

(19)



**Евразийское
патентное
ведомство**

(11) **040931**(13) **B1**

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОМУ ПАТЕНТУ

- | | |
|--|---|
| <p>(45) Дата публикации и выдачи патента
2022.08.19</p> <p>(21) Номер заявки
201992448</p> <p>(22) Дата подачи заявки
2018.04.03</p> | <p>(51) Int. Cl. A61K 31/4178 (2006.01)
A61K 31/4164 (2006.01)
A61K 31/7048 (2006.01)
A61K 45/06 (2006.01)
A61K 9/00 (2006.01)
A61K 9/20 (2006.01)
A61K 47/06 (2006.01)
A61P 31/04 (2006.01)</p> |
|--|---|

(54) ЛЕЧЕНИЕ БАКТЕРИАЛЬНОЙ ВАГИНАЛЬНОЙ ИНФЕКЦИИ

- (31)** 17461524.5
(32) 2017.04.14
(33) EP
(43) 2020.02.29
(86) PCT/EP2018/058508
(87) WO 2018/188992 2018.10.18
(71)(73) Заявитель и патентовладелец:
АДАМЕД ФАРМА С.А. (PL)
- (72)** Изобретатель:
**Бердзик-Каларус Сильва, Суликовски
 Даниэль (PL)**
- (74)** Представитель:
Медведев В.Н. (RU)
- (56)** TSYGANENKO A. IA ET AL.: "Using cluster analysis for evaluation of sensitivity to antibiotics of pathogens isolated from women with genital inflammatory diseases", MIKROBIOLOHICHNY, AKADEMIJA NAUK UKRAINY, INSTYTUT MIKROBIOLOHII I VIRUSOLOHII IM. AKAD. D. K. ZABALOTNOHO, UKRAINE, vol. 69, no. 4, 1 July 2007 (2007-07-01), page 45, XP009500724, ISSN: 0026-3664 Retrieved from the Internet: URL: http://epo.summon.serialssolutions.com/2.0.0/link/0/eLvHCXMwtV1LT4NAEN7YePFiNBrfZg7eCAnhUeDYVK2m8WLw4KIZYLgktjTWHuof8G87sw-AJjV68ELIbqAL83X4dnfmG8aueJw7URw4dp53he17uWNH3HdtkQciSk0SIKNE4ee-nwzCxwFVaz
 CaDE3bv1oa29DWIDn7B2vXN8UGPEeb4xGtjsdf2V3FAGSvS1JAsLjRHPmu7E0UcUGh67p2BBJQfMNIWIZStZmioJEZVvgjC6vE8XLi, abstract, page 48; figure 1
 KUCHUMA Z. N.: "[Action of furagin, nystatin and levorin with bile acids on the vaginal microflora of pregnant women].", VRACHEBNOE DELO OCT 1986, no. 10, October 1986 (1986-10), pages 10-13, XP009500746, ISSN: 0049-6804 abstract
 DONDERS G.: "Diagnosis and management of bacterial vaginosis and other types of abnormal vaginal bacterial flora: A review", OBSTETRICAL AND GYNECOLOGICAL SUR., vol. 65, no. 7, 1 January 2010 (2010-01-01), pages 462-473, XP009180009, ISSN: 0029-7828, DOI: 10.1097/0GX.0B013E3181E09621 page 464 - page 465
 DE BACKER ELLEN ET AL.: "Antibiotic susceptibility of Atopobium vaginae", BMC INFECTIOUS DISEASES, BIOMED CENTRAL, LONDON, GB, vol. 6, no. 1, 16 March 2006 (2006-03-16), page 51, XP021015712, ISSN: 1471-2334, DOI: 10.1186/1471-2334-6-51 abstract
 CZEIZEL A. E. ET AL.: "POPULATION-BASED CASE-CONTROL TERATOLOGIC STUDY OF FURAZIDINE, A NITROFURAN-DERIVATIVE TREATMENT DURING PREGNANCY", CLINICAL NEPHROLOGY, DUSTRI VERLAG, NUENCHEN-DEISENHOFEN, DE, vol. 53, no. 4, 1 January 2000 (2000-01-01), pages 257-263, XP000911167, ISSN: 0301-0430, page 257
- (57)** Изобретение относится к фуразидину для вагинального применения при лечении бактериальной вагинальной инфекции. Предпочтительно, бактериальная вагинальная инфекция вызвана бактериями Gardnerella vaginalis и/или Atopobium vaginae.

B1**040931****040931 B1**

Изобретение относится к области медицины. В частности, настоящее изобретение относится к применению фуразидина для лечения бактериальных инфекций влагалища.

Бактериальный вагиноз (бактериальная вагинальная инфекция) и бактериальный вагинит чаще всего вызваны бактериальной инфекцией или имеют смешанную этиологию (бактериальная+грибковая и/или протозойная инфекция). Инфекция возникает в результате аномального роста бактерий штамма *Lactobacillus* spp. на поверхности вагинального эпителия и качественного изменения состава бактерий влагалища. Бактерии из штамма *Lactobacillus* spp., благодаря сильной адгезии к вагинальному эпителию и их способности продуцировать молочную кислоту, защищают среду влагалища от бактериальных и грибковых инфекций. В большинстве случаев бактериальный вагиноз и смешанные инфекции влагалища обусловлены анаэробными бактериями *Gardnerella vaginalis* и *Atopobium vaginae*. Интересно, что в более чем 90% случаев биопленка, сформированная на эпителиальных клетках влагалища женщин с бактериальными вагинозами, состояла как из *Gardnerella vaginalis*, так и *Atopobium vaginae*.

Изменение качественного состава бактерий влагалища может быть обусловлено несколькими факторами: неправильная гигиена, снижение уровня эстрогенов (в результате заместительной гормональной терапии), диабет, синдром приобретенного иммунодефицита, лечение антибиотиками, лечение иммунодепрессантами, лечение рака и в результате анемии.

Лечение вагинальных инфекций и воспалений бактериального и смешанного происхождения, вызванных бактериями *Gardnerella vaginalis* и *Atopobium vaginae*, основано на пероральном введении метронидазола (500 мг 2 раза в день в течение 7 дней или в виде однократной дозы 2 г). Можно также использовать перорально клиндамицин (300 мг 2 раза в день в течение 7 дней), 2% вагинальный крем клиндамицина, наносимый один раз в сутки (на ночь) в течение 7 дней, или 0,75% вагинальный гель метронидазола, вводимый один раз в сутки (на ночь) в течение 5 дней.

Однако применение этих препаратов часто сопровождается некоторыми побочными эффектами, обычно возникающими при лечении антибиотиками. Кроме того, стандартное лечение пероральным и/или вагинальным клиндамицином и/или метронидазолом связано с повышенным риском рецидивов инфекций и воспалений, происходящих почти в 30% случаев. Это связано с нарушением микрофлоры влагалища вследствие негативного воздействия на рост *Lactobacillus* spp.

Также известно применение вагинальной мази, включающей нифуратель, для лечения вагинальных инфекций. Преимуществом использования нифуратель является его высокая активность в отношении *Gardnerella vaginalis* и *Atopobium vaginae*. Нифуратель как правило, хорошо переносится, но его активность против *Gardnerella vaginalis* меньше, чем, например, активность клиндамицина.

Следовательно, желательно обеспечить соединения с преимущественным ингибированием роста бактерий *Gardnerella vaginalis* и *Atopobium vaginae* с возможным одновременным минимальным воздействием на активность *Lactobacillus* spp., которые являются подходящими для применения при лечении бактериального вагиноза.

Авторы настоящего изобретения неожиданно обнаружили, что фуразидин проявляет очень высокую активность против *Gardnerella vaginalis* и *Atopobium vaginae*, что сопоставимо с активностью клиндамицина. В то же время фуразидин не вызывает истощения естественной флоры *Lactobacillus* spp. так сильно, как клиндамицин.

Фуразидин (Фурагин, 1-[3-(5-нитро-2-фурил)-2-пропенилиденамино-имидазолидин-2,4-дион] является старым лекарственным средством, используемым главным образом при инфекциях, вызываемых *Staphylococcus*, *Streptococcus* и анаэробными бактериями. Благодаря способности накапливаться в моче, фуразидин используют для перорального лечения острых и хронических инфекций мочевыводящих путей, инфекций предстательной железы, рецидивирующих инфекций мочевыводящих путей, после операций на мочевыводящих путях и воспаления простаты. До сих пор вагинальное применение фуразидина остается неизвестным.

В публикации Tsyganenko A. et al. "Use of methods of cluster analysis for sensitivity to antibiotics of causative agents of inflammatory diseases in internal female genital organs" *Mikrobiolohichny, Akademiya Nauk Ukrainy, Institut Mikrobiolohii i Virusolohii, Im. Akad., D.K. Zabalotnoho, Ukraine, vol. 69, no. 4, p. 45*, сообщается о чувствительности некоторых агентов при воспалительных заболеваниях женских половых органов. Однако в документе ничего не говорится о вагинальном применении этих агентов. Кроме того, он не раскрывает активность фуразидина ни в отношении *Gardnerella vaginalis*, ни в отношении *Atopobium vaginae*.

Кроме того, Kuchma Z.M. "[Action of furagin, nystatin and levorin with bile acids on the vaginal microflora of pregnant women]." *Vrachebnoe Delo Oct. 1986, no. 10 p. 10-13* отмечает, что некоторые желчные кислоты усиливают действие фуразидина (фурагина) на стафилококки и эшерихию. В этом документе не сообщается о вагинальном применении фуразидина, а также ничего не говорится о лечении бактериального вагиноза одним фуразидином или комбинацией фуразидина и желчных кислот.

Соответственно, настоящее изобретение относится к вагинальному применению фуразидина для лечения бактериальной вагинальной инфекции.

Термин "вагинальное применение фуразидина для лечения бактериальной вагинальной инфекции" означает, что фуразидин должен применяться внутри влагалища. Термин "вагинальное применение" сле-

дует понимать как "интравагинальное применение".

В одном варианте осуществления бактериальная вагинальная инфекция вызвана *Gardnerella vaginalis*, а в другом варианте осуществления бактериальная вагинальная инфекция вызвана *Atopobium vaginae*. Еще в одном варианте осуществления бактериальная вагинальная инфекция вызвана *Gardnerella vaginalis* или *Atopobium vaginae*.

Еще в одном варианте осуществления бактериальная вагинальная инфекция представляет собой инфекцию смешанного типа. Предпочтительно, в одном варианте осуществления бактериальная вагинальная инфекция смешанного типа вызвана как *Gardnerella vaginalis*, так и *Atopobium vaginae*. Следует подчеркнуть, что *Gardnerella vaginalis* и *Atopobium vaginae* являются наиболее частой причиной бактериальных вагинальных инфекций.

В одном предпочтительном варианте осуществления вагинальная бактериальная инфекция представляет собой рецидивирующую вагинальную бактериальную инфекцию.

Bradshaw, C. S. et al. в *The Journal of Infectious Diseases*, Vol. 194, Issue 6, 15 September 2006, p. 828-836 сообщили, что *G. vaginalis* обнаружен у 100%, а *A. vaginae* обнаружен у 75% женщин с рецидивирующим бактериальным вагинитом. Соответственно, применение фуразидина в таких случаях рецидивирующих бактериальных инфекций особенно выгодно.

Следовательно, в одном воплощении рецидивирующая бактериальная вагинальная инфекция вызвана *G. vaginalis*. В другом варианте осуществления рецидивирующая бактериальная вагинальная инфекция вызвана *A. vaginae*. В другом варианте осуществления рецидивирующая бактериальная вагинальная инфекция вызвана *G. vaginalis* и *A. vaginae*. Предпочтительно, рецидивирующая бактериальная вагинальная инфекция вызвана *G. vaginalis*, более предпочтительно *G. vaginalis* и *A. vaginae*.

Термин "рецидивирующая инфекция" означает, что инфекция возникает снова или повторно после предшествующего лечения, такого как, например, метронидазолом (например, перорально) или клиндамицином (например, перорально или вагинально).

В еще одном варианте осуществления вагинальная бактериальная инфекция сопровождается грибковой инфекцией. Этот бактериальный/грибковый смешанный тип является очень распространенным типом вагинальной инфекции, так как изменение состава бактерий влагалища, вызванное аномальным ростом штамма *Lactobacillus spp.*, также приводит к неконтролируемому и патологическому росту эндогенных *Candida albicans* и/или *Candida glabrata*. Таким образом, в одном варианте осуществления грибковая инфекция вызвана *Candida albicans*, в другом варианте осуществления грибковая инфекция вызвана *Candida glabrata*, и еще в одном варианте осуществления грибковая инфекция вызвана *Candida albicans* и *Candida glabrata*.

Фуразидин можно вводить в любой из известных фармацевтических композиций, используемых вагинально. Такая фармацевтическая композиция конечно будет содержать, помимо фуразидина в качестве активного соединения, вагинально приемлемый растворитель.

Фармацевтические композиции, подходящие для лечения инфекций, вызванных указанными выше бактериями, могут быть в твердой, полутвердой или жидкой форме и могут принимать форму таблеток, капсул, вагинальных суппозиториях, суппозиториях или крема, мази, геля, лосьона, пены, раствора, суспензии, тонкой пленки или липосомальной композиции для нанесения или для глубокого введения во влагалище, при этом содержание фуразидина составляет от 1 до 1000 мг на разовую дозу, более предпочтительно от 10 до 500 мг на разовую дозу, наиболее предпочтительно от 40 до 300 мг на разовую дозу. Специалист в данной области сможет выбрать правильную дозировку в зависимости от выбранного препарата. Такие препараты можно вводить инфицированным пациентам в соответствии с общепринятыми методами; в соответствии с предпочтительным вариантом осуществления их вводят на регулярной основе, предпочтительно ежедневно.

Фармацевтические композиции могут быть получены в соответствии с общепринятыми способами и содержат фармацевтически и вагинально приемлемый носитель, которые могут быть образованы с использованием фармацевтически и вагинально приемлемых эксципиентов, адъювантов и/или носителей и также могут содержать, в комбинации, одно или несколько активных веществ с комплементарностью или, в любом случае, полезной активностью. Вагинально приемлемые носители представляют собой носители, которые можно использовать для вагинальных форм и которые не токсичны, не раздражают и которые легко можно использовать. Руководство по получению таких фармацевтических композиций и их форм можно найти в *Farmacja Stosowana. Podręcznik dla studentów farmacji*. Ed. S. Janicki, A. Fiebiga, M. Sznitowska; Ed. IV, Wydawnictwo Lekarskie PZWL, 2008 Warszawa.

Активные вещества, которые можно использовать в комбинации с фуразидином по настоящему изобретению включают, как указано выше, но не ограничиваются этим, противогрибковые средства, антибактериальные средства, антисептические средства, pH модификаторы, пробиотики; такие активные ингредиенты можно вводить вместе с фуразидином (то есть они могут, например, содержаться в той же композиции, что и фуразидин), или их можно вводить отдельно от фуразидина или через небольшой промежуток времени.

Примеры противогрибковых средств включают 1-гидрокси-2-пиридоновые соединения и их соли, например, циклопирокс, рилопирокс, пироктон, циклопироксоламин; производные имидазола и их соли,

например, клотримазол, эконазол, изоконазол, кетоконазол, миконазол, тиоконазол, бифоназол, фентиконазол и оксиконазол; полиеновые производные и их соли, например, нистатин, натамицин и амфотерицин; производные аллиламинов и их соли, например, нафтифин и тербинафин; производные триазола и их соли, например, флуконазол, итраконазол, терконазол и вориконазол; производные морфолина и их соли, например аморфолин и морфолины, раскрытые в патенте США № 5120530, включенном в настоящую заявку посредством ссылки; гризеофульвин и родственные соединения, например гризеофульвин; ундециленовую кислоту и ее соли, в частности соли ундециленовой кислоты с цинком и кальцием; толнафат и его соли; и флуцитозин и его соли.

Примеры антибактериальных средств включают метронидазол, клиндамицин, макролидные антибиотики, такие как эритромицин, олеандомицин, флуритромицин, азитромицин и кларитромицин и их соли, бета-лактамы антибиотики, такие как пенициллин, ампициллин, амоксициллин и их соли, фторхинолоны, такие как офлоксацин, норфлоксацин, ципрофлоксацин и их соли, аминогликозиды, такие как гентамицин, амикацин, канамицин, неомицин и их соли.

Примеры антисептических средств включают бензалконийхлорид, триклозан, салициловую кислоту, бензойную кислоту и их соли, пара-гидроксibenзойную кислоту и ее сложные эфиры.

Примеры pH модификаторов включают аскорбиновую кислоту, уксусную кислоту, молочную кислоту и их соли.

Примеры пробиотиков включают виды рода *Lactobacillus*.

Как указано выше, фуразидин можно использовать для лечения бактериальной вагинальной инфекции смешанного типа.

Таким образом, в этом случае в одном варианте осуществления фармацевтическая композиция предпочтительно включает противогрибковое средство. Исследования антимикробной активности фуразидина неожиданно показали синергизм между фуразидином и противогрибковым средством.

Предпочтительно противогрибковое средство выбрано из нистатина, клотримазола, эконазола, миконазола, терконазола, натамицина и циклопироксоламина. Эти противогрибковые средства особенно рекомендуются в некоторых руководствах (см., Clinical Practice Guideline for the Management of Candidiasis: 2016 Update by the Infectious Diseases Society of America Clinical Infectious Diseases 2016; 62(4):el-50) и активны в относительно низких дозах. В особенно предпочтительном варианте осуществления противогрибковое средство представляет собой нистатин. Заявитель обнаружил, что комбинация фуразидина с нистатином проявляет синергетический эффект против всех исследованных бактерий. Это позволит снизить общую дозу фуразидина в фармацевтической композиции по сравнению с фармацевтической композицией, содержащей только фуразидин, для достижения той же эффективности при лечении инфекций смешанного типа, особенно бактериального и грибкового происхождения, но также смешанного бактериального происхождения (*Gardnerella vaginalis*+*Atopobium vaginae*). Заявитель также обнаружил, что фуразидин проявляет синергетический эффект с нистатином против *Candida glabrata*. Следует подчеркнуть, что ни один из других нитрофуранов не действует синергически против *Candida glabrata*. Следовательно, опять же, это создает возможность для снижения общей дозы противогрибкового средства в фармацевтической композиции, сохраняя такую же эффективность при лечении инфекций смешанного типа с *Candida glabrata*.

В другом варианте осуществления фармацевтическая композиция предпочтительно включает антибактериальное средство. Исследования антимикробной активности фуразидина неожиданно показали синергизм между фуразидином и антибактериальным средством.

Предпочтительно антибактериальное средство выбрано из метронидазола, клиндамицина, макролидных антибиотиков, таких как эритромицин, олеандомицин, флуритромицин, азитромицин и кларитромицин и их соли, бета-лактамы антибиотиков, таких как пенициллин, ампициллин, амоксициллин и их соли, фторхинолонов, таких как офлоксацин, норфлоксацин, ципрофлоксацин и их соли, аминогликозидов, таких как гентамицин, амикацин, канамицин, неомицин и их соли. Более предпочтительно антибактериальное средство выбрано из метронидазола и клиндамицина. В особенно предпочтительном варианте осуществления антибактериальное средство представляет собой метронидазол. Заявитель обнаружил, что комбинация фуразидина с метронидазолом проявляет синергизм против всех бактериальных штаммов, а также всех исследованных дрожжеподобных грибов.

Применение и фармацевтические композиции по настоящему изобретению теперь будут более полно описаны с помощью следующих примеров.

Примеры

1. Анализ противомикробной активности.

Анализ противомикробной активности фуразидина, нитрофурантоина, нифурателя, клиндамицина, метронидазола и нистатина осуществляли для определения минимальной концентрации, которая ингибирует рост микроорганизмов, т.е. значений минимальной ингибирующей концентрации (MIC), с использованием метода, описанного ниже. Штаммы, использованные в исследовании, представляли собой *Gardnerella vaginalis* ATCC 14018, *Atopobium vaginae* ATCC BAA 55, *Candida albicans* ATCC 90028 и *Candida glabrata* ATCC 2001.

Исходный раствор для всех соединений составлял 10000 мкг/мл, из которого получали 15 серийных

разведений (500 мкг/мл, 250 мкг/мл, 125 мкг/мл, 62,5 мкг/мл, 31,25 мкг/мл, 15,6 мкг/мл, 7,8 мкг/мл и 3,9 мкг/мл, 1,95 мкг/мл, 0,98 мкг/мл, 0,49 мкг/мл, 0,24 мкг/мл, 0,12 мкг/мл, 0,06 мкг/мл и 0,03 мкг/мл).

Метод макроразведений для бактерий в твердой среде.

Метод серийных разведений в твердой среде осуществляли для определения МИС для фуразидина, нитрофурантоина, нифурателя, клиндамицина, метронидазола и нистатина для бактерий. Для проведения анализа использовали чистую 48-часовую культуру эталонного штамма, из которой получали бактериальную суспензию с плотностью 1,0 МакФарланд в стерильном физиологическом растворе. Суспензию высевали на агаровую среду Шедлера, дополненную 5% овечьей крови (Becton Dickinson) и испытываемым соединением в соответствующей концентрации. После инкубации считывали значение МИС. Рост колоний на чашке показал отсутствие активности тестируемого соединения в тестируемой концентрации. В качестве значения МИС была взята последняя самая низкая концентрация, при которой рост микробов отсутствовал. Используемые условия инкубации показаны в табл. 1.

Синергетическое действие выбранных соединений определяли, используя в 2 раза более низкие концентрации выбранного соединения, чем полученная МИС. Отсутствие бактериального роста на чашке оценивали как синергетическое действие.

Таблица 1. Условия инкубации для штаммов, используемых в исследовании

Штамм	Условия инкубации	Время инкубации
<i>Gardnerella vaginalis</i> ATCC 14018	микроаэрофильные, 37°C	72 часа
<i>Atopobium vaginae</i> ATCC BAA 55	анаэробные, 37°C	7 дней

Метод макроразведений для дрожжеподобных грибов в жидкой среде.

Жидкую среду RPMI 1640 (Sigma-Aldrich) использовали для грибов видов *Candida albicans* ATCC 90028 и *Candida glabrata* ATCC 2001, в которой получали 15 серийных разведений в диапазоне 500 мкг/мл - 0,03 мкг/мл.

Из чистой 24-часовой культуры на твердой среде Сабура получали грибковую суспензию, имеющую плотность 0,5 по МакФарланду, в стерильном физиологическом растворе. Затем суспензию разбавляли и вводили в среду RPMI 1640 с получением конечных концентраций грибов 10⁵ КОЕ/мл. Инкубацию осуществляли в течение 24 ч в аэробных условиях при 37°C. Рост колоний на чашке показал отсутствие активности тестируемого соединения в тестируемой концентрации. В качестве значения МИС была взята последняя самая низкая концентрация, при которой рост микробов отсутствовал.

Синергетическое действие выбранных соединений определяли, используя в 2 раза более низкие концентрации выбранного соединения, чем полученная МИС. Отсутствие грибкового роста на чашке оценивали как синергетическое действие.

Следующие таблицы обобщенно представляют и сравнивают результаты.

Таблица 2. Значения МИС для отдельных соединений

Штамм	Значения МИС [мг/л]					
	Фуразидин	Нитрофурантоин	Нифуратель	Клиндамицин	Метронидазол	Нистатин
<i>Gardnerella vaginalis</i> ATCC 14018	0,49	0,98	1,95	1,95	250	500
<i>Atopobium vaginae</i> ATCC BAA 55	< 0,03	1,95	3,9	< 0,03	0,98	500
<i>Candida albicans</i> ATCC 90028	500	500	> 500	ND	500	1,98
<i>Candida glabrata</i> ATCC 2001	500	500	500	ND	250	1,98

ND - не определено;

Таблица 3. Синергизм выбранных нитрофуранов с метронидазолом и нистатином против штаммов *Gardnerella vaginalis*, *Lactobacillus paracasei*, *Atopobium vaginae*, *Candida albicans*, *Candida glabrata* ("+" синергизм, "-" отсутствие синергизма)

<i>Gardnerella vaginalis</i> ATCC 14018	Тестируемое соединение (концентрация)	Фуразидин (0,25 мг/л)	Нитрофурантоин (0,5 мг/л)	Нифуратель (0,98 мг/л)
	Метронидазол (125 мг/л)	+	+	-
	Нистатин (250 мг/л)	+	+	+
<i>Atopobium vaginae</i> ATCC BAA 55	Тестируемое соединение (концентрация)	Фуразидин (0,03 мг/л)	Нитрофурантоин (0,98 мг/л)	Нифуратель (1,95 мг/л)
	Метронидазол (0,5 мг/л)	+	+	-
	Нистатин (250 мг/л)	+	+	+
<i>Candida albicans</i> ATCC 90028	Тестируемое соединение (концентрация)	Фуразидин (250 мг/л)	Нитрофурантоин (250 мг/л)	Нифуратель (250 мг/л)
	Метронидазол (250 мг/л)	+	+	+
	Нистатин (0,98 мг/л)	-	-	-
<i>Candida glabrata</i> ATCC 2001	Тестируемое соединение (концентрация)	Фуразидин (250 мг/л)	Нитрофурантоин (250 мг/л)	Нифуратель (250 мг/л)
	Метронидазол (125 мг/л)	+	+	+
	Нистатин (0,98 мг/л)	+	-	-

Представленные выше данные ясно показывают, что все из нитрофуранов (фуразидин, нифуратель, нитрофурантоин), клиндамицин и метронидазол проявляют антибактериальную активность против *Gardnerella vaginalis* и *Atopobium vaginae*, фуразидин проявляет наибольшую антибактериальную активность в группе производных нитрофурана против *Gardnerella vaginalis* и *Atopobium vaginae*, фуразидин проявляет более высокую антибактериальную активность против *Gardnerella vaginalis*, чем клиндамицин ($MIC_{\text{фуразидин}} < 0,49$ мг/л по сравнению с $MIC_{\text{клиндамицин}} < 1,95$ мг/л), эффективность фуразидина против *Atopobium vaginae* сопоставима с эффективностью клиндамицина ($MIC < 0,03$ мг/л), не обнаружено никакой активности нитрофуранов в отношении тестируемых дрожжеподобных грибов, фуразидин и нитрофурантоин, в отличие от нифурателя, демонстрируют синергетические эффекты с метронидазолом против *Gardnerella vaginalis* и *Atopobium vaginae*, все протестированные нитрофураны демонстрируют синергетические эффекты с нистатином в отношении *Gardnerella vaginalis* и *Atopobium vaginae*, все протестированные нитрофураны демонстрируют синергетические эффекты с метронидазолом против *Candida albicans* и *Candida glabrata*, только фуразидин демонстрирует синергетические эффекты с нистатином против *Candida glabrata*.

2. Примеры лекарственных форм.

а) Лекарственная форма в виде вагинальной таблетки.

i) Вагинальная таблетка с фуразидином

Компонент	Количество [мг/таблетка]
Фуразидин	500
Лактоза	200
Диоксид кремния	20
Стеарат магния	2

В смесительный сосуд загружали фуразидин, лактозу, диоксид кремния и стеарат магния. После смешивания сосуд закрывали, смесь перемешивали в течение 15 мин. Полученную смесь прессовали в таблетки, имеющие массу 722 мг.

ii) Вагинальная таблетка с фуразидином и клотримазолом

Компонент	Количество [мг/таблетка]
Фуразидин	250
Клотримазол	100
Лактоза	200
Диоксид кремния	20
Стеарат магния	2

В смесительный сосуд загружали фуразидин, клотримазол, лактозу, диоксид кремния и стеарат магния. После смешивания сосуд закрывали, смесь перемешивали в течение 15 мин. Полученную смесь прессовали в таблетки, имеющие массу 572 мг.

б) Лекарственная форма в виде крема.

Общие способы получения лекарственной формы в виде крема, включающей фуразидин, необязательно с нистатином или метронидазолом, являются следующими. Соответствующие фазы определены ниже.

Фазу А и Фазу В нагревали отдельно до 60°C. Фазу В добавляли к Фазе А и смешивали при помощи механической мешалки. Затем полученную смесь гомогенизировали в течение 1 мин на каждые 200 г смеси при 10000 об/мин, затем добавляли Фазу С и объединенные фазы смешивали при помощи механической мешалки до тех пор, пока смесь не достигала комнатной температуры. Получали желтый крем,

i) Крем с фуразидином

Компонент	Количество [г/100 г крема]
Фаза А	
Cithrol DPHS(PEG-30 Диполигидроксистеарат)	2,0
Arlamol PS15E (Стеариловый эфир PPG-15)	6,0
Cithrol PG32IS (Полиглицерил – 3 Динистеарат)	3,0
Crodamol IPM (Изопропилмирилат)	8,0
Минеральное масло (жидкий парафин)	10,0
Фаза В	
Вода	до 100,0
MgSO ₄ ·7H ₂ O	0,7
Фаза С	
Фуразидин	20,0

ii) Крем с фуразидином и нистатином

Компонент	Количество [г/100 г крема]
Фаза А	
Cithrol DPHS(PEG-30 Диполигидроксистеарат)	2,0
Arlamol PS15E (Стеариловый эфир PPG-15)	6,0
Cithrol PG32IS (Полиглицерил – 3 динистеарат)	3,0
Crodamol IPM (Изопропилмирилат)	8,0
Минеральное масло (жидкий парафин)	10,0
Фаза В	
Вода	до 100,0
MgSO ₄ ·7H ₂ O	0,7
Фаза С	
Фуразидин	20,0
Нистатин (6312000 j.m./г)	1,28г (8000000 j.m.)

iii) Крем с фуразидином и метронидазолом

Компонент	Количество [г/100 г крема]
Фаза А	
Cithrol DPHS(PEG-30 Диполигидроксистеарат)	2,0
Arlamol PS15E (Стеариловый эфир PPG-15)	6,0
Cithrol PG32IS (Полиглицерил – 3 динистеарат)	3,0
Crodamol IPM (Изопропилмирилат)	8,0
Минеральное масло (жидкий парафин)	10,0
Фаза В	
Вода	до 100,0
MgSO ₄ ·7H ₂ O	0,7
Фаза С	
Фуразидин	20,0
Метронидазол	1,0

с) Вагинальные глобулы.

Общие способы получения вагинальных глобул, включающих фуразидин, необязательно с нистатином. Соответствующие фазы определены ниже.

Фазу А расплавляли и добавляли Фазу В. После гомогенизации образовывались глобулы массой 3 грамма.

i) Глобулы с фуразидином

Глобула 1		Глобула 2	
Компонент	Количество [мг/глобула]	Компонент	Количество [мг/глобула]
Фаза А		Фаза А	
Масло какао	до 3000,0	Масло какао	до 1000,0
Фаза В		Фаза В	
Фуразидин	300,0	Фуразидин	40,0

ii) Глобулы с фуразидином и нистатином

Глобула 3		Глобула 4	
Компонент	Количество [мг/глобула]	Компонент	Количество [мг/глобула]
Фаза А		Фаза А	
Масло какао	до 3000,0	Масло какао	до 1000,0
Фаза В		Фаза В	
Фуразидин	300,0	Фуразидин	40,0
Нистатин (6312000 j.m./r)	38,4 (8000000 j.m.)	Нистатин (6312000 j.m./r)	15,8 (100000 j.m.)

3. Наблюдение эффективности *in vivo*.

Кроме того, исследовали эффективность фуразидина *in vivo* при лечении бактериальных вагинальных инфекций.

Группу из 29 женщин с симптомами бактериальной вагинальной инфекции (аномальные выделения из влагалища с характерным рыбным запахом, наличие ключевых клеток и в некоторых случаях зуд и/или боль во время мочеиспускания) обследовали с использованием методов ПЦР на присутствие *Gardnerella vaginalis* и/или *Atopobium vaginae* в качестве основных возбудителей бактериальных вагинальных инфекций. Отбор выполняли, как описано в Kusters J.G. et al., Eur J Clin Microbiol Infect Dis. 2015; 34(9): 1779-1785. У 26 из 29 женщин было подтверждено наличие *Gardnerella vaginalis* или *Atopobium vaginae* или обоих возбудителей. Эту отобранную группу из 26 женщин также проверяли на наличие сопутствующей инфекции *Candida albicans*. Отбор выполняли с использованием метода, описанного, например, в Trama J. P. et al., Infect Dis Obstet Gynecol., June 2005; 13(2): 63-67, и дополнительно подтверждали с использованием коммерческого набора *Candida albicans* TaqMan PCR Kit (от Norgenbiotek).

Группу разделяли на 6 подгрупп следующим образом:

Группа	Возбудитель	Количество пациентов
1	GV	3
2	AV	4
3	GV+AV	11
4	GV+CA	1
5	AV+CA	2
6	GV+AV+CA	5

GV: *Gardnerella vaginalis*.

AV: *Atopobium vaginae*.

CA: *Candida albicans*.

Пять пациентов в Группе 3, один пациент в Группе 4 и два пациента в Группе 6 сообщили о предшествующем лечении бактериальных вагинальных инфекций метронидазолом и/или клиндамицином.

Пациенты в Группе 1 - Группе 3 получали интравагинально Глобулу 2. Пациенты в Группе 4-6 получали интравагинально Глобулу 4 (с нистатином), все группы соблюдали режим дозирования: одна глобула в день в течение 10 дней. Глобулы помещали высоко во влагалище.

В Группе 6, 3 из 15 пациентов получали глобулу 2 в течение первых 3 дней, но из-за отсутствия улучшений дальнейшее лечение Глобулой 2 было прекращено, и вместо этого вводили Глобулу 4 еще в течение 7 дней. Изменение этого режима не приводило к изменению количества вводимого фуразидина по сравнению с Глобулой 2, но дополнительно давали нистатин для контроля роста *Candida*.

После 10 дней лечения у всех пациентов не было никаких симптомов бактериальной вагинальной инфекции, таких как аномальные выделения из влагалища с характерным рыбным запахом и наличие ключевых клеток. Никто из пациентов не сообщал о зуде или боли, включая боль во время мочеиспускания. Эти пациенты считались вылеченными, и пациенты сообщали об улучшении общего качества жизни. ПЦР анализ на *Gardnerella vaginalis* и/или *Atopobium vaginae* показал отсутствие этих бактерий в образцах, полученных от пациентов через два дня после завершения описанного лечения.

ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Вагинальное применение фуразидина для лечения вагинальной бактериальной инфекции, где вагинальная бактериальная инфекция вызвана *Gardnerella vaginalis* или *Atopobium vaginae*.

2. Применение по п.1, где вагинальная бактериальная инфекция представляет собой рецидивирующую вагинальную бактериальную инфекцию.

3. Применение по п.1 или 2, где вагинальная бактериальная инфекция сопровождается грибковой инфекцией.

4. Применение по п.3, где грибковая инфекция вызвана *Candida albicans* и/или *Candida glabrata*.

5. Применения по любому из пп.1-4, где фуразидин вводят в виде фармацевтической композиции, включающей фуразидин и вагинально приемлемый носитель.

6. Применение по п.5, где фармацевтическая композиция дополнительно включает противогрибковое средство.

7. Применение по п.6, где противогрибковое средство выбрано из нистатина, клотримазола, эконазола, миконазола, терконазола, натамицина и циклопироксоламина.

8. Применение по п.7, где противогрибковое средство представляет собой нистатин.

9. Применение по п.5, где фармацевтическая композиция дополнительно включает антибактериальное средство, где антибактериальное средство представляет собой метронидазол.

10. Применение по пп.5-9, где фармацевтическая композиция находится в форме таблеток, капсул, крема, геля, лосьона, пены, пессария или глобул.

