante 5 días antes de la infección y en el día de la infección con *S. pyogenes*; en combinación con telitromicina (10 mg/kg) 2 y 14 horas después de la infección; n = 6;

15 *Diseño del estudio:*

El estudio duró 7 días. La neutropenia fue inducida en los ratones con dos inyecciones intraperitoneales de ciclofosfamida (150 mg/kg 4 días antes de la infección y 100 mg/kg 1 día antes de la infección). Los ratones inmunocomprometidos no recibieron ninguna otra supresión inmunológica durante el estudio.

20 Las muestras testadas eran administradas por vía oral en una dosis de 20 ml/kg durante 5 días antes de la infección y 2 y 14 horas después de la infección (en el día de la infección). En el día de la infección los ratones fueron infectados con *S. pyogenes* (ATCC BAA-2469) en una dosis de 5.4 lg UFC por inyección intramuscular en la cadera. Además, 2 y 14 horas después de la infección los animales recibieron antibióticos: linezolid en una dosis de 50 mg/kg y telitromicina en una dosis de 10 mg/kg, a los que *S. pyogenes* BAA-2469 es susceptible y resistente, respectivamente.

25 La sobrevivencia de los animales, los síntomas clínicos de la infección y el peso corporal fueron evaluados en todos los grupos de ratones durante todo el estudio.

Resultados del estudio:

30 Dos horas después de la infección, fueron recogidas muestras de músculos femorales de los ratones no tratados (Grupo 1) para análisis de la carga bacteriana (UFC/g, log₁₀). En otros grupos, los músculos femorales fueron recogidos 24 horas después de la infección para evaluar la carga bacteriana. Los datos obtenidos están presentados en la Tabla 2.

Tabla 2. Carga bacteriana media en el tejido femoral (UFC/g, log₁₀)

Grupo	2 horas después de la infección	24 horas después de la infección
1 (control)	5,2	-
2 (placebo)	-	9.1
3 (placebo +L)	-	5.5
4 (placebo +T)	-	8.4
5 (medicamento)	-	6.5
6 (medicamento + L)	-	3.7
7 (medicamento + T)	-	7.1

Conclusión:

35 Una baja estadísticamente significativa de la carga bacteriana media fue registrada para la combinación de linezolid en los grupos experimentales (3 y 6) 24 horas después de la infección. De esa forma, el medicamento reivindicado demuestra eficacia contra infecciones osteomusculares y, al ser coadministrado con antibióticos, aumenta su eficacia.

Ejemplo 3.

La eficacia del medicamento reivindicado administrado solo y en combinación con un antibiótico contra *E.coli* en un modelo de infección del tracto urinario en ratones.

El objetivo del estudio es evaluar los efectos del medicamento testado con y sin el antibiótico Norfloxacin en un modelo experimental de infección con *E.coli* en ratones. El medicamento de la presente invención contiene productos tecnológicamente procesados resultantes de diluciones seriadas de sustancias de base de anticuerpos a HLA-DRB1 (dilución acuosa C12C30C50 de anticuerpos policlonales en una proporción de 1:1:1, (2.5 mg/ml)) y anticuerpos a β 2-MG (dilución acuosa C12C30C50 de anticuerpos monoclonales en una proporción de 1:1:1, (2.5 mg/ml)) en una proporción de volumen de 1:1.

Grupos experimentales:

Grupo 1 – ratones machos y hembras (n=10) que recibían el medicamento reivindicado en una dosis de 20 ml/kg cada día por sonda oral durante 5 días antes de la infección y durante 7 días después de la infección y también 1 hora después de la infección por vía intraperitoneal (volumen 10 ml / kg).

Grupo 2 – ratones machos y hembras (n=10) que recibían el medicamento reivindicado en una dosis de 20 ml/kg cada día por sonda oral durante 5 días antes de la infección y durante 7 días después de la infección y también Norfloxacin en una dosis de 5 mg/kg (volumen 10 ml / kg) por vía intraperitoneal 1 hora después de la infección.

Grupo 3 – grupo de control de ratones machos y hembras (n=10) que recibían tampón de glicina en una dosis de 20 ml/kg cada día por sonda oral durante 5 días antes de la infección y durante 7 días después de la infección y también 1 hora después de la infección por vía intraperitoneal (volumen 10 ml / kg).

Grupo 4 – ratones machos y hembras (n=10) que recibían tampón de glicina en una dosis de 20 ml/kg cada día por sonda oral durante 5 días antes de la infección y durante 7 días después de la infección y también Norfloxacin en una dosis de 5 mg/kg (volumen 10 ml / kg) por vía intraperitoneal 1 hora después de la infección.

Diseño del estudio:

Los ratones fueron infectados por inoculación intrauretral de *E.coli* UT189 (2.107 UFC/ratón) en la vejiga (Día 0).

1, 3 y 6 días después de la infección, la urina de los ratones fue recogida para definir la cantidad de UFC. 7 días después de la infección, 10 animales de cada grupo fueron sacrificados y sus riñones y vejigas fueron recogidos para análisis de carga bacteriana. El peso corporal era registrado cada 2 días durante el experimento.

Resultados del estudio:

El peso corporal demostró cambios positivos en todos los grupos, lo que indica que las muestras testadas fueron bien toleradas por los animales.

El peso de la vejiga fue significativamente menor en el grupo 2 (medicamento +norfloxacin) en comparación con el grupo 4 (tampón de glicina + norfloxacin). Esto puede indicar que el medicamento reivindicado combinado con antibióticos puede reducir la hinchazón de la vejiga.

El medicamento reivindicado en combinación con norfloxacin (Grupo 2) redujo significativamente la carga bacteriana en la vejiga. Por lo tanto, la combinación puede tener potencial como régimen terapéutico (Fig. 1, 2).

No fueron observadas ningunas diferencias estadísticamente significativas en el peso de los riñones en diferentes grupos.

El medicamento reivindicado, combinado con norfloxacin (Grupo 2) redujo significativamente la carga bacteriana en los riñones en comparación con el tampón de glicina (Grupo 3). Por lo tanto, la combinación puede tener potencial como régimen terapéutico (Fig. 3, 4).

A partir del Día 3, la muestra de urina del Grupo 2 (medicamento+norfloxacin) demostró carga bacteriana menor que en el Grupo 4 (tampón de glicina + norfloxacin). La muestra de urina del Grupo 3 (tampón de glicina) tenía un número mayor de UFC durante todo el estudio en comparación con el Grupo 1 (medicamento) (Fig. 5).

Conclusión:

Por lo tanto, el medicamento reivindicado, combinado con el antibiótico Norfloxacin, demuestra efectos antibacterianos contra *E.coli* en un modelo de infección del tracto urinario en ratones.

Ejemplo 4.

La actividad antibacteriana del medicamento reivindicado con y sin antibiótico contra *Salmonella enteritidis* rif 92 en pollos.

Este es un estudio ciego controlado por placebo. El objetivo del estudio es evaluar los efectos del medicamento reivindicado contra *Salmonella enteritidis* rif92 en pollos. El medicamento de la presente invención contiene cantidades iguales de dos productos tecnológicamente procesados resultantes de diluciones seriadas (diluciones C12C30C50) de sustancias de base de anticuerpos policlonales purificados por afinidad: 1) anticuerpos al dominio $\beta 1$ de la molécula de la clase II del complejo mayor de histocompatibilidad y 2) anticuerpos a la microglobulina $\beta 2$ de la molécula de la clase I del complejo mayor de histocompatibilidad:

Un producto tecnológicamente procesado resultante de diluciones seriadas de la sustancia de base de anticuerpos policlonales al dominio $\beta 1$ de la molécula de la clase II del complejo mayor de histocompatibilidad (HLA-DRB1) obtenido a través de la combinación de tres diluciones sucesivas de la solución base (matriz) de anticuerpos policlonales a HLA-DRB1 en un solvente acuoso (2.5 mg/ml). Las siguientes diluciones fueron mezcladas en una proporción de 1:1:1:

La solución base (matriz) diluida 100^{12} veces, lo que equivale a una dilución C12, con agitación de cada dilución.

La solución base (matriz) diluida 100^{30} veces, lo que equivale a una dilución C30, con agitación de cada dilución.

La solución base (matriz) diluida 100^{50} veces, lo que equivale a una dilución C50, con agitación de cada dilución.

Un producto tecnológicamente procesado resultante de diluciones seriadas de la sustancia de base de anticuerpos policlonales a la microglobulina $\beta 2$ ($\beta 2$ -MG) obtenido a través de la combinación de tres diluciones sucesivas de la solución base (matriz) de anticuerpos policlonales a $\beta 2$ -MG en un solvente acuoso (2.5 mg/ml). Las siguientes diluciones fueron mezcladas en una proporción de 1:1:1:

La solución base (matriz) diluida 100^{12} veces, lo que equivale a una dilución C12, con agitación de cada dilución.

La solución base (matriz) diluida 100^{30} veces, lo que equivale a una dilución C30, con agitación de cada dilución.

La solución base (matriz) diluida 100^{50} veces, lo que equivale a una dilución C50, con agitación de cada dilución.

Grupos experimentales:

Grupo 1 – pollos machos y hembras (n=15) infectados con *Salmonella enteritidis* que recibían el medicamento de la presente invención por vía intragástrica entre el 4º y el 9º día de la vida en una dosis de 0.2 ml/animal/día.

Grupo 2 – pollos machos y hembras (n=15) infectados con *Salmonella enteritidis* que recibían el medicamento de la presente invención por vía intragástrica entre el 4º y el 9º día de la vida en una dosis de 0.2 ml/animal/día y ciprofloxacina (Ciprovect, OOO Research Innovation Center "Agrovetzashchita", antibiótico) por vía intragástrica entre el 5º y el 9º día de edad en una dosis de 0.5 mg/kg peso corporal (ED50). La composición farmacéutica de la presente invención y el antibiótico fueron administrados con un intervalo de una hora. Como el peso corporal de los pollos aumentaba cada día durante el estudio, el volumen del antibiótico era calculado diariamente antes de la administración.

Grupo 3 – pollos machos y hembras (n=15) infectados con *Salmonella enteritidis* que recibían placebo (agua purificada) por vía intragástrica entre el 4º y el 9º día de la vida en una dosis de 0.2 ml/animal/día.

Grupo 4 – pollos machos y hembras (n=15) infectados con *Salmonella enteritidis* que recibían placebo (agua purificada) por vía intragástrica entre el 4º y el 9º día de la vida en una dosis de 0.2 ml/animal/día y ciprofloxacina por vía intragástrica entre el 5º y el 9º día de edad en una dosis de 0.5 mg/kg peso corporal (ED50). La muestra testada y el antibiótico fueron administrados con un intervalo de una hora.

Grupo 5 – grupo de control de animales intactos – pollos de ambos sexos no infectados y no tratados (n=15).

Diseño del estudio:

El estudio duró 12 días (desde el día 1 hasta el día 12 de edad). Los pollos fueron puestos en cuarentena por los primeros dos días. Al día 3, todas las aves, excepto los pollos del Grupo 5, fueron infectados con una dosis doble letal de *Salmonella enteritidis* (serovar rif92, 2.5×10^9 UFC/g en el volumen de 0.5 ml/animal) por vía intraperitoneal. Entre el 4º y el 9º día de edad los pollos recibían el medicamento reivindicado o agua purificada. Entre el 5º y el 9º día de edad los pollos recibían Ciprovect (Grupos 2 y 4).

Los siguientes parámetros fueron analizados durante el estudio: la tasa de sobrevivencia, el peso corporal, la conversión de alimento (el peso del alimento consumido al final del experimento normalizado al peso ganado por el animal) y la presencia y la concentración de *S. enteritidis* rif92 en el tracto gastrointestinal y el hígado de los pollos.

Análisis estadístico:

El análisis estadístico de los datos obtenidos fue realizado utilizando modelos lineales bidireccionales (distribución gama con los datos normalizados por 100 fue utilizada para los porcentajes, y para otros parámetros, transformación

logarítmica) en combinación con el test de Tukey post-hoc Tukey test y el test de Kruskal-Wallis en combinación con el test de Wilcoxon post-hoc. Las diferencias fueron consideradas estadísticamente significativas con $p < 0.05$.

Resultados del estudio:

De acuerdo con los resultados obtenidos, la tasa de sobrevivencia en todos los grupos experimentales fue de 100%. El peso vivo máximo al final del estudio fue registrado en los pollos que recibían el medicamento reivindicado (Grupo 1), excediendo el peso en el grupo del placebo (Grupo 3) y en el grupo intacto (Grupo 5) 33.9 g y 38.7 g, respectivamente. La conversión de alimento fue parecida en todos los grupos. Los parámetros básicos del examen hematológico no demostraron ninguna diferencia entre los grupos.

Los datos resumidos sobre la cantidad de Salmonella en el hígado y el contenido intestinal por grupo al final del estudio están presentados en la Tabla 3.

Tabla 3. Presencia de Salmonella después del sacrificio y el índice de actividad antibacteriana (AAI)

Nº del grupo	Presencia de células de Salmonella en el hígado		Presencia de células de Salmonella en el contenido intestinal		AAI
	% pollos no recuperados del número total de pollos en un grupo	UFC/g en animales infectados (valor mediano)	% pollos no recuperados del número total de pollos en un grupo	UFC/g en animales infectados (valor mediano)	
1 (Medicamento)	13.3	18.5	13.3	5.5×10^3	10.6
2 (Medicamento+ CF)	6.7	56	26.7	5×10^2	3.5
3 (Placebo)	20	195.7	46.7	2.3×10^3	-
4 (Placebo+CF)	6.7	200	33.3	3.8×10^3	-
5 (Grupo de control intacto)	-	-	-	-	-

El índice de actividad antibacteriana (AAI) fue calculado utilizando la siguiente fórmula:

$AAI = \frac{Bc}{Bt}$, donde Bc es la cantidad de células bacterianas en los homogeneizados de los órganos en el grupo de control al final del período de acompañamiento; Bt es la cantidad de células bacterianas en los homogeneizados de los órganos en el grupo de estudio al final del período de acompañamiento [Okhapkina V.Y., Pyatkova N.V., Fedotov A.K. *Express efficacy assessment method for antibacterial agents in experimental brucellosis // Challenges of Highly Infectious Diseases*, 2016; 2:79–82].

Según los datos en la Tabla 1, la cantidad más baja de Salmonella en el hígado fue registrada en los grupos 2 y 4, mientras la cantidad más alta de Salmonella fue observada en el grupo 3. Mientras tanto, el AAI para el medicamento de la presente invención (Grupo 1) (10.6) excede significativamente el de su combinación con el antibiótico (3.6). En los grupos 1 y 2, la carga bacteriana en el hígado fue 10,6 y 3,5 veces más baja que en los grupos 3 y 4, respectivamente, lo que sugiere la presencia de efectos protectores del medicamento sobre el hígado en términos de la cantidad de células de Salmonella.

Conclusión:

El medicamento reivindicado demostró su eficacia (actividad antibacteriana) que fue caracterizada por la baja del número de pollos enfermos en 33.4 % en comparación con el grupo del placebo y una reducción 10.6 veces de la carga bacteriana en el hígado en el grupo del medicamento en comparación con el grupo del placebo. Esto permite sugerir la presencia de efectos protectores del medicamento sobre el hígado en términos de la cantidad de células de Salmonella. El medicamento reivindicado también es eficaz contra infecciones intestinales.

El medicamento coadministrado a pollos con el antibiótico en la dosis ED50 aumentó la eficacia del último, ya que fue observada una reducción notable en la carga bacteriana en el tracto gastrointestinal en el momento de sacrificio en comparación con el grupo del medicamento y el del placebo. De esa forma, se confirmó que la dosis eficaz del antibiótico podría ser reducida al coadministrar el antibiótico con el medicamento reivindicado.

Ejemplo 5.

La actividad antibacteriana del medicamento reivindicado con y sin antibiótico contra *Escherichia coli* CN 160 en ratones.

Este es un estudio ciego controlado por placebo. El objetivo del estudio es evaluar los efectos farmacológicos del medicamento testado en combinación con la terapia con enrofloxacin (Baytril, Bayer) en una infección experimental causada por *E.coli* CN 160 en ratones. El medicamento de la presente invención contiene cantidades iguales de dos productos tecnológicamente procesados resultantes de diluciones seriadas (C12C30C50) de sustancias de base de anticuerpos policlonales purificados por afinidad: 1) anticuerpos al dominio $\beta 1$ de la molécula de la clase II del complejo mayor de histocompatibilidad (2.5 mg/ml) y 2) anticuerpos a la microglobulina $\beta 2$ de la molécula de la clase I del complejo mayor de histocompatibilidad (2.5 mg/ml).

10 Grupos experimentales:

Grupo 1 – ratones machos y hembras (n=10) que recibían el medicamento reivindicado por vía oral una vez al día durante 5 días antes de la infección, 1 hora después de la infección y durante los siguientes 14 días en una dosis de 10 ml/kg/día.

15 Grupo 2 – grupo de control de ratones de ambos sexos (n=10) que recibían placebo (agua purificada) por vía oral una vez al día durante 5 días antes de la infección, 1 hora después de la infección y durante los siguientes 14 días en una dosis de 10 ml/kg/día.

Grupo 3 – ratones machos y hembras (n=10) que recibían Baytril (agente antibacteriano) por inyección intramuscular en una dosis de 1.38 mg/kg durante 3 días antes de la infección y durante 3 días después de la infección.

20 Grupo 4 – que recibían el medicamento reivindicado por vía oral una vez al día durante 5 días antes de la infección, 1 hora después de la infección y durante los siguientes 14 días en una dosis de 10 ml/kg/día y Baytril (agente antibacteriano) coadministrado por inyección intramuscular en una dosis de 1.38 mg/kg durante 3 días antes de la infección y durante 3 días después de la infección.

Diseño del estudio:

25 Los medicamentos testados eran administrados por vía oral una vez al día durante 5 días antes de la infección con *E.coli*, 1 hora después de la infección (Día 6) y durante los siguientes 14 días, el período de acompañamiento (la duración total de la administración fue de 20 días). Al Día 6, los ratones fueron infectados por una única inyección intraperitoneal en una dosis de 2 LD100 que fue determinada durante el estudio preliminar ($LD100=7.3 \times 10^8$ UFC/ratón). El agente antibacteriano Baytril fue administrado por inyección intramuscular durante 3 días antes de la infección y 3 días después de la infección (durante 6 días en total) en una dosis predefinida de EF50, i.e. 1.38 mg/kg.

30 Las tasas de mortalidad fueron evaluadas en todos los grupos de ratones durante todo el estudio.

Análisis estadístico:

El análisis estadístico de los resultados fue realizado utilizando las curvas de Kaplan-Meier seguidas por comparación en pares de pruebas de log-rank. Las diferencias fueron consideradas estadísticamente significativas con $p < 0.05$.

Resultados del estudio:

35 Todos los animales en cada grupo, con excepción de los ratones que recibían una combinación del medicamento reivindicado con Baytril (Grupo 4), murieron dentro de 4 días después de una infección con una dosis letal de *Escherichia coli* (Fig.6). Las mayores tasas de mortalidad (70-80 %) fueron observadas en los primeros dos días después de la infección.

Conclusión:

40 El uso del medicamento reivindicado en combinación con Baytril en una dosis de ED50 en ratones infectados con 2LD100 de *E.coli* CN 160 impidió la muerte del 50% de los animales, lo que indica un efecto antibacteriano significativo de esta combinación contra una doble dosis letal de *E.coli* CN-160. Por lo tanto, en el presente estudio, se descubrió que la coadministración del medicamento reivindicado de la presente invención aumenta la actividad farmacológica del antibiótico. Además, fue demostrado que esta combinación también permite reducir la dosis efectiva del antibiótico.

45 Se descubrió que el medicamento reivindicado también es eficaz contra infecciones sistémicas, incluso contra la sepsis.

Ejemplo 6.

La eficacia del medicamento reivindicado contra la infección de ratones con la cepa BAA-1705 de *Klebsiella pneumoniae*, resistente a amoxicilina /ácido clavulánico.

El objetivo del estudio es investigar la actividad antibacteriana del medicamento reivindicado combinado con amoxicilina+ácido clavulánico (AMC) contra una cepa de *Klebsiella pneumoniae* resistente a AMC. El medicamento de la presente invención contiene cantidades iguales de dos productos tecnológicamente procesados resultantes de diluciones seriadas (C12C30C50) de sustancias de base de anticuerpos policlonales purificados por afinidad: 1) anticuerpos al dominio $\beta 1$ de la molécula de la clase II del complejo mayor de histocompatibilidad (2.5 mg/ml) y 2) anticuerpos a la microglobulina $\beta 2$ de la molécula de la clase I del complejo mayor de histocompatibilidad (2.5 mg/ml).

Estudio N°1.

Grupos experimentales:

Grupo 1 – ratones machos que recibían el medicamento reivindicado + la combinación de AMC por vía intragástrica en una dosis de 25 mg/kg en 10 ml/kg 0.9% NaCl durante 5 días antes y 1 hora después de la infección en una dosis de 10 ml/kg/día (n=15);

Grupo 2 – grupo de control de ratones machos que recibían agua purificada por vía intragástrica durante 5 días antes y 1 hora después de la infección en una dosis de 10 ml/kg/día (n=15);

Grupo 3 – ratones machos que recibían agua purificada + la combinación de AMC por vía intragástrica en una dosis de 25 mg/kg en 10 ml/kg 0.9% NaCl durante 5 días antes y 1 hora después de la infección en una dosis de 10 ml/kg/día (n=15);

Grupo 4 – ratones machos que recibían AMC por vía intraperitoneal 1 hora después de la infección en una dosis de 25 mg/kg en 10 ml/kg 0.9% NaCl (n=15);

Grupo 5 – grupo de control positivo de ratones machos que recibían Gentamicina (Sigma) por vía intraperitoneal en una dosis de 15 mg/kg en 10 ml/kg 0.9% NaCl (n=15).

Diseño del estudio:

Fue realizado un modelo de neumonía bacteriana en ratones neutropénicos. La neumonía fue inducida por administración intranasal de *Klebsiella pneumoniae* (cepa BAA-1705 resistente a AMC, 10^6 UFC/ratón). Para inducir neutropenia, los ratones recibían ciclofosfamida durante 4 días (Día -4) y un día (Día -1) antes de la infección por vía intraperitoneal en una dosis de 150 mg/kg y 100 mg/kg, respectivamente.

Fue evaluada la carga bacteriana en los pulmones y el peso corporal como parámetro de salud general. La supervivencia se registraba dos veces al día.

El análisis estadístico de los datos fue realizado utilizando el test de Kruskal-Wallis en combinación con el test de Tukey post-hoc test y las curvas de Kaplan-Meier seguidas por la comparación en pares de pruebas de log-rank. Las diferencias fueron consideradas estadísticamente significativas con $p < 0.05$.

Study results:

Ninguna de las muestras testadas tuvo influencia sobre el peso de los pulmones de los animales infectados y el número de UFC. La pérdida de peso corporal fue observada en todos los grupos experimentales (Fig.7). En el Grupo 5 (gentamicina) y Grupo 1 (AMC+ medicamento), los cambios del peso corporal fueron observados desde los 54 h del período de acompañamiento.

Las tasas de mortalidad en todos los grupos fueron registradas a las 48h-54h del período de acompañamiento (Fig.8). Los animales en el grupo de control y en el grupo de AMC+Control murieron, lo que confirma la resistencia de *Klebsiella pneumoniae* (BAA-1705) al antibiótico. La gentamicina y el tratamiento con AMC+ medicamento aumentaron la supervivencia de los ratones: el 70% y el 50% de los animales sobrevivieron, respectivamente.

Conclusión:

El estudio demostró efectos antibacterianos significativos del medicamento reivindicado en combinación con AMC contra la cepa de *Klebsiella pneumoniae* resistente a AMC. El efecto fue comparable al del medicamento de comparación, gentamicina, al que la cepa es resistente.

Estudio N° 2.

Grupos experimentales:

Grupo 1 – ratones machos que recibían el medicamento reivindicado por vía intragástrica en una dosis de 20 ml/kg/día durante 5 días antes y 2 días después de la infección (n=5) y AMC en una dosis de 25 mg/kg en 10 ml/kg 0.9% NaCl por vía intraperitoneal 1 hora después de la infección;

Group 2 – grupo de control de ratones machos que recibían agua purificada por vía intragástrica en una dosis de 20 ml/kg/día durante 5 días antes y 2 días después de la infección (n=5) y AMC en una dosis de 25 mg/kg en 10 ml/kg 0.9% NaCl por vía intraperitoneal 1 hora después de la infección.

Diseño del estudio:

- 5 Fue realizado un modelo de neumonía bacteriana en animales a través de la administración de *Klebsiella pneumoniae* (cepa BAA-1705 resistente a AMC, 10^7 UFC/ratón). 48 horas después de la infección, el tejido pulmonar de los ratones de los dos grupos fue homogeneizado y utilizado para preparar una solución de 1×10^4 UFC/ml de *Klebsiella pneumoniae*. Las bacterias (5×10^4 UFC/pozo) fueron incubados con 2.5-1080 µg/ml de AMC durante 24 horas a la temperatura de 37°C. Al final del experimento, la concentración inhibitoria de 50% de AMC (IC50) fue evaluada por espectrofotometría en cada grupo, así como los valores para la inhibición del crecimiento de bacterias de 100% al ser expuestas a una concentración de AMC de 1080 µg/ml. El experimento fue realizado en duplicado. Un experimento adicional también fue realizado para evaluar los efectos de AMC IC50 sobre las bacterias intactas (consulte Fig.9).

- 15 El análisis estadístico de los datos obtenidos fue realizado utilizando ANOVA monodireccional y bidireccional seguida por comparaciones en pares de pruebas de log-rank. Las diferencias fueron consideradas estadísticamente significativas con $p < 0.05$.

Resultados del estudio:

- 20 AMC demostró una concentración inhibitoria de 100% en la concentración de 1080 µg/ml, lo que confirma la resistencia de *Klebsiella pneumoniae* (BAA-1705) a AMC. Durante el estudio *in vitro*, la coadministración del medicamento reivindicado y AMC redujo 27% la concentración IC50 de AMC, o sea, la terapia disminuyó la concentración de AMC que indujo la inhibición del 50% del crecimiento de bacterias. El análisis de los efectos de la concentración fija de AMC de 1080 µg/ml (inhibición del crecimiento de bacterias de 100%) demostró resultados parecidos, o sea, el efecto inhibitorio máximo de AMC aumentó 26% (Fig.9).

Conclusión:

- 25 Por lo tanto, el estudio demostró una actividad antibacteriana significativa del medicamento reivindicado en combinación con AMC contra la cepa de *Klebsiella pneumoniae* resistente a AMC, lo que resultó en la reducción de la resistencia de bacterias a AMC. El medicamento reivindicado demostró su eficacia contra infecciones pulmonares.

Ejemplo 7.

- 30 Actividad antiinflamatoria del medicamento reivindicado en un modelo de inflamación inducida por carragenano en ratas.

- 35 El objetivo del estudio es evaluar la actividad antiinflamatoria del medicamento reivindicado en un modelo de inflamación inducida por carragenano en ratas en comparación con el medicamento antiinflamatorio Indometacina (Sigma). El medicamento de la presente invención contiene cantidades iguales de dos productos tecnológicamente procesados resultantes de diluciones seriadas (C12C30C50) de sustancias de base de anticuerpos policlonales purificados por afinidad: 1) anticuerpos al dominio $\beta 1$ de la molécula de la clase II del complejo mayor de histocompatibilidad (2.5 mg/ml) y 2) anticuerpos a la microglobulina $\beta 2$ de la molécula de la clase I del complejo mayor de histocompatibilidad (2.5 mg/ml)

Grupos experimentales:

- 40 Grupo 1 – ratas machos que recibían el medicamento reivindicado por vía intragástrica en una dosis de 7.5 ml/kg/día durante 5 días antes de la inducción de la inflamación (la última administración fue realizada 1 h antes de la inducción) (n=10);

Grupo 2 – grupo de control de ratas machos que recibían agua purificada por vía intragástrica en una dosis de 7.5 ml/kg/día durante 5 días antes de la inducción (la última administración fue realizada 1 h antes de la inducción) (n=10);

- 45 Grupo 3 – grupo de control positivo de ratas machos que recibían indometacina por vía intragástrica en una dosis de por vía intragástrica en una dosis de por vía intragástrica en una dosis de por vía intragástrica en una dosis de 10 mg/kg (en agua purificada administrada en una dosis de 7.5 ml/kg/día).

Diseño del estudio:

- 50 La respuesta inflamatoria fue inducida en los animales por inyección subplantar (en la aponeurosis plantar de la pata trasera izquierda) de 0.1 ml de solución de carragenano de 1%.

La severidad de la respuesta inflamatoria fue evaluada por el aumento del peso por el edema en mg calculado como la diferencia entre el peso de las patas con y sin edema.

El análisis estadístico de los resultados fue realizado utilizando el test de Kruskal-Wallis en combinación con el test de Tukey post-hoc. Las diferencias fueron consideradas estadísticamente significativas con $p < 0.05$.

Resultados del estudio:

- 5 El medicamento reivindicado redujo el peso del edema un 39.1% en comparación con el grupo de control, mientras la indometacina lo redujo un 57.9% (Fig.10).

Conclusión:

- 10 El medicamento reivindicado, siendo una composición de un producto tecnológicamente procesado resultante de diluciones seriadas de la sustancia base de anticuerpos a HLA DRB1 y un producto tecnológicamente procesado resultante de diluciones seriadas de la sustancia base de anticuerpos a $\beta 2$ -MG, demostró un efecto antiinflamatorio pronunciado en un modelo de inflamación inducida por carragenano en ratas al reducir el peso del edema de las patas.

Ejemplo 8.

Actividad antibacteriana del medicamento reivindicado contra cepas de *Salmonella enterica* (JB271 y JB285, respectivamente) resistentes a estreptomycin y al ácido nalidíxico.

- 15 Es un estudio ciego controlado por placebo. El objetivo del estudio es evaluar los efectos del medicamento reivindicado sobre el índice de resistencia y sensibilidad en una peritonitis experimental (sepsis) en ratones causada por *Salmonella enterica* serovar Typhimurium LT-2. El medicamento de la presente invención contiene productos tecnológicamente procesados resultantes de diluciones seriadas de sustancias de base de anticuerpos a HLA-DRB1 (dilución C12C30C50 de anticuerpos policlonales (2 mg/ml) en una proporción de 2:1:3) y anticuerpos a $\beta 2$ -MG (dilución C12C30C50 de anticuerpos policlonales (2 mg/ml) en una proporción de 2:1:3) en una proporción de volumen de 1:1.

20 Grupos experimentales:

Grupo 1 – ratones hembras BALB/c (n=12) que recibían placebo (agua purificada) por vía oral 1, 4 y 8 horas después de la infección con *Salmonella enterica* (una combinación 1:1 *Salmonella enterica* Typhimurium LT-2 (cepa JB270) susceptible a la estreptomycin y *Salmonella enterica* Typhimurium LT-2 (cepa JB271) resistente a la estreptomycin, por vía intraperitoneal en una dosis de 5.0 log₁₀ UFC/animal). Volumen de la dosis: 10 ml/kg.

- 25 Grupo 2 – ratones hembras BALB/c (n=12) que recibían el medicamento reivindicado por vía oral 1, 4 y 8 horas después de la infección con *Salmonella enterica* (una combinación 1:1 *Salmonella enterica* Typhimurium LT-2 (cepa JB270) susceptible a la estreptomycin y *Salmonella enterica* Typhimurium LT-2 (cepa JB271) resistente a la estreptomycin, por vía intraperitoneal en una dosis de 5.0 log₁₀ UFC/animal). Volumen de la dosis: 10 ml/kg.

- 30 Grupo 3 – ratones hembras BALB/c (n=12) infectadas con *Salmonella enterica* (una combinación 1:1 *Salmonella enterica* Typhimurium LT-2 (cepa JB270) susceptible a la estreptomycin y *Salmonella enterica* Typhimurium LT-2 (cepa JB271) resistente a la estreptomycin, por vía intraperitoneal en una dosis de 5.0 log₁₀ UFC/animal) como los ratones de los grupos 1 y 2, que no recibieron ningún medicamento (animales no tratados).

- 35 Grupo 4 – ratones hembras BALB/c (n=12) que recibían placebo (agua purificada) por vía oral 1, 4 y 8 horas después de la infección con *Salmonella enterica* (una combinación 1:1 *Salmonella enterica* Typhimurium LT-2 (cepa JB270) susceptible al ácido nalidíxico y *Salmonella enterica* Typhimurium LT-2 (cepa JB285) resistente al ácido nalidíxico, por vía intraperitoneal en una dosis de 5.0 log₁₀ UFC/animal). Volumen de la dosis: 10 ml/kg.

- 40 Grupo 5 – ratones hembras BALB/c (n=12) que recibían el medicamento reivindicado por vía oral 1, 4 y 8 horas después de la infección con *Salmonella enterica* (una combinación 1:1 *Salmonella enterica* Typhimurium LT-2 (cepa JB270) susceptible al ácido nalidíxico y *Salmonella enterica* Typhimurium LT-2 (cepa JB285) resistente al ácido nalidíxico, por vía intraperitoneal en una dosis de 5.0 log₁₀ UFC/animal). Volumen de la dosis: 10 ml/kg.

Grupo 6 – ratones hembras BALB/c (n=12) infectadas con *Salmonella enterica* (una combinación 1:1 *Salmonella enterica* Typhimurium LT-2 (cepa JB270) susceptible al ácido nalidíxico y *Salmonella enterica* Typhimurium LT-2 (cepa JB285) resistente al ácido nalidíxico, por vía intraperitoneal en una dosis de 5.0 log₁₀ UFC/animal) como los ratones de los grupos 4 y 5, que no recibieron ningún medicamento (animales no tratados).

45 Diseño del estudio:

El estudio duró 5 días. La peritonitis (sepsis) fue inducida en los ratones por inyección intraperitoneal de *Salmonella enterica*, susceptible o resistente a la estreptomycin y al ácido nalidíxico, en una dosis de 5.0 log₁₀ UFC/animal, en una proporción de 1:1, i.e. JB270 + JB271 [Strep^R] en una proporción de 1:1 or JB270 + JB285 [NaI^R] en una proporción de 1:1, respectivamente).

- 50 Las muestras testadas fueron administradas por vía oral en una dosis de 10 ml/kg 1, 4 y 8 horas después de la infección.

En los Días 2, 3 y 4 después de la infección, 4 ratones en cada grupo fueron sometidos a la eutanasia por dislocación cervical y sus bazo fueron recogidos y después homogeneizados y diluidos en serie. Una cantidad de 20 µl de las restantes soluciones decimales luego fue colocada en triplicado sobre placas de agar LB con cualquiera de los antibióticos (estreptomina en una dosis de 50 µg/ml o ácido nalidíxico en una dosis de 30 µg/ml).

- 5 Pasadas 24 horas, fueron contadas las unidades formadoras de colonias (UFC) por cada dilución y el índice de sensibilidad y resistencia por un gramo del tejido de bazo para JB270 / JB271 [Strep^R] o JB270 / JB285 [Nal^R] fue calculado para cada ratón.

El análisis estadístico de los resultados fue realizado utilizando mediciones bidireccionales repetidas ANOVA en combinación con el test de Tukey post-hoc. Las diferencias fueron consideradas estadísticamente significativas con p < 0.05.

Resultados del estudio:

El experimento con la cepa de *Salmonella enterica* resistente a la estreptomina (JB271 [Strep^R]) y la cepa JB270 susceptible a la estreptomina en una proporción de 1:1 demostró que la ausencia de tratamiento (Grupo 3) no cambió la cantidad de UFC para cada cepa durante todo el experimento. La administración de placebo (agua purificada, Grupo 1) dio resultados parecidos. Sin embargo, en el Grupo 2 (ratones que recibían el medicamento testado), la cantidad de UFC de la cepa resistente a la estreptomina iba disminuyendo cada día durante el estudio. En los Días 4 y 5, la proporción JB270 / JB271 [Strep^R] excedió tanto los valores base en este grupo (66.7% y 63.6%, respectivamente) como los valores en los grupos de control. En comparación con el Grupo 1 (placebo), los valores aumentaron de la siguiente forma: 75% y 72.7% en el Día 2, 75% y 72.7% en el Día 3, 66.7% y 63.6% en el Día 4 y 58.3% y 54.5% en el Día 5 del estudio. En comparación con el Grupo 3 (animales no tratados), los valores aumentaron de la siguiente forma: 75% y 72.7% en el Día 2, 83.3% y 81.8% en el Día 3 y 58.3% y 54.5% en los Días 4 y 5 del estudio (Fig. 11).

El experimento con la cepa de *Salmonella enterica* resistente al ácido nalidíxico (JB285 [Nal^R]) y la cepa JB270 susceptible al ácido nalidíxico en una proporción 1:1 demostró que la ausencia de tratamiento (Grupo 6) no afectó significativamente el número de UFC para cada cepa durante el experimento. La administración del placebo (agua purificada, Grupo 4) dio efectos parecidos. Sin embargo, en el Grupo 5 (ratones que recibían el medicamento testado), la cantidad de UFC de la cepa resistente al ácido nalidíxico disminuyó progresivamente desde el día 2 después de la infección (Día 3 del estudio). Al final del estudio, los efectos observados se hicieron estadísticamente significativos: la relación JB270 / JB285 [Nal^R] excedió los valores obtenidos en este grupo un 50% en el Día 3 del estudio. Además, los resultados obtenidos en el Grupo 5 en el Día 5 del estudio también fueron sustancialmente diferentes de los resultados en ambos los grupos de control durante todo el estudio. En comparación con el Grupo 4 (placebo), los valores aumentaron hasta 70-90%, mientras la diferencia del Grupo 6 (animales no tratados) variaba entre 30 y 80% (Fig. 12)

Conclusión:

El estudio demostró pronunciados efectos antibacterianos del medicamento reivindicado contra *Salmonella enterica* que ayudaron a reducir significativamente la resistencia de las bacterias a los antibióticos testados (la estreptomina y el ácido nalidíxico) (o sea, hubo una reducción en la cantidad de UFC de JB271 [Strep^R] y JB285 [Nal^R]).

Ejemplo 9.

Eficacia del medicamento para ratones infectados con *Clostridium perfringens* (ATCC 13124).

Este es un estudio ciego controlado por placebo. El objetivo del estudio es evaluar los efectos antibacterianos del medicamento reivindicado en una infección experimental de ratones con bacterias formadoras de gas de *Clostridium perfringens*. El medicamento de la presente invención contiene productos tecnológicamente procesados resultantes de diluciones seriadas de sustancias de base de anticuerpos a HLA-DRB1 (dilución C12D50D200 de anticuerpos monoclonales (1.5 mg/ml) en una proporción de 1:2:3) y anticuerpos a β2-MG (dilución C10D30D150 de anticuerpos policlonales (1.5 mg/ml) en una proporción de 2:1:3) en una proporción de volumen de 2:1.

Grupos experimentales:

Grupo 1 – ratones hembras Swiss Webster no consanguíneas (n=20) que recibían placebo (agua purificada) por vía oral durante 5 días antes de la infección y también 2 y 8 horas después de la infección con *Clostridium perfringens*, ATCC 13124 (por vía intraperitoneal, 10¹⁰ UFC/animal). Volumen de la dosis: 10 ml/kg.

Grupo 2 – ratones hembras Swiss Webster no consanguíneas (n=20) que recibían el medicamento reivindicado por vía oral durante 5 días antes de la infección y también 2 y 8 horas después de la infección con *Clostridium perfringens*, ATCC 13124 (por vía intraperitoneal, 10¹⁰ UFC/animal). Volumen de la dosis: 10 ml/kg.

Grupo 3 – ratones hembras Swiss Webster no consanguíneas (n=20) que recibían tetraciclina por vía intraperitoneal en una dosis de 21 mg/kg 30 minutos y también 4 y 8 horas después de la infección con *Clostridium perfringens*, ATCC 13124 (por vía intraperitoneal, 10¹⁰ UFC/animal).

Grupo 4 – ratones hembras Swiss Webster no consanguíneas (n=20) que recibían cefoxitina por vía intraperitoneal en una dosis de 160 mg/kg 30 minutos y también 4 y 8 horas después de la infección con *Clostridium perfringens*, ATCC 13124 (por vía intraperitoneal, 10^{10} UFC/animal).

- 5 Grupo 5 – ratones hembras Swiss Webster no consanguíneas (n=20) que recibían agua desionizada por vía intraperitoneal en el volumen de 0.1 ml/kg 30 minutos y también 4 y 8 horas después de la infección con *Clostridium perfringens*, ATCC 13124 (por vía intraperitoneal, 10^{10} UFC/animal).

Diseño del estudio:

El estudio duró 8 días. La infección experimental fue inducida en ratones por inyección intraperitoneal de *Clostridium perfringens* (ATCC 13124) en una dosis de 10^{10} UFC/animal.

- 10 Las muestras testadas fueron administradas por vía oral en una dosis de 10 ml/kg durante 5 días antes de la infección y también 2 y 8 horas después de la infección. Los medicamentos de comparación, cefoxitina en una concentración de 21 mg/kg, y tetraciclina en una concentración de 160 mg/kg, y el control (agua deionizada, 0.1 ml/kg) fueron inyectados por vía intraperitoneal 30 minutos y también 4 y 8 horas después de la infección.

La sobrevivencia de los animales fue registrada para cada grupo 12, 24, 48 y 72 horas después de la infección.

- 15 El análisis estadístico de los resultados fue realizado utilizando las curvas de Kaplan-Meier seguidas por comparación en pares de pruebas de log-rank. Las diferencias fueron consideradas estadísticamente significativas con $p < 0.05$.

Resultados del estudio:

- 20 Las mayores tasas de mortalidad entre los ratones infectados fueron observadas en los dos grupos de control: 24 horas después de la inoculación de las bacterias a los animales, solo 5% de los ratones seguían vivos en el Grupo 1 (agua purificada) y en el Grupo 5 (agua desionizada) 100% de los ratones murieron. La administración preventiva y terapéutica del medicamento reivindicado (durante 5 días antes de la infección y también 2 y 8 horas después de la infección) aumentó significativamente la sobrevivencia de los animales. En este grupo, 85% de los animales seguían vivos 12 horas después de la infección; 55%, 24 horas después y 40%, a partir de 48 horas después. En el grupo de los medicamentos de comparación, la tetraciclina y la cefoxitina, el número de animales sobrevivientes 12, 24, 48 y 72 horas después de la infección fue 95%, 85%, 80%, 80% (ninguna muerte observada durante la última medición) y 65%, 55%, 15%, 15% (ninguna muerte observada durante la última medición), respectivamente. Cabe destacar que los efectos antibacterianos del medicamento reivindicado fueron significativamente más intensos que los obtenidos en el grupo de la cefoxitina. Sin embargo, los dos medicamentos demostraron menor actividad en comparación con la tetraciclina (Fig. 13).

- 30 **Conclusión:**

El estudio demostró la actividad antibacteriana significativa del medicamento reivindicado contra *Clostridium perfringens* (ATCC 13124). El medicamento aumentó significativamente la tasa de sobrevivencia en comparación con los dos grupos de control (Grupos 1 y 5) y el medicamento de comparación, la cefoxitina.

Ejemplo 10.

- 35 **Actividad antibacteriana del medicamento reivindicado contra *Chlamydomydia pneumonia*, cepa CM1.**

- 40 Este es un estudio ciego controlado por placebo. El objetivo del estudio es evaluar los efectos antibacterianos e inmunotrópicos del medicamento reivindicado en una infección experimental de ratones con *Chlamydomydia pneumonia* cepa CM1 (un modelo de infección pulmonar). El medicamento de la presente invención contiene productos tecnológicamente procesados resultantes de diluciones seriadas de las sustancias de base de anticuerpos a HLA-DRB1 (dilución C20C50C200 de anticuerpos policlonales (1.5 mg/ml) en una proporción de 2:1:3) y anticuerpos a β 2-MG (dilución C20C50C200 de anticuerpos policlonales (3 mg/ml) en una proporción de 2:1:3) en una proporción de volumen de 1:2.

Grupos experimentales:

- 45 Grupo 1 – ratones machos C57BL/6J (n=21) que recibían placebo (agua purificada) por vía oral durante 3 días antes de la infección y 2, 24, 48 y 72 horas después de la inyección de *Chlamydomydia pneumonia* cepa CM1 (por vía intratraqueal, 1.5×10^6 IFU/animal (IFU – unidades formadoras de inclusión)). Volumen de la dosis: 10 ml/kg.

Grupo 2 – ratones machos C57BL/6J (n=21) que recibían el medicamento reivindicado por vía oral durante 3 días antes de la infección y 2, 24, 48 y 72 horas después de la inyección de *Chlamydomydia pneumonia* cepa CM1 (por vía intratraqueal, 1.5×10^6 IFU/animal (IFU – unidades formadoras de inclusión)). Volumen de la dosis: 10 ml/kg.

- 50 Grupo 3 – ratones machos C57BL/6J (n=21) que recibían azitromicina subcutáneamente en una dosis de 10 mg/kg 30 minutos y después cada 24 horas (Días 2, 3 y 4) después de la inyección de *Chlamydomydia pneumonia* cepa CM1 (por vía intratraqueal, 1.5×10^6 IFU/animal).

Grupo 4 – ratones machos C57BL/6J intactos (n=5) [grupo de control de fondo para evaluación de los niveles de citocinas].

Diseño del estudio:

5 El estudio duró 15 días. Un modelo de infección pulmonar fue inducido en ratones por administración intratraqueal de *Chlamydomydia pneumonia* (CM1) en una dosis de 1.5×10^6 IFU/ratón.

En los Grupos 1 y 2, las muestras testadas fueron administradas por vía oral en una dosis de 10 ml/kg durante 3 días antes de la infección y 2, 24, 48 y 72 horas después de la inyección de las bacterias. El medicamento de comparación, azitromicina (Grupo 3) fue administrado subcutáneamente en una dosis de 10 mg/kg 30 minutos después de la infección y luego cada 24 horas (Días 2, 3 y 4).

10 La supervivencia de los animales fue evaluada en los Días 3, 6 y 12 después de la infección. En los mismos días, 4 ratones de cada uno de los tres grupos, o sea, Grupos 1-3, fueron sacrificado por dislocación cervical y sus pulmones fueron recogidos. Los órganos recogidos fueron homogeneizados y la sustancia resultante fue utilizada para evaluar la carga bacteriana de *Chlamydomydia pneumonia* (CM1) y los niveles de citocinas: IL-1 β , IL-6 y TNF- α .

15 Los animales intactos cuyas muestras biológicas (el homogeneizado del tejido pulmonar) fueron utilizadas para medir los niveles de citocinas para definir los valores básicos fueron sacrificados en el Día 3 después de la infección de los ratones de los Grupos 1-3.

20 Para evaluar la carga bacteriana, muestras de 20 μ l del homogeneizado pulmonar fueron colocados en triplicado en un medio RPMI1640 que contenía 1 mg/ml de cicloheximida y células HEp2 e incubados durante 72 horas. Después las células fueron lavadas con PBS, bloqueadas con metanol y teñidas con anticuerpos monoclonales contra el antígeno específico de género Chlamidia conjugados con FITC (Pathfinder Chlamydia Culture Confirmation System; BIO-RAD, Hercules, USA). Las preparaciones fueron examinadas utilizando un microscopio de fluorescencia y las células infectadas fueron contadas.

Los niveles de citocina fueron medidos utilizando el sistema de pruebas ELISA de Bender MedSystems (EEUU) en conformidad con las instrucciones del fabricante.

25 El análisis estadístico de los resultados fue realizado utilizando el test de Kruskal-Wallis en combinación con el test de Tukey post-hoc y las curvas de Kaplan-Meier seguidas por la comparación en pares de pruebas de log-rank. Las diferencias fueron consideradas estadísticamente significativas con $p < 0.05$.

Resultados del estudio:

El grupo de animales intactos demostró una tasa de supervivencia de 100%.

30 La mayor tasa de mortalidad de los ratones infectados fue observada en el grupo de control: en el Día 3 del estudio, el 53% de los ratones en el Grupo 1 (agua purificada como placebo) estaban vivos después de la inoculación de las bacterias, en el Día 6 y después, el 24% de los ratones. La administración preventiva y terapéutica del medicamento reivindicado (Grupo 2) (durante 3 días antes de la infección y también 2, 24, 48 y 72 horas después de la inoculación de bacterias) aumentó significativamente la supervivencia de los animales. En el Día 3 después de la infección, el 72%
35 de los animales sobrevivieron en este grupo, y en el Día 6 y después, el 62% de los ratones. La mayor tasa de supervivencia (81%) fue observada en animales que recibían el medicamento de comparación, azitromicina (Grupo 3): las primeras muertes fueron registradas en el Día 3 después de la infección, con una tasa de mortalidad del 19% (Fig. 14).

40 La carga bacteriana definida por el número de las células HEp2 infectadas después de la exposición al homogeneizado del tejido pulmonar de los ratones infectados con *Chlamydomydia pneumonia* (CM1) demostró que el parámetro testado disminuía de forma lineal en respuesta a la terapia con el medicamento reivindicado en comparación con el placebo: la cantidad de células infectadas en el Grupo 2 (medicamento) era 67%, 58% y 21% en los Días 3, 6 y 12 después de la infección, respectivamente. En el caso del medicamento de comparación, la azitromicina (Grupo 3), fue observada una reducción más pronunciada de la carga bacteriana: hasta 15%, 17% y 5% en los Días 3, 6 y 12 después de la
45 infección, respectivamente (Fig. 15).

El estudio de la actividad inmunotrópica del medicamento reivindicado demostró que el nivel tanto de IL-1 β como de IL-6 disminuyó significativamente y linealmente en respuesta al curso terapéutico y preventivo del medicamento and (Grupo 2) en comparación con el grupo de control. En los Días 3, 6 y 12 después de la infección, la concentración de IL-1 β fue del 55%, 21% y 20% de los niveles de control (Grupo 1, agua purificada), y la concentración de IL6 fue de
50 57%, 34% y 27%, respectivamente. En el grupo 3 (del medicamento de comparación, la azitromicina), los niveles de las dos interleucinas demostraron una reducción lineal más pronunciada, de una forma parecida a los valores de la carga bacteriana (IL-1 β : al 17%, 7% y 6% de los niveles de control en los Días 3, 6 y 12 después de la infección, respectivamente; IL-6: al 15%, 8% y 5%, respectivamente) (Fig. 16, Fig. 17).

Los niveles de TNF- α en el tejido pulmonar de los ratones de todos los grupos no demostraron ningunos cambios, lo que permite sugerir la ausencia de cambios en la concentración de esta citocina en un modelo experimental inducido de infección pulmonar, y por lo tanto, ninguna significancia biológica fue observada (Fig. 18).

Conclusión:

- 5 El estudio en un modelo de infección pulmonar causada por *Chlamydophila pneumoniae*, cepa CM1, demostró efectos antibacterianos e inmunotrópicos pronunciados y concomitantes del medicamento reivindicado. La actividad descubierta resultó en un aumento de más de 2.5 veces de las tasas de supervivencia de los animales al final del estudio y a la reducción de la carga bacteriana y niveles de citocinas proinflamatorias de un 79% (IL-1 β disminuyó un 80% e IL-6, un 73%) en los pulmones.

10 Ejemplo 11.

Actividad antibacteriana del medicamento reivindicado contra *Klebsiella pneumoniae*, cepa 8637.

- 15 Este es un estudio ciego controlado por placebo. El objetivo del estudio es evaluar los efectos antibacterianos del medicamento reivindicado en una infección de ratones inmunocomprometidos con *Klebsiella pneumoniae*, cepa 8637 (modelo de infección pulmonar en animales neutropénicos). El medicamento de la presente invención contiene productos tecnológicamente procesados resultantes de diluciones seriadas de sustancias de base de anticuerpos a HLA-DRB1 (dilución C30C200 de anticuerpos monoclonales (3 mg/ml) en una proporción de 2:3) y anticuerpos a β 2-MG (dilución C30C200 de anticuerpos policlonales (3 mg/ml) en una proporción de 3:1) en una proporción de volumen de 1:1.

Grupos experimentales:

- 20 Grupo 1 – ratones hembras ICR (n=20) que recibían placebo (agua purificada) por vía oral 4, 6, 8, 24 y 48 horas después de la infección con *Klebsiella pneumoniae*, cepa 8637 (por vía intranasal, 2×10^7 UFC/animal). Volumen de la dosis: 10 ml/kg.

- 25 Grupo 2 – ratones hembras ICR (n=20) que recibían el medicamento reivindicado por vía oral 4, 6, 8, 24 y 48 horas después de la infección con *Klebsiella pneumoniae*, cepa 8637 (por vía intranasal, 2×10^7 UFC/animal). Volumen de la dosis: 10 ml/kg.

Grupo 3 – ratones hembras ICR (n=20) que recibían el medicamento de comparación, imipenem, por vía intraperitoneal en una dosis de 2 mg/kg 4, 24 y 48 horas después de la infección con *Klebsiella pneumoniae*, cepa 8637 (por vía intranasal, 2×10^7 UFC/animal).

Diseño del estudio:

- 30 El estudio duró 9 días. Un modelo de infección pulmonar fue inducido en ratones inmunocomprometidos por inoculación intranasal de *Klebsiella pneumoniae* (cepa 8637) en una dosis de 2×10^7 UFC/animal. Para inducir neutropenia (inmunosupresión), los ratones recibían ciclofosfamida por vía intraperitoneal en una dosis de 200 mg/kg 4 durante días antes de la infección (Día -4).

- 35 En los grupos 1 y 2, las muestras testadas fueron administradas por vía oral en una dosis de 10 ml/kg como régimen terapéutico, o sea, 4, 6, 8, 24 y 48 horas después de la inoculación de bacterias. El medicamento de comparación, imipenem (Grupo 3) era administrado por vía intraperitoneal en una dosis de 2 mg/kg 4, 24 y 48 horas después de la infección.

- 40 La supervivencia de los animales fue evaluada durante 5 días después de la infección con *Klebsiella pneumoniae* (cepa 8637). Al final del experimento, i.e. al Día 5 después de la infección, 5 ratones fueron sacrificados y su sangre, pulmones, bazo y riñones fueron removidos para medir la cantidad de UFC. Los órganos fueron homogeneizados y diluidos en serie. 200 μ l de las diluciones decimales resultantes de todas las muestras de tejidos fueron colocados en triplicado en el agar de Mueller-Hinton e incubados durante 24 horas.

- 45 El análisis estadístico de los resultados fue realizado utilizando ANOVA monodireccional en combinación con el test de Tukey post-hoc y también por comparación de las curvas de supervivencia utilizando pruebas log-rank con corrección de Benjamini-Hochberg para pruebas múltiples. Las diferencias fueron consideradas estadísticamente significativas con $p < 0.05$.

Resultados del estudio:

- 50 La tasa de mortalidad más alta fue observada en el grupo de control: en el Día 1 del estudio, 55% de los ratones en el Grupo 1 (agua purificada como placebo) seguían vivos después de la inoculación de las bacterias, en los Días 2, 3, 4 y más tarde, 45%, 20% y 15% de los ratones, respectivamente. El tratamiento con el medicamento reivindicado (Grupo 2 (4, 6, 8, 24 y 48 horas después de la inoculación de las bacterias) aumentó significativamente la supervivencia de los animales. En el Día 1 después de la infección, 85% de los animales sobrevivieron en este grupo, en los Días de 2, 3, 4 y después, 70%, 60% y 45% de los ratones, respectivamente. La mayor tasa de supervivencia fue observada en

los animales que recibían el medicamento de comparación, imipenem (Grupo 3): 85% en el Día 1 después de la infección, 70% en el Día 2, 50% en el Día 3 después de la infección y más tarde (Fig. 19).

La evaluación de la carga bacteriana en la sangre, pulmones, hígado, bazo y riñones de los ratones inmunocomprometidos infectados con *Klebsiella pneumoniae* (cepa 8637) demostró que la cantidad de UFC disminuyó en todos los tejidos en respuesta a la terapia con el medicamento reivindicado en comparación con el grupo de control (placebo): un 68% en la sangre, un 56% en los pulmones, un 36% en el hígado, un 33% en el bazo y un 44% en los riñones. En el caso del medicamento de comparación, Imipenem (Grupo 3), fueron observados efectos parecidos: la carga bacteriana en la sangre, pulmones, hígado, bazo y riñones disminuyó un 67%, 48%, 40%, 45% and 61%, respectivamente (Fig. 20).

Conclusión:

El estudio realizado sobre un modelo de infección pulmonar en ratones inmunocomprometidos inducida por administración de ciclofosfamida y *Klebsiella pneumoniae* (cepa 8637 strain) demostró efectos antibacterianos pronunciados del medicamento reivindicado. La actividad observada resultó en un aumento de la tasa de supervivencia un 30% al final del estudio en comparación con el grupo del placebo, con la carga bacteriana en la sangre, pulmones, hígado, bazo y riñones reducida por lo menos un tercio

Ejemplo 12.

Efectos antivirales del medicamento reivindicado en un modelo de influenza letal causada por el virus de influenza A/California/07/09(H1N1), cepa pdm09 en ratones blancos.

Este es un estudio ciego controlado por placebo. El objetivo del estudio es investigar la eficacia antiviral del medicamento reivindicado en comparación con Tamiflu™ (Oseltamivir) en su dosis efectiva contra la influenza A/California/07/09 (H1N1), cepa pdm09, *in vivo*. El medicamento de la presente invención contiene productos tecnológicamente procesados resultantes de diluciones seriadas de sustancias de base de anticuerpos a a) HLA-DRB1 (dilución C12C30C50 en una proporción de 1:3:1), b) a la microglobulina $\beta 2$ (dilución C12C30C50 en una proporción de 1:3:1), c) al interferón gama (dilución C12C30C50 en una proporción de 1:3:1) y d) a CD4 (dilución C12C30C50 en una proporción de 1:3:1) en una proporción de volumen de 1:1:1:1:

Un producto tecnológicamente procesado resultante de diluciones seriadas de la sustancia de base de anticuerpos policlonales al dominio $\beta 1$ de la molécula de la clase II del complejo mayor de histocompatibilidad (HLA-DRB1) obtenido a través de la combinación de tres diluciones sucesivas de la solución base (matriz) de anticuerpos policlonales a HLA-DRB1 en un solvente acuoso (2.5 mg/ml). Las siguientes diluciones fueron mezcladas en una proporción de 1:3:1:

Una solución base (matriz) diluida 100^{12} veces, lo que equivale a una dilución C12, con agitación de cada dilución.

Una solución base (matriz) diluida 100^{30} veces, lo que equivale a una dilución C30, con agitación de cada dilución.

Una solución base (matriz) diluida 100^{50} veces, lo que equivale a una dilución, con agitación de cada dilución.

Un producto tecnológicamente procesado resultante de diluciones seriadas de la sustancia de base de anticuerpos policlonales a la microglobulina $\beta 2$ ($\beta 2$ -MG) ($\beta 2$ -MG) obtenido a través de la combinación de tres diluciones sucesivas de la solución base (matriz) de anticuerpos policlonales a $\beta 2$ -MG en un solvente acuoso (1.0 mg/ml). Las siguientes diluciones fueron mezcladas en una proporción de 1:3:1:

Una solución base (matriz) diluida 100^{12} veces, lo que equivale a una dilución C12, con agitación de cada dilución.

Una solución base (matriz) diluida 100^{30} veces, lo que equivale a una dilución C30, con agitación de cada dilución.

Una solución base (matriz) diluida 100^{50} veces, lo que equivale a una dilución, con agitación de cada dilución.

Un producto tecnológicamente procesado resultante de diluciones seriadas de la sustancia de base de anticuerpos policlonales al interferón gama (IFN- γ) obtenido a través de la combinación de tres diluciones sucesivas de la solución base (matriz) de anticuerpos policlonales a IFN- γ en un solvente acuoso (2.5 mg/ml). Las siguientes diluciones fueron mezcladas en una proporción 1:3:1:

Una solución base (matriz) diluida 100^{12} veces, lo que equivale a una dilución C12, con agitación de cada dilución.

Una solución base (matriz) diluida 100^{30} veces, lo que equivale a una dilución C30, con agitación de cada dilución.

Una solución base (matriz) diluida 100^{50} veces, lo que equivale a una dilución, con agitación de cada dilución.

Un producto tecnológicamente procesado resultante de diluciones seriadas de la sustancia de base de anticuerpos policlonales a CD4 obtenido a través de la combinación de tres diluciones sucesivas de la solución base (matriz) de

anticuerpos policlonales a CD4 en un solvente acuoso (1.0 mg/ml). Las siguientes diluciones fueron mezcladas en una proporción 1:3:1:

Una solución base (matriz) diluida 100^{12} veces, lo que equivale a una dilución C12, con agitación de cada dilución.

Una solución base (matriz) diluida 100^{30} veces, lo que equivale a una dilución C30, con agitación de cada dilución.

- 5 Una solución base (matriz) diluida 100^{50} veces, lo que equivale a una dilución, con agitación de cada dilución.

Grupos experimentales:

Grupo 1 – animales que recibían placebo durante todo el experimento (n=30) (grupo de control negativo ('control viral'));

- 10 Grupo 2 – ratones que recibían el medicamento de comparación Tamiflu™ (Oseltamivir) durante 5 días después de la infección y después un placebo de etiqueta abierta (n=30) (grupo de control positivo – medicamento de comparación).

Grupo 3 – ratones que recibían el medicamento reivindicado durante todo el experimento (n=30).

Grupo 4 – ratones que recibían una forma activada potenciada de anticuerpos al interferón gama durante todo el experimento (n=30).

- 15 Grupo 5 – ratones que recibían una forma activada potenciada de anticuerpos a CD4 durante todo el experimento (n=30).

Grupo 6 – ratones que recibían una forma activada potenciada de anticuerpos a HLA-DRB1 durante todo el experimento (n=30).

Grupo 7 – ratones que recibían una forma activada potenciada de anticuerpos a la microglobulina $\beta 2$ durante todo el experimento (n=30).

- 20 *Diseño del estudio:*

Los animales recibían el medicamento reivindicado por vía oral todos los días en el volumen de 0.4 ml/ratón dos veces al día, por la mañana y por la tarde, a las 10.00 a.m. y 5.00 p.m. (0.8 ml/ratón/día), durante 5 días antes de la infección, 4 horas antes y 4 horas después de la infección y durante 14 días después de la infección hasta el final del experimento (la duración total de la administración de los medicamentos testados fue de 20 días) [*Guidelines on non-clinical studies of pharmaceutical products*] redactado por A.N. Mironov (Moscú, 2012)].

- 25 El virus fue inoculado en los animales por vía intranasal en el volumen de 0.05 ml/ratón (2.5×10^3 TCID₅₀, 5 LD₅₀) [He B, Fu Y, Xia S, et al. *Intranasal application of polyethyleneimine suppresses influenza virus infection in mice. Emerging Microbes & Infections*. 2016;5(4): e41-. doi:10.1038/emi.2016.64.].

- 30 El medicamento de comparación, Tamiflu™ (Oseltamivir) fue administrado por gavage oral en una dosis de 15 mg/kg en el volumen de 0.4 ml/ratón dos veces al día, a las 10.00 a.m. y 5.00 p.m. (30 mg/ratón/día) durante 5 días después de la infección. La administración fue iniciada una hora antes de la infección [*Oseltamivir in influenza A/H1N1* //Journal of Antimicrobial Chemotherapy, 2005, 55, p.5-21]. En este grupo, los ratones recibían agua destilada en el volumen de 0.4 ml/ratón dos veces al día (0.8 ml/ratón/día) durante 5 días antes y en los Días 6-14 después de la infección hasta el final del período de acompañamiento. El grupo de control negativo también recibió el placebo en una dosis de 0.4 ml/ratón dos veces al día (0.8 ml/ratón/día) durante todo el período de acompañamiento.

Los parámetros zoométricos de todos los ratones fueron registrados (peso vivo, tasa de supervivencia, esperanza media de vida (MLE), índice de protección) y también fue realizada una prueba virológica.

Resultados del estudio:

- 40 Los datos brutos sobre la actividad del medicamento reivindicado, incluidas las tasas de mortalidad, la esperanza media de vida (MLE) y el índice de protección, están presentados en la Tabla 4. La duración del período de acompañamiento fue de 14 días después de la infección de los animales. Las tasas de mortalidad fueron registradas en el grupo de control y en los grupos experimentales diariamente. Basándose en los datos obtenidos, fueron calculados los siguientes parámetros:

- 45 - tasa de mortalidad – el número de animales muertos durante los 14 días en relación a la cantidad total de ratones infectados por grupo: $M (\% \text{mortalidad}) = M / N_t$;

Índice de protección – la relación de las tasas de mortalidad (%) en el grupo de control y en los grupos experimentales a la tasa de mortalidad (%) en el grupo de control: $PI = ((M_c - M_e) / M_c) \times 100\%$;

Esperanza media de vida de los animales durante los 14 días del período de acompañamiento: $MDD = (\sum N \times D) / N_t$, donde M es el número de animales muertos por grupo durante 14 días, M_c y M_e son las tasas de mortalidad (%) en

el grupo de control (control de virus) y en los grupos experimentales, respectivamente; N es el número de animales que sobrevivieron D días; Nt es el número total de animales infectados por grupo.

Tabla 4.

Grupo	Mortalidad, %	Índice de protección, %	MLE, días	Aumento de la MLE, días
1 (control negativo)	70	0.0	8.3	0
2 (Tamiflu)	30	57.1	8.6	0.2
3 (Medicamento)	25	64.2	8.9	0.5
4	50	28.5	8.4	0.1
5	60	14.2	7.9	-0.4
6	65	7.1	7.4	-0.9
7	65	7.1	7.5	-0.8

- 5 Según los datos obtenidos, la infección de ratones con la influenza A/California/097/09 (H1N1) pdm09 dio inicio a un proceso patológico y resultó en una tasa de mortalidad de 75%, en promedio 8.5 días después de la infección. La administración del medicamento reivindicado redujo la tasa de mortalidad hasta 25% (índice de protección 64.2%). La MLE en este grupo fue de 8.9 días.

- 10 Al analizar los cambios en el peso corporal, fueron considerados solamente los datos incluidos en el análisis de la mortalidad (durante 14 días después de la infección).

Tabla 5. Pesos corporales de animales experimentales presentados como M $\pm$ SD.

Grupo	Día					
	-15	-5	0	5	9	12
1 (control negativo)	16.4 $\pm$ 0.8 (N=20)	17.9 $\pm$ 0.9 (N=20)	17.4 $\pm$ 1.1 (N=20)	15.8 $\pm$ 1.4 (N=19)	13.4 $\pm$ 0.9 (N=12)	11.9 $\pm$ 1.1 (N=6)
2 (Tamiflu)	16.1 $\pm$ 1.0 (N=20)	17.8 $\pm$ 1.2 (N=20)	16.7 $\pm$ 1.2 (N=20)	15.5 $\pm$ 1.4 (N=20)	13.6 $\pm$ 1.7 (N=13)	14.9 $\pm$ 2.2 (N=14)
3 (Medicamento)	16.3 $\pm$ 1.0 (N=20)	17.7 $\pm$ 1.2 (N=20)	17.2 $\pm$ 1.2 (N=20)	16.1 $\pm$ 1.3 (N=18)	14.6 $\pm$ 2.1 (N=15)	15.2 $\pm$ 2.8 (N=15)
4	16.3 $\pm$ 1.0 (N=20)	17.7 $\pm$ 1.2 (N=20)	16.7 $\pm$ 1.3 (N=20)	15.2 $\pm$ 1.4 (N=18)	13.4 $\pm$ 2.3 (N=9)	14.3 $\pm$ 2.2 (N=7)
5	16.4 $\pm$ 1.0 (N=20)	17.8 $\pm$ 1.1 (N=20)	16.9 $\pm$ 1.0 (N=20)	15.3 $\pm$ 1.1 (N=19)	13.3 $\pm$ 1.7 (N=11)	13.3 $\pm$ 2.7 (N=8)
6	16.2 $\pm$ 0.9 (N=20)	18.1 $\pm$ 1.0 (N=20)	17.1 $\pm$ 1.2 (N=20)	15.8 $\pm$ 1.1 (N=19)	13.9 $\pm$ 0.8 (N=8)	12.2 $\pm$ 1.5 (N=7)
7	16.3 $\pm$ 1.0 (N=20)	17.5 $\pm$ 0.9 (N=20)	16.7 $\pm$ 1.3 (N=20)	15.4 $\pm$ 1.1 (N=20)	13.7 $\pm$ 2.3 (N=12)	12.7 $\pm$ 2.8 (N=7)

En el Día 5 después de la infección de los animales (n=10), fue analizado el título viral en el tejido pulmonar. Los títulos de infección del virus de la influenza en los pulmones de los animales en cada grupo están presentados en la Tabla 6.

Tabla 6.

Animal N°	Título viral (lg TCID ₅₀ /0.2 ml) en el grupo del medicamento						
	1	2	3	4	5	6	7
1	5.5	5.5	4.0	5.5	5.0	4.5	5.0
2	6.5	6.0	5.5	6.5	6.0	5.5	5.5
3	6.0	4.5	2.0	5.0	5.0	6.0	6.0
4	6.0	4.5	1.5	5.0	4.5	6.0	5.5
5	6.5	4.5	5.0	6.0	5.5	5.5	6.0
6	6.0	4.5	4.5	4.5	6.0	5.0	5.5
7	6.5	5.0	5.0	5.0	6.0	5.5	5.5

8	5.5	4.5	4.5	5.5	4.5	6.0	5.5
9	6.5	4.0	3.5	4.5	5.5	5.5	5.5
10	7.0	5.0	4.5	4.5	5.5	6.5	6.0
Medio	6.2	4.8	3.8	5.2	5.4	5.6	5.6
SD	0.5	0.6	1.5	0.7	0.6	0.6	0.3
P	0.0562	0.0647	0.0072	0.4250	0.6743	0.7778	0.7564

Según la Guía sobre estudios no clínicos de productos farmacéuticos [Guidelines on non-clinical studies of pharmaceutical products / Editado por A.N. Mironov. - Moscú: ZAO Grif and Co. - 2012. - Part 1. - 944 p.], una reducción del título viral de 1.75 lg y más en un grupo de animales tratados sugiere la inhibición de la replicación del virus. En el presente estudio, el medicamento reivindicado redujo el título viral un 2.4 lgTCID₅₀.

Conclusión:

La mayor actividad en términos de la reducción de la mortalidad fue observada para el medicamento reivindicado (PI=64.2), su eficacia combinada siendo mayor que la de cada uno de los componentes por separado. Además, el medicamento de la presente invención demostró efectos antivirales pronunciados y redujo el título viral un 2.4 lgTCID₅₀.

Ejemplo 13.

El estudio de la actividad antimicrobiana de los Medicamentos 1 y 2 después de una infección consecutiva con el virus de la influenza A/New Jersey/8/76 (H1N1) y *Streptococcus pneumoniae* (*S. pneumoniae*) *in vivo*.

El objetivo del estudio es realizar una comparación para evaluar la actividad antimicrobiana de los Medicamentos 1 y 2 contra una infección de neumococo causada por *S. pneumoniae* 7 días después de la infección de animales con el virus de la influenza A/New Jersey/8/76 (H1N1). El Medicamento 1 es una mezcla de tres diluciones hidroalcohólicas de anticuerpos al interferón gama humano, a la histamina y a CD4, diluidos 100¹², 100³⁰ y 100⁵⁰ veces (Ergoferon). El Medicamento 2 de la presente invención contiene productos tecnológicamente procesados resultantes de diluciones seriadas de sustancias de base de anticuerpos a) a HLA-DRB1 (dilución C12C30C50 de anticuerpos policlonales (2 mg/ml) en una proporción de 1:1:1), b) a la microglobulina β2 (dilución C12C30C50 de anticuerpos policlonales (2 mg/ml) en una proporción de 1:1:1), c) al interferón gama (dilución C12C30C50 de anticuerpos monoclonales (3 mg/ml) en una proporción de 1:1:1) y d) a CD4 (dilución C12C30C50 de anticuerpos monoclonales (3 mg/ml) en una proporción de 1:1:1) en una proporción de volumen de 1:1:1:1.

Grupos experimentales:

Grupo 1 – ratones hembras que recibían el Medicamento 1 por vía intragástrica diariamente en una dosis total de 20 ml/kg/día (dos veces al día en una dosis aproximada de 0.2 ml/ratón con un intervalo de 2 h) durante 5 días antes de la infección viral y 2 horas antes de la infección en el Día 0 (n=15);

Grupo 2 – ratones hembras que recibían el Medicamento 2 por vía intragástrica diariamente en una dosis total de 20 ml/kg/día (dos veces al día en una dosis aproximada de 0.2 ml/ratón con un intervalo de 2 h) durante 5 días antes de la infección viral y 2 horas antes de la infección en el Día 0 (n=15);

Grupo 3 – ratones hembras que recibían agua purificada por vía intragástrica diariamente en una dosis total de 20 ml/kg/día (dos veces al día en una dosis aproximada de 0.2 ml/ratón con un intervalo de 2 h) durante 5 días antes de la infección viral y 2 horas antes de la infección en el Día 0 (n=15);

Grupo 4 – grupo de control de ratones hembras no tratadas que fueron infectadas con el virus de la influenza A/New Jersey/8/76 (H1N1) y 7 días después, con *S. pneumoniae*. Este grupo de control puede demostrar el efecto del placebo en el Grupo 2 (n=15);

Grupo 5 – modelo de control, ratones hembras que fueron infectadas solo con *S. pneumoniae*. Ese grupo de control puede demostrar los efectos de una infección viral previa sobre el número total de UFC (n=15).

Diseño del estudio:

Los animales fueron infectados con el virus la influenza A/New Jersey/8/76 (H1N1) por vía intranasal en una dosis de 1×10⁶ TCID₅₀/ratón y luego con *S. pneumoniae* en una dosis de 1×10⁶ UFC por vía intratraqueal en el Día 7 después de la infección viral. 24, 48 y 120 horas después de la inoculación de *S. pneumoniae*, 5 ratones en cada grupo fueron sacrificados y sus pulmones fueron separados para evaluar la carga bacteriana. Los pulmones recogidos fueron homogeneizados en una solución tampón estéril de fosfato y diluidos en serie. Las diluciones resultantes fueron colocadas sobre placas de medio sólido y las colonias cultivadas fueron contadas. Los resultados obtenidos fueron presentados como UFC/g de tejido pulmonar.

Resultados del estudio:

La actividad antimicrobiana de los Medicamentos 1 y 2 contra una infección de neumococo causada por *S. pneumoniae* 7 días después de la infección de los animales con el virus de la influenza A/New Jersey/8/76 (H1N1) fue analizada en el presente estudio. También, en el marco de este modelo experimental, fue comparada la eficacia del Medicamento 1 con la del Medicamento 2.

24 horas después de la infección con *S. pneumoniae*, la mayor cantidad de UFC de *S. pneumoniae* fue observada en los grupos de control no tratados (ratones infectados consecutivamente con el virus de la influenza A/New Jersey/8/76 (H1N1) y *S. pneumoniae*, no tratados) y el grupo de control (ratones infectados consecutivamente con el virus de la influenza A/New Jersey/8/76 (H1N1) y *S. pneumoniae* y tratados con agua purificada) (Fig.21). Hasta aquel momento, la carga bacteriana de los pulmones infectados con el virus y la bacteria había sido significativamente reducida (2 y 6 veces) por los Medicamentos 1 y 2 en comparación con el grupo de control (Grupo 3), respectivamente, el Medicamento 2 siendo 3 veces más eficaz que el Medicamento 1.

48 horas después de la infección con *S. pneumoniae*, la mayor cantidad de UFC de *S. pneumoniae* todavía fue observada en el grupo de animales no tratados y en el grupo de control. Sin embargo, las cantidades absolutas de UFC en aquellos grupos bajaron más de 5 veces. En aquel momento, la intensidad de los efectos antimicrobianos del Medicamento 1 fue el doble de los valores de control (Grupos 3 y 4), mientras la carga bacteriana en los ratones que recibían el Medicamento 2 (Grupo 2) fue el 24.4% del valor de control (Grupo 3) y el 26.7% del valor de control de animales no tratados (Grupo 4). Entre los grupos de los Medicamentos 1 y 2, ningunas diferencias estadísticamente significativas fueron observadas.

120 horas después de la infección de los ratones con *S. pneumoniae*, en todos los grupos se observaban solo algunas UFCs esporádicas.

Conclusión:

El estudio de la actividad antimicrobiana de los Medicamentos 1 y 2 demostró que cada uno de los medicamentos tenía efectos antibacterianos significativos. El análisis comparativo de su actividad específica demostró que el medicamento reivindicado de la presente invención (Medicamento 2) tenía efectos más pronunciados que el Medicamento 1.

Ejemplo 14.

La eficacia del medicamento reivindicado en un modelo experimental de neumonía viral/bacteriana causada por el virus de la influenza H1N1/A California 04/2009 y *Staphylococcus aureus* (cepa 1986).

El objetivo del estudio es analizar la actividad terapéutica del medicamento reivindicado en una neumonía experimental viral/bacteriana causada por el virus de la influenza H1N1/A California 04/2009 y *Staphylococcus aureus* (cepa 1986). El medicamento reivindicado contiene cantidades iguales de cuatro productos tecnológicamente procesados resultantes de diluciones seriadas (C12C30C50) de sustancias de base de anticuerpos policlonales purificados por afinidad, que son 1) anticuerpos al dominio $\beta 1$ de la molécula de la clase II del complejo mayor de histocompatibilidad (HLA-DRB1) (2.5 mg/ml), 2) anticuerpos a la microglobulina $\beta 2$ ($\beta 2$ -MG) de la molécula de la clase I del complejo mayor de histocompatibilidad (2.5 mg/ml), 3) anticuerpos al interferón gama (IFN- γ) (2.5 mg/ml) y 4) anticuerpos a CD4 (2.5 mg/ml).

Grupos experimentales:

Grupo 1 – ratones que recibían el medicamento reivindicado por vía intragástrica durante 3 días antes y 5 días después de la infección viral en una dosis de 20 ml/kg/día (n=10);

Grupo 2 – ratones que recibían agua purificada por vía intragástrica durante 3 días antes y 5 días después de la infección viral en una dosis de 20 ml/kg/día (n=10);

Grupo 3 – grupo de control positivo 1, ratones que recibían oseltamivir (Tamiflu®, Hoffmann-La Roche, 10 mg/kg/día) por vía intraperitoneal 4 horas antes y 4 horas después de la infección viral y luego dos veces al día durante 5 días (n=10);

Grupo 4 – grupo de control positivo 2, ratones que recibían cefuroxime (Zinacef®, GlaxoSmithKline) subcutáneamente en una dosis de 20 mg/kg durante 3 días después de la infección bacteriana (o 4 días después de la infección viral) (n=10);

Grupo 5 – grupo de control negativo, ratones no tratados que fueron infectados con el virus de la influenza y las bacterias en los mismos momentos que los demás grupos (n=10).

Diseño del estudio:

Neumonía viral/bacteriana secundaria fue inducida en los animales por inoculación intranasal del virus de la influenza H1N1/A California 04/2009 en una dosis de $10^{4.5}$ TCID₅₀/0.1 ml e inoculación intranasal de *Staphylococcus aureus* (cepa 1986) en una dosis de 2×10^7 UFC/ml. En todos los grupos experimentales, *Staphylococcus aureus* (1986) fue administrado en el Día 5 después de la infección con el virus de la influenza. Dos días después, los pulmones de los animales (n=3 en cada grupo) fueron homogeneizados y analizados para definir la carga bacteriana y el título viral. Lo que toca a los demás ratones, su peso corporal como parámetro de la salud general fue registrado diariamente, al igual que las tasas de supervivencia.

Análisis estadístico:

El análisis estadístico de los resultados fue realizado utilizando modelos mixtos lineales con el Grupo incluido como factor, el Día como una covariable con una spline cúbica y el ID del sujeto como efecto aleatorio (comparaciones entre los grupos fueron realizadas para todos los días utilizando el test de Tukey post-hoc); utilizando las curvas de Kaplan-Meier seguidas por la comparación de pruebas log-rank con la corrección de Benjamini-Hochberg para pruebas múltiples; utilizando el test de Kruskal-Wallis en combinación con el test de Dunn post-hoc corregido según el procedimiento de Benjamini-Hochberg. Las diferencias fueron consideradas estadísticamente significativas con $p < 0.05$.

Resultados del estudio:

El medicamento reivindicado redujo la tasa de mortalidad en los animales con neumonía secundaria (viral/bacteriana) un 40% (vs el grupo de control (Grupo 2)), lo que es semejante al efecto del medicamento de comparación, cefuroxime (Grupo 4) (Fig.22).

El medicamento de la presente invención, al igual que el medicamento de comparación, oseltamivir, redujo el título viral más de un 15% en comparación con el grupo de control negativo.

Ningunas diferencias estadísticamente importantes fueron observadas en la carga bacteriana o los pesos corporales de los ratones experimentales.

Conclusión:

Por lo tanto, el medicamento reivindicado demostró eficacia terapéutica en una neumonía experimental viral/bacteriana al aumentar la tasa de supervivencia de los animales infectados y al reducir el crecimiento viral en los pulmones.

Ejemplo 15.

Evaluación de la actividad contra el virus respiratorio sincitial *in vivo*.

El objetivo del estudio es evaluar la actividad antiviral del medicamento reivindicado contra el virus respiratorio sincitial (RSV, cepa A2). El medicamento de la presente invención contiene cantidades iguales de cuatro productos tecnológicamente procesados resultantes de diluciones seriadas (C12C30C50) de sustancias de base de anticuerpos policlonales purificados por afinidad, que son 1) anticuerpos al dominio $\beta 1$ de la molécula de la clase II del complejo mayor de histocompatibilidad (HLA-DRB1) (2.5 mg/ml), 2) anticuerpos a la microglobulina $\beta 2$ ($\beta 2$ -MG) de la molécula de la clase I del complejo mayor de histocompatibilidad (2.5 mg/ml), 3) anticuerpos al interferón gamma (IFN- γ) (2.5 mg/ml) y 4) anticuerpos a CD4 (2.5 mg/ml).

Grupos experimentales:

Grupo 1 – ratones que recibían el medicamento reivindicado durante 5 días antes de la infección, incluso 2 horas antes de la infección, y después durante 4 días en una dosis de 20 ml/kg/día (dos veces al día, en una dosis aproximada de 0.2 ml/ratón con intervalos de 2 horas, n=10);

Grupo 2 – ratones que recibían un componente del medicamento reivindicado (Anaferon para Niños), o sea, una dilución de anticuerpos al interferón gamma, como monoterapia por vía intragástrica durante 5 días antes de la infección, incluso 2 horas antes de la infección, y después durante 4 días en una dosis de 20 ml/kg/día (dos veces al día, en una dosis aproximada de 0.2 ml/ratón con intervalos de 2 horas, n=10);

Grupo 3 – grupo de control de ratones que recibían agua purificada por vía intragástrica mice received purified water intragastrically durante 5 días antes de la infección, incluso 2 horas antes de la infección, y después durante 4 días en una dosis de 20 ml/kg/día (dos veces al día, en una dosis aproximada de 0.2 ml/ratón con intervalos de 2 horas, n=10);

Grupo 4 – modelo de control del RSV (n=10); ratones infectados con RSV A2 en los mismos momentos que los ratones de los Grupos 1, 2 y 3.

Grupo 5 – modelo de control del RSV+UV (n=10); ratones infectados con el RSV A2 desactivado por los rayos UV en los mismos momentos que los ratones de los Grupos 1, 2 y 3. La desactivación con UV fue realizada de antemano por exposición del RSV a la luz ultravioleta durante 20 minutos. Un virus desactivado es un control negativo adecuado ya

que no causa infección del tracto respiratorio, pero los componentes del virión presentes en el material viral inactivado aún pueden afectar los parámetros del sistema inmunológico de los animales. Ese control puede demostrar el efecto del virus sobre el tracto respiratorio de los animales que se consigue precisamente a través de su replicación;

Grupo 6 – grupo de control de ratones intactos que no fueron infectados con el virus ni tratados (n=10).

5 *Diseño del estudio:*

Los animales de los cinco grupos fueron infectados con la cepa A2 del RSV (RSV A2) por vía intraperitoneal en una dosis de 5×10^6 TCID₅₀/ratón. En el Día 5 del experimento, la hiperreactividad bronquial (puesto que el RSV A2 afecta las vías respiratorias causando inflamación) en los animales fue evaluada por pletismografía no invasiva utilizando el equipo de BuxcoElectronics, Wilmington, NC. Después del ajuste y calibración del equipo, ratones de diferentes grupos fueron colocados en pletismógrafos de doble cámara (cajas de plástico) que consistían de una cámara nasal y una cámara torácica, divididas por un collar cervical para contener los animales dentro del pletismógrafo (la cámara) donde les dieron 10 µl de una solución de metacolina de concentraciones que aumentaban progresivamente: 0, 6.25, 12.5 y 25 mg/ml durante 3 minutos.

En el Día 6 después de la infección, la carga viral en los pulmones de todos los animales fue evaluada por una prueba PCR en tiempo real. El tejido pulmonar recogido fue homogeneizado en una solución tampón RLT (Qiagen) y el ARN común fue separando utilizando el mini kit RNasy comercial (Qiagen) en conformidad con las recomendaciones del fabricante. Después, el ARN común fue utilizado como modelo para la síntesis de ADNc utilizando el kit OT-1 kit (Syntol) en conformidad con las recomendaciones del fabricante. El ADN complementario (ADNc) fue utilizado en la PCR en tiempo real para cuantificar el ARN del virus. El procedimiento PCR en tiempo real fue aplicado utilizando un kit de reactivo comercial de Syntol en conformidad con las recomendaciones del fabricante, un kit de primer específico y el sistema de detección IQ5 (BioRad).

Análisis estadístico:

El análisis estadístico de los resultados fue realizado utilizando ANOVA bidireccional; las comparaciones en pares fueron realizadas utilizando el procedimiento de los mínimos cuadrados, y los ajustes de multiplicidad fueron realizados por simulación utilizando el procedimiento SAS PROC MIXED. Para los datos del ARN, los ajustes de multiplicidad fueron realizados a través del test de Dunnett (primero fueron calculados los números logaritmizados). Las diferencias fueron consideradas estadísticamente significativas con $p < 0.05$.

Resultados del estudio:

El mayor crecimiento de la hiperreactividad bronquial fue observado en los ratones del grupo de control que recibían agua purificada (Grupo 3). En los ratones que recibían solo el medicamento reivindicado (Grupo 2), la hiperreactividad bronquial demostró un crecimiento moderado, estadísticamente diferente del grupo de control. El menor aumento de la resistencia fue registrado después de un curso de tratamiento con el medicamento reivindicado (Fig.23).

La mayor concentración de los ARN virales fue encontrada en las muestras de los ratones del grupo del RSV (Grupo 4). La desactivación del virus con UV resultó en una reducción significativa de la cantidad de los ARN virales (hasta 10 veces), pero los ARN aún podían ser detectados. El motivo de ello fue la presencia de grandes cantidades de ARN genómicos en las muestras del virus desactivado por UV detectados por la PCR cuantitativa. Una diferencia sustancial entre las cantidades de los ARN virales en los pulmones de los ratones del grupo del RSV (Grupo 4) y del RSV + UV (Grupo 5) indica que el virus inactivado era capaz de replicarse en las vías respiratorias. Este hecho demostró que el modelo experimental seleccionado fue adecuado.

Una reducción estadísticamente significativa de la carga de ARN virales fue registrada en las muestras obtenidas de los animales del Grupo 1 (medicamento reivindicado) y del Grupo 2 (monoterapia con un componente del medicamento reivindicado) en comparación con el grupo de control (Grupo 3) y el grupo del RSV (Grupo 4) (Fig.24). En el grupo del medicamento reivindicado, la cantidad de ARN virales fue 4 veces menor que en el grupo de su componente administrado solo.

45 *Conclusión:*

El estudio de la actividad antiviral del medicamento reivindicado en un modelo de infección con el RSV en ratones *in vivo* demostró que el medicamento de la presente invención redujo la hiperreactividad bronquial y la carga de ARN virales en los pulmones. Por lo tanto, un efecto significativo antiviral del medicamento reivindicado contra el RSV (cepa A2) fue verificado.

50 *Ejemplo 16.*

La eficacia del medicamento contra la infección con *Pseudomonas aeruginosa* (RP73) en ratas.

Este es un estudio ciego comparativo controlado por placebo. El objetivo del estudio es evaluar la actividad antibacteriana del medicamento reivindicado en una infección experimental de ratas con *Pseudomonas aeruginosa* (cepa RP73), las bacterias que causan una infección crónica de los pulmones y hacen daño irreversible a los pulmones

de aproximadamente 80% de los pacientes adultos. El medicamento de la presente invención contiene cuatro productos tecnológicamente procesados resultantes de diluciones seriadas de sustancias de base de anticuerpos monoclonales purificados por afinidad que son 1) anticuerpos a HLA-DRB1 (dilución C10D40C150 (3 mg/ml) en una proporción de 2:3:1), 2) anticuerpos a la microglobulina $\beta 2$ (dilución C10C150 (3 mg/ml) en una proporción de 3:1), 3) anticuerpos al interferón gama (dilución C10D40C150 (3 mg/ml) en una proporción de 2:3:1) y 4) anticuerpos a CD4 (dilución C10C30C200 (3 mg/ml) en una proporción de 2:3:1) en una proporción de volumen de 1:1:1:1.

Grupos experimentales:

Grupo 1 – ratas machos Sprague-Dawley (n=10) infectadas con *Pseudomonas aeruginosa* cepa RP73 (por vía intratraqueal, 6.5×10^7 UFC/ml) que no recibían ningún medicamento (animales no tratados).

- 10 Grupo 2 – ratas machos Sprague-Dawley (n=10) que recibían placebo (agua purificada) por vía oral 24 horas antes de la infección y 24, 48, 72 y 96 horas después de la inoculación de *Pseudomonas aeruginosa* cepa RP73 (por vía intratraqueal, 6.5×10^7 UFC/ml). Volumen de la dosis: 7.5 ml/kg.

- 15 Grupo 3 – ratas machos Sprague-Dawley (n=10) que recibían el medicamento de comparación, la tobramicina, por vía orofaríngea en una dosis de 3 mg/kg 24 horas antes de la infección y 24, 48, 72 y 96 horas después de la inoculación de *Pseudomonas aeruginosa* cepa RP73 (por vía intratraqueal, 6.5×10^7 UFC/ml). Volumen de la dosis: 7.5 ml/kg.

Grupo 4 – ratas machos Sprague-Dawley (n=10) que recibían el medicamento reivindicado por vía oral 24 horas antes de la infección y 24, 48, 72 y 96 horas después de la inoculación de *Pseudomonas aeruginosa* cepa RP73 (por vía intratraqueal, 6.5×10^7 UFC/ml). Volumen de la dosis: 7.5 ml/kg.

Diseño del estudio:

- 20 El estudio duró 7 días. Las ratas fueron infectadas con *Pseudomonas aeruginosa* (RP73) por vía intratraqueal en una dosis de 6.5×10^7 UFC/ml. El placebo (agua purificada) y el medicamento reivindicado fueron administrados por vía oral en una dosis de 7.5 ml/kg 24 horas antes de la infección y 24, 48, 72 y 96 horas después de la inoculación de las bacterias. El medicamento de comparación, la tobramicina, fue administrado a los animales por vía orofaríngea en una dosis de 3 mg/kg en los mismos momentos.

- 25 El peso corporal de los animales fue registrado durante todo el estudio.

En el Día 5 después de la infección, las ratas fueron sacrificadas y su lavado broncoalveolar y muestras de pulmones fueron recogidos para análisis de la carga bacteriana. Los pulmones fueron homogeneizados y todas las muestras fueron diluidas en serie, y 40 μ l de las diluciones resultantes fueron colocadas en triplicado en un medio alterado de Drygalski-Conradi para bacterias gramnegativas. Después de 24 horas el número de UFC fue contado en las muestras preparadas del lavado broncoalveolar y pulmones.

- 30 El análisis estadístico de los resultados fue realizado utilizando mediciones ANOVA bidireccionales en combinación con el test de Tukey post-hoc. Las diferencias fueron consideradas estadísticamente significativas con $p < 0.05$.

Resultados del estudio:

- 35 Infección intratraqueal de ratas con *Pseudomonas aeruginosa* (RP73), la bacteria más común que causa infecciones pulmonares crónicas y está asociada a daños irreversibles a los pulmones, resultó en una deterioración de la condición general de los animales y en una pérdida del peso corporal asociada a ello. En el Grupo 1 (animales no tratados) ese parámetro bajó un 27% al final del experimento en comparación con los valores de base. Un efecto parecido también fue observado en el Grupo 2 (Placebo) donde hubo una baja de un 28%.

- 40 El uso del medicamento reivindicado (Grupo 4) ayudó a mejorar la salud general de las ratas infectadas: la pérdida del peso corporal fue menos pronunciada en comparación con los Grupos 1 y 2, con la baja total siendo de un 15%. El medicamento de comparación tuvo efectos protectores máximos: en el Grupo 3 (Tobramicina) la pérdida de peso media al final del estudio fue reducida solo en un 4% (Fig. 25).

- 45 Al evaluar la carga bacteriana en los pulmones y en el lavado broncoalveolar de las ratas en el Día 5 después de la infección intratraqueal *Pseudomonas aeruginosa* (RP73), se descubrió que el medicamento reivindicado ejercía efectos antibacterianos significativos al ser administrado como curso de tratamiento terapéutico y preventivo, o sea, 24 horas antes de la infección y 24, 48, 72 y 96 horas después de la inoculación intratraqueal de las bacterias. A diferencia del grupo del placebo (Grupo 2), donde la cantidad de UFC no tuvo diferencias significativas de la del Grupo 1 (Animales no tratados), el medicamento reivindicado redujo la cantidad de UFC un 29% en comparación con los animales no tratados y un 19% en comparación con el grupo del placebo (Fig. 26); la cantidad de UFC en el lavado broncoalveolar disminuyó un 33% y un 34%, respectivamente (Fig. 27). La carga bacteriana en los pulmones en el grupo del medicamento de comparación fue parecida a la del grupo del medicamento reivindicado: una baja en la cantidad de UFC en los pulmones en respuesta a la tobramicina fue de un 29% en comparación con los animales no tratados y de un 19% en comparación con el grupo del placebo. En las muestras del lavado broncoalveolar, la actividad

antibacteriana de la tobramicina fue más pronunciada: 88% en comparación con los dos grupos de control (animales no tratados y placebo).

Conclusión:

- 5 En el estudio realizado en una infección experimental de ratas con *Pseudomonas aeruginosa* (cepa RP73 strain), las bacterias que causan infección pulmonar crónica con daño irreversible a los pulmones en aproximadamente un 80% de pacientes adultos, el medicamento reivindicado demostró efectos antibacterianos significativos, lo que se manifestó por una menor pérdida de peso que es un indicador clave de la salud general de los animales, y la reducción de la carga bacteriana en los pulmones (1.2-1.4 veces) y en las muestras del lavado broncoalveolar (1.5 veces).

Ejemplo 17.

- 10 La eficacia del medicamento en ratones infectados con *Porphyromonas gingivalis* (ATCC 33277).

Este es un estudio ciego controlado por placebo. El objetivo del estudio es evaluar los efectos antibacterianos e inmunotrópicos (anti-inflamatorios) del medicamento reivindicado en una infección experimental de ratones con *Porphyromonas gingivalis*, uno de los patógenos más importantes que causan enfermedades periodontales. El medicamento de la presente invención contiene productos tecnológicamente procesados resultantes de diluciones seriadas de sustancias de base de anticuerpos policlonales purificados por afinidad que son 1) anticuerpos a HLA-DRB1 (dilución C50C200 (1.5 mg/ml) en una proporción de 2:3), 2) anticuerpos a la microglobulina $\beta 2$ (dilución C50C200 (1.5 mg/ml) en una proporción de 1:2), 3) anticuerpos al interferón gama (dilución C50C200 (1.5 mg/ml) en una proporción de 1:3) y 4) anticuerpos a CD4 (dilución C50C200 (1.5 mg/ml) en una proporción de 3:2) en una proporción de volumen de 2:3:2:1.

20 Grupos experimentales:

Grupo 1 – ratones machos C57B6/Ntac (n=10) infectados con *Porphyromonas gingivalis* ATCC 33277 (subcutáneamente, 10^8 UFC/animal) que no recibían ningún medicamento (animales no tratados).

Grupo 2 – ratones machos C57B6/Nta (n=10) que recibían placebo (agua purificada) por vía oral 2, 24, 48 y 72 horas después de la infección con *Porphyromonas gingivalis* ATCC 33277 (subcutáneamente, 10^8 UFC/animal). Volumen de la dosis: 10 ml/kg.

Group 3 – male C57B6/Ntac mice (n=10) que recibían el medicamento reivindicado por vía oral 2, 24, 48 y 72 horas después de la infección con *Porphyromonas gingivalis* ATCC 33277 (subcutáneamente, 10^8 UFC/animal). Volumen de la dosis: 10 ml/kg.

Diseño del estudio:

- 30 El estudio duró 25 días. La infección experimental fue inducida en los ratones por una inyección subcutánea de *Porphyromonas gingivalis* (ATCC 33277) en una dosis de 10^8 UFC/animal en una cámara preimplantada [*Infect Immun.* 1991 Apr;59(4):1255-63].

Los medicamentos testados fueron administrados por vía oral en una dosis de 10 ml/kg 2, 24, 48 y 72 horas después de la infección.

- 35 En el Día 4 después de la inoculación de las bacterias, las cámaras subcutáneas preimplantadas fueron removidas y fueron medidos la carga bacteriana y los niveles de citocinas proinflamatorias (IL-1 β , IL-6) en las cámaras.

Para evaluar la carga bacteriana, 20 μ l de fluidos de cámara diluidos en serie fueron colocados en triplicado sobre placas de agar de sangre Brucella e incubados en condiciones anaeróbicas durante 96 horas.

- 40 Los niveles de citocina fueron medidos por ELISA utilizando sistemas de prueba de R&D Systems (EE.UU) en conformidad con las instrucciones del fabricante.

El análisis estadístico de los resultados fue realizado utilizando el test de Kruskal-Wallis en combinación con el test de Tukey test post-hoc y las curvas de Kaplan-Meier seguidas por comparaciones en pares de pruebas de log-rank. Las diferencias fueron consideradas estadísticamente significativas con $p < 0.05$.

Resultados del estudio:

- 45 En el día 4 después de la inyección de las bacterias *in vivo* en una dosis de 10^8 UFC/ratón en cámaras implantadas subcutáneamente, los valores resultantes de carga bacteriana (el número de UFC de *Porphyromonas gingivalis*, ATCC 33277) demostraron efectos antibacterianos significativos del medicamento reivindicado al ser administrado como curso terapéutico, o sea, 2, 24, 48 y 72 horas después de la infección. A diferencia del grupo del placebo (Grupo 2), donde la cantidad de UFC fue parecida a la del Grupo 1 (Animales no tratados), el medicamento reivindicado redujo la cantidad de UFC un 41% en comparación con los animales no tratados y un 34% en comparación con el placebo (Fig. 28).

La actividad inmunotrópica del medicamento reivindicado fue evaluada como significativa al medir la influencia del producto sobre los niveles de citocinas (IL-1 β y IL-6) en cámaras implantadas subcutáneamente en el día 4 después de la inyección *in vivo* de *Porphyromonas gingivalis* (ATCC 33277) en una dosis de 10⁸ UFC/ratón. Una reducción estadísticamente significativa de los niveles de citocina en respuesta al medicamento reivindicado fue registrada en comparación con el grupo de control y el Grupo 1 (Animales no tratados): IL-1 β bajó un 49% vs Grupo 1 y un 41% vs Grupo 2 (placebo); IL-6 bajó un 60% vs Grupo 1 y un 63% vs Grupo 2 (Fig. 29, Fig. 30).

Conclusión:

En el estudio realizado en una infección experimental de ratones con *Porphyromonas gingivalis*, uno de los mayores patógenos que causan enfermedades periodontales, el medicamento reivindicado demostró efectos antibacterianos e inmunotrópicos (antiinflamatorios) significativos que resultaron en una reducción de la carga bacteriana de casi 3 veces y de los niveles de citocinas proinflamatorias (una reducción de IL-1 β de 1.7 veces y de IL-6, de 2.7 veces) en comparación con el placebo.

Ejemplo 18.

Actividad antibacteriana del medicamento reivindicado contra *Mycobacterium tuberculosis*, cepa H37Rv.

Este es un estudio ciego controlado por placebo. El objetivo del estudio es evaluar la actividad antibacteriana del medicamento reivindicado en una infección experimental de ratones con *Mycobacterium tuberculosis* (cepa H37Rv). El medicamento reivindicado de la presente invención contiene productos tecnológicamente procesados resultantes de diluciones seriadas de sustancias de base de anticuerpos monoclonales purificados por afinidad que son 1) anticuerpos a HLA-DRB1 (dilución C12C30C50 (2 mg/ml) en una proporción de 3:2:1), 2) anticuerpos a la microglobulina β 2 (dilución C12C30C50 (2 mg/ml) en una proporción de 3:2:1), 3) anticuerpos al interferón gama (dilución C12C30C50 (2 mg/ml) en una proporción de 3:2:1) y 4) anticuerpos a CD4 (dilución C12C30C50 (2 mg/ml) en una proporción de 3:2:1) en una proporción de volumen de 2:2:1:2.

Grupos experimentales:

Grupo 1 – ratones hembras C57BL/6 (n=15) infectadas por vía intravenosa con *Mycobacterium tuberculosis*, H37Rv (5*10⁴ UFC/animal) que no recibían ningún medicamento (animales no tratados).

Grupo 2 – ratones hembras C57BL/6 (n=15) que recibían placebo (agua purificada) por vía oral durante 4 semanas, a partir del día 22 después de la inoculación de *Mycobacterium tuberculosis*, H37Rv (por inyección intravenosa, 5*10⁴ UFC/animal). Volumen de la dosis: 10 ml/kg.

Grupo 3 – ratones hembras C57BL/6 (n=15) que recibían una combinación de medicamentos de comparación, isoniazida (25 mg/kg) + rifampicina (20 mg/kg) + etambutol (100 mg/kg) por vía oral durante 4 semanas, a partir del día 22 después de la inoculación de *Mycobacterium tuberculosis*, H37Rv (por inyección intravenosa, 5*10⁴ UFC/animal).

Grupo 4 – ratones hembras C57BL/6 (n=15) que recibían el medicamento reivindicado por vía oral durante 4 semanas, a partir del día 22 después de la inoculación de *Mycobacterium tuberculosis*, H37Rv (por inyección intravenosa, 5*10⁴ UFC/animal). Volumen de la dosis: 10 ml/kg.

Diseño del estudio:

El estudio duró 50 días. La infección experimental fue inducida en los ratones por inyección intravenosa de *Mycobacterium tuberculosis* cepa H37Rv en una dosis de 5*10⁴ UFC/animal.

En los Grupos 2 y 4, los medicamentos testados fueron administrados por vía oral en una dosis de 10 ml/kg como un curso terapéutico, o sea, durante 28 días, a partir del Día 22 después de la infección. En el Grupo 3, el medicamento de comparación (una combinación de isoniazida (25 mg/kg) + rifampicina (20 mg/kg) + etambutol (100 mg/kg)) fue administrada según el mismo régimen.

Al final del experimento, en el Día 50 después de la infección, los ratones fueron sacrificados y sus pulmones fueron analizados para definir la cantidad de UFC de *Mycobacterium tuberculosis* (H37Rv). Los pulmones separados fueron homogeneizados y diluidos en serie, 20 μ l de las diluciones fueron colocados en triplicado sobre placas de agar 7H11 e incubados durante 24 horas.

El análisis estadístico de los resultados fue realizado utilizando ANOVA bidireccional en combinación con el test de Tukey post-hoc. Las diferencias fueron consideradas estadísticamente significativas con p < 0.05.

Resultados del estudio:

La evaluación de la carga bacteriana en los pulmones de ratones infectados con *Mycobacterium tuberculosis* (H37Rv) demostró una reducción de la cantidad de UFC en respuesta al medicamento reivindicado en comparación con el Grupo 1 (animales no tratados) y el Grupo 2 (placebo) (un 43% y un 37%, respectivamente). El medicamento de

comparación (una combinación de isoniazida (25 mg/kg) + rifampicina (20 mg/kg) + etambutol (100 mg/kg)) tuvo efectos parecidos y redujo la carga bacteriana un 54% y un 49% en comparación con los animales no tratados y el grupo del placebo, respectivamente (Fig. 31).

Conclusión:

- 5 El estudio realizado en un modelo de infección con *Mycobacterium tuberculosis* (H37Rv) inducida en ratones demostró un efecto antibacteriano significativo del medicamento reivindicado que fue asociado a una reducción doble de la carga bacteriana en los pulmones.

Ejemplo 19.

- 10 Evaluación de la actividad mutagénica potencial del medicamento reivindicado a través de un test de mutagenicidad de *Salmonella typhimurium*.

El objetivo del estudio es investigar la mutagenicidad potencial del medicamento reivindicado a través de un test de mutagenicidad de *Salmonella typhimurium* (test de Ames). El medicamento 1 de la presente invención contiene productos tecnológicamente procesados resultantes de diluciones seriadas de sustancias de base de anticuerpos a HLA-DRB1 (solución acuosa de anticuerpos policlonales C12C30C50 en una proporción de 1:1:1, 2,5 mg/ml) y anticuerpos liberados activos a β 2-MG (solución acuosa de anticuerpos policlonales C12C30C50 en una proporción de 1:1:1, 2,5 mg/ml) en una proporción de volumen de 1:1. El medicamento 2 de la presente invención contiene productos tecnológicamente procesados resultantes de diluciones seriadas de sustancias de base de a) anticuerpos a HLA-DRB1 (dilución C12C30C50 de anticuerpos policlonales en una proporción de 1:1:1, 2,5 mg/ml), b) anticuerpos a la microglobulina β 2 (dilución C12C30C50 de anticuerpos policlonales en una proporción de 1:1:1, 2,5 mg/ml), c) anticuerpos al interferón gama (dilución C12C30C50 de anticuerpos policlonales en una proporción de 1:1:1, 2,5 mg/ml) y d) anticuerpos a CD4 (dilución C12C30C50 de anticuerpos policlonales en una proporción de 1:1:1, 2,5 mg/ml) en una proporción de volumen de 1:1:1:1.

Diseño del estudio:

- 25 El test de Ames test fue realizado utilizando las cepas TA97a, TA98, TA100, TA102 de TA1535 *Salmonella typhimurium* con y sin el sistema de activación metabólica. Al hacer el test en la presencia del sistema de activación metabólica, la transformación biológica del medicamento testado fue conseguida a través del uso de una mezcla de la fracción S9 que contenía enzimas microsomales metabolizadoras y fue preparada por centrifugación del homogeneizado del hígado obtenido de ratones blancos no consanguíneos en el volumen de 9000g. La inducción de enzimas fue realizada con sovol administrado a ratas por vía intraperitoneal en una dosis de 300 mg/kg.

- 30 Los medicamentos testados y el agua purificada (control) fueron testados dentro de la gama estándar de la dosis de evaluación de 0.1-1000 μ l/placa con el factor de dilución igual a 10. La actividad directa mutagénica del medicamento reivindicado fue evaluada en los análisis sin activación metabólica. En estos análisis, 100 μ l del medicamento y 100 μ l de la cultura bacteriana fueron colocados en placas, sin adicionar mezcla microsomal a las muestras. Los controles positivos fueron preparados utilizando mutágenos estándar: azida de sodio para la cepa TA100 (en una concentración de 5 μ g por placa), 9-aminoacridina (10 μ g/placa) para la cepa TA97 strain, 2,7-diamino-4,9-dioxy-5,10-dioxo-4,5,9,10-tetrahydro-4,9-diazopyrene (DDDTDP; 100 μ g/placa) para la cepa TA98. Para pruebas sin activación metabólica fue utilizado el promutágeno ciclofosfano (500 μ g/placa). Después de la inoculación de las bacterias y las sustancias testadas sobre placas de medio mínimo e incubación durante 2 días a una temperatura de 37°C, el número de colonias revertientes de histidina fue contado. Cada concentración fue probada en tres placas.

- 40 La media geométrica de colonias revertientes por tres placas fue definida para cada uno de los modelos experimentales. La desviación estándar fue calculada como la desviación máxima de la cantidad de revertientes por una de las tres placas del cálculo de la media geométrica. La significancia de los aumentos de la media geométrica en las pruebas con la composición del test acima de los valores de control fue calculada utilizando un test de comparaciones múltiples modificadas (test de Dunnet). Las diferencias fueron consideradas estadísticamente significativas con $p < 0.05$.

Resultados del estudio:

La cantidad de revertientes fue parecida a la del control bajo las condiciones del test aplicadas a los medicamentos reivindicados.

Conclusión:

- 50 Puesto que sovol que aumenta la actividad de monooxigenasas dependientes de citocromo P450 de varias clases fue utilizado como enzima biotransformadora inductora de activación metabólica del medicamento reivindicado, se puede concluir que los metabolitos posibles de los medicamentos de la presente invención no tienen ninguna actividad mutagénica. Por lo tanto, los medicamentos reivindicados son considerados como no mutagénicos.

Ejemplo 20.

El estudio de la toxicidad de los medicamentos reivindicados.

Los estudios toxicológicos fueron conducidos en conformidad con las buenas prácticas de laboratorio (GOST 33044-2014) y la Guía sobre estudios no clínicos de productos farmacéuticos [Mironov AN, Bunatyan ND. *Guidelines on non-clinical studies of pharmaceutical products*. Moscú, Grif and Co. 2012;944 p.].

- 5 Puesto que los modelos farmacocinéticos y farmacodinámicos habituales (relación dosis – concentración – efecto) aprobados para la mayoría de productos farmacéuticos no pueden ser aplicados (los procedimientos físico-químicos e inmunológicos no permiten detectar concentraciones de medicamentos en los fluidos biológicos del organismo) al medicamento reivindicado (un producto tecnológicamente procesado resultante de diluciones seriadas de sustancias de base de anticuerpos a HLA-DRB1 y a β 2-MG), la dosis para los estudios toxicológicos se elige basándose en los volúmenes fisiológicamente aceptables del solvente (agua purificada, en estudios experimentales) al cual se agrega el medicamento.

Toxicidad aguda:

- 15 El estudio fue realizado en ratones albinos maduros no consanguíneos de ambos los sexos (peso corporal 22-26 g, edad 2.5 meses) e ratas Wistar maduras de ambos los sexos (peso corporal 225-250 g, edad 4 meses) utilizando administración intragástrica. Dos dosis de los medicamentos testados (n=18) o de agua purificada (control, n=18) fueron administradas por vía intragástrica con un intervalo de 2 horas en un volumen de dosis máximo: 25 ml/kg para ratones and 20 ml/kg para ratas. El grupo intacto no recibió ningunos compuestos (n=18). El período de acompañamiento después de la administración fue de 2 semanas.

- 20 El análisis estadístico de los datos obtenidos fue realizado utilizando ANOVA bidireccional seguido por comparaciones entre grupos utilizando el test de Tukey post-hoc Tukey. Las diferencias fueron consideradas estadísticamente significativas con $p < 0.05$.

- 25 La administración del medicamento reivindicado que contiene un producto tecnológicamente procesado resultante de diluciones seriadas de sustancias de base de anticuerpos a HLA-DRB1 (dilución acuosa C12C30C50 de anticuerpos policlonales en una proporción de 2:1:3, 2,5 mg/ml) y anticuerpos a β 2-MG (dilución acuosa C12C30C50 de anticuerpos policlonales en una proporción de 2:1:3, 2,5 mg/ml) a ratones y ratas maduras por vía intragástricas en volúmenes de dosis máximos no afectó la salud general de los animales (no hubo señales de ansiedad, ni cambios en el apetito, actividad intestinal, mucosas, la piel, el pelo, etc.) ni el aumento del peso corporal de las ratas y los ratones (tanto machos como hembras).

- 30 Resultados parecidos fueron obtenidos bajo las mismas condiciones como las descritas anteriormente utilizando el medicamento de la presente invención que contiene productos tecnológicamente procesados resultantes de diluciones seriadas de sustancias de base de a) anticuerpos a HLA-DRB1 (dilución C12C30C50 de anticuerpos policlonales en una proporción de 1:3:1, 2,5 mg/ml), b) anticuerpos a β 2-MG (dilución C12C30C50 de anticuerpos policlonales en una proporción de 1:3:1, 2,5 mg/ml), c) anticuerpos a IFN- γ (dilución C12C30C50 de anticuerpos policlonales en una proporción de 1:3:1, 2,5 mg/ml) y d) anticuerpos a CD4 (dilución C12C30C50 de anticuerpos policlonales en una proporción de 1:3:1, 2,5 mg/ml).

La LD50 no pudo ser calculada debido a la ausencia de muertes entre los animales que recibían los medicamentos. Por lo tanto, la dosis que excede el volumen de dosis máximo del medicamento fue tomada como la LD50 convencional.

- 40 Puesto que dos dosis intragástricas de los medicamentos reivindicados en el volumen de dosis máximo no produjeron ningunos efectos tóxicos sobre la salud de los animales, se puede concluir que los medicamentos reivindicados son seguros y pueden ser clasificados como de baja toxicidad o incluidos en la Categoría 5 según la clasificación GHS.

Toxicidad de la dosis repetida:

- 45 El estudio fue realizado en 200 ratas albinas maduras convencionales de ambos los sexos (peso corporal 180-242 g, edad 3.5-4 meses) y 24 conejos Chinchilla maduros de ambos los sexos (peso corporal 1.9 kg, edad 2.5-3 meses). Puesto que no fue posible definir la LD50 de los medicamentos en este estudio de toxicidad crónica, los medicamentos o agua purificada fueron administrados a las ratas por vía intragástrica en el volumen de dosis máximo aceptable para la administración intragástrica, un 25% del volumen de dosis máximo. Los conejos recibieron el medicamento en un volumen aproximado al consumo diario de agua.

- 50 El período de administración de los medicamentos duró 6 meses, la salud de las ratas y los conejos fue evaluada 3 y 6 meses después del inicio de la administración y 1 mes después de su terminación.

- 55 Una administración intragástrica de larga duración de los medicamentos de la presente invención a ratas adultas de ambos los sexos en dosis que excedían 100 veces la dosis máxima para humanos no resultó en la mortalidad de los animales durante los 6 meses de administración ni causó cambios significativos en el comportamiento o los parámetros morfológicos o funcionales de la sangre periférica en comparación con el grupo de control 3 y 6 meses después de la administración y 1 mes después de la retirada del medicamento.

Además, la administración de medicamentos a largo plazo en las dosis indicadas no fue asociada a ningunos cambios significativos en la macro' y micromorfología y la arquitectura histórica de los órganos internos de las ratas.

En el estudio de los conejos, ninguna mortalidad fue observada durante todo el período del estudio. La administración del medicamento a largo plazo no tuvo ningún impacto significativo sobre la salud general, el comportamiento y el peso corporal de los animales ni sobre los parámetros de la hematopoyesis de la sangre periférica y de la médula ósea. Las características bioquímicas del plasma sanguíneo de los conejos no demostraron ningunos cambios significativos. Además, ningunos cambios en la urina de los conejos que recibían el medicamento durante 6 meses fueron observados. El examen macroscópico no reveló ningunos cambios anormales en los órganos internos de los conejos que recibían el medicamento durante 6 meses. El examen histológico de los tejidos de los órganos tampoco reveló anomalías.

Conclusión:

Basándose en los estudios realizados, podemos concluir que los medicamentos reivindicados no tienen ningunos efectos significativos sobre la salud general y el comportamiento de los animales ni causan ningunos cambios anormales o morfofuncionales en los sistemas cardiovascular, gastrointestinal y excretorio al ser administrados por vía intragástrica a ratas maduras en una dosis de 10 ml/kg y a los conejos en una dosis de 50 ml/kg (que excede >100 veces las dosis medias diarias para humanos) durante 6 meses.

Ejemplo 21.

Un estudio clínico multicéntrico doble ciego aleatorio controlado por placebo del medicamento reivindicado en el tratamiento de infecciones virales respiratorias agudas.

El objetivo del estudio fue evaluar la eficacia y la seguridad del medicamento reivindicado en el tratamiento de infecciones virales respiratorias agudas (IVRAs). La preparación según la presente invención en forma de una pastilla para resorción contiene, en cantidades iguales, cuatro productos tecnológicamente procesados resultantes de diluciones seriadas (diluciones C12C30C50) de sustancias de base de anticuerpos policlonales purificados por afinidad a) a HLA-DRB1, b) a la microglobulina $\beta 2$, c) al interferón gama y d) a CD4, aplicados al monohidrato de lactosa en forma de una mezcla hidroalcohólica.

Diseño del estudio:

El estudio fue realizado con la participación de pacientes hombres y mujeres entre los 18 y 70 años de edad (240 pacientes) con manifestaciones clínicas de la IVRA durante el primer día desde el comienzo de la enfermedad (temperatura axilar mínima de 38.0 ° C en el momento del examen + severidad total de los síntomas generales ≥ 4 puntos, síntomas en la nariz / garganta / pecho ≥ 2 puntos). La selección de los pacientes fue realizada durante el período de la incidencia estacional de las IVRA.

Después de ser sometidos a los procedimientos de revisión, los pacientes fueron divididos aleatoriamente en dos grupos: 118 fueron incluidos en el grupo del medicamento (ellos tomaban el medicamento reivindicado según el régimen durante 5 días) y 122, en el grupo del placebo (ellos tomaban el placebo según el régimen del medicamento durante 5 días). Los resultados del tratamiento y de la observación de estos pacientes (n = 240) fueron utilizados para evaluar la seguridad de la terapia investigada y el análisis de su eficacia por intención de tratar (AIT), incluso entre pacientes con la IVRA confirmada por PCR (n = 78, grupo del medicamento y n = 73, grupo del placebo). Los datos de 6 pacientes (3 pacientes en el grupo del medicamento y pacientes en el grupo del placebo) no fueron incluidos en el análisis PP (por protocolo) debido a desvíos del protocolo (prescripción de terapia prohibida). El número de pacientes que recibían la terapia completa e hicieron todas las visitas prescritas y no tuvieron desvíos significativos del protocolo, fue 234, de los cuales 115 en el grupo del medicamento y 119 en el grupo del placebo. Los datos de estos pacientes fueron utilizados para el análisis PP de la eficacia, incluso entre pacientes con la IVRA confirmada por PCR (n = 76, grupo del medicamento y n = 72, grupo del placebo).

Un paciente era acompañado durante 14 días (revisión, división en grupos: hasta 1 día, tratamiento: 5 días, acompañamiento: hasta 2 días; "visita" retrasada por teléfono: 14 días). Durante el tratamiento y el acompañamiento los pacientes hicieron 3 visitas al médico más la cuarta "visita" adicional por teléfono. Durante las visitas 2 y 3, el médico hacía un examen objetivo, registrando la dinámica de los síntomas de la enfermedad, realizaba terapia asociada y controlaba el registro de los síntomas en el diario. Durante la visita 3, se evaluaba la conformidad y pruebas de laboratorio eran realizadas. En el estudio también fue utilizado el diario electrónico de paciente (EPD), en el cual todos los días, por la mañana y por la noche, se gravaban la temperatura axilar y los síntomas de la enfermedad.

Diseño de la terapia:

Esquema de administración del medicamento reivindicado: 1 pastilla por dosis. En el primer día del tratamiento: durante las primeras 2 horas, 1 pastilla cada 30 minutos, después, durante el primer día, 3 veces más con intervalos regulares. En los días 2-5: 1 pastilla 3 veces al día. El medicamento se administra fuera de las comidas (en el intervalo entre las comidas o 15-30 minutos antes de una comida). Hay que tener las pastillas en la boca sin tragarlas hasta su completa disolución. Duración de la administración: 5 días.

Terapia de comparación: Placebo, caramelos, de acuerdo con el régimen del medicamento reivindicado, durante 5 días.

- 5 Terapia básica y concomitante: durante el estudio, los pacientes podían recibir medicamentos para la terapia sintomática de la IVRA: antipiréticos / antiinflamatorios no esteroideos (paracetamol / ibuprofeno) y / o medicamentos nasales vasoconstrictores – oximetazolina / nafazolina y / o medicamentos antitusivos / expectorantes – btamirato / ambomirato, guaifenesin, acetilcisteína.

Muestras:

- 10 *Total set* – todos los pacientes participantes del estudio que firmaron la hoja de información de paciente y el formulario de consentimiento informado. Esta muestra incluye todos los eventos adversos (EAs) registrados durante el estudio, incluso antes del comienzo de la terapia del estudio.

- 15 *Safety population* – todos los pacientes aleatorios que recibieron por lo menos una dosis del medicamento estudiado. Esta muestra fue utilizada para analizar la seguridad de la terapia del estudio, puesto que todos los EAs identificados en el paciente después de la administración del medicamento eran registrados. Los EAs de los pacientes de la muestra *Total set* desde el momento de la firma del consentimiento informado, pero antes de la administración del medicamento estudiado, no fueron tomados en cuenta en el análisis de la seguridad de la terapia estudiada.

Full Analysis Set (población ITT). Esta muestra incluye todos los pacientes incluidos y divididos en grupos con la excepción de los que tuvieron uno de los siguientes eventos:

No conformidad con los criterios de inclusión / exclusión;

El paciente no ha tomado ninguna dosis del medicamento estudiado;

- 20 Ausencia completa de datos sobre el paciente después de la inclusión en un grupo y la administración del medicamento estudiado.

Esta muestra, la más coherente con el principio de “intención de tratar”, fue utilizada para el análisis por intención de tratar (AIT) de la eficacia de la terapia.

- 25 Para llenar los datos que faltaban (indicadores / opciones), fue utilizado el procedimiento de la transferencia de los datos de la última observación, “LOCF” (Last Observation Carried Forward).

Per Protocol set. Esta muestra incluye todos los pacientes que recibieron el tratamiento completo prescrito por el protocolo, realizaron todas las visitas planeadas y no tuvieron desvíos significativos del protocolo. La muestra fue utilizada para el análisis PP de la eficacia de la terapia estudiada.

- 30 La muestra *Per Protocol* no incluía pacientes cuyos datos eran completamente o parcialmente inapropiados para el análisis como resultado de un desvío del protocolo revelado.

Procedimientos estadísticos:

- 35 Para comparar las variables continuas en los dos grupos, fue utilizado el test T de Student de dos muestras o el test no paramétrico de Wilcoxon, en función del resultado del test de normalidad de Shapiro-Wilk. El análisis de desviación (procedimiento mixto en SAS) fue utilizado para comparar los cambios de los indicadores en los dos grupos. Las constantes vitales de los pacientes fueron analizadas utilizando el test de Kruskal-Wallis. Para comparar las proporciones (porcentajes) en los dos grupos, fue utilizada la prueba exacta de Fisher o la prueba de Cochran-Mantel-Hensel con verificación de la aplicabilidad del último a través de la prueba de Breslow-Day.

Evaluación de la eficacia:

Análisis de la eficacia de la terapia por el punto final principal

- 40 El tiempo hasta la desaparición de los síntomas de la IVRA (PCR confirmada).
El tiempo hasta la desaparición de todos los síntomas de la enfermedad en los pacientes con IVRA confirmada por PCR (con el virus detectado en pruebas nasofaríngeas), en el contexto del tratamiento con MMN-407 fue 4.1 ± 1.9 [4.0 ± 1.9] días (contra 5.0 ± 2.5 [5.0 ± 2.5] en el contexto de la terapia con placebo (Tabla 7).

Tabla 7. El tiempo hasta la desaparición de los síntomas de la IVRA (PCR confirmada)

	Análisis AIT		Análisis PP	
	Medicamento N=78	Placebo N=73	Medicamento N=78	Placebo N=73
Duración de la IVRA, días				
Media $\pm$ desviación estándar	4.1 $\pm$ 1.9		4.0 $\pm$ 1.9	
Mediana	3.5	5.0 $\pm$ 2.5	3.5	5.0 $\pm$ 2.5
Los cuartiles inferior y superior	3.0 – 5.0	4.5	3.5	4.5
95% CI	3.6 – 4.5	3.0 – 6.0	2.8 – 5.0	3.0 – 6.3
		4.4 – 5.5	3.6 – 4.5	4.4 – 5.6
Δ (entre los grupos del medicamento y del placebo)				
Media $\pm$ desviación estándar	-0.89 $\pm$ 2.23		-0.93 $\pm$ 2.25	
95% CI	-1.6 – -0.17		-1.66 – -0.20	

En el grupo del medicamento, la enfermedad duró menos de 3.0 [2.8] días en el 25% de los pacientes, y en el 50%, de 3.0 [2.8] a 5.0 [5.0] días (los límites de los cuartiles inferior y superior). En el grupo del placebo, el 25% de los

Entre los pacientes del grupo del medicamento incluidos en el análisis AIT la duración de la IVRA fue, en promedio, - 0.89 $\pm$ 2.23 días menor que en el grupo del placebo (delta entre los dos grupos). En los pacientes del grupo del medicamento que completaron el tratamiento y los procedimientos de observación en conformidad con el protocolo, la duración de la IVRA fue aproximadamente 1 día más corta ([-0.93 $\pm$ 2.25], según los datos del análisis PP).

Análisis de la eficacia de la terapia con puntos finales adicionales

1) La proporción de los pacientes con desaparición de los síntomas de IVRA (clínicamente diagnosticada y / o confirmada por PCR).

La proporción de pacientes con desaparición de los síntomas de IVRA (clínicamente diagnosticada, incluso los casos confirmados por PCR) aumentó progresivamente a partir del Día 3 del tratamiento. En el grupo del medicamento, a partir del Día 5 de la terapia, más de la mitad de los pacientes (un 62.7 [64.4] %) estaban curados (Fig. 32). Al final de 5 días del tratamiento, un 72.9 [73.0] % de los pacientes que recibían el medicamento reivindicado se habían recuperado de la IVRA.

El análisis estadístico demostró que durante todo el período de tratamiento el porcentaje de los pacientes recuperados que habían completado su participación en el estudio según el protocolo era mayor en el grupo del medicamento que en el grupo del placebo (prueba Cochran-Mantel-Hensel; datos del análisis PP: [p = 0.0201]).

2) Tiempo hasta la desaparición de los síntomas de IVRA (clínicamente diagnosticada, incluso los casos confirmados por PCR).

El análisis de los datos en los puntos finales adicionales para evaluar el tiempo hasta la desaparición de los síntomas de IVRA (clínicamente diagnosticada, incluso los casos confirmados por PCR), entre todos los participantes divididos en grupos también demuestra las ventajas del uso del medicamento como complemento a la terapia sintomática de la IVRA (Tabla 8).

Table.8 Tiempo hasta la desaparición de los síntomas de IVRA (clínicamente diagnosticada, incluso los casos confirmados por PCR).

	Análisis AIT		Análisis PP	
	Medicamento N=118	Placebo N=122	Medicamento N=115	Placebo N=119
Duración de la IVRA, días				
Media $\pm$ desviación estándar	4.4 $\pm$ 2.2			
Mediana	3.8	4.8 $\pm$ 2.4	4.3 $\pm$ 2.3	4.8 $\pm$ 2.5
Los cuartiles inferior y superior 95%	3 – 5.5	4.0	3.5	4.0
CI	4 – 4.8	3 – 6	3 – 5.5	3 – 6
		4.3 – 5.2	3.9 – 4.8	4.4 – 5.3
Δ (entre los grupos del medicamento y del placebo)				
Media $\pm$ desviación estándar	-0.41 $\pm$ 2.34		-0.47 $\pm$ 2.36	
95% CI	-1.00 – 0.19		-1.08 – -0.14	

5 En el grupo del medicamento la enfermedad duró menos de 3.0 días en el 25% de los pacientes, en el 50%, de 3.0 a 5.5 días (los límites de los cuartiles inferior y superior). En el grupo del placebo, el 25% de los pacientes tenían síntomas de la enfermedad durante más de 6.0 días (el límite del cuartil superior).

10 Entre los pacientes del grupo del medicamento incluidos en el análisis AIT, la duración de la IVRA, clínicamente diagnosticada, incluidos los casos confirmados por PCR, fue en promedio -0.41 ± 2.34 días más corta que en el grupo del placebo (delta entre los dos grupos). En los pacientes del grupo del medicamento que completaron el tratamiento y los procedimientos de observación en conformidad con el protocolo, la duración de la IVRA clínicamente diagnosticada, incluidos los casos confirmados por PCR, fue $[-0.47 \pm 2.36]$ días más corta, según los datos del análisis PP.

15 Por lo tanto, el tiempo hasta la desaparición de los síntomas de la enfermedad entre todos los pacientes con IVRA, clínicamente diagnosticada, incluidos los casos confirmados por PCR, fue más corto en el grupo del medicamento que en el del placebo.

3) El número de administraciones de antipiréticos en conformidad con las indicaciones durante los días 1-3 del tratamiento.

Medicamentos antipiréticos (paracetamol o ibuprofeno como designado por el Investigador durante la Visita 1) eran permitidos durante el estudio en conformidad con indicaciones médicas.

20 Los antipiréticos fueron prescritos en los días 1, 2 y 3 de la enfermedad en promedio 0.30 ± 0.68 [0.28 ± 0.67], 0.19 ± 0.48 [0.20 ± 0.48] y 0.03 ± 0.22 [0.02 ± 0.13] veces en el grupo del medicamento y 0.38 ± 0.67 [0.36 ± 0.64], 0.24 ± 0.53 [0.23 ± 0.53] and 0.04 ± 0.20 [0.04 ± 0.20] veces en el grupo del placebo.

El análisis estadístico no reveló ningunas diferencias entre los grupos en el número de antipiréticos administrados durante los primeros 1-3 días de la observación.

25 Por lo tanto, la eficacia del medicamento reivindicado en el tratamiento de pacientes con IVRA fue demostrada por la ausencia de diferencias en el uso de medicamentos para terapia sintomática, incluidos los antipiréticos.

La proporción de pacientes que demostraron deterioración en el curso de la enfermedad (desarrollo de complicaciones que requerían el uso de antibióticos o hospitalización) entre los días 4 y 14 desde el principio de la observación.

30 En el grupo del medicamento (N = 118), entre todos los pacientes con IVRA (entre todos los pacientes con IVRA clínicamente diagnosticada, incluidos los casos confirmados por PCR) incluidos en grupos, bronquitis aguda fue diagnosticada en 1 caso (0.8%), para el cual fue prescrito un medicamento antibacteriano. En el grupo del placebo, (N = 122), medicamentos antibacterianos fueron prescritos a 3 (2.5%) pacientes debido a complicaciones bacterianas, incluida la neumonía (n = 1 con la cual el paciente fue hospitalizado), bronquitis aguda purulenta (n = 1), sinusitis (n = 1).

35 Por lo tanto, la inclusión del medicamento reivindicado en el tratamiento de IVRA ayudó a prevenir la deterioración del curso de la enfermedad, el desarrollo de complicaciones bacterianas que requieren terapia antibacteriana y hospitalización de pacientes.

Evaluación de seguridad:

La evaluación de la seguridad y tolerabilidad de la terapia fue realizada basándose en los datos de todos los pacientes incluidos en grupos que recibieron por lo menos una dosis del medicamento reivindicado o placebo (Safety population; n = 240). Fueron registradas las constantes vitales de los participantes del estudio, los eventos adversos (EAs), su relación a la administración del medicamento, la severidad, el resultado; la dinámica de los parámetros de laboratorio (análisis clínico de la sangre, análisis general de la urina, marcadores bioquímicos) fue estudiada.

1) Dinámica de las constantes vitales.

El medicamento reivindicado no tuvo efectos adversos sobre las funciones vitales de los participantes del estudio, incluida la presión arterial sistólica (SBP), diastólica (DBP), ritmo cardíaco (HR) y frecuencia respiratoria (RR).

Los valores medios de SBP y DBP durante todo el estudio correspondían a valores normales y bien controlados. El análisis estadístico no demostró diferencias en SBP, DBP, ritmo cardíaco y frecuencia respiratoria durante las visitas 1-3 en los grupos del medicamento y del placebo.

2) Eventos adversos.

En total, durante el tratamiento y el acompañamiento, fueron registrados 9 EAs en 9 (7.6%) pacientes en el grupo del medicamento y 11 EAs en 9 (7.4%) participantes en el grupo del placebo. De todos los EAs los más comunes fueron el dolor epigástrico (n = 2, grupo del medicamento, n = 0, grupo del placebo), infecciones e invasiones (incluida la neumonía adquirida en la comunidad, n = 1, grupo del placebo; sinusitis, n = 1, grupo del placebo; bronquitis aguda, n = 1, grupo del medicamento y n = 1, grupo del placebo; rinitis aguda, n = 1, grupo del medicamento; otitis media aguda, n = 1, grupo del medicamento; herpes simple, n = 1, grupo del medicamento y n = 1, grupo del placebo), al igual que trastornos generales y reacciones en el punto de la administración (n = 2, grupo del placebo, en forma de un edema de labios, n = 1, deterioración de la enfermedad, n = 1).

En el grupo del medicamento, 9 (100.0%) EAs eran leves; en el grupo del placebo, 11 (100.0%), respectivamente. Una relación causal entre un EA y el medicamento reivindicado estudiado, según los investigadores, era ausente.

3) Dinámica de los parámetros de laboratorio.

Para evaluar la seguridad de la terapia, fueron estudiados los parámetros bioquímicos y clínicos generales de la sangre y la urina. Los valores medios de estos parámetros de laboratorio, tanto en el principio como al final del curso de tratamiento, no excedían los valores de referencia correspondientes a los indicadores normales para una cierta edad y género.

Por lo tanto, el análisis de los parámetros de seguridad demostró que el medicamento es seguro para el tratamiento de pacientes con IVRA.

Conclusión:

El estudio demostró que el tratamiento con el medicamento reivindicado durante 5 días es eficaz y Seguro para pacientes con IVRA. El uso del medicamento conforme la presente invención lleva a una desaparición más rápida de los síntomas de la IVRA (recuperación), lo que indica las ventajas de la inclusión del medicamento en la terapia de IVRA.

REIVINDICACIONES

1. Un medicamento, que presenta un producto procesado tecnológicamente que resulta de múltiples diluciones en serie de las sustancias madre de los anticuerpos contra el dominio $\beta 1$ de la molécula del complejo mayor de histocompatibilidad de clase II (HLA-DRB1) y contra la $\beta 2$ -microglobulina ($\beta 2$ -MG); en el que las múltiples diluciones en serie son diluciones decimales, centesimales y milésimales en cualquier relación de dilución; y en el que las sustancias madre están en una concentración de $0,5 \div 5,0$ mg/ml.
2. El medicamento de la reivindicación 1 para el tratamiento de infecciones bacterianas; opcionalmente en el que la infección bacteriana es (i) causada por bacterias resistentes a uno o más antibióticos conocidos; (ii) una infección del tracto urinario seleccionada entre cistitis y prostatitis; (iii) es una infección intestinal bacteriana; (iv) una infección bacteriana de la piel; v) tuberculosis; o (vii) seleccionado entre salmonelosis, infección por *E. coli*, infección estreptocócica y *Klebsiella pneumoniae*.
3. El medicamento de la reivindicación 1, en el que los anticuerpos son monoclonales, policlonales o naturales.
4. El medicamento de la reivindicación 1, formulado como una forma de dosificación sólida, que contiene cantidades eficaces de gránulos portadores neutros impregnados con un producto procesado tecnológicamente resultante de múltiples diluciones en serie de las sustancias madre de anticuerpos contra HLA DRB1 y anticuerpos contra $\beta 2$ -microglobulina tal como excipientes farmacéuticamente aceptables.
5. Una combinación de un antibiótico y el medicamento de cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, ya sea para administración simultánea o sucesiva para tratar infecciones bacterianas; opcionalmente en la que la infección bacteriana es (i) causada por bacterias resistentes a uno o más antibióticos conocidos; (ii) una infección del tracto urinario seleccionada entre cistitis y prostatitis; (iii) es una infección intestinal bacteriana; (iv) una infección bacteriana de la piel; v) tuberculosis; o (vii) seleccionado entre salmonelosis, infección por *E. coli*, infección estreptocócica y *Klebsiella pneumoniae*.
6. Un antibiótico y el medicamento de la reivindicación 1 para uso en un procedimiento para reducir la resistencia bacteriana a la terapia con antibióticos, que comprende la coadministración simultánea o sucesiva del antibiótico y el medicamento de la reivindicación 1.
7. El antibiótico y medicamento para uso según la reivindicación 6, en el que el antibiótico se administra en la dosis eficaz conocida.
8. El medicamento de la reivindicación 1 para uso en un procedimiento para mejorar la eficacia antibiótica, que comprende administrar simultánea o sucesivamente el medicamento de la reivindicación 1.
9. La combinación de la reivindicación 5, el antibiótico y medicamento para uso de la reivindicación 6 o el medicamento para uso de la reivindicación 8; en la que el antibiótico se selecciona de la clase de penicilinas, aminoglucósidos, macrólidos y oxazolidinonas.
10. El medicamento para uso de la reivindicación 8, en el que el antibiótico se administra al 50% de la dosis eficaz (ED50).
11. Un medicamento, que presenta un producto procesado tecnológicamente resultante de múltiples diluciones en serie de las sustancias madre de a) anticuerpos contra el dominio $\beta 1$ de la molécula del complejo mayor de histocompatibilidad de clase II (HLA-DRB1), b) anticuerpos contra la $\beta 2$ -microglobulina $\beta 2$ -MG), c) anticuerpos contra interferón gamma (IFN- γ) y d) anticuerpos contra CD4; en el que las múltiples diluciones en serie son diluciones decimales, centesimales y milésimales en cualquier relación de dilución; y en el que las sustancias madre están en una concentración de $0,5 \div 5,0$ mg/ml.
12. El medicamento de la reivindicación 11 para el tratamiento de enfermedades infecciosas; opcionalmente en el que la enfermedad infecciosa es (i) una infección viral; opcionalmente seleccionado de URI, influenza; (ii) una infección bacteriana; (iii) una infección mixta (iv) una infección secundaria; opcionalmente en el que la infección secundaria es neumonía viral/bacteriana.
13. El medicamento de la reivindicación 1 o la reivindicación 11, en el que el producto procesado tecnológicamente resultante de múltiples diluciones en serie de la sustancia madre de anticuerpos es una solución acuosa o acuosa-alcohólica obtenida a partir de diluciones en serie de la solución matriz de anticuerpos, con agitación repetida de cada dilución; opcionalmente en el que la solución matriz de anticuerpos se usa a una concentración de $0,5 \div 5,0$ mg/ml.
14. El medicamento de cualquiera de las reivindicaciones 11 a 13, en el que los anticuerpos son monoclonales, policlonales o naturales.
15. El medicamento de la reivindicación 11, formulado como una forma de dosificación sólida, que contiene cantidades efectivas de gránulos portadores neutros impregnados con un producto procesado tecnológicamente que resulta de múltiples diluciones en serie de las sustancias madre de anticuerpos contra HLA DRB1, anticuerpos contra $\beta 2$ -MG, anticuerpos contra IFN- γ y anticuerpos contra CD4 así como excipientes farmacéuticamente aceptables.

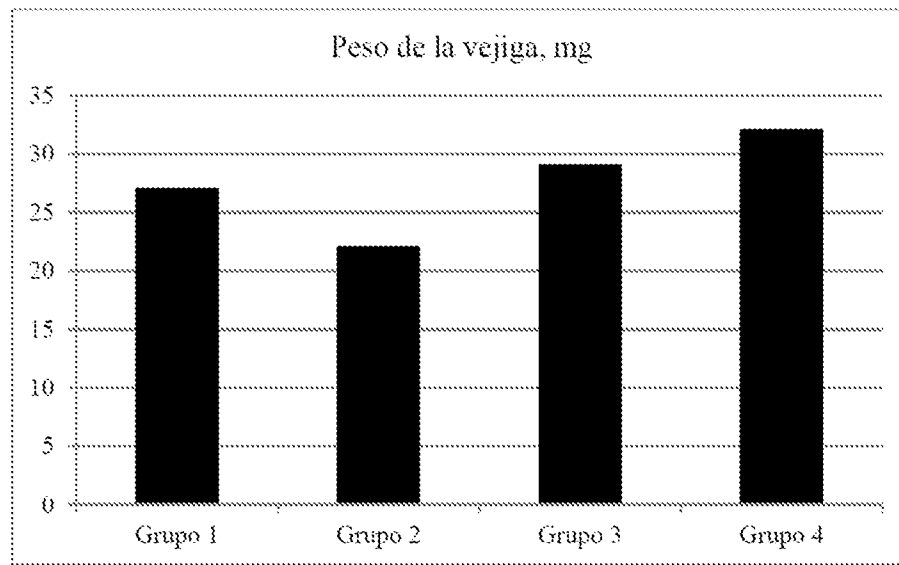


Fig. 1.

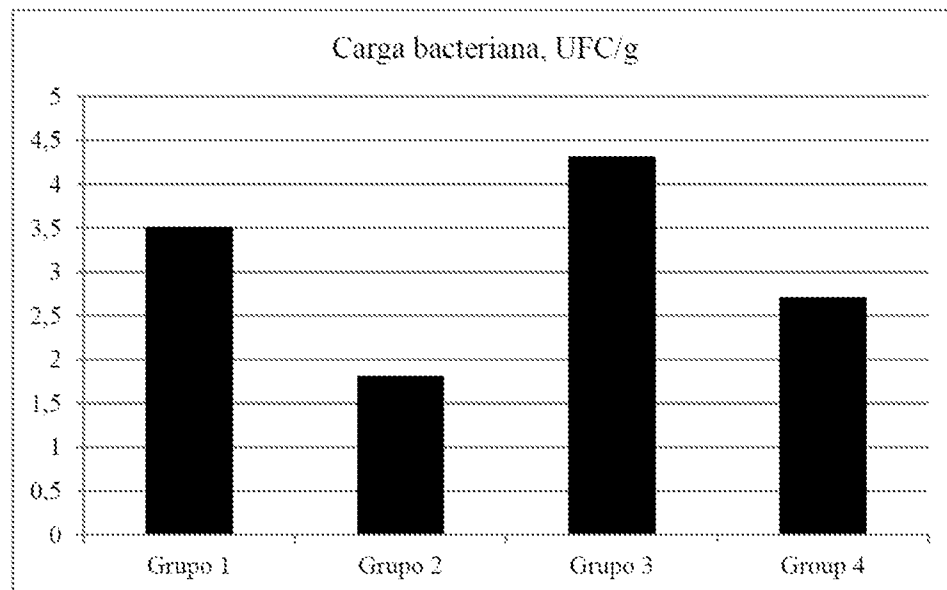


Fig. 2.

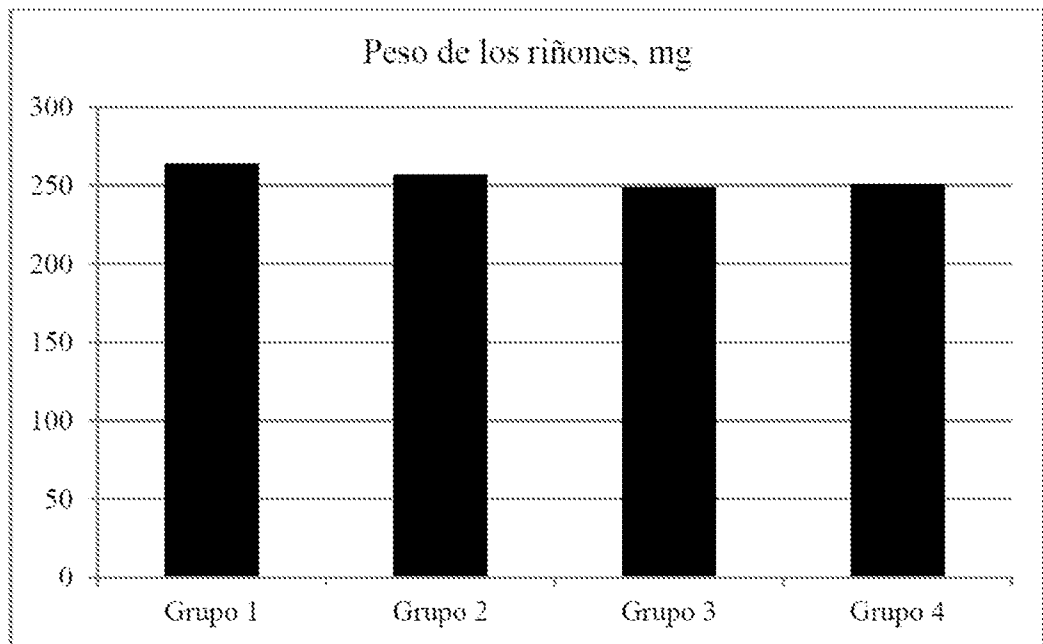


Fig. 3.

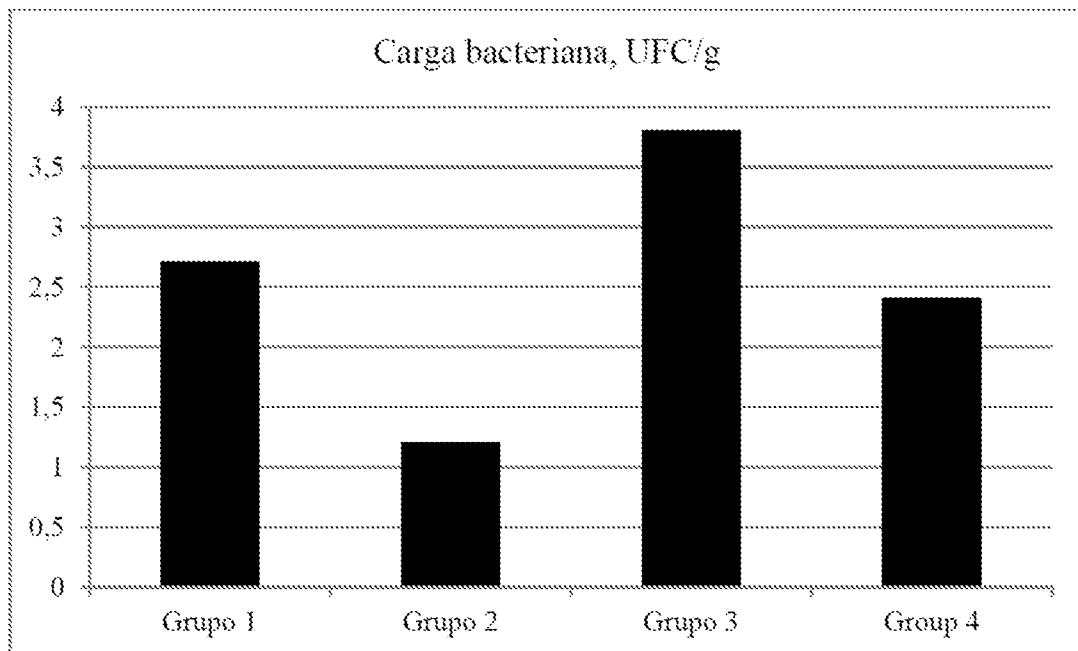


Fig. 4.

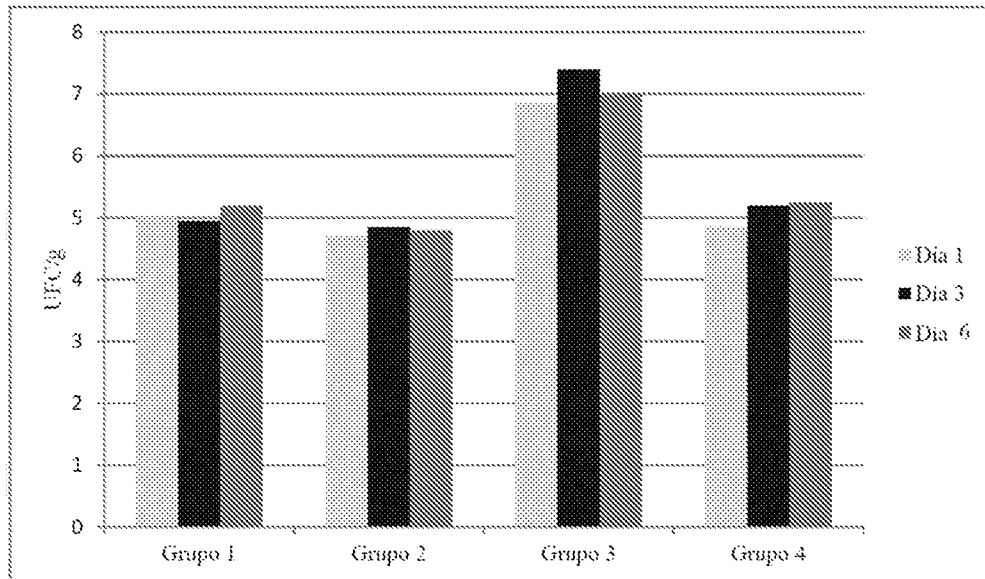


Fig. 5.

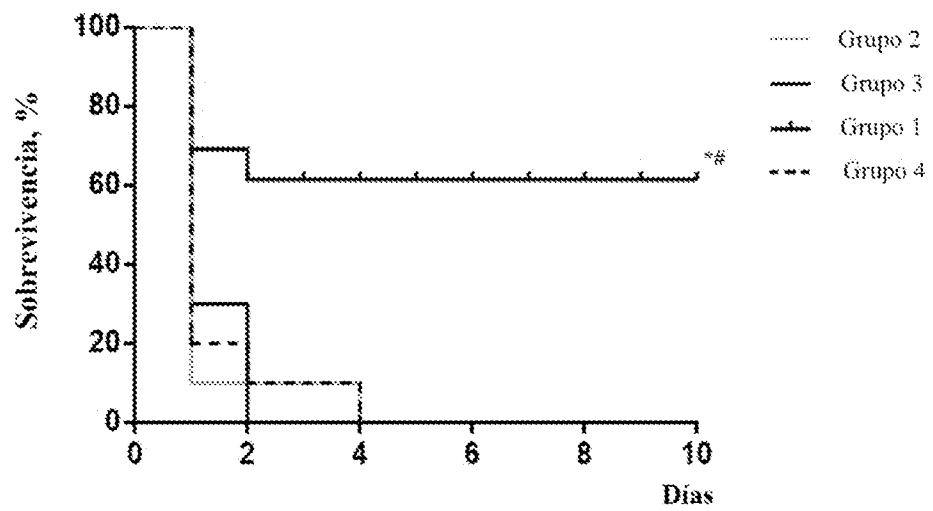


Fig. 6.

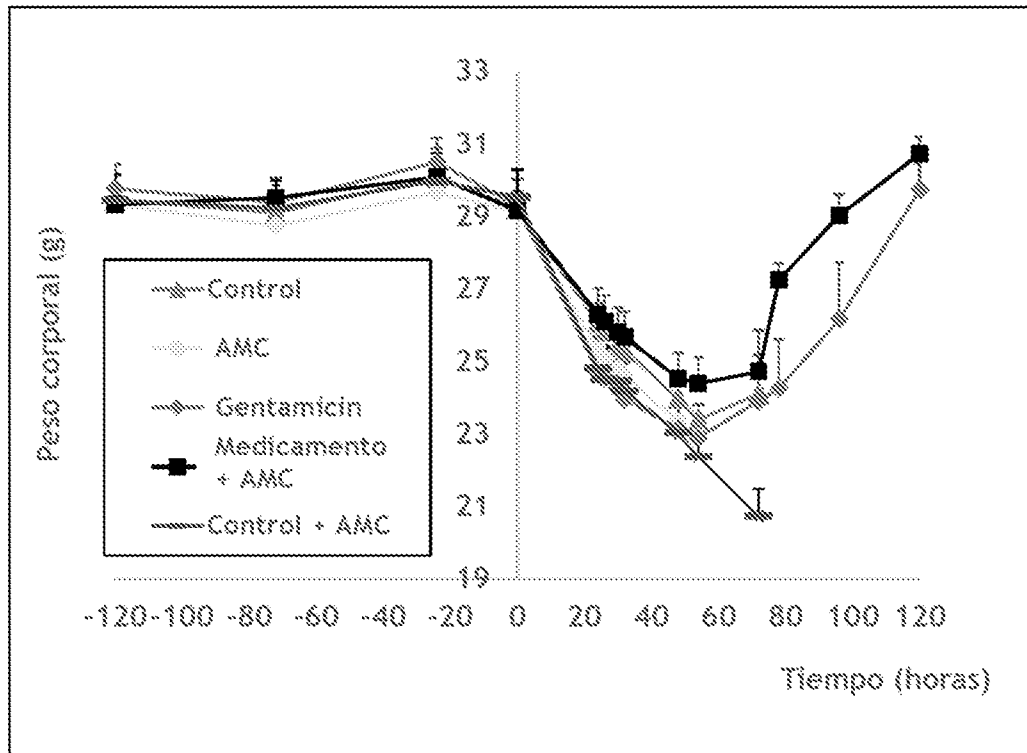


Fig. 7.

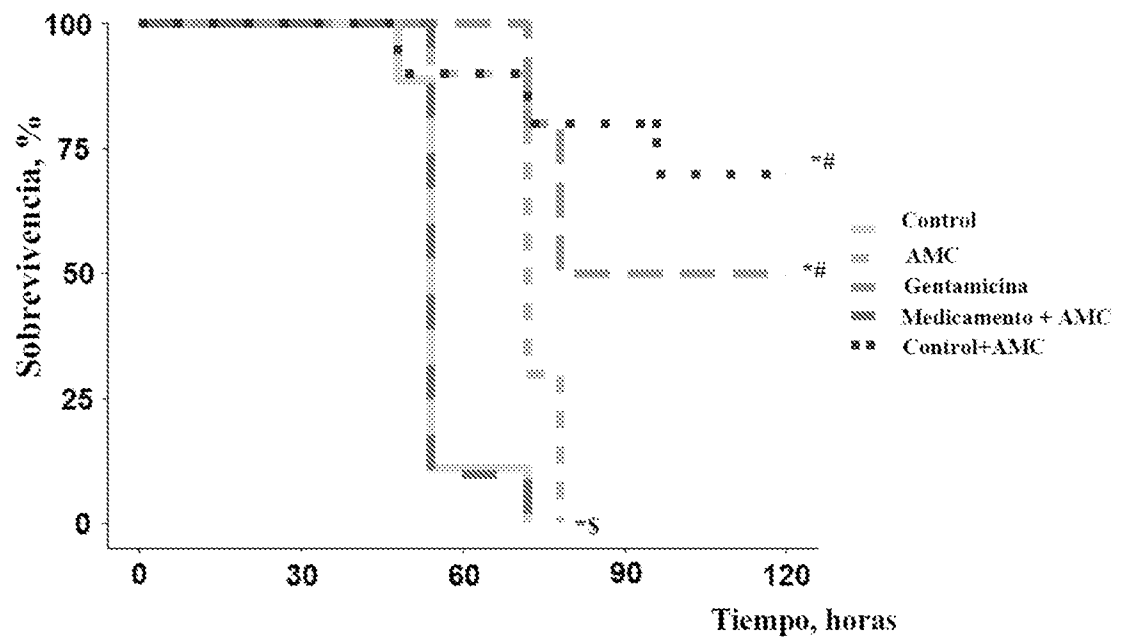


Fig. 8.

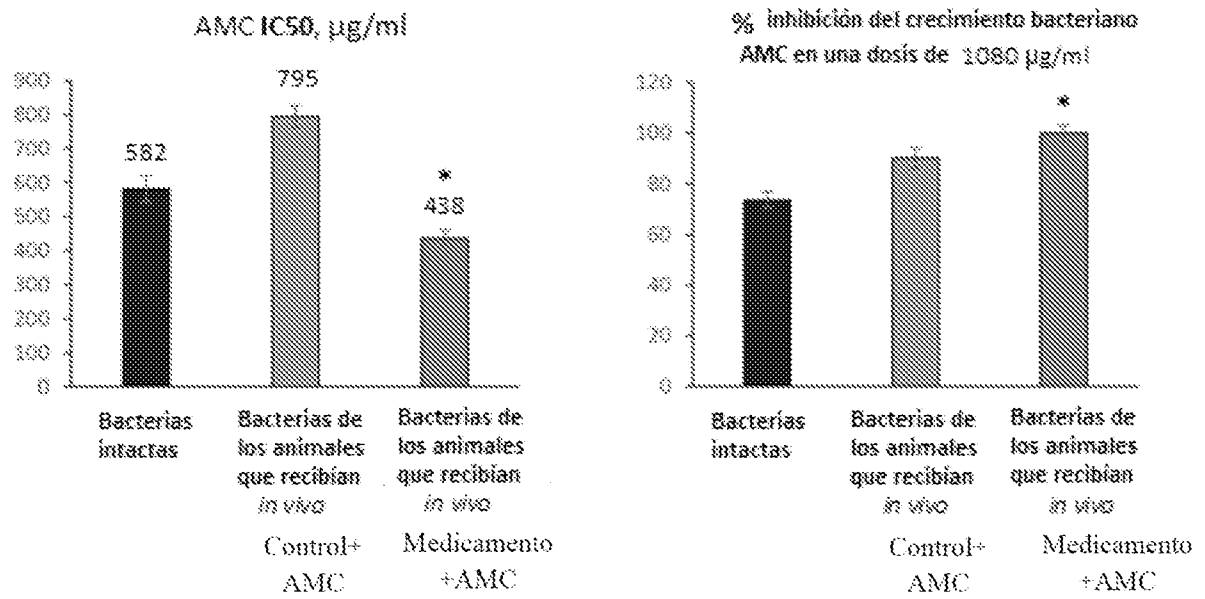


Fig. 9.

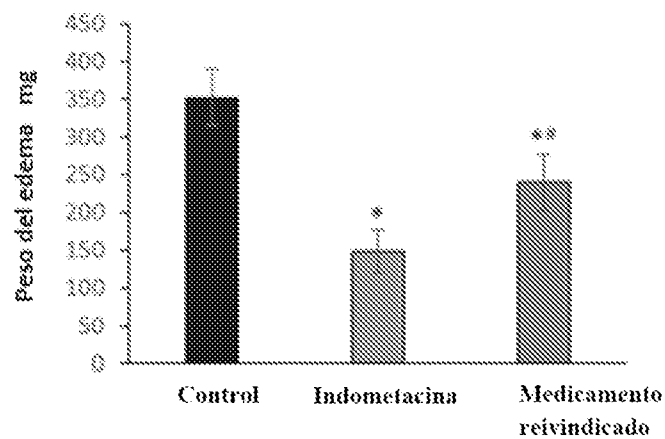


Fig. 10

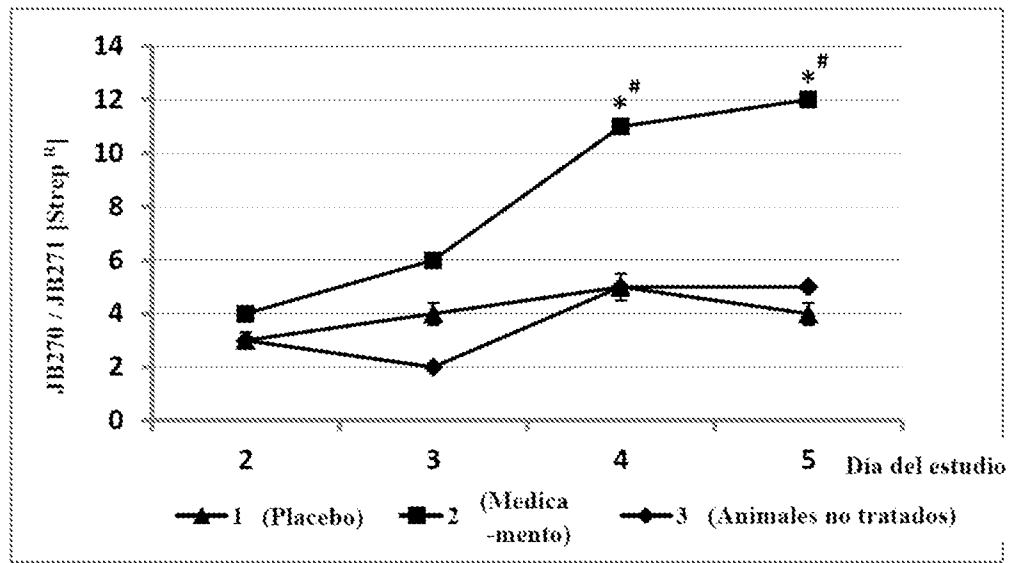


Fig. 11.

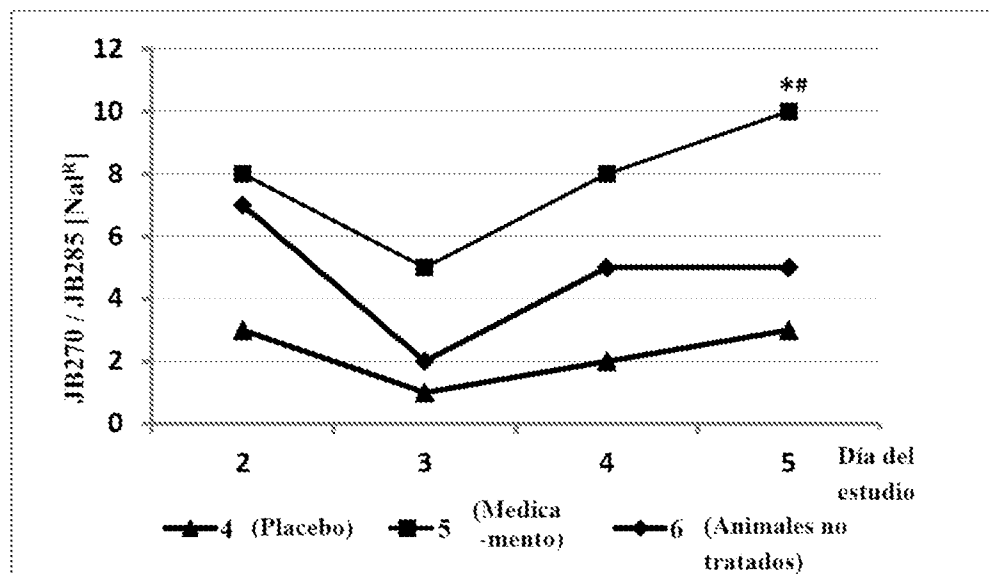


Fig. 12.

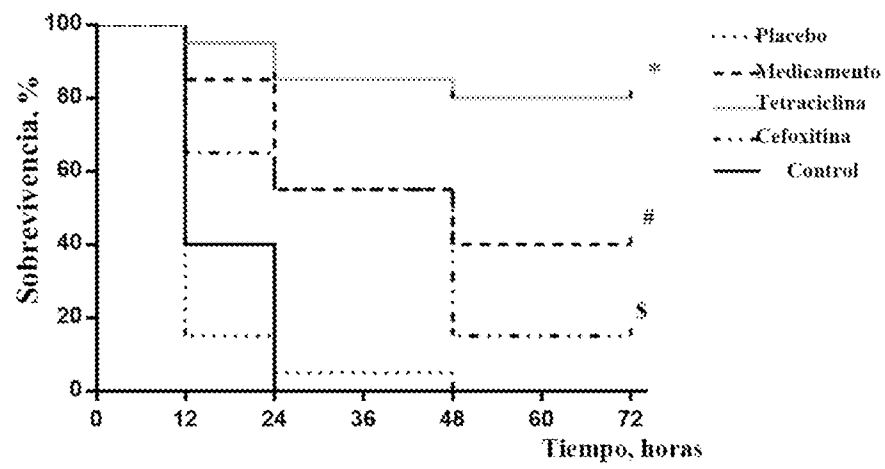


Fig. 13.

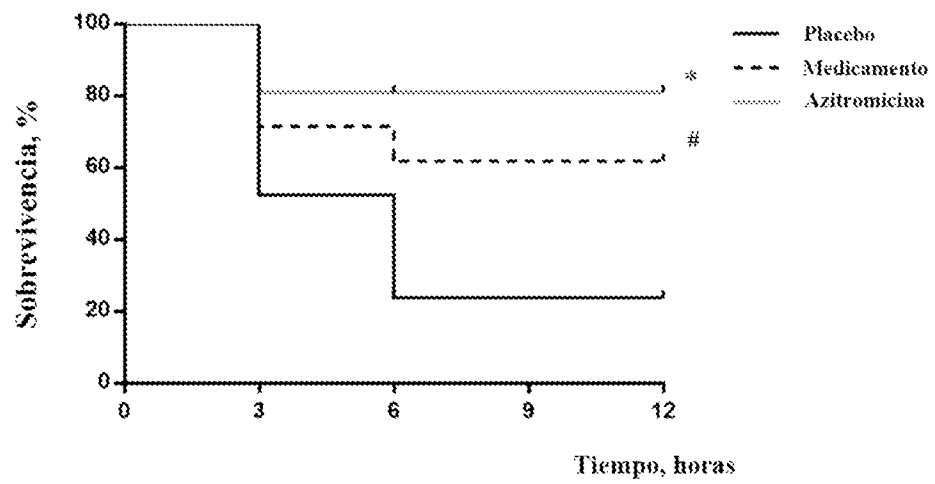


Fig. 14.

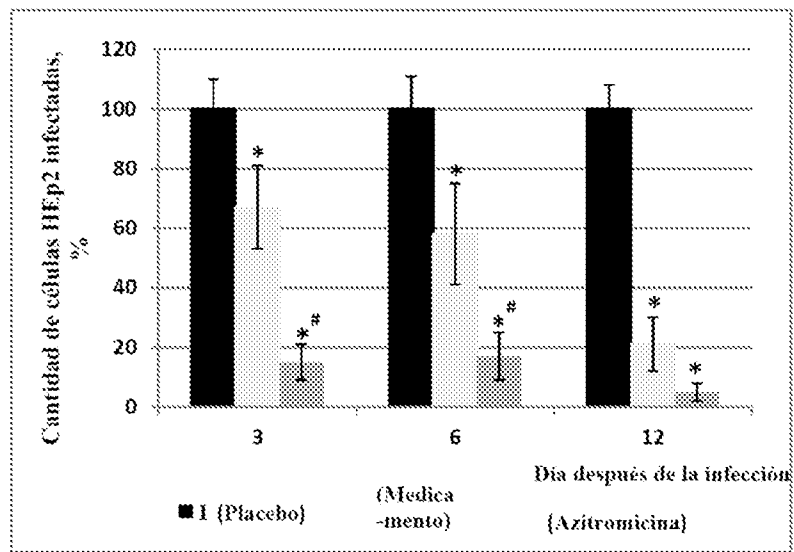


Fig. 15.

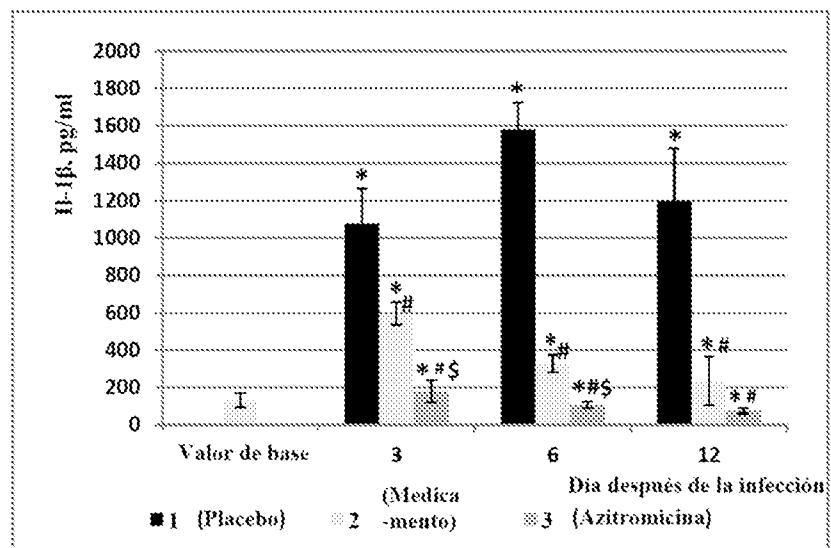


Fig. 16

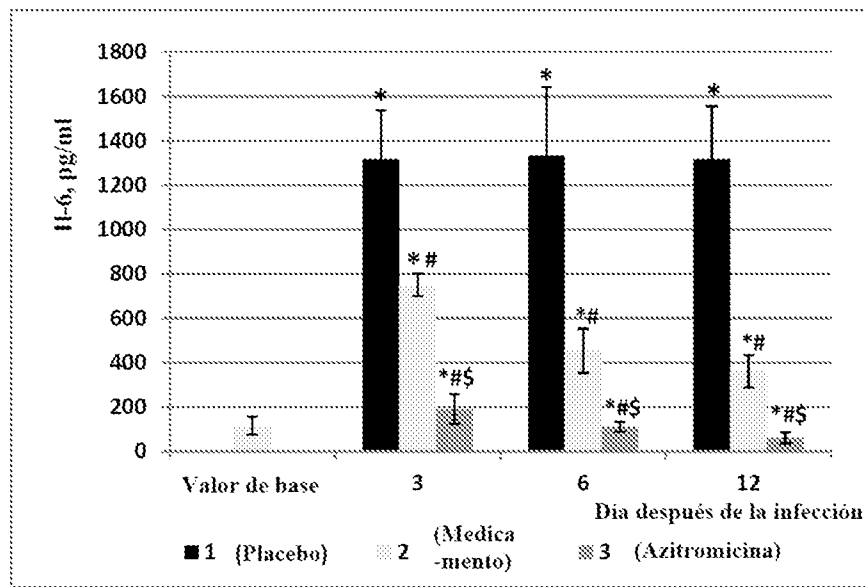


Fig. 17.

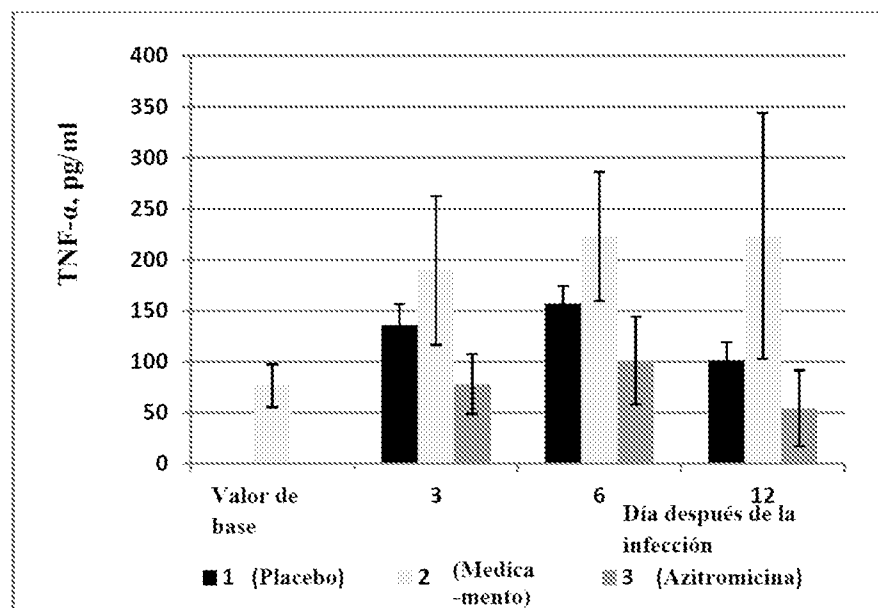


Fig. 18.

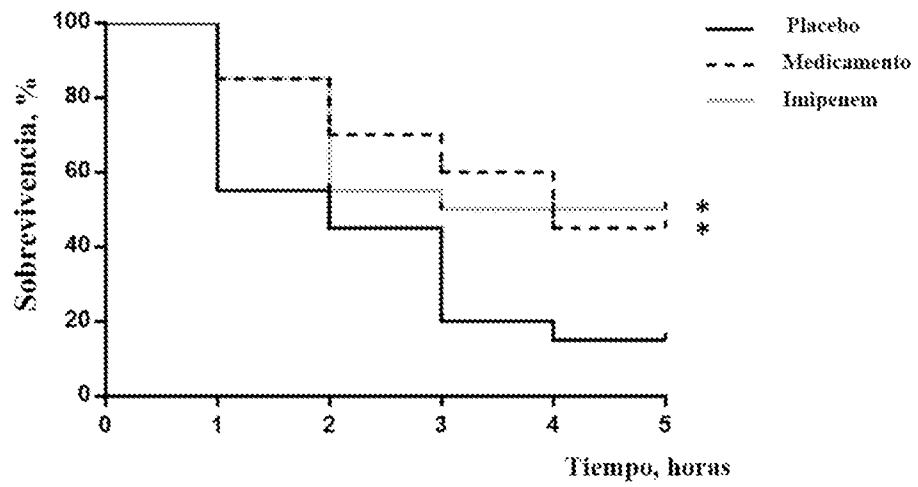


Fig. 19.

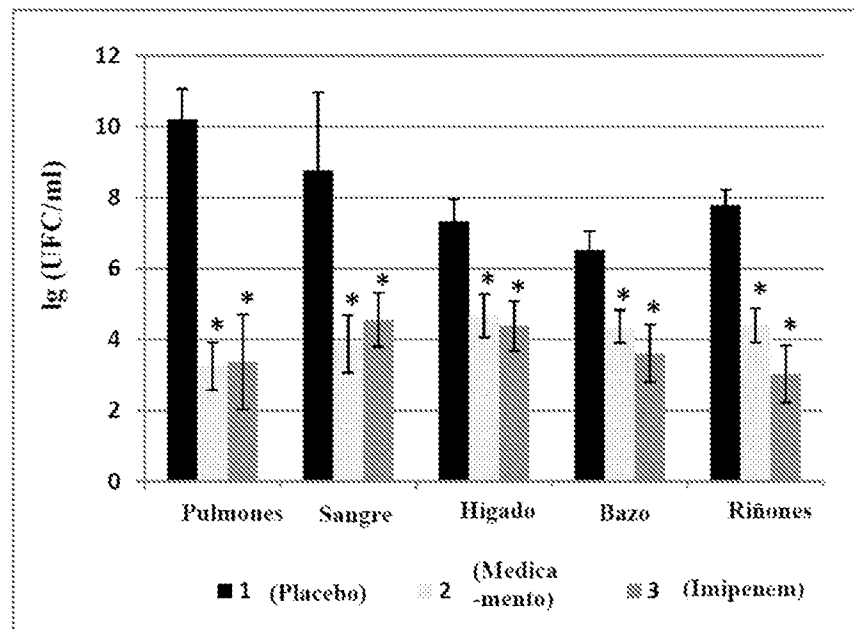


Fig. 20.

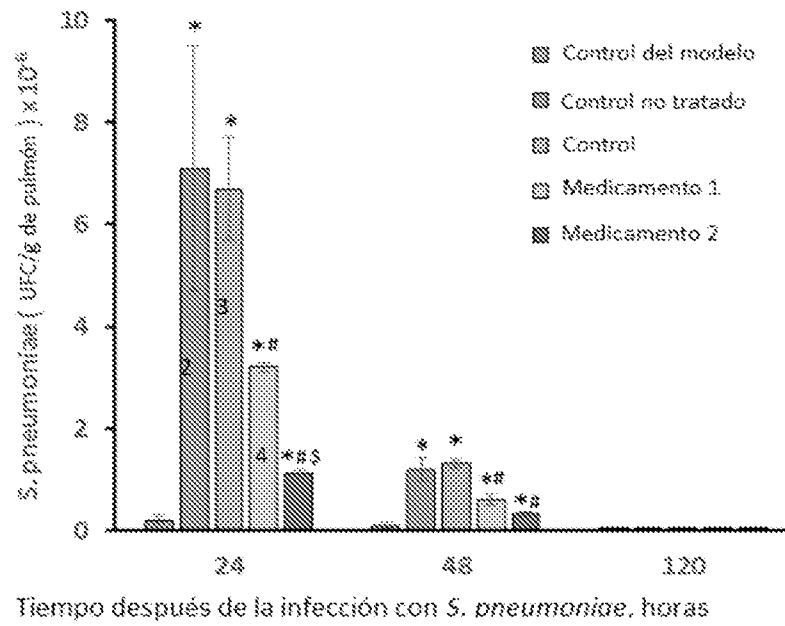


Fig. 21.

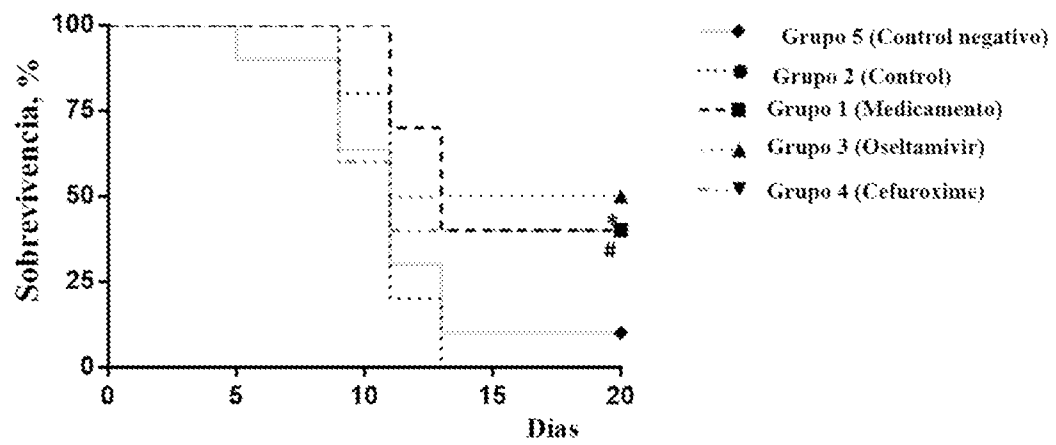


Fig. 22

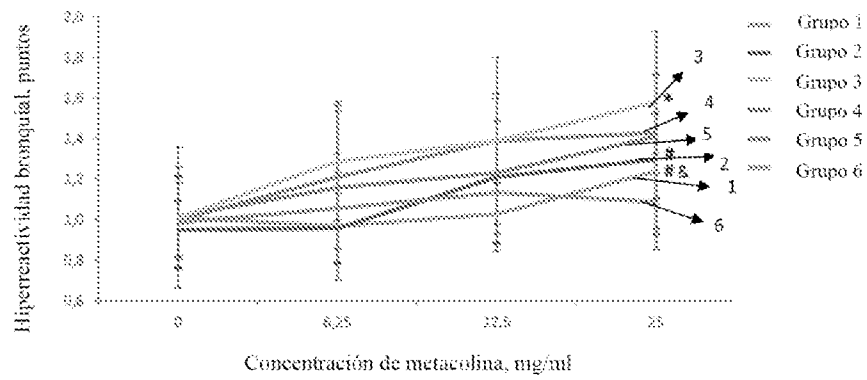


Fig. 23.

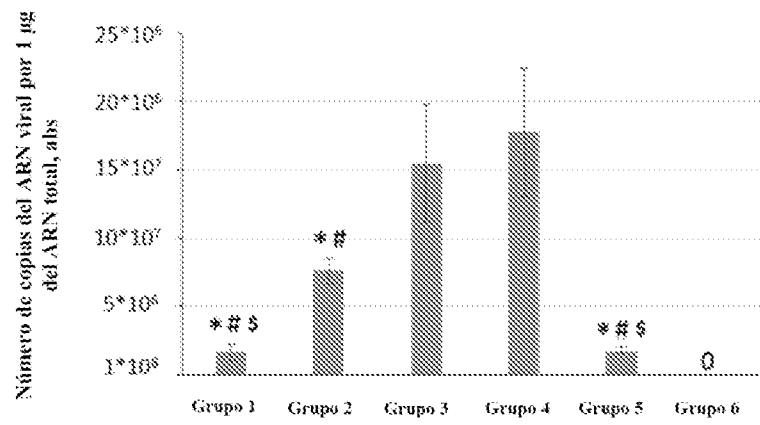


Fig. 24.

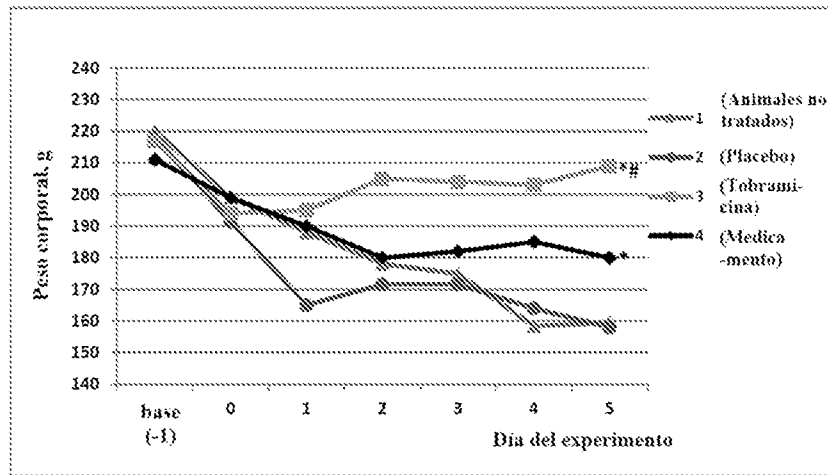


Fig. 25.

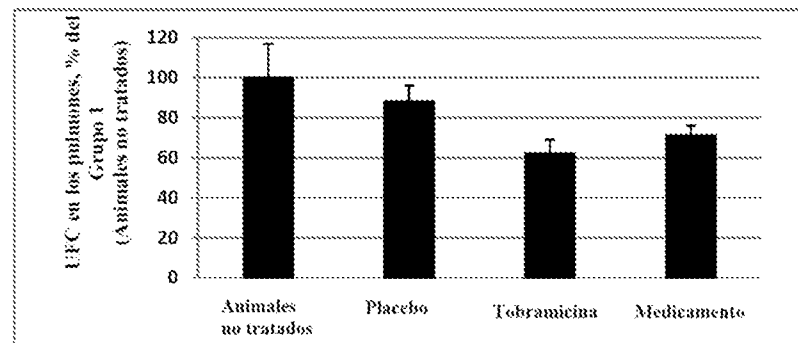


Fig. 26.

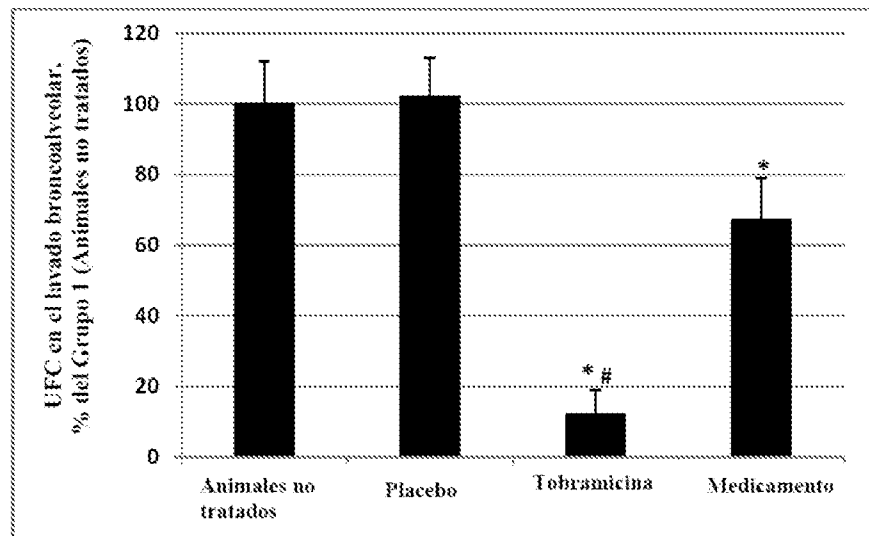


Fig. 27.

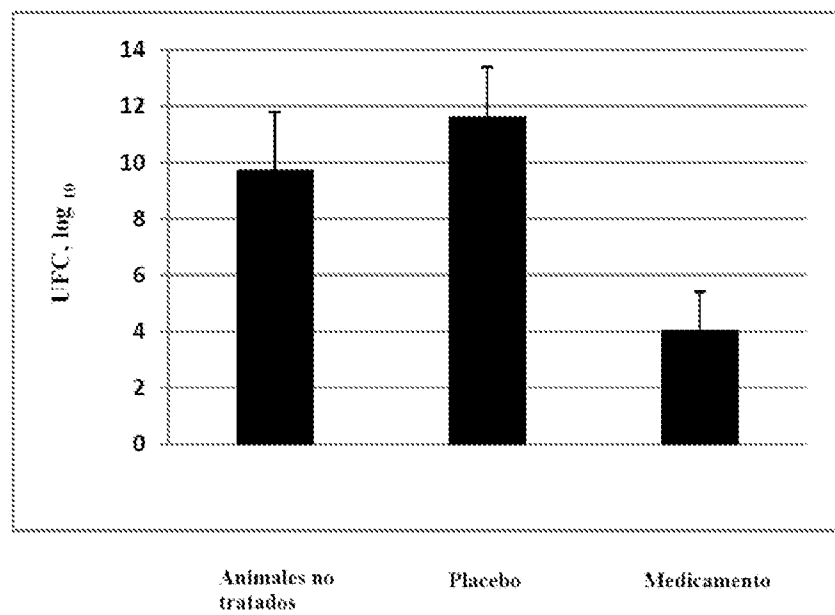


Fig. 28.

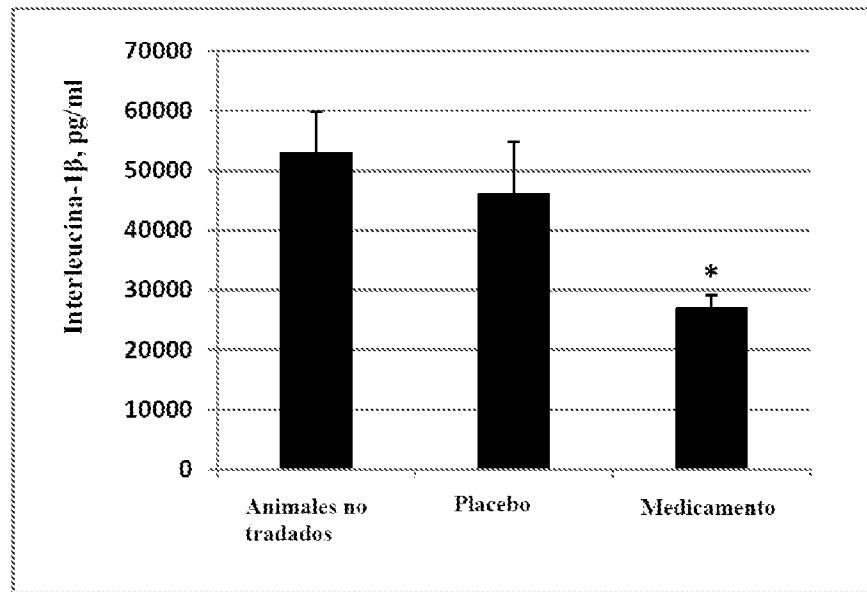


Fig. 29.

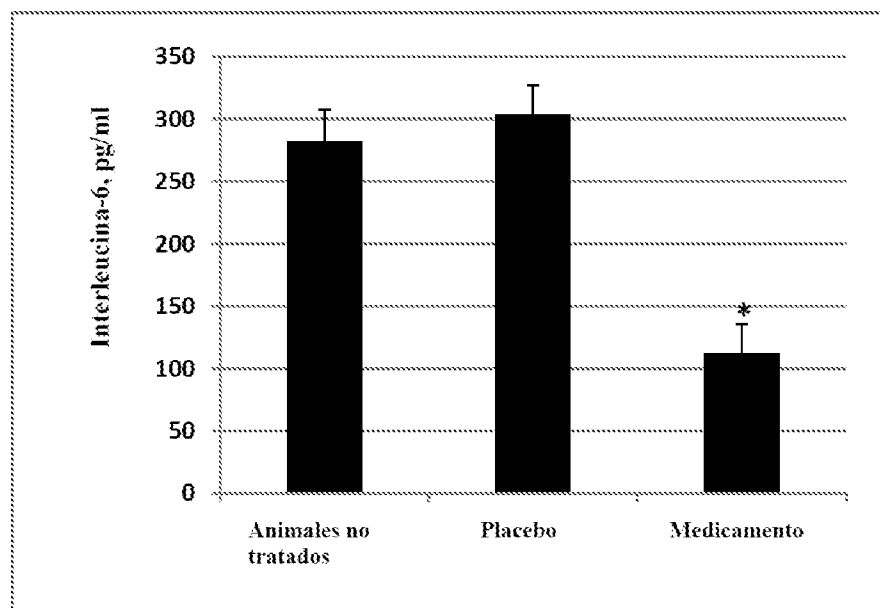


Fig. 30.

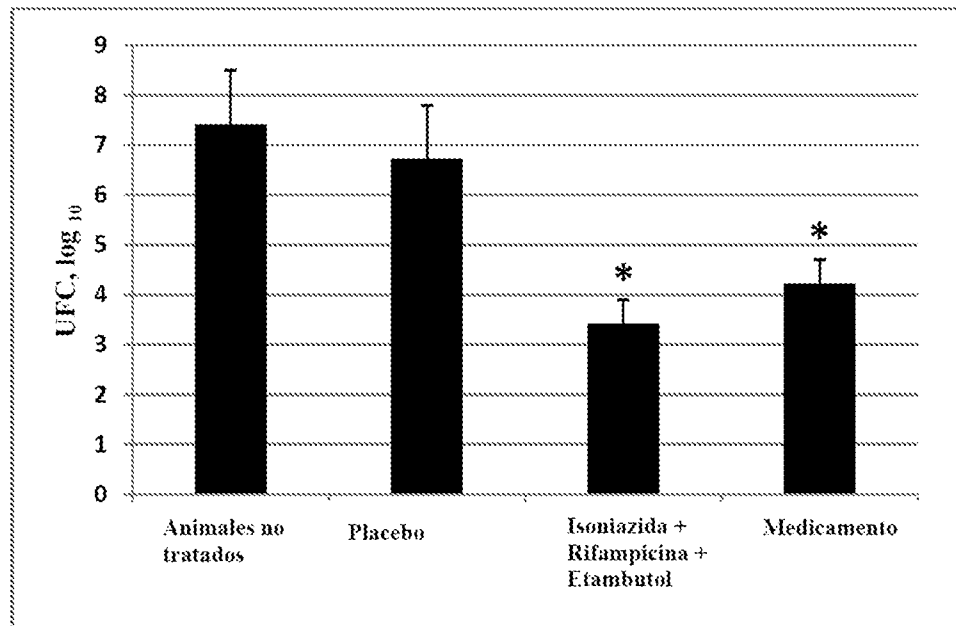


Fig. 31.

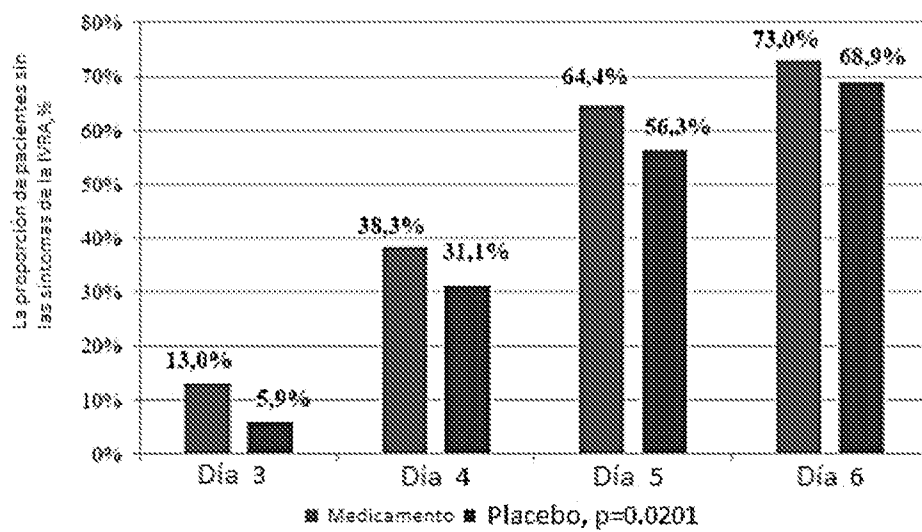


Fig. 32.