

(19)



**Евразийское  
патентное  
ведомство**

(11) **041251**

(13) **B1**

**(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОМУ ПАТЕНТУ**

**(45)** Дата публикации и выдачи патента  
**2022.09.30**

**(21)** Номер заявки  
**201790383**

**(22)** Дата подачи заявки  
**2015.09.27**

**(51)** Int. Cl. *A61K 6/06* (2006.01)  
*A61K 31/65* (2006.01)  
*A61K 9/52* (2006.01)  
*A61P 31/04* (2006.01)

---

**(54) ПРИМЕНЕНИЕ ФАРМАЦЕВТИЧЕСКОЙ КОМПОЗИЦИИ ДЛЯ ЛЕЧЕНИЯ ИЛИ ПРОФИЛАКТИКИ ИНФЕКЦИЙ ОБЛАСТИ РАЗРЕЗА ПРИ ХИРУРГИЧЕСКОМ ВМЕШАТЕЛЬСТВЕ**

---

**(31)** 62/058,809

**(32)** 2014.10.02

**(33)** US

**(43)** 2017.09.29

**(86)** PCT/IB2015/057409

**(87)** WO 2016/051321 2016.04.07

**(71)(73)** Заявитель и патентовладелец:  
**ПОЛИПИД ЛТД. (IL)**

**(72)** Изобретатель:  
**Эмануэль Ноам (IL)**

**(74)** Представитель:  
**Нилова М.И. (RU)**

**(56)** WO-A1-2014020610  
US-B2-7799754  
WO-A1-2010007623  
WO-A1-2014020610

Noam Emanuel ET AL.: "A lipid-and-polymer-based novel local drug delivery system - bonypid™: From physicochemical aspects to therapy of bacterially infected bones", 2012-04-04, Journal of Controlled Release, 160.2: 353-361, Noam Emanuel ET AL., 04 Apr 2012 (2012/04/04), p. 354, 357-358, 360

US-A1-2008119494

**(57)** В настоящем изобретении предложено применение фармацевтической композиции, содержащей биологически разлагаемый минеральный субстрат, где указанный минеральный субстрат пропитан или его поверхность покрыта, полностью или частично, матричной композицией, содержащей (a) биологически разлагаемый сложный полиэфир; (b) первый липидный компонент, содержащий холестерин; (c) второй липидный компонент, содержащий фосфатидилхолин, содержащий фрагменты жирных кислот; и (d) фармацевтически активный агент, содержащий антибиотический агент, для лечения или профилактики инфекции области разреза мягких тканей, связанной с хирургической операцией, где указанный минеральный субстрат состоит из частиц β-ортофосфата кальция.

**B1**

**041251**

**041251**

**B1**

Настоящая заявка испрашивает приоритет согласно предварительной заявке на патент США № 62/058809, поданной 2 октября 2014 г. и озаглавленной "Составы и способы лечения и профилактики инфекций области хирургического вмешательства", содержание которой полностью включено в настоящую заявку посредством ссылки.

#### **Область техники**

Настоящее изобретение в целом относится к применению фармацевтических композиций с замедленным высвобождением для лечения или профилактики инфекций области разреза при хирургическом вмешательстве.

#### **Уровень техники**

Инфекция области хирургического вмешательства (ИОХВ), т.е. инфекция в пределах или около хирургических разрезов, которая развивается в течение 30 дней после операции, представляет собой распространенную внутрибольничную инфекцию, которая составляет 15% всех внутрибольничных инфекций и является наиболее распространенной внутрибольничной инфекцией у пациентов после хирургического вмешательства. ИОХВ связана с повышенной заболеваемостью и смертностью, начиная от выделений из ран, связанных с инфекцией поверхностных слоев кожи, и заканчивая опасными для жизни состояниями, такими как тяжелый сепсис. ИОХВ является причиной возросшего экономического бремени на системы здравоохранения, включая дополнительное увеличение продолжительности послеоперационной госпитализации и затрат.

Начало развития инфекции области хирургического вмешательства вызвано загрязняющими агентами, которые существуют в операционных областях и устойчивы к вводимым противомикробным агентам. В большинстве случаев ИОХВ источником возбудителя является природная флора кожи, слизистых оболочек или полых внутренних органов пациента. После надреза кожи нижележащая ткань подвергается воздействию избыточной эндогенной флоры. *Staphylococcus aureus* является наиболее часто выделяемым организмом при ИОХВ, который вызывает 15-20% случаев ИОХВ, происходящих в больнице. Другие организмы, регулярно выделяемые при ИОХВ, включают грамотрицательные бациллы, коагулазонегативные стафилококки, *Enterococcus* spp. и *Escherichia coli*. Все более возрастает значение такого патогена как метициллин-резистентный *S. aureus* (MRSA), который вызывает более 50% внутрибольничных инфекций, вызванных *S. aureus*, в США и Европе и осложняет лечение вследствие множественной устойчивости к антибиотикам. Некоторые виды дрожжей и вирусные патогены также представляют собой факторы риска.

Инфекции области хирургического вмешательства представляют собой существенную клиническую проблему при ортопедических хирургических вмешательствах, операциях на позвоночнике, пищеварительной системе, сердечно-сосудистой системе, операциях на молочной железе и многих других клинических процедурах, включающих разрез кожи. Например, серьезным осложнением после кардиохирургического вмешательства, которое сопровождается высокой заболеваемостью и смертностью, достигающей 40%, является раневая инфекция области после стернотомии (медиастинит). Пациенты с инфекцией раневой области после стернотомии нуждаются в более длительном пребывании в больнице, повторных хирургических вмешательствах, длительной антибактериальной терапии, а также испытывают значительное ухудшение качества жизни и самочувствия. Стоимость лечения таких пациентов и финансовое бремя для систем здравоохранения по оценкам в 3 раза выше, по сравнению с таковым у пациентов, перенесших открытое кардиохирургическое вмешательство без какой-либо инфекции.

Как правило, колонизация области хирургического вмешательства биопленкой делает патогены устойчивыми к действию противомикробных агентов, а также к другим вмешательствам, таким как хирургическая обработка, направленная на лечение раневой инфекции. Действительно в последние годы несмотря на разработку новых хирургических технологий, новых антибиотиков, новых технологий диагностики послеоперационных инфекций и технологий ухода за ранами частота возникновения инфекций области хирургического вмешательства не уменьшилась.

В международной публикации WO 2010/007623, одним из соавторов которой является автор настоящего изобретения и другие авторы, содержание которой включено в настоящую заявку посредством ссылки, раскрыты композиции для доставки лекарственного препарата для контролируемого высвобождения активного ингредиента, содержащие липидный матрикс, содержащий биологически разлагаемый полимер. Указанные композиции для доставки лекарственного препарата позволяют включать широкий ряд одной или более биологически активных молекул и высвобождать их с заранее заданной скоростью в течение периодов от нескольких дней до нескольких месяцев.

В международной публикации WO 201420610, одним из соавторов которой является автор настоящего изобретения, содержание которой включено в настоящую заявку посредством ссылки, раскрыты композиции, способы и медицинские устройства для лечения костных полостей и дефектов кости, включающие этап нанесения на костную полость или участок дефекта кости композиции, содержащей матрикс, которая обеспечивает местное пролонгированное высвобождение по меньшей мере одного антибиотического агента в области костной полости. Инфекции области хирургического вмешательства по-прежнему являются серьезной проблемой системы здравоохранения. В данной области техники существует потребность в способах лечения, позволяющих предотвратить и излечить инфекции области хирур-

гического вмешательства локально в области хирургического вмешательства.

#### **Краткое описание изобретения**

В настоящем изобретении предложено применение фармацевтической композиции, содержащей биологически разлагаемый минеральный субстрат, где указанный минеральный субстрат пропитан или его поверхность покрыта полностью или частично матричной композицией, содержащей

(а) биологически разлагаемый сложный полиэфир, выбранный из группы, состоящей из PLA (полимолочной кислоты), PGA (полигликолевой кислоты), PLGA (сополимера молочной кислоты и гликолевой кислоты);

(b) первый липидный компонент, содержащий холестерин;

(с) второй липидный компонент, содержащий фосфатидилхолин, содержащий фрагменты жирных кислот, содержащие по меньшей мере 14 атомов углерода; и

(d) фармацевтически активный агент, содержащий антибиотический агент, выбранный из группы, состоящей из доксициклина или доксициклина гиклата,

для лечения или профилактики инфекции области разреза мягких тканей, связанной с хирургической операцией, где указанный минеральный субстрат состоит из частиц  $\beta$ -ортофосфата кальция ( $\beta$ -TCP) и где указанная фармацевтическая композиция предназначена для местного введения в область разреза мягких тканей.

Субстрат, пропитанный и/или поверхность которого покрыта, полностью или частично, матричной композицией, описанной в настоящем документе, предназначен для местного применения в мягких тканях и плотных органах во время хирургических операций и обеспечивает локальное предотвращение и лечение инфекции путем снижения общей частоты инфицирования после операции и путем уменьшения или эрадикации инфекций мягких тканей, которые могут существовать перед проведением операции. В соответствии с некоторыми вариантами реализации субстрат с лекарственным покрытием, описанный в настоящем документе, предотвращает или ингибирует образование биопленки, которая может образовываться в области хирургического вмешательства и около нее, тем самым предотвращая или ингибируя инфекции области хирургического вмешательства. Ингибирование образования биопленки в области хирургического вмешательства относится к ингибированию образования биопленки на поверхностях, таких как биологические ткани, и/или материалах или устройствах, которые могут быть использованы во время операции (например, раневая ткань, некротические клетки, биоматериалы и хирургические имплантаты (например, шовные материалы и твердые изделия из нержавеющей стальной проволоки)). В соответствии с некоторыми вариантами реализации настоящего изобретения субстрат с лекарственным покрытием, описанный в настоящем документе, способен обеспечить эрадикацию существующей биопленки.

После внесения в область хирургического вмешательства субстрата, пропитанного и/или поверхность которого покрыта, полностью или частично, матричной композицией, описанной в настоящем документе, указанный субстрат обеспечивает локальное контролируемое высвобождение лекарственного препарата в области хирургического вмешательства и около нее в течение заранее определенного длительного периода времени, предпочтительно от нескольких дней до нескольких недель, тем самым предотвращая или уничтожая тканевую инфекцию.

Субстрат, пропитанный или покрытый, полностью или частично, матричной композицией в соответствии с некоторыми вариантами реализации настоящего изобретения, предпочтительно вводят субъекту, который имеет или подвергается риску развития инфекции, до или во время лечения субъекта с использованием способа, который может вызвать инфекцию и/или образование биопленки у субъекта. Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения указанный способ может представлять собой любую хирургическую процедуру, такую как ортопедические хирургические вмешательства (например, артропластика тазобедренного сустава, артропластика коленного сустава, общая замена сустава, травма), хирургические вмешательства на позвоночнике, хирургические вмешательства на органе пищеварительной системы (например, на пищеводе, желудке, тонком кишечнике, толстом кишечнике, прямой кишке, ободочной кишке, аппендиксе, печени, поджелудочной железе, желчном пузыре, язве желудка, раке желудка, создание открытого желудочного анастомоза, аппендэктомия, колэктомия, холецистэктомия, ваготомия, открытые операции желчевыводящих путей, операции на тонком кишечнике, колоректальные операции), кардиохирургические вмешательства (например, шунтирование коронарных артерий, операции по кардиоторакальной трансплантации, операции по введению сердечного аппарата), иссечение грыжи, операции на сосудах, кесарево сечение, простатэктомия, акушерские и гинекологические операции (например, гистерэктомия), операции рака головы и шеи, операции по трансплантации (например, легких, печени, поджелудочной железы, почки), нейрохирургические вмешательства (например, введение имплантата для глубокого стимулирования мозга) и пластические операции (например, реконструкция груди, мастэктомия).

Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения инфекция включает по меньшей мере одну из поверхностной инцизионной инфекции, глубокой инцизионной инфекции и инфекции органа/пространства.

Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения указанное применение подхо-

дит по меньшей мере для одного из снижения общей частоты инфекций после операции, эрадикации инфекций мягких тканей, которые могли существовать до операции, ингибирования образования биопленки в области разреза и эрадикации существующей биопленки в области разреза мягких тканей.

Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения инфекция включает метициллин-резистентный *S. aureus* (MRSA).

Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения указанная хирургическая операция выбрана из ортопедических хирургических операций, хирургических операций на позвоночнике, хирургических операций на органе пищеварительной системы, кардиохирургических операций, иссечения грыжи, ангиопластики, кесарева сечения, простатэктомии, акушерских и гинекологических хирургических операций, хирургических операций рака головы и шеи, хирургических операций по трансплантации, нейрохирургических операций и пластических хирургических операций.

Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения указанные хирургические операции на органе пищеварительной системы выбраны из операции на пищеводе, желудке, тонком кишечнике, толстом кишечнике, прямой кишке, ободочной кишке, аппендиксе, печени, поджелудочной железе, желчном пузыре, язве желудка, раке желудка, создания открытого желудочного анастомоза, аппендэктомии, колэктомии, холецистэктомии, ваготомии, открытых операций желчевыводящих путей, операций на тонком кишечнике и колоректальных операций.

Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения указанная хирургическая операция представляет собой кардиохирургическую операцию.

Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения указанный минеральный субстрат состоит из частиц, средний размер которых составляет менее приблизительно 200 микрон (мкм), предпочтительно, менее приблизительно 150 микрон (мкм), более предпочтительно, при этом указанный биологически разлагаемый субстрат состоит из частиц, средний размер которых находится в диапазоне 50-150 микрон (мкм), еще более предпочтительно указанное большинство частиц имеют сферическую и/или шаровидную форму.

Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения указанный фосфатидилхолин содержит фрагменты жирных кислот, содержащих 14-18 атомов углерода.

Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения указанный фармацевтически активный агент дополнительно содержит активный агент, выбранный из группы, состоящей из антибиотического агента, антисептического агента, противовоспалительного агента, противогрибкового агента и любой их комбинации; или указанный фармацевтически активный агент дополнительно содержит по меньшей мере один противовоспалительный агент.

Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения массовое отношение общего количества липидов к указанному биологически разлагаемому сложному полиэфиру составляет от 1:1 до 9:1, включительно.

Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения указанный покрытый биоразлагаемый минеральный субстрат содержит приблизительно 60-90% мас./мас. биоразлагаемого минерального субстрата и 10-40% мас./мас. матричной композиции, при этом предпочтительно указанный покрытый биоразлагаемый минеральный субстрат содержит приблизительно 70-90% мас./мас. биоразлагаемого минерального субстрата и 10-30% мас./мас. матричной композиции.

Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения матричная композиция содержит

- (a) 15- 25% мас./мас. сополимера молочной кислоты и гликолевой кислоты (PLGA);
- (b) 5-15% мас./мас. холестерина;
- (c) 50-70% мас./мас. смеси 1,2-дипальмитоил-sn-глицеро-3-фосфохолина (DPPC) и 1,2-дистеароил-sn-глицеро-3-фосфохолина (DSPC), причем соотношение DPPC и DSPC составляет от 5:1 до 2:1; и
- (d) 7-12% мас./мас. доксициклина или доксициклина гиклата.

Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения указанный минеральный субстрат составляет приблизительно 80-90% мас./мас. и матричная композиция составляет приблизительно 10-20% мас./мас. от общей массы фармацевтической композиции.

Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения фармацевтическая композиция приготовлена в виде пасты.

Другие варианты реализации и полный объем области применения настоящего изобретения будут понятны из подробного описания, приведенного ниже. Однако следует понимать, что подробное описание и конкретные примеры, несмотря на то что они описывают предпочтительные варианты реализации настоящего изобретения, приведены исключительно в качестве иллюстрации, поскольку различные изменения и модификации в пределах сущности и объема настоящего изобретения будут очевидны для специалистов в данной области техники на основании данного подробного описания.

#### **Краткое описание чертежей**

На фиг. 1 представлен профиль накопления высвобожденного доксициклина гиклата из гидратированных (5% сывортка при 37°C) частиц ортофосфата кальция (TCP) (~100 мкм), пропитанных матричной композицией, состоящей из PLGA, холестерина, DPPC, DSPC и доксициклина гиклата.

На фиг. 2 представлен профиль накопления высвобожденного доксициклина гиклата из гидратированных (5% сыворотки при 37°C) частиц поливинилового спирта (PVA), пропитанных матриксной композицией, состоящей из PLGA, холестерина, DPPC, DSPC и доксициклина гиклата, после гидратирования в 5% сыворотке при 37°C.

На фиг. 3А, 3В, 3С и 3D представлены изображения, полученные с помощью РЭМ, непокрытых шаровидных частиц PVA с пористой шероховатой поверхностью (фиг. 3А и 3В, увеличение в 500 и 25000 раз соответственно) и аналогичных частиц PVA, пропитанных матриксной композицией, состоящей из PLGA, холестерина, DPPC, DSPC и доксициклина гиклата (фиг. 3С и 3D, увеличение в 500 и 25000 раз соответственно). На фиг. 3С и 3D показано, что наружная и внутренняя поверхность частиц покрыта.

На фиг. 4 представлены результаты оценки эффективности гранул ортофосфата кальция (~100 мкм), покрытых матриксной композицией, содержащей доксициклин, в соответствии с некоторыми вариантами реализации настоящего изобретения ("исследуемое изделие"), в снижении пролиферации бактерий после индукции инфекции в модели инфекции области хирургического вмешательства (ИОХВ), полученной с помощью внутримышечной имплантации исследуемого изделия в комбинации с *Staphylococcus aureus* у крыс линии Спраг-Дуаули (SD). Имплантацию непокрытых частиц TCP совместно с *Staphylococcus aureus* использовали в качестве контроля.

#### **Подробное описание изобретения**

В настоящем изобретении предложена фармацевтическая композиция для лечения или профилактики инфекции области хирургического вмешательства, связанной с хирургической операцией, включающие этап внесения в область хирургического вмешательства биосовместимого, биологически разлагаемого субстрата, пропитанного и/или поверхность которого покрыта, полностью или частично, матриксной композицией, которая обеспечивает локальное контролируемое и пролонгированное высвобождение по меньшей мере одного фармацевтически активного агента в области хирургического вмешательства у субъекта, нуждающегося в этом. В частности, матриксная композиция содержит

- (a) биосовместимый полимер;
- (b) первый липидный компонент, содержащий стерин;
- (c) второй липидный компонент, содержащий по меньшей мере один фосфолипид, содержащий фрагменты жирных кислот, содержащие по меньшей мере 12 атомов углерода; и
- (d) фармацевтически активный агент, выбранный из группы, состоящей из антибиотического агента, антисептического агента, противовоспалительного агента, противогрибкового агента и любой их комбинации.

В настоящей заявке термин "область хирургического вмешательства" относится к области, созданной любым разрезом кожи или внутренних органов, выполненным согласно конкретному медицинскому назначению. Область хирургического вмешательства, которая является "открытой", относится к областям хирургических вмешательств, в которых медицинский персонал имеет прямой физический доступ к интересующей области. Область хирургического вмешательства может включать, но не ограничивается ими, органы, мышцы, сухожилия, связки, соединительную ткань и тому подобное.

Способы согласно настоящему изобретению также можно применять для лечения открытых ран. В настоящей заявке открытые раны относятся в целом к телесному повреждению с нарушением нормальной целостности тканевых структур и более конкретно к типу травмы, при которой кожа порвана, разрезана или пробита. Открытые раны включают, но не ограничиваются ими: надрезы или резаные раны, порезы, проникающие раны, гнойные раны, ожоги и т.д.

Способы предотвращения или ингибирования инфекций области хирургического вмешательства можно применять для предотвращения или ингибирования послеоперационной инфекции при загрязненной или потенциально загрязненной операции, при которой послеоперационная инфекция может представлять собой любую из поверхностной инцизионной инфекции, глубокой инцизионной инфекции и инфекции органа/пространства. В настоящем изобретении также раскрыты способы лечения инфекций области хирургического вмешательства, включая дооперационные, интраоперационные и/или послеоперационные инфекции. Указанные дооперационные и/или послеоперационные инфекции могут быть связаны с образованием биопленки. Дооперационная инфекция может включать биопленку, образованную в связи с заболеванием или состоянием в органе, ткани или системе организма (например, в кости, коже, животе, мочевых путях и т.д.). Указанное заболевание или состояние может быть выбрано, например, из инфекций, связанных с медицинским устройством, инфекций, связанных с ортопедическим имплантатом, инфекций, связанных с билиарными стендами и катетерами.

Способ подавления, предотвращения и способ лечения инфекции области хирургического вмешательства согласно вариантам реализации настоящего изобретения может быть дополнительным к стандартным способам уменьшения инокулята бактерий, таким как надлежащая подготовка области хирургического вмешательства, системные профилактические антибиотики, терапия на основе клеток и стимулирование хозяина путем периоперационной дополнительной оксигенации, поддержания нормотермии и гликемического контроля.

Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения субстрат, используемый в

композициях, описанных в настоящем документе, представляет собой биологически поглощаемый гидрофильный материал, который обладает биологической совместимостью (т.е. имеет низкую токсичность, вызывает лишь слабую реакцию на чужеродное тело в живом организме и может иметь хорошую аффинность в отношении тканей организма), биологической поглощаемостью (т.е. биологически разлагается) и гидрофильностью, но который имеет низкую растворимость в воде или нерастворим в воде и помимо этого имеет твердую форму при температуре окружающей среды и поддается формовке. Любые материалы, обладающие перечисленными свойствами, могут быть использованы без ограничений. Биологически поглощаемые гидрофильные материалы в соответствии с некоторыми вариантами реализации настоящего изобретения включают минеральные субстраты, природные полимерные субстраты и их синтетические производные. Неограничивающие примеры минеральных субстратов включают гидроксипатит, фторапатит, оксипатит, волластонит, стеклокерамики на основе апатита/волластонита, анортит, фторид кальция, сульфат кальция, карбонат кальция, тетракальцийфосфат,  $\alpha$ -ортофосфат кальция ( $\alpha$ -ТСП),  $\beta$ -ортофосфат кальция ( $\beta$ -ТСП), аморфный фосфат кальция, гидроортофосфат кальция, агреллит, девитрит, канасит, флогопит, монетит, брусит, октакальцийфосфат, витлокит, кордиерит, берлинит, комбеит, кристаллы фосфорной кислоты, гидроортофосфат натрия и другие виды биокерамики на основе фосфатов. Неограничивающие примеры природных полимерных субстратов включают желатин, гиалуроновую кислоту, производные гиалуроновой кислоты, такие как полиионный комплекс гиалуроновой кислоты, альгинат триэтаноламина, казеин, кератин, миозин и/или фиброин, коллаген, производные коллагена, такие как сукцинированный коллаген или метилированный коллаген, хондротинсульфат, хитозан, производные хитозана, такие как метилпирролидон-хитозан, полиаминогалактозамин. В соответствии с некоторыми вариантами реализации субстрат представляет собой водорастворимый синтетический полимер, такой как, например, поливиниловый спирт (PVA), поливинилпирролидон (PVP), полиакриловая кислота (PAA), N-(2-гидроксипропил)метакриламид (HPMA), поли-(2-алкил-2-оксазолины), полифосфозфиры (PPE), полифосфаты и полифосфонаты. В соответствии с некоторыми вариантами реализации настоящего изобретения субстрат представляет собой поливиниловый спирт (PVA). Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения субстрат представляет собой биологически поглощаемый гидрофобный материал, такой как, например, биологически разлагаемый сложный полиэфир, выбранный из группы, включающей PLA (полимолочную кислоту), PGA (полигликолевую кислоту), PLGA (сополимер молочной кислоты и гликолевой кислоты) и их комбинации.

Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения субстрат является плотным. Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения субстрат является пористым. Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения субстрат формуют в форме частиц (или гранул). Частицы субстрата, как правило, являются сферическими или сфероидальными. Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения частицы субстрата, которые не обязательно должны быть сферическими и/или сфероидальными, однако предпочтительно имеют сферическую и/или сфероидальную форму, могут иметь средний диаметр, например по меньшей мере приблизительно 30 мкм, по меньшей мере приблизительно 40 мкм, по меньшей мере приблизительно 50 мкм, по меньшей мере приблизительно 60 мкм, по меньшей мере приблизительно 70 мкм, по меньшей мере приблизительно 80 мкм, по меньшей мере приблизительно 90 мкм, по меньшей мере приблизительно 100 мкм, в диапазоне от 50 до 200 мкм, в диапазоне от 50 до 180 мкм, в диапазоне от 70 мкм до 150 мкм, в диапазоне от 80 до 120 мкм, в диапазоне от 50 до 100 мкм и в диапазоне от 70 до 100 мкм, не более приблизительно 500 мкм, не более приблизительно 400 мкм, не более приблизительно 350 мкм, не более приблизительно 300 мкм, не более приблизительно 250 мкм, не более приблизительно 200 мкм, не более приблизительно 180 мкм, не более приблизительно 150 мкм, не более приблизительно 140 мкм, не более приблизительно 130 мкм, не более приблизительно 120 мкм, не более приблизительно 110 мкм, не более приблизительно 100 мкм. В соответствии с некоторыми вариантами реализации настоящего изобретения частицы субстрата находятся в форме порошка. В соответствии с некоторыми вариантами реализации настоящего изобретения субстрат может иметь любую форму (например, губки, сетки, листа или волокна). Специалист в данной области техники поймет, что форма и/или размер субстрата могут быть скорректированы, до или после покрытия или пропитки матричной композицией в соответствии с необходимостью (например, тип, размер и расположение разреза). Каждая возможность представляет собой отдельный вариант реализации настоящего изобретения.

Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения биосовместимый полимер в покрывающей матричной композиции содержит сложный полиэфир, выбранный из группы, включающей PLA (полимолочную кислоту), PGA (полигликолевую кислоту), PLGA (сополимер молочной кислоты и гликолевой кислоты) и их комбинации. В соответствии с некоторыми вариантами реализации настоящего изобретения биосовместимый полимер составляет 5-30% матрикса. Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения биосовместимый полимер представляет собой полиэтиленгликоль (ПЭГ), предпочтительно ПЭГ, имеющий молекулярную массу до 10000 Да включительно.

Согласно конкретным вариантам реализации настоящего изобретения первый липид содержит по меньшей мере один стерин. Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения стерин

представляет собой фитостерин. Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения стерин представляет собой зоостерин. В соответствии с конкретными вариантами реализации настоящего изобретения стерин представляет собой холестерин. Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения первый липидный компонент содержит смесь стеринов. Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения первый липидный компонент по существу не содержит нестериновых липидов. Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения первый липидный компонент составляет 5-40% мас./мас. матрикса. Согласно некоторым предпочтительным вариантам реализации настоящего изобретения стерин представляет собой холестерин и составляет до 50% мас./мас. от общего содержания липидов в указанной матриксной композиции. Общее содержание липидов относится к массе всех липидов в матриксной композиции, например к первому липидному компоненту, второму липидному компоненту и любой дополнительной липидной добавке, входящей в состав матрикса. В соответствии с конкретными вариантами реализации настоящего изобретения первый липид и полимер связаны нековалентно.

Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения каждая цепь жирных кислот фосфолипида содержит по меньшей мере 12 атомов углерода. Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения каждая цепь жирных кислот фосфолипида содержит не более 18 атомов углерода. Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения цепи жирных кислот фосфолипида являются полностью насыщенными. Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения по меньшей мере одна из цепей жирных кислот фосфолипида является ненасыщенной (например, содержит по меньшей мере одну двойную связь). Согласно некоторым вариантам реализации обе цепи жирных кислот фосфолипида являются ненасыщенными. Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения второй липид включает фосфолипид, выбранный из группы, состоящей из фосфатидилхолина, смеси фосфатидилхолинов, фосфатидилэтаноламина и их комбинаций. Согласно некоторым вариантам реализации второй липид содержит смесь фосфатидилхолинов. Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения второй липидный компонент дополнительно содержит дополнительный фосфолипид, выбранный из группы, состоящей из фосфатидилсерина, фосфатидилглицерина и фосфатидилинозита. Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения второй липидный компонент составляет 30-80% мас./мас. матриксной композиции.

Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения фармацевтически активный агент входит в состав матриксной композиции. В соответствии с некоторыми вариантами реализации настоящего изобретения фармацевтически активный агент представляет собой антибиотический агент. В соответствии с некоторыми вариантами реализации настоящего изобретения фармацевтически активный агент представляет собой антисептический агент. В соответствии с некоторыми вариантами реализации настоящего изобретения фармацевтически активный агент представляет собой противовоспалительный агент. В соответствии с некоторыми вариантами реализации настоящего изобретения фармацевтически активный агент представляет собой стероид или нестероидный противовоспалительный лекарственный препарат.

В соответствии с некоторыми вариантами реализации настоящего изобретения фармацевтически активный агент составляет 1-20% мас./мас. матриксной композиции. В соответствии с некоторыми вариантами реализации настоящего изобретения фармацевтически активный агент составляет приблизительно 5-15% мас./мас. матриксной композиции. В соответствии с некоторыми типичными вариантами реализации настоящего изобретения фармацевтически активный агент составляет приблизительно 8-12% мас./мас. матриксной композиции.

В соответствии с некоторыми вариантами реализации покрытый субстрат, используемый для предотвращения и/или лечения инфекций в области хирургического вмешательства, составляет приблизительно 60-90% мас./мас. субстрата и 10-40% мас./мас. матриксной композиции, описанной в настоящем документе. Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения покрытый субстрат составляет приблизительно 70-90% мас./мас. субстрата и 10-30% мас./мас. матриксной композиции. В соответствии с некоторыми вариантами изобретения покрытый субстрат составляет приблизительно 80-90% мас./мас. субстрата и 10-20% мас./мас. матриксной композиции. В соответствии с некоторыми вариантами реализации настоящего изобретения покрытый субстрат составляет приблизительно 85-90% мас./мас. субстрата и 10-15% мас./мас. матриксной композиции.

Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения покрывающая матриксная композиция имеет высокоорганизованную многослойную структуру, в которой полимер и липиды организованы в виде множества чередующихся слоев. Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения матриксная композиция содержит непрерывную структуру, лишенную внутренних промежутков и/или свободного объема. Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения матриксная композиция насыщена липидами, это свидетельствует о том, что пространство между полимерными слоями или полимерным скелетом заполнено молекулами липидов в комбинации с фармацевтическим агентом в той мере, что дополнительные липидные фрагменты больше не могут быть включены в матрикс в заметной степени.

Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения матриксная композиция спо-

способна высвободить по меньшей мере 30% фармацевтического агента по кинетике нулевого порядка. Не ограничиваясь конкретной теорией или механизмом действия, авторы настоящего изобретения полагают, что указанная организованная структура или субструктура матричной композиции согласно настоящему изобретению является одной из основных причин скорости высвобождения нулевого порядка лекарственного препарата или лекарственных препаратов из матричной композиции после ее гидратации. Следовательно, скорость высвобождения по кинетике нулевого порядка можно объяснить медленным и непрерывным "отшелушиванием" лекарственного препарата вместе с компонентами состава из гидратированного поверхностного слоя(ев) высокоорганизованных слоев липидов и полимера. Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения матрикс согласно настоящему изобретению является водостойким. В этой связи вода не может легко, или вообще не способна, диффундировать в матрикс и фармацевтически активный агент, захваченный между слоями, не может легко, или вообще не способен, диффундировать из матрикса. В соответствии с некоторыми вариантами реализации настоящего изобретения лекарственный препарат высвобождается из матричных композиций, раскрытых в настоящем документе, при постепенном разрушении поверхности матрикса, что обеспечивает возможность длительного высвобождения в течение от нескольких дней до нескольких недель. Биосовместимый субстрат сохраняет свою трехмерную структуру во время высвобождения фармацевтического агента благодаря гидрофобной матричной композиции, которая покрывает или пропитывает субстрат. Постепенное разрушение матричной композиции в конечном итоге приведет к экспонированию поверхности субстрата. Воздействие на биологически разлагаемый субстрат биологических жидкостей организма инициирует его разрушение и удаление без следовых количеств в обработанной области хирургического вмешательства. В конкретном варианте реализации настоящего изобретения предложены способы подавления, предотвращения или лечения инфекции области хирургического вмешательства, связанной с хирургической операцией, включающие этап внесения в область хирургического вмешательства биологически разлагаемого субстрата, пропитанного и/или поверхность которого покрыта, полностью или частично, матричной композицией, содержащей

- (a) биологически разлагаемый сложный полиэфир;
- (b) стерин;
- (c) фосфатидилхолин, содержащий фрагменты жирных кислот, содержащие по меньшей мере 14 атомов углерода; и
- (d) антибиотический агент.

Согласно другому варианту реализации матричная композиция содержит по меньшей мере 50% липидов по массе матрикса. Согласно другому варианту реализации матричная композиция содержит по меньшей мере 40% фосфолипидов по массе матрикса. Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения биологически разлагаемая покрывающая композиция с медленным высвобождением содержит по меньшей мере 10% полимера по массе матрикса. Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения биологически разлагаемая покрывающая композиция (матрикс) с медленным высвобождением содержит по меньшей мере 5% антибиотика по массе матрикса. Согласно другому варианту реализации матричная композиция является гомогенной. Согласно некоторым вариантам реализации полимер, стерин, нековалентно связанный с ним, и фосфолипид образуют структурно упорядоченную насыщенную липидами матричную композицию, которая по существу не содержит воды. В соответствии с некоторыми вариантами субстрат, покрытый/пропитанный матричной композицией, выбран из частиц ортофосфата кальция или частиц поливинилового спирта.

Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения матричная композиция содержит

- (a) биологически разлагаемый сложный полиэфир, выбранный из PLA, PGA и PLGA;
- (b) холестерин, который нековалентно связан с биологически разлагаемым сложным полиэфиром;
- (c) по меньшей мере один фосфолипид, содержащий фрагменты жирных кислот, содержащие 16-18 атомов углерода; и
- (d) антибиотический агент.

Согласно другому варианту реализации матричная композиция содержит по меньшей мере 50% липидов по массе матрикса. Согласно другому варианту реализации матричная композиция содержит по меньшей мере 40% фосфолипидов по массе матрикса. Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения биологически разлагаемая покрывающая композиция с медленным высвобождением содержит по меньшей мере 10% полимера по массе матрикса. Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения биологически разлагаемая покрывающая композиция (матрикс) с медленным высвобождением содержит по меньшей мере 5% антибиотика по массе матрикса. Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения фосфолипид представляет собой фосфатидилхолин. Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения фосфатидилхолин представляет собой смесь фосфатидилхолинов. Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения фосфатидилхолин(ы) содержит фрагменты насыщенных жирных кислот, т.е. цепи жирных кислот не содержат двойных углерод-углеродных связей. Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения фосфолипид выбран из группы, состоящей из DMPC, DPPC, DSPC, DOPC и лю-

бой их комбинации. Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения фосфолипид выбран из DPPC, DSPC и любой их комбинации. Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения фосфолипид выбран из DMPC, DPPC и любой их комбинации. Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения фосфолипид выбран из DMPC, DPPC, DOPC и любой их комбинации. Согласно некоторым вариантам реализации полимер, связанный с ним холестерин, и фосфолипид образуют структурно упорядоченную насыщенную липидами матриксную композицию, которая по существу не содержит воды. В соответствии с некоторыми вариантами субстрат, покрытый/пропитанный матриксной композицией, выбран из частиц ортофосфата кальция или частиц поливинилового спирта.

В соответствии с некоторыми вариантами матриксная композиция содержит

- (a) полиэтиленгликоль (ПЭГ);
- (b) холестерин, который нековалентно связан с полимером;
- (c) по меньшей мере один фосфолипид, содержащий фрагменты жирных кислот, содержащие 14-18 атомов углерода; и
- (d) антибиотический агент.

Согласно другому варианту реализации матриксная композиция содержит по меньшей мере 50% липида по массе матрикса. Согласно другому варианту реализации матриксная композиция содержит по меньшей мере 40% фосфолипидов по массе матрикса. Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения биологически разлагаемая покрывающая композиция с замедленным высвобождением содержит по меньшей мере 10% полимера по массе матрикса. Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения биологически разлагаемый покрывающий состав (матрикс) с замедленным высвобождением содержит по меньшей мере 5% антибиотика по массе матрикса. Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения фосфолипид представляет собой фосфатидилхолин. Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения фосфатидилхолин представляет собой смесь фосфатидилхолинов. Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения фосфатидилхолин(ы) содержит(ат) фрагменты насыщенных жирных кислот, т.е. цепи жирных кислот не содержат двойных углерод-углеродных связей. Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения фосфолипид выбран из группы, состоящей из DMPC, DPPC, DSPC, DOPC и любой их комбинации. Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения фосфолипид выбран из DPPC, DSPC и любой их комбинации. Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения фосфолипид выбран из DMPC, DPPC и любой их комбинации. Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения фосфолипид выбран из DMPC, DPPC, DOPC и любой их комбинации. Согласно некоторым вариантам реализации полимер, связанный с ним холестерин, и фосфолипид образуют структурно упорядоченную насыщенную липидами матриксную композицию, которая по существу не содержит воды. В соответствии с некоторыми вариантами субстрат, покрытый/пропитанный матриксной композицией, выбран из частиц ортофосфата кальция или частиц поливинилового спирта.

В настоящей заявке термины "предотвращение" или "профилактика" инфекции области хирургического вмешательства относятся к ингибированию или эрадикации репликации бактерий в области хирургического вмешательства и около нее, ингибированию передачи бактерий или предотвращению расселения бактерий в области хирургического вмешательства и около нее, или облегчению симптомов заболевания, которые могут быть вызваны инфекцией. Лечение будет считаться терапевтическим, если бактериальная нагрузка снижается.

Способы согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения пригодны для предотвращения или ингибирования образования биопленки в области хирургического вмешательства и около нее у субъекта, нуждающегося в этом. Ингибирование образования биопленки в области хирургического вмешательства относится к ингибированию образования биопленки на поверхностях, таких как биологические ткани и/или материалы или устройства, которые могут быть использованы или имплантированы во время операции. Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения субстрат с лекарственным покрытием, описанный в настоящем документе, также способен вызывать эрадикацию существующей биопленки, образованной до проведения хирургической операции.

В настоящей заявке термин "биопленка" определяется в соответствии с его обычным значением в данной области техники как структурированное сообщество микроорганизмов, которые растут, будучи прикрепленными к поверхности, и вырабатывают слизистый слой из внеклеточных полимеров, при этом микробные сообщества встроены в защитную среду. Поверхности, к которым прикреплена биопленка, могут представлять собой инертные или живые поверхности (например, ткани раны, отмершие клетки, биоматериалы и хирургические имплантаты (например, шовные материалы и твердые изделия из нержавеющей стальной проволоки)). Сообщество биопленки может включать бактерии, грибы, дрожжи, простейшие и другие микроорганизмы. Биопленки, которые обычно встречаются связанными с поверхностями тканей и органов человека, часто представляют собой бактериальные биопленки.

В настоящей заявке термин "субъект" относится к человеку, пациенту, у которого существует инфекция, развивается инфекция (образование биопленки является клинически очевидным или детектируемым специалистом в данной области техники, но биопленка еще полностью не сформирована), или который подвержен риску развития инфекции (образование биопленки еще не детектируется клиници-

стом или специалистом в данной области техники, однако известно, что пациент подвержен риску развития биопленки вследствие заболевания или ожидает проведения хирургической операции, такой как, например, кардиологическая операция или имплантация трансплантата). Термин "субъект" относится к млекопитающему, предпочтительно человеку, который должен получить лечение или проходит лечение у клинициста (врача, медсестры или другого практикующего врача) для лечения заболевания, состояния, в связи с операцией или плановым обследованием.

Термин "контролируемое высвобождение" относится к контролю скорости и/или количества фармацевтически активного(ых) агента(ов), доставляемого(ых) матричными композициями согласно настоящему изобретению. Контролируемое высвобождение может быть непрерывным или прерывистым и/или линейным или нелинейным.

Термин "замедленное высвобождение" означает, что фармацевтически активный агент высвобождается в течение продолжительного периода времени.

Общие характеристики матричной композиции, используемой для покрытия субстрата.

Матричная композиция, используемая для пропитки или покрытия биологически разлагаемого субстрата в соответствии с некоторыми вариантами реализации настоящего изобретения, содержит

- (a) биосовместимый полимер;
- (b) первый липидный компонент, содержащий по меньшей мере один стерин, который нековалентно связан с биосовместимым полимером;
- (c) второй липидный компонент, содержащий по меньшей мере один фосфолипид, содержащий фрагменты жирных кислот, содержащие по меньшей мере 12 атомов углерода; и
- (d) фармацевтически активный агент.

Матричные композиции обеспечивают замедленное высвобождение фармацевтически активного агента в области хирургического вмешательства в теле субъекта, нуждающегося в этом.

Согласно конкретным вариантам реализации настоящего изобретения полимер и липиды образуют структурно упорядоченную насыщенную липидами матричную композицию, которая по существу не содержит воды. Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения матричная композиция имеет высокоорганизованную многослойную структуру, в которой полимер и липиды организованы в виде нескольких чередующихся слоев. Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения биосовместимый покрывающий матрикс содержит по меньшей мере приблизительно 50% общих липидов по массе.

Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения матричная композиция содержит по меньшей мере 10% биосовместимого полимера по массе. Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения матричная композиция содержит приблизительно 10-30% полимера по массе. Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения матричная композиция содержит приблизительно 15-25% полимера по массе. Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения матричная композиция содержит приблизительно 20% полимера по массе. Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения биосовместимый полимер составляет по меньшей мере 10% мас./мас., по меньшей мере 11% мас./мас., по меньшей мере 12% мас./мас., по меньшей мере 13% мас./мас., по меньшей мере 14% мас./мас., по меньшей мере 15% мас./мас., по меньшей мере 16% мас./мас., по меньшей мере 17% мас./мас., по меньшей мере 18% мас./мас., по меньшей мере 19% мас./мас., по меньшей мере 20% мас./мас., по меньшей мере 21% мас./мас., по меньшей мере 22% мас./мас., по меньшей мере 23% мас./мас., по меньшей мере 24% мас./мас., по меньшей мере 25% мас./мас., по меньшей мере 26% мас./мас., по меньшей мере 27% мас./мас., по меньшей мере 28% мас./мас., по меньшей мере 29% мас./мас., по меньшей мере 30% мас./мас. матрикса.

В соответствии с некоторыми вариантами реализации настоящего изобретения полимер представляет собой биологически разлагаемый сложный полиэфир. В соответствии с некоторыми вариантами реализации настоящего изобретения сложный полиэфир выбран из группы, состоящей из PLA (полимолочной кислоты). Термин "PLA" относится к поли-L-лактиду, поли-D-лактиду и поли-DL-лактиду. Согласно другому варианту реализации полимер представляет собой PGA (полигликолевую кислоту). Согласно другому варианту реализации полимер представляет собой PLGA (сополимер молочной кислоты и гликолевой кислоты). PLA, содержащаяся в PLGA, может представлять собой любую PLA известную в данной области техники, например, смесь энантиомеров или рацемат. PLGA в соответствии со способами и композициями согласно настоящему изобретению в другом варианте реализации имеет соотношение молочной кислоты/гликолевой кислоты 50:50. Согласно другому варианту реализации соотношение составляет 60:40. Согласно другому варианту реализации соотношение составляет 75:25. Согласно другому варианту реализации соотношение составляет 85:15. Согласно другому варианту реализации соотношение составляет 90:10. Согласно другому варианту реализации соотношение составляет 95:5. Согласно другому варианту реализации соотношение представляет собой другое соотношение, которое пригодно для получения профиля пролонгированного или замедленного высвобождения *in vivo*. PLGA может представлять собой случайный или блокочный сополимер. Каждая возможность представляет собой отдельный вариант реализации настоящего изобретения. Следует подчеркнуть, что полимер может быть любого размера или длины (т.е. любой молекулярной массы).

Согласно другому варианту реализации настоящего изобретения биологически разлагаемый полиэфир может быть выбран из группы, состоящей из поликапролактона, полигидроксиалканоата, полипропиленфумарата, полиортоэфира, полиангидрида и полиалкилцианоакрилата, при условии, что полиэфир содержит фрагмент, являющийся акцептором водородной связи. Согласно другому варианту реализации настоящего изобретения биологически разлагаемый полиэфир представляет собой блок-сополимер, содержащий комбинацию любых двух мономеров, выбранных из группы, состоящей из PLA, PGA, PLGA, поликапролактона, полигидроксиалканоата, полипропиленфумарата, полиортоэфира, полиангидрида и полиалкилцианоакрилата. Согласно другому варианту реализации биологически разлагаемый сложный полиэфир представляет собой случайный сополимер, содержащий комбинацию любых двух из перечисленных выше мономеров. Каждая возможность представляет собой отдельный вариант реализации настоящего изобретения.

Термин "биологически разлагаемый" относится к веществу, которое со временем разложится в результате гидролитического действия, под действием ферментов и/или других аналогичных механизмов в человеческом организме. Термин "биологически разлагаемый" дополнительно подразумевает, что вещество может разрушиться или разложиться в организме до нетоксичных компонентов после или в тот период, когда терапевтический агент высвобождался или высвобождается.

Термин "биосовместимый" относится к веществу, которое не будет вызывать существенного раздражения ткани или некроза в ткани-мишени.

Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения матриксная композиция содержит вплоть до 40% мас./мас. первого липидного компонента, содержащего стерин, который нековалентно связан с биосовместимым полимером. В соответствии с некоторыми вариантами реализации настоящего изобретения стерин составляет приблизительно 30% мас./мас. от массы матриксной композиции. Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения матриксная композиция содержит приблизительно 5-40% мас./мас. первого липидного компонента, содержащего стерин. Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения матриксная композиция содержит приблизительно 5-30% мас./мас. стерина. Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения матриксная композиция содержит приблизительно 5-20% мас./мас. стерина. Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения матриксная композиция содержит приблизительно 5-15% мас./мас. стерина. Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения матриксная композиция содержит приблизительно 7-13% мас./мас. стерина. Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения матриксная композиция содержит приблизительно 9-11% мас./мас. стерина. В соответствии с некоторыми типичными вариантами реализации матриксная композиция содержит приблизительно 10% мас./мас. стерина. Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения стерин составляет по меньшей мере 5% мас./мас., по меньшей мере 6% мас./мас., по меньшей мере 7% мас./мас., по меньшей мере на 8% мас./мас., по меньшей мере 9% мас./мас., по меньшей мере 10% мас./мас., по меньшей мере 11% мас./мас., по меньшей мере 12% мас./мас., по меньшей мере 13% мас./мас., по меньшей мере 14% мас./мас., по меньшей мере 15% мас./мас., по меньшей мере 16% мас./мас., по меньшей мере 17% мас./мас., по меньшей мере 18% мас./мас., или по меньшей мере 19% мас./мас. матрикса. Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения стерин составляет не более 20% мас./мас., не более 19% мас./мас., не более 18% мас./мас., не более 17% мас./мас., не более 16% мас./мас., не более 15% мас./мас., не более 14% мас./мас., не более 13% мас./мас., не более 12% мас./мас., не более 11% мас./мас., не более 10% мас./мас., не более 9% мас./мас., не более 8% мас./мас., не более 7% мас./мас., не более 6% мас./мас. или не более 5% мас./мас. матрикса. Согласно некоторым предпочтительным вариантам стерин представляет собой холестерин.

Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения матриксная композиция содержит по меньшей мере приблизительно 30% мас./мас. второго липидного компонента, содержащего по меньшей мере один фосфолипид, содержащий фрагменты жирных кислот, содержащие по меньшей мере 12 атомов углерода. Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения матриксная композиция содержит по меньшей мере приблизительно 40% мас./мас. второго липидного компонента, содержащего по меньшей мере один фосфолипид, содержащий фрагменты жирных кислот, содержащие по меньшей мере 12 атомов углерода. Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения матриксная композиция содержит приблизительно 40-75% мас./мас. второго липидного компонента, содержащего по меньшей мере один фосфолипид, содержащий фрагменты жирных кислот, содержащие по меньшей мере 12 атомов углерода. Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения матриксная композиция содержит приблизительно 50-70% мас./мас. второго липидного компонента, содержащего по меньшей мере один фосфолипид, содержащий фрагменты жирных кислот, содержащие по меньшей мере 12 атомов углерода. В соответствии с некоторыми типичными вариантами реализации матриксная композиция содержит приблизительно 60% мас./мас. второго липидного компонента, содержащего по меньшей мере один фосфолипид, содержащий фрагменты жирных кислот, содержащие по меньшей мере 12 атомов углерода. Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения второй липидный компонент, содержащий по меньшей мере один фосфолипид, содержащий фрагменты жирных кислот, содержащие по меньшей мере 12 атомов углерода, составляет по меньшей мере

40% мас./мас., по меньшей мере 45% мас./мас., по меньшей мере 50% мас./мас., по меньшей мере 55% мас./мас., по меньшей мере 60% мас./мас., по меньшей мере 65% мас./мас. или по меньшей мере 70% мас./мас. матрикса. Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения второй липидный компонент, содержащий по меньшей мере один фосфолипид, содержащий фрагменты жирных кислот, содержащие по меньшей мере 12 атомов углерода, составляет не более 75% мас./мас., не более 70% мас./мас., не более 65% мас./мас. матрикса. Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения второй липидный компонент содержит по меньшей мере одну молекулу фосфолипида, содержащего фрагменты жирных кислот, содержащие по меньшей мере 14 атомов углерода. Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения второй липидный компонент содержит по меньшей мере одну молекулу фосфатидилхолина, содержащего фрагменты жирных кислот, содержащие по меньшей мере 14 атомов углерода. В соответствии с некоторыми вариантами реализации настоящего изобретения молекулы фосфатидилхолина композиции содержат DMPC. В соответствии с некоторыми вариантами реализации настоящего изобретения молекулы фосфатидилхолина композиции содержат DPPC. В соответствии с некоторыми вариантами реализации настоящего изобретения молекулы фосфатидилхолина композиции содержат DSPC. Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения матриксная композиция содержит DOPC. Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения матриксная композиция содержит смесь DOPC со вторым фосфолипидом, содержащим фрагменты жирных кислот, содержащие по меньшей мере 14 атомов углерода. Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения матриксная композиция содержит смесь DMPC и DPPC. Как правило, соотношение DMPC и DPPC в композиции составляет от приблизительно 10:1 до 1:10. В соответствии с некоторыми вариантами реализации настоящего изобретения матриксная композиция содержит смесь DPPC и DSPC. Как правило, соотношение DPPC и DSPC в составе составляет приблизительно от 10:1 до 1:1; предпочтительно от 5:1 до 2:1; более предпочтительно соотношение между DPPC и DSPC в составе составляет приблизительно 3:1. В соответствии с некоторыми вариантами реализации настоящего изобретения матриксная композиция содержит приблизительно 50-70% мас./мас. смеси DMPC и DPPC. Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения матриксная композиция содержит приблизительно 50-70% мас./мас. смеси DPPC и DSPC.

Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения массовое соотношение липид:полимер композиции согласно настоящему изобретению составляет от 1:1 до 9:1 включительно. Согласно другому варианту реализации соотношение составляет от 2:1 до 9:1 включительно. Согласно другому варианту реализации соотношение составляет от 3:1 до 9:1 включительно. Согласно другому варианту реализации соотношение составляет от 4:1 до 9:1 включительно. Согласно другому варианту реализации соотношение составляет от 5:1 до 9:1 включительно. Согласно другому варианту реализации соотношение составляет от 6:1 до 9:1 включительно. Согласно другому варианту реализации соотношение составляет от 7:1 до 9:1 включительно. Согласно другому варианту реализации соотношение составляет от 8:1 до 9:1 включительно. Согласно другому варианту реализации соотношение составляет от 1,5:1 до 9:1 включительно. Каждая возможность представляет собой отдельный вариант реализации настоящего изобретения.

Следует подчеркнуть, что период замедленного высвобождения с использованием композиций согласно настоящему изобретению может быть запрограммирован с учетом биохимических и/или биофизических свойств биополимера и липида. В частности, следует рассматривать скорость разрушения полимера и текучесть липидов. Например, полимер PLGA (85:15) будет разрушаться медленнее, чем полимер PLGA (50:50). Фосфатидилхолин (12:0) более текучий (менее жесткий и менее упорядоченный) при температуре тела, чем фосфатидилхолин (18:0). Следовательно, например, скорость высвобождения лекарственного препарата, включенного в матриксную композицию, содержащую PLGA (85:15) и фосфатидилхолин (18:0), будет более низкой, чем у лекарственного препарата, включенного в матрикс, состоящий из PLGA (50:50) и фосфатидилхолина (14:0). Другой аспект, который будет определять скорость высвобождения, включает физические характеристики захваченного или встроенного лекарственного препарата. Помимо этого, скорость высвобождения лекарственных препаратов можно дополнительно контролировать путем добавления в матриксную композицию других липидов, некоторые из которых описаны ниже.

Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения матриксная композиция содержит приблизительно 1-20% мас./мас. фармацевтически активного агента. Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения матриксная композиция содержит приблизительно 5-15% мас./мас. фармацевтически активного агента. Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения матриксная композиция содержит приблизительно 8-12% мас./мас. фармацевтически активного агента. Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения матриксная композиция содержит приблизительно 10% мас./мас. фармацевтически активного агента. Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения фармацевтически активный агент составляет по меньшей мере 1% мас./мас., по меньшей мере 2% мас./мас., по меньшей мере 3% мас./мас., по меньшей мере 4% мас./мас., по меньшей мере 5% мас./мас., по меньшей мере 6% мас./мас., по меньшей мере 7% мас./мас., по меньшей мере 8% мас./мас., по меньшей мере 9% мас./мас., по меньшей мере

10% мас./мас., по меньшей мере 11% мас./мас., по меньшей мере 12% мас./мас., по меньшей мере 13% мас./мас., по меньшей мере 14% мас./мас., по меньшей мере 15% мас./мас., по меньшей мере 16% мас./мас., по меньшей мере 17% мас./мас., по меньшей мере 18% мас./мас. или по меньшей мере 19% мас./мас. матрикса. Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения фармацевтически активный агент составляет не более 20% мас./мас., не более 19% мас./мас., не более 18% мас./мас., не более 17% мас./мас., не более 16% мас./мас., не более 15% мас./мас., не более 14% мас./мас., не более 13% мас./мас., не более 12% мас./мас., не более 11% мас./мас., не более 10% мас./мас., не более 9% мас./мас., не более 8% мас./мас., не более 7% мас./мас., не более 6% мас./мас., не более 5% мас./мас. матрикса.

В соответствии с некоторыми вариантами реализации настоящего изобретения фармацевтически активный агент представляет собой антибиотический агент. В соответствии с некоторыми вариантами реализации настоящего изобретения фармацевтически активный агент представляет собой противогрибковый агент. В соответствии с некоторыми вариантами реализации настоящего изобретения фармацевтически активный агент представляет собой антисептический агент. В соответствии с некоторыми вариантами реализации настоящего изобретения фармацевтически активный агент представляет собой противовоспалительный агент. В соответствии с некоторыми вариантами реализации настоящего изобретения фармацевтически активный агент представляет собой стероидный или нестероидный противовоспалительный препарат. Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения множество фармацевтически активных агентов включены в матриксную композицию, например, комбинация двух или более антибиотических агентов, комбинация одного или более антибиотических агентов и одного или более противогрибковых агентов, комбинация одного или более антибиотических агентов и одного или более нестероидных противовоспалительных препаратов (НПВП). Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения фармацевтически активный агент входит в состав матриксной композиции. Каждая возможность представляет собой отдельный вариант реализации настоящего изобретения. В соответствии с некоторыми вариантами реализации настоящего изобретения фармацевтически активный агент имеет низкую растворимость в воде. Согласно другому варианту реализации фармацевтически активный агент является гидрофобным. Согласно другому варианту реализации фармацевтически активный агент является амфипатическим.

Термин "гидрофобный" относится к материалу, растворимость которого в дистиллированной воде при температуре окружающей среды составляет менее чем приблизительно 1 г на 100 мл, или менее чем приблизительно 0,5 г на 100 мл, или менее чем приблизительно 0,1 г на 100 мл.

В настоящей заявке фармацевтически активный агент, имеющий низкую растворимость в воде, относится к материалу, растворимость которого в дистиллированной воде при температуре окружающей среды составляет менее чем приблизительно 3 г на 100 мл, или менее чем приблизительно 2 г на 100 мл, или 1-2 г на 100 мл.

В соответствии с некоторыми вариантами реализации настоящего изобретения фармацевтически активный агент, используемый в способах согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения, представляет собой антибиотический агент, выбранный из группы, состоящей из пенициллиновых антибиотиков, цефалоспориновых антибиотиков, макролидных антибиотиков, тетрациклиновых антибиотиков, глицилциклиновых антибиотиков, фосфомициновых антибиотиков, аминогликозидных антибиотиков и новых хинолоновых антибиотиков. Неограничивающие примеры антибиотиков включают амоксициллин, амоксициллин/клавулановую кислоту, ампициллин/сульбактам, пенициллин, метронидазол, клиндамицин, хлортетрациклин, демеклоциклин, окситетрациклин, амикацин, гентамицин, канамицин, неомицин, нетилмицин, стрептомицин, тобрамицин, цефадроксил, цефазолин, цефалексин, цефалотин, цефапирин, цефрадин, цефаклор, цефамандол, цефаметазол, цефоницид, цефотетан, цефокситин, цефподоксим, цефпрозил, цефуроксим, цефдинир, цефиксим, цефоперазон, цефотаксим, цефтазидим, цефтибутен, цефтизоксим, цефтриаксон, цефепим, азитромицин, клафоран, кларитромицин, диритромицин, эритромицин, линкомицин, тролеандомицин, бакампициллин, карбенициллин, клоксациллин, диклоксациллин, метициллин, мезлоциллин, нафциллин, оксациллин, пиперациллин, тикарциллин, циноксацин, ципрофлоксацин, эноксацин, грепафлоксацин, левофлоксацин, ломефлоксацин, налидиксовую кислоту, норфлоксацин, офлоксацин, спарфлоксацин, сульфизоксазол, сульфацин, сульфадиазин, сульфаметоксазол, дапсон, азтреонам, бацитрацин, капреомицин, хлорамфеникол, клофазимин, колистиметат, колистин, циклосерин, фосфомицин, фуразолидон, уротропин, нитрофурантоин, пентамидин, рифабутин, рифампин, спектиномицин, тигециклин, триметоприм, триметрексат глюкуролат, ванкомицин, хлоргексидин и карбапенемовые антибиотики, такие как эртапенем. В соответствии с некоторыми вариантами реализации настоящего изобретения антибиотический агент представляет собой пептидный антибиотик. Каждый антибиотик представляет собой отдельный вариант реализации настоящего изобретения.

Согласно некоторым предпочтительным вариантам антибиотический агент в соответствии со способами и композициями согласно настоящему изобретению представляет собой тетрациклин. Согласно одному варианту реализации тетрациклин представляет собой доксициклин. Согласно другому варианту реализации антибиотик представляет собой гидрофобный тетрациклин. Неограничивающие примеры

гидрофобных тетрациклинов включают 6-диметил-6-дезокситетрациклин, 6-метилентетрациклин, миноциклин (также известный как 7-диметиламино-6-диметил-6-дезокситетрациклин) и 13-фенилмеркапто-а-6-дезокситетрациклин. Согласно другому варианту реализации антибиотик выбран из группы, состоящей из доксициклина, тетрациклина и миноциклина.

Согласно другому варианту реализации антибиотик представляет собой доксициклин или доксициклина гиклат.

Доксициклин можно эффективно применять для лечения инфекций области хирургического вмешательства, вызванных многими типами грамотрицательных и грамположительных бактерий, и для лечения ряда состояний. Важно отметить, что доксициклин является очень эффективным против *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*), наиболее распространенных бактерий, вызывающих инфекции области хирургического вмешательства. Помимо этого бактериологическое тестирование показывает значимую восприимчивость к доксициклину метициллин-резистентного *Staphylococcus aureus* (MRS A). Минимальные ингибирующие концентрации (МИК) доксициклина в отношении распространенных бактерий, а также *Staphylococcus aureus*, являются относительно низкими и могут быть ниже 0,1 мкг/мл (в отношении *Staphylococcus aureus*), что обеспечивает высокую активность в условиях *in vivo* против инфекций области хирургического вмешательства.

В соответствии с некоторыми вариантами реализации настоящего изобретения фармацевтически активный агент, используемый в способах в соответствии с некоторыми вариантами реализации настоящего изобретения, представляет собой противогрибковый агент, выбранный из группы, состоящей из комплекса амфотерицина В и сульфата холестерина, натамицина, амфотерицина, клотримазола, нистатина, липидного комплекса амфотерицина В, флуконазола, флуцитозина, гризеофульвина, итраконазола, кетоконазола, бензойной кислоты и салициловой кислоты, бетаметазона и клотримазола, бутенафина, карбола-фуксина, циклопирокса, клиохинола, клиохинола и гидрокортизона, клотримазола, эконазола, генцианвиолета, галопротина, йодхинола и гидрокортизона, кетоконазола, миконазола, нафтифина, нистатина, нистатина и триамцинолона, оксиконазола, тиосульфата натрия, сулконазола, тербинафина, толнафтата, триацетина, ундециловой кислоты и ее производных, бутконазола, клотримазола, сульфаниламидов, терконазола и тиокконазола.

Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения матриксная композиция согласно настоящему изобретению может содержать, в дополнение к антибиотическому агенту и/или противогрибковому агенту, другой фармацевтически активный агент, выбранный из стероидов и/или нестероидных противовоспалительных препаратов (НПВП).

Любой подходящий НПВП может быть включен в матриксную композицию для замедленного и/или контролируемого высвобождения. Неограничивающие примеры НПВП включают ибупрофен, флурбипрофен, аминсалицилат натрия, трисалицилат холина магния, салицилат холина, диклофенак, дифлунизал, этодолак, фенпрофен, индометацин, кетопрофен, кетолак трометамин, салицилат магния, меклофенамат, мефенамовую кислоту, набуметон, напроксен, оксaproзин, оксифенбутазон, пироксикам, салсалат, сулиндак и толметин. Каждый из перечисленных НПВП представляет собой отдельный вариант реализации настоящего изобретения.

Любой подходящий нестероидный противовоспалительный лекарственный препарат может быть включен в матриксную композицию. Неограничивающие примеры стероидных противовоспалительных препаратов (SAID) для применения в композициях согласно настоящему изобретению включают, но не ограничиваются ими, кортикостероиды, такие как бетаметазон, бетаметазона валерат, кортизон, дексаметазон, дексаметазона 21-фосфат, флуорокортизон, флуметазон, флуоцинонид, флуоцинонида дезонид, флуоцинолон, флуоцинолона ацетонид, флуокортолон, галцинонид, галопредон, гидрокортизон, гидрокортизона 17-валерат, гидрокортизона 17-бутират, гидрокортизона 21-ацетат, метилпреднизолон, преднизолон, преднизолона 21-фосфат, преднизон, триамцинолон, триамцинолона ацетонид, кортодоксон, фторацетонид, флуорокортизон, дифторзона диацетат, флурандренолона ацетонид, медризон, амцинафел, амцинафид, бетаметазон и другие его сложные эфиры, хлоропреднизон, клоркортелон, дезцинолон, дезонид, дихлоризон, дифлупреднат, флулоронид, флуметазон, флунизолит, флуокортолон, фторметалон, флуперолон, флупреднизолон, мепреднизон, метилмепреднизон, параметазон, кортизона ацетат, гидрокортизона циклопентилпропионат, кортодоксон, флуцетонид, флуорокортизона ацетат, флурандренолона ацетонид, медризон, амцинафал, амцинафид, бетаметазон, бетаметазона бензоат, хлоропреднизона ацетат, клокортолона ацетат, дезцинолона ацетонид, дезоксиметазон, дихлоризона ацетат, дифлупреднат, флулоронид, флуметазона пивалат, флунизолита ацетат, флуперолона ацетат, флупреднизолона валерат, параметазона ацетат, преднизолоамат, преднивал, триамцинолона гексацетонид, кортивазол, формокортал и нивазол.

Согласно конкретным вариантам реализации настоящего изобретения матриксная композиция по существу не содержит воды. В настоящей заявке термин "по существу не содержит воды" относится в одном из вариантов реализации к композиции, содержащей менее 5% воды по массе. Согласно другому варианту реализации термин относится к композиции, содержащей менее 4,5% воды по массе. Согласно другому варианту реализации термин относится к композиции, содержащей менее 4,0% воды по массе. Согласно другому варианту реализации термин относится к композиции, содержащей менее 3,5% воды

по массе. Согласно другому варианту реализации термин относится к композиции, содержащей менее 3,0% воды по массе. Согласно другому варианту реализации термин относится к композиции, содержащей менее 2,5% воды по массе. Согласно другому варианту реализации термин относится к композиции, содержащей менее 2,0% воды по массе. Согласно другому варианту реализации термин относится к композиции, содержащей менее 1,5% воды по массе. Согласно другому варианту реализации термин относится к композиции, содержащей менее 1,0% воды по массе. Согласно другому варианту реализации термин относится к отсутствию таких количеств воды, которые влияют на водостойкие свойства композиции. Согласно другому варианту реализации термин относится к композиции, изготовленной без использования каких-либо водных растворителей. Согласно другому варианту реализации получение композиции с использованием способа по существу не содержащего воды, описанного в настоящем документе, обеспечивает насыщение липидами. Насыщение липидами обеспечивает способность матричной композиции противостоять общему разрушению в условиях *in vivo*; следовательно, матричная композиция способна опосредовать пролонгированное высвобождение в масштабе нескольких дней, недель или месяцев.

Согласно другому варианту реализации матричная композиция по существу не содержит несвязанной воды. Согласно другому варианту реализации термин относится к композиции, не содержащей детектируемых количеств несвязанной воды. Термин "несвязанная вода" относится к свободной воде, которая не является частью тонкой пленки воды (обычно толщиной в несколько молекул), образующейся на поверхности макромолекул (например, фосфолипидов и полимеров). Общее количество воды в композиции может быть определено любым способом, известным в данной области техники, таким как титрование по Карлу Фишеру и потери при сушке. Соотношение количеств связанной и несвязанной воды может быть определено, например, с помощью дифференциальной сканирующей калориметрии (ДСК).

Технологическая платформа субстрата, пропитанного или полностью или частично покрытого матричной композицией, используемой в способах согласно настоящему изобретению.

Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения покрывающая матричная композиция имеет высокоорганизованную многослойную структуру, в которой полимер и связанный холестерин образуют один тип слоя, фосфолипиды образуют второй тип слоя и два указанных типа слоев организованы в виде множества чередующихся или квази-чередующихся слоев.

Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения покрывающая матричная композиция согласно настоящему изобретению содержит непрерывную структуру, лишенную внутренних зазоров и/или свободного объема. Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения покрывающая матричная композиция насыщена липидами, это указывает на тот факт, что пространство между слоями полимера или полимерным остовом заполнено молекулами липидов в комбинации с фармацевтически активным агентом (например, антибиотическим агентом и/или противогрибковым агентом), в той мере, что дополнительные липидные фрагменты не могут быть включены в матрикс в заметной степени.

Покрывающие матричные композиции, раскрытые в данном описании, насыщены липидами. В настоящей заявке термин "насыщенный липидами" относится к насыщению полимера матричной композиции первым липидным компонентом (например, холестерином) и вторым липидным компонентом (например, фосфолипидами) в комбинации с любым фармацевтическим агентом, присутствующим в матриксе, и любыми другими липидами, которые могут присутствовать. Матричная композиция насыщена любыми присутствующими липидами. Согласно другому варианту реализации "насыщение липидами" относится к заполнению внутренних зазоров (свободный объем) в пределах липидного матрикса, определенного внешней границей полимерного остова. Зазоры заполняются фосфатидилхолинами в комбинации с холестерином и возможно другим типом липидов и антибиотическим агентом, присутствующим в матриксе, в той мере, что дополнительные липидные фрагменты уже не могут быть включены в матрикс в заметной степени. Насыщенные липидами матриксы согласно настоящему изобретению обладают дополнительным преимуществом, которое заключается в том, что они не требуют синтетического эмульгатора или поверхностно-активного вещества, такого как поливиниловый спирт; следовательно, матричные композиции согласно настоящему изобретению, как правило, по существу не содержат поливинилового спирта.

Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения покрывающая матричная композиция способна высвобождать по меньшей мере 30% активного агента по кинетике нулевого порядка, когда она поддерживается в водной среде (когда она гидратирована). Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения по меньшей мере 40% фармацевтически активного агента высвобождается из матричной композиции по кинетике нулевого порядка, когда она поддерживается в водной среде. Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения по меньшей мере 50% фармацевтически активного агента высвобождается из матричной композиции по кинетике нулевого порядка, когда она поддерживается в водной среде. Не ограничиваясь конкретной теорией или механизмом действия, авторы настоящего изобретения полагают, что организованная структура или подструктура матричной композиции согласно настоящему изобретению является одной из основных причин скорости высвобождения по кинетике нулевого порядка лекарственного препарата или препаратов

из матриксной композиции после ее гидратации. Следовательно, скорость высвобождения по кинетике нулевого порядка можно отнести к медленному и непрерывному "отщеплению" гидратированного(ых) поверхностного(ых) слоя(ев) от высокоорганизованных слоев липидов и полимера с сопутствующим высвобождением лекарственного препарата, поскольку компоненты поверхностного слоя удаляются из матрикса. Было выдвинуто предположение, что процесс медленно повторяется, высвобождая лекарственный(ые) препарат(ы) с постоянной скоростью в течение дней, недель или даже месяцев, пока матрикс не будет полностью разрушен. Не желая быть связанными соответствием какой-либо теории, авторы настоящего изобретения полагают, что полимер образует первый тип слоя, и что фосфолипид(ы) образует второй тип слоя, и что эти слои чередуются, т.е. (полимер)-(фосфолипид)-(полимер)-(фосфолипид); в настоящей заявке термин "квази-чередование" используется для обозначения ситуации, при которой имеет место чередование более чем одной копии определенного типа слоя, например (полимер)-(фосфолипид)-(фосфолипид)-(полимер)-(фосфолипид)-(фосфолипид)-(полимер). Предполагается, что молекулы холестерина расположены между двумя слоями, полярная головная группа направлена в сторону полимера и гидрофобная часть располагается между фосфолипидными молекулами.

Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения матриксная композиция содержит множество смешанных слоев полимера и фосфолипида, как описано выше, которые не образуют микросферы, мицеллы, обратные мицеллы или липосомы. Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения матриксная композиция не содержит мицелл, обратных мицелл или липосом.

В соответствии с некоторыми вариантами реализации настоящего изобретения матрикс согласно настоящему изобретению является водостойким. Таким образом, вода не может легко, или вообще не способна, диффундировать во внутренние слои матрикса и фармацевтически активный агент, захваченный между внутренними слоями, может с трудом, или вообще не способен, диффундировать из матрикса. Более конкретно, предложена композиция, основа которой (например, часть композиции, которая окружена внешней поверхностью, причем указанная внешняя поверхность подвергается воздействию окружающей среды) не подвержена воздействию воды или подвергается воздействию в такой степени, что количество проникающей воды небольшое и недостаточное, чтобы вызвать распад или разрушение матриксной основы. Не желая быть связанными соответствием какой-либо теории или механизмам действия, авторы настоящего изобретения полагают, что водостойкие свойства матриксной композиции, наряду с ее уникальной многослойной структурой, позволяют матриксу обеспечивать замедленное высвобождение, например, придают матриксу способность высвобождать по меньшей мере 30% фармацевтически активного агента (например, антибиотического агента) из композиции по кинетике нулевого порядка в течение нескольких дней, недель и даже месяцев, когда композицию поддерживают в водной среде при физиологической температуре.

Эффективность препарата обычно определяется его локальной концентрацией. Локальная концентрация, в свою очередь, определяется соотношением скорости накопления лекарственного препарата, который высвобождается из продукта, и скорости его выведения путем физического распределения в окружающих тканях, а также путем нейтрализации и/или деградации. Оптимальная система доставки лекарственного препарата должна высвобождать лекарственный препарат в соответствии с биологической потребностью так, чтобы создать эффективную концентрацию в непосредственной близости от мишени и на протяжении достаточного периода времени, необходимого для оказания желаемого биологического эффекта. Это может быть достигнуто путем высвобождения активной формы лекарственного препарата вблизи мишени со скоростью, которая приведет к достижению эффективной концентрации, которая выше минимальной эффективной концентрации, но ниже токсического уровня, и в течение требуемого периода времени, необходимого для оказания эффективного терапевтического действия.

Один из способов более эффективного контроля локального воздействия какого-либо лекарственного препарата заключается в контроле скорости его поступления. Скорость поступления обусловлена

- 1) профилем высвобождения лекарственного препарата;
- 2) скоростью высвобождения; и
- 3) продолжительностью высвобождения.

Перечисленные параметры тесно связаны между собой; в то время как скорость высвобождения сильно зависит от конкретного состава, продолжительность высвобождения зависит от двух факторов: скорости высвобождения и размера резервуара лекарственного препарата.

Матриксная композиция согласно настоящему изобретению, содержащая комбинацию конкретных липидов и полимеров, нагруженных лекарственным препаратом, предпочтительно антибиотическим агентом, определяет не только профиль скорости высвобождения лекарственного препарата, но также обеспечивает контроль скорости высвобождения в течение продолжительной стадии по кинетике нулевого порядка. Не желая быть связанными соответствием какой-либо теории или механизму действия, авторы настоящего изобретения полагают, что наиболее эффективный профиль будет сочетать начальное высвобождение, которое обеспечит эффективную локальную концентрацию лекарственного препарата, с последующим непрерывным высвобождением по кинетике нулевого порядка в течение достаточно длительного периода времени, например, вплоть до 2 месяцев, вплоть до 7 недель, вплоть до 6 недель, вплоть до 5 недель, вплоть до 4 недель, вплоть до 3 недель, вплоть до 2 недель, предпочтительно по

меньшей мере 3-4 недели. Начальное высвобождение должно быть ограничено так, чтобы оставить достаточный резервуар для поддержания последующего пролонгированного высвобождения.

Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения, если композицию поддерживают в водной среде при физиологических температурах, от 1 до 50% указанного фармацевтически активного агента высвобождается из матричной композиции к концу первого дня, от 10 до 100% указанного фармацевтически активного агента высвобождается из матричной композиции к концу первой недели, от 20 до 100% указанного фармацевтически активного агента высвобождается из матричной композиции к концу первых двух недель и от 30 до 100% указанного фармацевтически активного агента высвобождается в конце первых трех недель. Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения, если композицию поддерживают в водной среде при физиологических температурах, по меньшей мере 10%, но не более 60% фармацевтически активного агента высвобождается в конце первой недели, по меньшей мере 20%, но не более 80% фармацевтически активного агента высвобождается в конце второй недели, по меньшей мере 30% фармацевтически активного агента высвобождается в конце третьей недели. По меньшей мере 40% фармацевтически активного агента высвобождается в конце третьей недели. По меньшей мере 50% фармацевтически активного агента высвобождается в конце третьей недели. По меньшей мере 60% фармацевтически активного агента высвобождается в конце третьей недели. Согласно предпочтительным вариантам реализации фармацевтически активный агент представляет собой антибиотический агент.

В соответствии с некоторыми вариантами реализации настоящего изобретения, как было показано (см. примеры 1 и 2), частицы субстрата (например ортофосфата кальция или поливинилового спирта), пропитанные/покрытые матричной композицией, содержащей приблизительно 15-25% мас./мас. PLGA, приблизительно 5-15% мас./мас. холестерина, приблизительно 50-70% мас./мас. смеси DPPC и DSPC, в которой соотношение DPPC и DSPC составляет от приблизительно 5:1 до 2:1, и приблизительно 7-12% мас./мас. доксициклина, демонстрируют начальное высвобождение вплоть до приблизительно 35% включенного антибиотика и предпочтительно вплоть до 30% включенного антибиотика. Количество лекарственного препарата, которое высвобождается немедленно после гидратации, клинически безопасно и оставляет большую часть лекарственного препарата (по меньшей мере 65%) для пролонгированной доставки в течение не менее 30 дней, и может повысить локальную концентрацию доксициклина до 10-50 МИК или более.

Субстрат, пропитанный или покрытый, полностью или частично, матричной композицией, используемой в способах согласно настоящему изобретению, постепенно высвобождает фармацевтически активный агент (например, антибиотический агент) с постоянной скоростью высвобождения (приблизительно 1,5-5% (массовая доля фармацевтического агента, высвобождаемого за сутки/общая масса фармацевтически активного агента, первоначально инкапсулированного в матричную композицию)), что обеспечивает локальную концентрацию лекарственного препарата, которая по меньшей мере в 10 раз выше минимальной ингибирующей концентрации (МИК) антибиотика в отношении патогенов, которые являются наиболее распространенными при инфекциях области хирургического вмешательства (например, бактерии *Staphylococcus aureus*), в течение периода вплоть до 5 недель.

Субстрат, пропитанный или покрытый, полностью или частично, матричной композицией, используемой в способах согласно настоящему изобретению, позволяет включать большое разнообразие одной или более биологически активных молекул и высвобождать их с заранее заданной скоростью в течение периода от нескольких дней до нескольких недель.

Субстрат, пропитанный или покрытый, полностью или частично, матричной композицией, используемой в способах согласно настоящему изобретению, высвобождает фармацевтически активный агент локально с прогнозируемой замедленной скоростью. Следовательно, терапевтические уровни лекарственного препарата можно поддерживать локально в области хирургического вмешательства (например, в разрезе), сохраняя при этом низкие или отсутствующие системные уровни. Благодаря длительному локальному высвобождению фармацевтического агента небольшая и безопасная доза локального фармацевтического агента, которая, в некоторых случаях, не превышает однократную дозу, обычно вводимую внутривенно, является весьма эффективной при эрадикации локальных бактериальных инфекций области хирургического вмешательства. Например, количество антибиотика (например, доксициклина) в 5 г субстрата, пропитанного или покрытого, полностью или частично, матричной композицией, используемой в способах согласно настоящему изобретению, приблизительно равно количеству антибиотика в однократной дозе, которую обычно вводят внутривенно, или в одной пилюле (или таблетке) для введения внутрь.

Помимо этого покрывающая матричная композиция действует как резервуар, в котором включенный фармацевтический агент защищен. В отличие от стандартных систем доставки на основе полимеров, указанное свойство может обеспечить защиту резервуара чувствительных лекарственных препаратов не только от агентов, вызывающих биологическое разрушение, таких как ферменты, но также от химического разрушения вследствие растворимости материалов в условиях *in vivo* и гидратации. Если требуется продолжительное действие, то указанное свойство становится чрезвычайно важным.

Термин "скорость высвобождения нулевого порядка" или "кинетика высвобождения нулевого по-

рядка" означает постоянную, линейную, непрерывную, замедленную и контролируемую скорость высвобождения фармацевтически активного агента из полимерного матрикса, т.е. зависимость количества высвобожденного фармацевтически активного агента от времени является линейной. Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения по меньшей мере 30% фармацевтически активного агента высвобождается из матриксной композиции по кинетике нулевого порядка со скоростью приблизительно 1-7, 1,5-6, 1,5-5, 2-4, 1,5-3% (массовая доля фармацевтически активного агента, высвобождаемого за сутки/общая масса фармацевтически активного агента, первоначально инкапсулированного в композицию).

Каждая возможность представлять собой отдельный вариант реализации настоящего изобретения.

Липиды.

"Фосфолипиды" представляют собой фосфоглицериды, содержащие одну фосфатидильную связь на остове глицерина и жирные кислоты в остальных двух положениях. Тем не менее, следует четко понимать, что фосфоглицериды, содержащие углеводородные цепи, отличные от фрагментов жирных кислот, включая алкильные цепи, алкенильные цепи или любую другую углеводородную цепь, содержащую по меньшей мере 12 атомов углерода, или, в другом варианте, по меньшей мере 14 атомов углерода, включены в объем настоящего изобретения. Связь может представлять собой простую эфирную связь, вместо ацильной связи, которая встречается в фосфолипидах.

"Фосфатидилхолин" относится к фосфоглицериду, содержащему головную группу фосфорилхолина. Указанный фосфолипид состоит из головной группы холина и глицерофосфорной кислоты с различными фрагментами жирных кислот. Фрагменты жирных кислот, как правило, являются природными. Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения фрагменты жирных кислот являются насыщенными. Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения фрагменты жирных кислот являются ненасыщенными. "Насыщенный" относится к отсутствию двойной связи в углеводородной цепи. Согласно другому варианту реализации фрагменты жирных кислот содержат по меньшей мере 12 атомов углерода. Согласно другому варианту реализации фрагменты жирных кислот содержат 14 углеродных атомов. Согласно другому варианту реализации фрагменты жирных кислот содержат 16 атомов углерода. Согласно другому варианту реализации фрагменты жирных кислот содержат 18 атомов углерода. Согласно другому варианту реализации фрагменты жирных кислот содержат 14-18 атомов углерода. Согласно другому варианту реализации фрагменты жирных кислот содержат 14-16 атомов углерода. Согласно другому варианту реализации фрагменты жирных кислот содержат 16-18 атомов углерода. Согласно другому варианту реализации фрагменты жирных кислот выбраны так, что температура перехода гель-жидкость-кристалл полученного матрикса составляет по меньшей мере 40°C. Согласно другому варианту реализации оба фрагмента жирных кислот представляют собой арахидонил. Каждая возможность представляет собой отдельный вариант реализации настоящего изобретения.

Согласно другому варианту реализации настоящего изобретения фосфатидилхолин представляет собой природный или синтетический фосфатидилхолин. В соответствии с одним из вариантов реализации фосфатидилхолин представляет собой симметричный фосфатидилхолин (т.е. фосфатидилхолин, в котором два фрагмента жирных кислот являются идентичными (например) димиристоилфосфатидилхолин (DMPC), дипальмитоилфосфатидилхолин (DPPC), 1,2-дистеароил-sn-глицеро-3-фосфохолин (DSPC), диолеоилфосфатидилхолин (DOPC). Согласно другому варианту реализации фосфатидилхолин представляет собой асимметричный фосфатидилхолин (например, 1-пальмитоил-2-стеароилфосфатидилхолин (PSPC); 1-пальмитоил-2-олеоилфосфатидилхолин (POPC), 1-стеароил-2-арахидонилфосфатидилхолин (SAPC), 2-арахидонил-1-пальмитоил-sn-глицеро-3-фосфохолин (APPC)). Согласно другому варианту реализации настоящего изобретения фосфатидилхолин представляет собой любой другой фосфатидилхолин, известный в данной области техники. Каждый фосфатидилхолин представляет собой отдельный вариант реализации настоящего изобретения.

В соответствии с некоторыми вариантами реализации настоящего изобретения по меньшей мере один фосфатидилхолин в матриксной композиции, пригодной для предотвращения и/или лечения инфекций области хирургического вмешательства, выбран из группы, состоящей из DMPC, DPPC, DSPC, DOPC и любой их комбинации. В другом варианте по меньшей мере один фосфатидилхолин выбран из DMPC, DPPC или их комбинации. В другом варианте по меньшей мере один фосфатидилхолин выбран из DPPC, DSPC или их комбинации. В другом варианте по меньшей мере один фосфатидилхолин выбран из DMPC, DPPC или их комбинации. В другом варианте по меньшей мере один фосфатидилхолин выбран из DMPC, DOPC или их комбинации.

"Фосфатидилэтаноламин" состоит из комбинации глицерина, этерифицированного двумя жирными кислотами и фосфорной кислотой, в то время как фосфатная группа комбинирована с этаноламином. Согласно одному варианту реализации фрагменты жирных кислот могут быть насыщенными или ненасыщенными. Согласно другому варианту реализации фрагменты жирных кислот содержат по меньшей мере 14 атомов углерода. Согласно другому варианту реализации фрагменты жирных кислот содержат по меньшей мере 16 атомов углерода. Согласно другому варианту реализации фрагменты жирных кислот содержат 14 атомов углерода. Согласно другому варианту реализации фрагменты жирных кислот содержат 16 атомов углерода. Согласно другому варианту реализации фрагменты жирных кислот содержат 18 атомов углерода. Согласно другому варианту реализации фрагменты жирных кислот содержат 14-18 атомов угле-

рода. Согласно другому варианту реализации фрагменты жирных кислот содержат 14-16 атомов углерода. Согласно другому варианту реализации фрагменты жирных кислот содержат 16-18 атомов углерода. Согласно другому варианту реализации фрагменты жирных кислот выбраны так, что температура перехода гель-жидкость-кристалл полученного матрикса составляет по меньшей мере 40°C. Две жирные кислоты могут быть одинаковыми или различными, и, как правило, присоединены к положениям 1 и 2 фрагмента глицерина. Неограничивающие примеры подходящих фосфатидилэтаноламинов включают диметилдимиристоилфосфатидилэтаноламин (DMPE), дипальмитоилфосфатидилэтаноламин (DPPE), диауроилфосфатидилэтаноламин (DLPE), дистеароилфосфатидилэтаноламин (DSPE), диолеоилфосфатидилэтаноламин (DOPE), 1-пальмитоил-2-олеилфосфатидилэтаноламин (POPE), 1-олеил-2-пальмитоилфосфатидилэтаноламин (OPPE) и диэлаидоилфосфатидилэтаноламин (DEPE). Согласно другому варианту реализации фосфатидилэтаноламин представляет собой любой другой фосфатидилэтаноламин, известный в данной области техники. Каждый фосфатидилэтаноламин представляет собой отдельный вариант реализации настоящего изобретения.

"Стерин" в одном из вариантов реализации относится к стероиду, содержащему гидроксильную группу в положении 3 А-кольца. В соответствии с некоторыми вариантами реализации настоящего изобретения стерин составляет вплоть до приблизительно 40% мас./мас. от массы матриксной композиции. Согласно другому варианту реализации стерин в соответствии со способами и композициями согласно настоящему изобретению представляет собой зоостерин. Согласно другому варианту реализации стерин представляет собой холестерин.

Согласно другому варианту реализации композиция согласно настоящему изобретению дополнительно содержит липид, отличный от фосфатидилхолина, фосфатидилэтаноламина или стерина. Согласно другому варианту реализации дополнительный липид представляет собой фосфоглицерид. Согласно другому варианту реализации дополнительный липид выбран из группы, состоящей из фосфатидилсерина, фосфатидилглицерина и фосфатидилинозитола. Согласно другому варианту реализации дополнительный липид выбран из группы, состоящей из фосфатидилсерина, фосфатидилглицерина, фосфатидилинозитола и сфингомиелина. Согласно другому варианту реализации дополнительный липид выбран из группы, состоящей из фосфатидилсерина, фосфатидилглицерина, фосфатидилинозитола, сфингомиелина и церамидов. Согласно другому варианту реализации указанная композиция содержит комбинацию любых 2 или более из указанных выше дополнительных липидов. Согласно другому варианту реализации полимер, фосфатидилхолин, фосфатидилэтаноламин, стерин и дополнительный липид(ы) включены в матриксную композицию. Каждая возможность представляет собой отдельный вариант реализации настоящего изобретения.

Дополнительные компоненты.

Согласно другому варианту реализации матриксная композиция в соответствии со способами и композициями согласно настоящему изобретению дополнительно содержит свободные жирные кислоты. Неограничивающие примеры свободных жирных кислот, которые могут быть включены в покрывающую матриксную композицию согласно настоящему изобретению, выбраны из омега-6 жирных кислот, омега-9 жирных кислот, свободной жирной кислоты, содержащей 14 или более атомов углерода, свободной жирной кислоты, содержащей 16 или более атомов углерода, свободной жирной кислоты, содержащей 16 атомов углерода, свободной жирной кислоты, содержащей 18 атомов углерода, свободной жирной кислоты, содержащей 16-22 атома углерода, свободной жирной кислоты, содержащей 16-20 атомов углерода, свободной жирной кислоты, содержащей 16-18 атомов углерода, свободной жирной кислоты, содержащей 18-22 атома углерода, свободной жирной кислоты, содержащей 18-20 атомов углерода, линолевой кислоты, линоленовой кислоты и олеиновой кислоты. Согласно другому варианту реализации свободная жирная кислота представляет собой другую подходящую свободную жирную кислоту, известную в данной области техники. Согласно другому варианту реализации свободная жирная кислота увеличивает гибкость матриксной композиции. Согласно другому варианту реализации свободная жирная кислота замедляет скорость высвобождения в условиях *in vivo*. Согласно другому варианту реализации свободная жирная кислота улучшает стабильность контролируемого высвобождения в условиях *in vivo*. Жирная кислота может быть насыщенной или ненасыщенной. Согласно другому варианту реализации включение насыщенной жирной кислоты, содержащей по меньшей мере 14 атомов углерода, повышает температуру перехода гель-жидкость полученной матриксной композиции. Каждый тип жирной кислоты представляет собой отдельный вариант реализации настоящего изобретения.

Согласно другому варианту реализации матриксная композиция в соответствии со способами и композициями согласно настоящему изобретению дополнительно содержит токоферол (например, E307 ( $\alpha$ -токоферол),  $\beta$ -токоферол, E308 ( $\gamma$ -токоферол), E309 ( $\delta$ -токоферол)). В соответствии с некоторыми вариантами реализации настоящего изобретения токоферол может быть включен в матрикс, вместо или в дополнение к первому липиду, содержащему полярную группу (например, стерину, холестерину). Каждый вариант представляет собой отдельный вариант реализации настоящего изобретения.

Согласно другому варианту реализации матриксная композиция в соответствии со способами и композициями согласно настоящему изобретению дополнительно содержит физиологически приемлемые буферные соли, которые хорошо известны в данной области техники. Неограничивающие примеры

физиологически приемлемых буферных солей включают фосфатные буферы. Типичный фосфатный буфер содержит 40 частей NaCl, 1 часть KCl, 7 частей  $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$  и 1 часть  $\text{KH}_2\text{PO}_4$ . Согласно другому варианту реализации буферная соль представляет собой любую другую физиологически приемлемую буферную соль, известную в данной области техники. Каждая возможность представляет собой отдельный вариант реализации настоящего изобретения.

Терапевтические способы.

Способы реализации настоящего изобретения, направленные на предотвращение и лечение инфекций области хирургического вмешательства, удовлетворяют медицинские потребности, которые в настоящее время не имеют эффективных решений и которые представляют большой интерес для медицинского сообщества. Способы согласно настоящему изобретению обеспечивают лечение и предотвращение местной инфекции, необходимое во время и/или после хирургических операций. Способы согласно настоящему изобретению снижают общую частоту инфекций и позволяют преодолеть или уменьшить существующие инфекции, включая заражения внутрибольничными устойчивыми бактериями. Способы согласно настоящему изобретению можно применять для лечения и предотвращения послеоперационных инфекций в различных тканях и плотных органах.

Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения способы предупреждения, ингибирования или лечения инфекции области хирургического вмешательства у субъекта пригодны для подавления инфекций области хирургического вмешательства в целом и в частности инфекций области хирургического вмешательства, связанных с ортопедическими хирургическими операциями (например, с операциями на тазобедренном суставе, коленном суставе, полной заменой сустава, травмой), хирургическими операциями на позвоночнике, хирургическими операциями на органе пищеварительной системы (например, пищеводе, желудке, тонкой кишке, толстой кишке, прямой кишке, толстой кишке, аппендиксе, печени, поджелудочной железе, желчном пузыре, язве желудка, раке желудка, открытом обходном желудочном анастомозе, аппендиците, колэктомии, холецистэктомии, ваготомии, открытыми операциями на желчевыводящих путях, операциями на тонком кишечнике, операциями на ободочной и прямой кишке), кардиологическими операциями (например, аортокоронарным шунтированием, кардиоторакальной трансплантацией, имплантацией кардиологических устройств), иссечением грыжи, ангиопластикой, кесаревым сечением, простатэктомией, акушерскими и гинекологическими хирургическими операциями (например, гистерэктомией), операциями рака головы и шеи, операциями по трансплантации (например, легких, печени, поджелудочной железы, почек), нейрохирургическими операциями (например, введение имплантата для глубокой стимуляции мозга) и пластической хирургией (например, реконструкцией груди, мастэктомией).

В соответствии с конкретными вариантами реализации в настоящем изобретении предложены способы предотвращения, ингибирования или лечения раневой инфекции в область грудины, связанной с кардиохирургическими операциями, включающие этап нанесения на поверхность половин грудины и/или окружающих мягких тканей биологически разлагаемого субстрата, пропитанного и/или поверхность которого покрыта, частично или полностью, матриксной композицией, содержащей

- (a) биосовместимый полимер;
- (b) первый липидный компонент, содержащий стерин;
- (c) второй липидный компонент, содержащий по меньшей мере один фосфолипид, содержащий фрагменты жирных кислот, содержащие по меньшей мере 12 атомов углерода; и
- (d) фармацевтически активный агент, выбранный из группы, состоящей из антибиотического агента, антисептического агента, противовоспалительного агента, противогрибкового агента и любой их комбинации.

В соответствии с некоторыми вариантами реализации настоящего изобретения фармацевтически активный агент представляет собой антибиотический агент. Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения антибиотический агент представляет собой доксициклин или доксициклина гиклат. Способы предотвращения, ингибирования или лечения раневой инфекции грудины, связанной с кардиохирургической операцией, дополнительно включают предотвращение или подавление образования биопленки на ране грудины после кардиохирургической операции. В настоящей заявке термин "раневая инфекция грудины" включает осложнения поверхностных и глубоких ран грудины.

В соответствии с конкретными вариантами реализации в настоящем изобретении предложены способы предотвращения, ингибирования или лечения раневой инфекции грудины, связанной с кардиохирургическими операциями, включающие этап нанесения на поверхность половин грудины и/или окружающих мягких тканей частиц ортофосфата кальция или частиц поливинилового спирта, пропитанных/покрытых матриксной композицией, содержащей приблизительно 15-25% мас./мас. PLGA, приблизительно 5-15% мас./мас. холестерина, приблизительно 50-70% мас./мас. смеси DPPC и DSPC, в которой соотношение DPPC и DSPC составляет от приблизительно 5:1 до 2:1 и приблизительно 7-12% мас./мас. доксициклина.

В соответствии с некоторыми вариантами реализации настоящего изобретения субстрат, пропитанный или покрытый, полностью или частично, композицией в соответствии со способами согласно настоящему изобретению, можно вводить в область хирургического вмешательства (например, в разрез)

непосредственно или проксимально относительно места разреза. Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения пропитанный/покрытый субстрат можно вводить в область хирургического вмешательства (например, место разреза) путем разбрызгивания пропитанных/покрытых частиц субстрата на область хирургического вмешательства и около нее. Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения покрытый субстрат изготавливают в виде порошка. В соответствии с некоторыми вариантами реализации настоящего изобретения частицы покрытого субстрата можно разбрызгивать над областью хирургического вмешательства и около нее с использованием солевого шейкерного контейнера или дозатора. В настоящей заявке солевой шейкерный контейнер или дозатор относится к контейнеру, образующему полость (например, трубчатую полость) для хранения порошка покрытого субстрата, который имеет по меньшей мере одно отверстие, через которое можно дозировать частицы покрытого субстрата. Согласно другому варианту реализации субстрат, пропитанный или покрытый, полностью или частично, композицией в соответствии с некоторыми вариантами реализации настоящего изобретения, можно впрыскивать в область хирургического вмешательства (например, область разреза) и около нее. В другом варианте субстраты в форме губки, пены или листа, пропитанного или покрытого, полностью или частично, композицией в соответствии с некоторыми вариантами реализации настоящего изобретения, можно вводить в область хирургического вмешательства, путем размещения их над областью хирургического вмешательства или около нее, например, путем покрытия области хирургического вмешательства по меньшей мере одной частью желатиновой или коллагеновой губки, пены или листа, пропитанного или покрытого матричной композицией. В другом варианте биосовместимые субстраты, пропитанные или покрытые, полностью или частично, композицией в соответствии с некоторыми вариантами реализации настоящего изобретения, могут быть изготовлены в виде пасты и распределены по области хирургического вмешательства и около нее. Как правило, пастоподобную структуру получают путем гидратирования субстрата с лекарственным покрытием, раскрытого в настоящем документе, водным раствором перед его применением. В соответствии с некоторыми вариантами реализации настоящего изобретения гидратация должны быть выполнена не более чем за 2 ч до внесения полученной пасты в область хирургического вмешательства, предпочтительно за 1 ч до внесения полученной пасты в область хирургического вмешательства, более предпочтительно не более чем за 30 мин до внесения в область хирургического вмешательства. Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения текстура пасты будет достигнута, если количество водного раствора (например: физиологического раствора), смешанного с субстратами с лекарственным покрытием, составляет от 0,1:1 до 1:1 мас./мас. соответственно; предпочтительно от 0,3:1 до 0,6:1 мас./мас. соответственно.

В настоящем изобретении предложены способы предотвращения или лечения инфекции области хирургического вмешательства, связанной с хирургической операцией, включающие этап внесения в область хирургического вмешательства биологически разлагаемого субстрата, пропитанного и/или поверхность которого покрыта, полностью или частично, матричной композицией, которая обеспечивает локальное контролируемое и пролонгированное высвобождение по меньшей мере одного фармацевтически активного агента в области хирургического вмешательства. Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения матричная композиция содержит множество фармацевтически активных агентов. В соответствии с некоторыми вариантами реализации настоящего изобретения субстрат, покрытый матричной композицией согласно настоящему изобретению, можно вводить по существу в качестве одного ингредиента (субстрат не применяют в качестве компонента смеси с другими ингредиентами). В другом варианте субстрат, покрытый матричной композицией, можно вносить в область хирургического вмешательства в виде комбинации двух или более популяций субстратов, имеющих различное покрытие. Например, способы могут включать этап внесения в область хирургического вмешательства комбинации первой популяции покрытых субстратов, содержащих один антибиотический агент, смешанной со второй популяцией покрытых субстратов, содержащих другой антибиотический агент.

Как было описано выше, количества, соотношения и типы ингредиентов, образующих матричную композицию согласно настоящему изобретению, можно варьировать так, чтобы скорректировать полимер-липидную основу в соответствии с биофизическими/биохимическими свойствами лекарственного препарата, терапевтически эффективной дозой лекарственного препарата и желаемой скоростью высвобождения и/или продолжительностью высвобождения лекарственного препарата. Способы согласно настоящему изобретению, следовательно, включают этап внесения в область хирургического вмешательства комбинации двух или более популяций покрытых субстратов, каждая из которых способна высвободить лекарственный препарат с различной скоростью и/или продолжительностью, причем указанный лекарственный препарат в различных популяциях покрытых субстратов может быть идентичным или различным. Не желая быть связанными соответствием какой-либо теории или механизму действия, авторы настоящего изобретения полагают, что внесение в область хирургического вмешательства комбинации популяций покрытых субстратов, каждый из которых содержит отличающийся лекарственный препарат, который изготовлен так, чтобы обеспечивать высвобождение с заранее определенной скоростью и/или продолжительностью, обеспечивает клиницисту или специалисту большую гибкость в корректировке протокола лечения в соответствии с медицинской необходимостью. Неограничивающий пример включает комбинацию двух популяций субстратов с лекарственным покрытием, одна из которых содер-

жит первый антибиотический агент, высвобождаемый в течение 3-4 недель, и вторая популяция субстратов с лекарственным покрытием содержит второй антибиотический агент, высвобождаемый в течение 1-2 недель. Следует подчеркнуть, что субстраты, покрытые/пропитанные матриксной композицией в соответствии с вариантами реализации настоящего изобретения, могут быть обеспечены клиницисту или специалисту в виде предварительно смешанной комбинации двух или более популяций покрытых субстратов или предпочтительно в виде одного ингредиента (который не входит в состав смеси с другими ингредиентами) для смешивания квалифицированным специалистом перед внесением в область хирургического вмешательства.

Способы получения матриксных композиций.

Для получения композиций согласно настоящему изобретению может быть использован любой подходящий способ, который позволит получить однородную дисперсию полимера и липидов в водостойком матриксе. Предпочтительно в соответствии с некоторыми вариантами реализации в способах согласно настоящему изобретению вода не применяется на любом этапе производственного процесса.

Предпочтительно матриксные композиции согласно настоящему изобретению получают способами, которые не включают образование эмульсий и в которых водные среды в целом не применяются. Получение эмульсий, которые затем подвергают сушке, обязательно приводит к образованию везикул или микросфер. Для получения покрытых изделий смесь полимера, липидов и антибиотиков с соответствующими выбранными летучими органическими растворителями будет использована для покрытия желаемой поверхности.

В соответствии с некоторыми вариантами полимер и стерин смешивают с соответствующим выбранным летучим органическим(ими) растворителем(ями) и фосфолипиды вместе с активным фармацевтическим агентом смешивают с их соответствующим выбранным растворителем или растворителями перед смешиванием со смесью полимер/стерин.

Согласно некоторым вариантам реализации в настоящем изобретении предложен способ получения матриксной композиции, причем указанный способ включает следующие этапы:

(a) смешивание в первом летучем органическом растворителе (i) биологически разлагаемого сложного полиэфира и (ii) стерина; и

(b) смешивание отдельно во втором летучем органическом растворителе (i) активного агента, (ii) фосфатидилхолина или смеси фосфатидилхолинов и необязательно (iii) дополнительного липидного компонента, такого как, например, фосфатидилэтаноламин;

(c) смешивание и гомогенизацию продуктов, полученных на этапах (a) и (b); и

(d) приведение субстрата в контакт с гомогенной смесью, полученной на этапе (c).

Согласно другому варианту реализации фосфатидилэтаноламин может быть включен в летучий органический растворитель этапа (a) вместо или в дополнение к фосфатидилэтаноламину, добавленному к летучему органическому растворителю этапа (b). Согласно другому варианту реализации биологически разлагаемый сложный полиэфир выбран из группы, состоящей из PLA, PGA и PLGA. Согласно другому варианту реализации биологически разлагаемый сложный полиэфир представляет собой любой другой подходящий биологически разлагаемый сложный полиэфир, известный в данной области техники. Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения первый летучий органический растворитель представляет собой неполярный растворитель. Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения второй летучий органический растворитель представляет собой смешивающийся с водой растворитель. В тех случаях, когда активный агент представляет собой белок или пептид, важно выбрать растворители, которые не денатурируют или не снижают активность белка.

Согласно другому варианту реализации настоящего изобретения смесь этапа (a), содержащую летучий органический растворитель, гомогенизируют перед смешиванием с раствором этапа (b). Согласно другому варианту реализации летучий органический растворитель или смесь летучих органических растворителей, используемых на этапе (a), может быть идентична или отличаться от летучего органического растворителя или смеси органических растворителей, используемых на этапе (b). Согласно другому варианту реализации настоящего изобретения смесь этапа (b) гомогенизируют перед смешиванием со смесью этапа (a). Согласно другому варианту реализации полимер в смеси этапа (a) насыщен липидами. Согласно другому варианту реализации матриксная композиция насыщена липидами. В предпочтительном варианте полимер и фосфатидилхолин включены в матриксную композицию. Согласно другому варианту реализации активный агент также включен в матриксную композицию.

Согласно другому варианту реализации каждый этап способа получения по существу не включает применение водного раствора. Согласно другому варианту реализации каждый этап по существу не включает применение воды или любого водного раствора.

При смешивании образуется однородная смесь. Субстрат, который должен быть покрыт или пропитан матриксной композицией, комбинируют с указанной гомогенной смесью.

Способ получения дополнительно включает этап выпаривания растворителя, присутствующего в продукте этапа (d). Выпаривание растворителя обычно осуществляют путем нагревания продукта, полученного на этапе (d). Нагревание продолжают до тех пор пока растворитель не будет полностью удален и при обычной температуре в интервале от комнатной температуры до 60°C, предпочтительно при

температуре ниже 50°C, более предпочтительно при температуре 45°C или ниже, более предпочтительно при температуре 30°C или ниже. Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения на этапах выпаривания растворителя применяют слабый вакуум (например, 300-600 фунтов на квадратный дюйм). Согласно другому варианту реализации этап вакуумной сушки проводят после этапа испарения растворителя. Каждая возможность представляет собой отдельный вариант реализации настоящего изобретения.

Способы определения насыщения липидами.

Следующий способ может быть использован для определения степени насыщения липидами.

(i) После изготовления матричную композицию гидратируют и выделяют центрифугированием или фильтрацией. Липиды, которые не были включены в матрикс, образуют свободные мицеллы или липосомы и находятся в надосадочной жидкости. Общее содержание липидов в надосадочной жидкости и матриксе определяют количественно. Следовательно, содержание включенных и свободных липидов определяют для различных составов, имеющих различные соотношения липид:полимер в самом начале. Следовательно, определяют фактическое, экспериментальное, максимальное соотношение липид/полимер.

(ii) После изготовления матричную композицию гидратируют раствором, содержащим тритий-меченую воду, промывают раствором, не содержащим трития, и выделяют с помощью центрифугирования или фильтрации, и количество воды, включенной в полимерную массу, определяют количественно. Указанные этапы повторяют с различными соотношениями липид:полимер, чтобы определить количество липидов, необходимое для насыщения свободного объема в матричной композиции.

#### Раздел экспериментальных данных

Используемые сокращения.

Фосфоэтанолламин - PE;

фосфатидилхолин - PC;

1,2-димиристоил-sn-глицеро-3-фосфоэтанолламин - DMPE (14:0);

1,2-дипальмитоил-sn-глицеро-3-фосфоэтанолламин - DPPE (16:0);

1,2-дистеароил-sn-глицеро-3-фосфохолин - DSPC (18:0);

1,2-дипальмитоил-sn-глицеро-3-фосфохолин - DPPC (16:0);

ортофосфат кальция (TCP);

поливиниловый спирт (PVA).

Пример 1. Способ получения субстрата (например, частиц ортофосфата кальция, частиц поливинилового спирта) покрытых/пропитанных матричной композицией, содержащей доксициклин, в соответствии с некоторыми вариантами реализации настоящего изобретения (для лечения и предотвращения инфекций области хирургического вмешательства).

Обзор: для получения полимерных матриксов, насыщенных липидами, создавали две смеси.

1. Биологически разлагаемый полимер и первый липидный компонент (например, стерин) смешивали с летучим органическим растворителем, который смешивали с получением раствора или суспензии полимерного матрикса, насыщенного липидами, согласно результатам измерения с помощью дифференциальной сканирующей калориметрии (ДСК).

2. Активный агент и второй липидный компонент (например, по меньшей мере один фосфолипид) смешивали со вторым летучим органическим растворителем с получением второго раствора или суспензии.

3. Оба раствора или суспензию объединяли и смешивали до достижения равновесия.

4. Субстрат (например, желатиновую губку, коллагеновую пену, минеральный субстрат) затем смешивали с раствором, полученным на этапе 3.

5. Органические растворители затем выпаривали с получением субстрата, покрытого и/или пропитанного полимерным матриксом, насыщенным липидами и содержащим лекарственный препарат.

Типичный протокол.

Частицы ортофосфата кальция со средним диаметром 100 мкм покрывали матричной композицией, пригодной для замедленного высвобождения доксициклина, с помощью следующего способа.

1. Приготовление исходных растворов.

1.1. Исходный раствор PLGA 75:25 (300 мг/мл в этилацетате) - PLGA 75/25 отвешивали в мерную колбу. Этилацетат добавляли до необходимого объема. Раствор перемешивали до полного растворения частиц PLGA.

1.2. Исходный раствор холестерина (30 мг/мл в этилацетате) - холестерин отвешивали в мерную колбу. Этилацетат добавляли до необходимого объема. Раствор перемешивали до полного растворения холестерина.

1.3. Исходный раствор доксициклина (210 мг/мл в метаноле) - доксициклин отвешивали в мерную колбу. Метанол добавляли до необходимого объема. Раствор перемешивали до полного растворения доксициклина.

1.4. Исходный раствор DPPC (206 мг/мл и DSPC 69 мг/мл в смеси метанол/этилацетат (9/14)) - DPPC и DSPC отвешивали в мерную колбу. Метанол/этилацетат (9/14) добавляли до необходимого объема. Раствор

инкубировали при 45°C в течение 5 мин и перемешивали до полного растворения фосфолипидов.

2. Приготовление раствора для нанесения покрытия.

Раствор А: 5 объемов исходного раствора холестерина смешивали с 1 объемом исходного раствора PLGA. Смесь содержала 50 мг/мл PLGA и 25 мг/мл холестерина. Раствор В: 18 объемов раствора доксициклина успешно смешивали с 82 объемами раствора фосфолипидов (смотри раздел 1.4). Смесь содержала 225 мг/мл фосфолипидов (56 мг/мл DSPC и 169 мг/мл DPPC) и 37,5 мг/мл доксициклина.

Раствор АВ: 2 объема раствора В смешивали с 3 объемами раствора А, полученный раствор содержал 30 мг/мл PLGA 75/25, 15 мг/мл холестерина, 90 мг/мл фосфолипидов и 15 мг/мл доксициклина.

3. Покрытие субстрата.

1,5 г Субстрата (например, порошка ортофосфата кальция (частицы диаметром 100 мкм), порошка поливинилового спирта (PVA), порошка полимолочной кислоты (PLA)) взвешивали в 30 мм стеклянную чашку Петри. В чашку вносили 1,5 мл раствора АВ.

Чашку Петри помещали в вакуумную печь с заданной температурой 45°C и создавали частичный вакуум (~610 мм ртутного столба) до полного испарения растворителей (присутствие растворителей не детектировалось), печь выключали и полный вакуум применяли для удаления любых остаточных растворителей (в течение ночи).

Высушенный покрытый порошок ортофосфата кальция переносили в защищенный от света флакон и хранили при температуре 4°C.

Профиль высвобождения лекарственного препарата: субстрат с нанесенным покрытием гидратировали (5% сыворотки при 37°C), и высвобождение доксициклина из частиц ортофосфата кальция, пропитанных/покрытых матричным составом, контролировали и количественно оценивали с помощью ВЭЖХ. Профиль высвобождения представлен на фиг. 1.

Пример 2. Высвобождение лекарственного препарата из частиц PVA, пропитанных/покрытых составом с замедленным высвобождением согласно настоящему изобретению.

Покрытые/пропитанные частицы PVA получали, как описано выше в примере 1.

После гидратации (5% сыворотки при 37°C) высвобождение доксициклина из частиц PVA, пропитанных/покрытых матричным составом, детектировали и количественно оценивали с помощью ВЭЖХ. Профиль высвобождения представлен на фиг. 2.

Как следует из фиг. 2, высвобождение в течение первого часа составило приблизительно 45% доксициклина в покрывающем матриксе. Дальнейшее исследование высвобождения в течение первого часа выявило, что, если собранный образец центрифугировали (осаждали) и дополнительно просеивали (фильтр с диаметром пор 45 мкм) или наоборот (просеивали и еще раз центрифугировали), количество доксициклина, высвобожденное в течение первого часа и детектированное с помощью ВЭЖХ, было ниже по меньшей мере на 50% (например, ~20%). Безотносительно к какой-либо конкретной теории или механизму действия, авторы настоящего изобретения полагают, что собранный образец (до центрифугирования и/или фильтрации собранного образца) также содержит, помимо молекул доксициклина, которые были высвобождены из состава, небольшие фрагменты покрытых частиц PVA. Покрытые и непокрытые частицы PVA дополнительно исследовали с помощью ИК-Фурье и РЭМ.

Используя ИК-Фурье, не было получено данных, указывающих на взаимодействие между частицами PVA и покрывающим матриксом.

На изображениях непокрытых частиц PVA, полученных с помощью РЭМ, присутствуют шаровидные частицы, имеющие пористую шероховатую поверхность (фиг. 3А и 3В). Изображения покрытых частиц PVA свидетельствуют о том, что наружная и внутренняя поверхность частиц покрыта (фиг. 3С и 3Д).

Не желая быть связанными соответствием какой-либо теории или механизму действия, авторы настоящего изобретения полагают, что применение PVA может быть предпочтительным вследствие того, что он растворяется вскоре после разрушения покрывающего матрикса, содержащего лекарственный препарат. Воздействие жидкостей организма на PVA будет инициировать его разрушение и удаление, не оставляя никаких следов на обработанной области хирургического вмешательства.

Пример 3. Высвобождение лекарственного препарата из абсорбируемой желатиновой губки, содержащей состав с замедленным высвобождением согласно настоящему изобретению.

Кусок коллагеновой губки размером 1×1 см помещали во флакон объемом 20 мл. Во флакон добавляли 0,4 мл раствора АВ (как описано выше в примере 1), и флакон оставляли закрытым при комнатной температуре в течение 10 мин. Кусок коллагеновой губки, пропитанный раствором АВ, переносили в сосуд емкостью 4 мл для выпаривания растворителей с последующим высушиванием в вакууме в течение ночи. Полученный кусок коллагеновой губки использовали для экспериментов по исследованию высвобождения.

После гидратации (5% сыворотки при 37°C) высвобождение доксициклина из куска желатиновой губки, пропитанной матричной композицией, в окружающую среду детектировали и количественно оценивали с помощью ВЭЖХ.

Пример 4. Доклиническое исследование гранул ТСР, покрытых/пропитанных матричным составом в соответствии с вариантами реализации настоящего изобретения, для лечения внутримышечной инфекции в области хирургического вмешательства.

Цель данного исследования заключается в оценке эффективности гранул ортофосфата кальция (~100 мкм), покрытых матричной композицией, содержащей доксициклин в соответствии с некоторыми вариантами реализации настоящего изобретения ("исследуемое изделие") в снижении пролиферации бактерий после индукции инфекции в модели инфекции области хирургического вмешательства (ИОХВ), которую осуществляют путем внутримышечной имплантации исследуемого изделия в комбинации с *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923) у крыс линии Спраг-Даули. Получение "исследуемого изделия" описано в примере 1.

Все доклинические исследования проводили в соответствии с руководящими указаниями по проведению экспериментов на животных в Государстве Израиль и в соответствии с требованиями Комитета по этике исследовательского института.

Животная модель: самцы крыс Спраг-Даули™ SD™ в возрасте 11-12-недель.

Бактериальный посевной материал: *Staphylococcus aureus* из источника ATCC 25923 был получен в готовой для использования форме и разделен на две соответствующие концентрации  $1 \times 10^7$  и  $1 \times 10^8$  КОЕ/мл.

Исследуемый материал: синтетический ортофосфат кальция (TCP) - гранулы CamBio ceramic с диаметром 50-100 мкм, покрытые матричной композицией, содержащей доксициклин, как описано в примере 1, которые были получены в виде порошка "готового к использованию". Перед началом хирургической операции материал носителя асептически разделяли на аликвоты по  $50 \pm 2$  мг и помещали в стеклянные флаконы (одну аликвоту на область имплантации).

Состав исследуемых групп и дозы.

В табл. 1 ниже приведены экспериментальные группы в исследовании.

Таблица 1

№ группы	Кол-во животных	Бактериальный инокулят		Обработка			Предложенный период наблюдения (дни после имплантации)	
		Конц. суспензии и <i>S. aureus</i> (ATCC 25923) (КОЕ/мл)	Импантированный объем <i>S. aureus</i> (ATCC 25923) (мкл)	Импантированный материал	Импантированный объем (мг)	Способ имплантации		
1	n=2	Без обработки						14
2	n=6	$1 \times 10^7$	50	TCP	50	Импантация во внутримышечный карман, образованный в правой ягодичной мышце		
3	n=6			Исследуемое изделие				
4	n=6	$1 \times 10^7$	50	TCP	50	Импантация во внутримышечный карман, образованный в правой ягодичной мышце		
5	n=6			Исследуемое изделие				

Способы исследований.

Преоперационные препараты: животным вводили опиоидный анальгетик (бупренорфин в дозе ~0,075 мг/кг) путем подкожной инъекции приблизительно за 1-2 ч до хирургической операции. Во всех случаях животных подвергали общей анестезии путем ингаляции изофлурана (2-4% в кислороде при скорости потока 0,8-1,2 л/мин).

Импантацию исследуемых материалов во внутримышечный карман выполняли у каждого животного (за исключением необработанных животных) в асептических условиях следующим образом: животное помещали на нагретую поверхность в положении лежа на животе. Продольный разрез кожи выполняли в поясничной области спины, приблизительно на 2 см правее позвоночника и продлевали до визуализации ягодичных мышц. Карман, размером приблизительно 2 см в длину и 1 см в глубину, формировали в ягодичных мышцах с помощью методики тупого рассечения или хирургическим скальпелем.

Исследуемый материал вносили в карман непосредственно из бумаги для взвешивания, оттягивая края кармана пинцетом. Затем, удерживая края кармана оттянутыми, 50 мкл бактериальной суспензии (при соответствующей концентрации) или физиологического раствора (в контрольном образце) вносили в образовавшийся карман с помощью пипетки. Мускулатуру и кожу закрывали простыми узловыми хи-

рургическими швами с использованием соответствующих шовных материалов и хирургических зажимов, соответственно.

Закрытый разрез очищали от остатков крови путем промывания физиологическим раствором, затем применяли раствор Polydine.

Послеоперационной уход: животным вводили подкожно бупренорфин в дозе ~0,075 мг/кг два раза в сутки в течение 3 дней после операции.

Наблюдения и исследования: продолжительность - ~14 дней. Контролировали клинические признаки и массу тела. Области разрезов проверяли и оценивали один раз в сутки. Помимо этого, чтобы оценить местную реакцию в более глубоких тканях, области хирургического вмешательства подвергали механической пальпации и оценивали по 5 балльной шкале следующим образом: 0=нет осязаемого узелка, 1=едва осязаемый узелок, 2=узелок 0,25- 0,5 см в диаметре, 3=узелок >0,5 см в диаметре, 4=выраженный абсцесс.

Всю область имплантации у всех животных собирали, взвешивали и по отдельности помещали в маркированные флаконы, заполненные 10 мл физиологического раствора. Флаконы помещали на лед до выполнения микробиологического количественного исследования.

Количественное определение бактерий в ткани: каждую исследуемую область асептически нарезали на небольшие куски с помощью стерильных ножниц, тем самым экспонируя содержимое кармана.

Суспензию измельченной ткани в солевом растворе встряхивали в течение 1 мин.

Готовили 10-кратные разведения суспензии в физиологическом растворе (до  $10^{-5}$  для самой высокой концентрации посевного материала).

Образцы затем высевали на селективный агар и кровяной агар. После инкубации при температуре 37°C в течение 24-48 ч количество выделенных бактерий количественно определяли в каждой среде и выражали как количество колониеобразующих единиц на образец.

Результаты оценки эффективности представлены в табл. 2 ниже и показаны на фиг. 4.

Таблица 2

№ животного	Обработка		Способ имплантации	Количественное определение бактерий в образце	
	Имплантированный материал	S. aureus Конц. суспензии (АТСС 25923) (КОЕ/мл)		КОЕ/образец	КОЕ/г образца
1	Без обработки		Имплантация во внутримышечный карман, образованный в правой ягодичной мышце	150	44
2	Без обработки			150	38
1	ТСП (группа 1)	Без индукции (контроль)		650	89
2				1500	313
3	ТСП (группа 2)	$1 \times 10^7$		316000	43288
4				310000000	62000000
5				280000000	42424242
6				1830000000	338888889
8				660000000	146666667
9	Исследуемое изделие (группа 3)	$1 \times 10^7$		800000	150943
10				79000	17174
12				1150000	396552
13				1300000	265306
14				142000	33023
15	ТСП (группа 4)	$1 \times 10^8$		8950000	2355263
16				243000	65676
17				24500	3356
20				2470000000	475000000
21	Исследуемое изделие (группа 5)	$1 \times 10^8$		77000	17907
22				182000	49189
24			2000000	263158	
25			35500	8452	
26			306000	62449	

Заключение: результаты, полученные в данном исследовании, включая макроскопические наблю-

дения, результаты микробиологического количественного исследования и гистологической оценки, ясно свидетельствуют о том, что субстрат (например, синтетический ортофосфат кальция), покрытый составом, содержащим доксициклин, значительно снижал пролиферацию бактерий во внутримышечной модели инфекции области хирургического вмешательства (ИОХВ) у крыс SD.

Гистопатология - через 14 дней после хирургической операции животных умерщвляли и всю область имплантации макроскопически оценивали по степени воспалительной реакции. Животных № 7, 11, 18 и 23 из групп № 2, 3, 4 и 5 соответственно, затем собирали, взвешивали и отправляли на микробиологическую оценку для количественной оценки бактерий в образцах.

Приготовление срезов: гистологическую обработку проводили следующим образом, каждый образец декальцинировали, обрезали, заливали парафином и нарезали 3 среза, каждый толщиной приблизительно 5 мкм, с интервалами приблизительно 500 мкм друг от друга. Каждый из 3 срезов окрашивали гематоксилином и эозином (H&E).

Гистологическая оценка: количество остаточного имплантированного материала и наличие бактериальных колоний оценивали и подсчитывали согласно следующей шкале оценок: 0=не наблюдали остатков имплантата/бактериальных колоний, 1=один или два небольших очага остаточных материалов/бактериальных колоний, 2=многочисленные небольшие очаги, с или без большого очага, остаточного материала/бактериальных колоний, 3=несколько больших очагов остаточного материала/бактериальных колоний, 4=обильные остаточные материалы/бактериальные колонии, заполняющие область хирургического вмешательства.

Результаты: макроскопическая оценка исследуемых областей при аутопсии.

В целом практически у всех животных, распределенных в группы обработки ТСП (т.е. группы 2 и 4), в центре области хирургического вмешательства наблюдали выпуклость диаметром 0,5-2 см. Помимо этого в некоторых из исследуемых областей групп 2 и 4 отмечали прилипание кожи к внутренней ткани.

Напротив, лишь незначительный подъем ткани детектировали в исследуемых областях у 2 из 6 и 1 из 6 животных, распределенных в группы 3 и 5 соответственно.

Гистопатологические наблюдения: животные № 7 и № 18 в группах 2 и 4 соответственно - ТСП в комбинации с  $1 \times 10^7$  и  $1 \times 10^8$  КОЕ/мл бактерий: внутримышечный карман в ягодичной мышце содержал группы полиморфноядерных клеток (образование абсцесса), некротические ткани и гранулы носителя исследуемого изделия (ТСП), окруженные гранулематозной (т.е. макрофаги, гигантские клетки) реакцией. Весь активный участок окружен ранеспелой капсулярной реакцией. Многочисленные колонии бактерий также были идентифицированы вблизи и в пределах абсцессов. Образование абсцесса оценили в 3 балла.

Животные № 11 и № 23 из групп 3 и 5 соответственно - "исследуемое изделие" в комбинации с  $1 \times 10^7$  и  $1 \times 10^8$  КОЕ/мл бактерий: внутримышечный карман в ягодичной мышце содержал гранулы ортофосфата кальция (ТСП) (который является одним из компонентов имплантированного исследуемого устройства), окруженные гранулематозной (т.е. макрофаги, гигантские клетки) реакцией и спорадические минимальные (класс 1) инфильтраты мононуклеарных клеток, что свидетельствует о превосходной способности снижать пролиферацию бактерий.

Заключение: образцы групп 2 и 4 (имплантация только ТСП): внутримышечный карман в ягодичной мышце содержал абсцесс, связанный с носителем (ТСП) для гранул, в нем также присутствовали многочисленные виды бактерий. Отсутствовали очевидные различия между любыми компонентами и/или баллами при сравнении реакций, которые наблюдали в образцах из групп 2 и 4.

Образцы групп 3 и 5 ("исследуемое изделие"): внутримышечный карман в ягодичной мышце содержал скопления гранул ортофосфата кальция (ТСП), окруженных гранулематозной (т.е. макрофаги, гигантские клетки) реакцией, и спорадические минимальные инфильтраты мононуклеарных клеток, что свидетельствует о превосходной способности снижать пролиферацию бактерий. Отсутствовали очевидные различия между любыми компонентами и/или баллами при сравнении реакций, которые наблюдали в образцах из групп 3 и 5. Можно сделать вывод, что исследуемое соединение очень эффективно уменьшает пролиферацию бактерий в области хирургического вмешательства.

Пример 5. Эрадикация образованной биопленки в присутствии частиц ТСП, покрытых матриксной композицией в соответствии с некоторыми вариантами реализации настоящего изобретения.

Эффективность гранул ортофосфата кальция, покрытых матриксной композицией в соответствии с вариантами реализации настоящего изобретения, в отношении эрадикации образованной биопленки измеряли с использованием методики для физиологического и генетического количественного исследования МВЕС™ (минимальная концентрация эрадикации биопленки).

Обзор способа исследований МВЕС™: способ исследования МВЕС™ позволяет определить рабочие параметры, необходимые для размножения и обработки различных бактериальных биопленок в скрининговом количественном исследовании с высокой пропускной способностью. Устройство для количественного исследования состоит из пластиковой крышки с девятью шестью (96) колышками и соответствующего принимающего планшета с девятью шестью (96) отдельными лунками, рабочий объем

которых не более 200 мкл. Биопленка образуется на колышках в модели периодической культуры (т.е. в отдельную лунку не вносят питательные вещества и не удаляют их) при осторожном перемешивании. Образованную биопленку переносят на новый принимающий планшет для исследования эффективности дезинфицирующего агента.

Описание образца.

Каждый исследованный набор образцов включал следующие группы, указанные в табл. 3 ниже.

Таблица 3

Код	Образец	Описание	Время контакта	Концентрации
A	β-ТСП	β-ортофосфат кальция (β-ТСП)	24 ± 2 часа	0,3, 1, 3, 10 и 30% мас./об. (мг/мкл), следовательно, в 200 мкл содержится 0,6, 2, 6, 20 и 60 мг образца, соотв.
B	Исследуемое изделие	Состав исследуемого изделия: гранулы β-ТСП, покрытые/пропитанные матричной композицией, содержащей доксициклин	24±2 часа	0,3, 1, 3, 10 и 30% мас./об. (мг/мкл), следовательно, в 200 мкл содержится 0,6, 2, 6, 20 и 60 мг образца, соотв.
C	β-ТСП +доксициклин 5	Доксициклин гиклат, не входящий в состав композиции β-ортофосфат кальция (β-ТСП) и свободный (не входящий в состав композиции) доксициклин гикат (растворы 10 мг/мл и 5 мг/мл в дистиллированной воде	24±2 часа	0,3, 1, 3, 10 и 30% мас./об. (мг/мкл), следовательно, в 200 мкл содержится 0,006 при 3%, 0,06 при 3%, 0,6, 2, 6, 20 и 60 мг ТСП, соотв., который должен быть пропитан 6,72, 224 и 672 мг доксициклина, соотв.

Исследуемые организмы: *Staphylococcus aureus* (штаммы, связанные с остеомиелитом); источник: ATCC 29213; разбавление/среда для провокации: 1000×TSB+10% сыворотки человека, 24 ч.

Культуральная среда/агар: трипсиновый соевый бульон/трипсиновый соевый агар для аэробных условий в течение 24 ч.

Обзор способа исследований: экспериментальный процесс исследования антимикробной чувствительности с высокой пропускной способностью с помощью количественного исследования МВЕС™ R&G с использованием гидроксиапатитного покрытия. Указанный стандартный протокол разделяли на несколько мелких этапов, каждый из которых подробно описан в следующих разделах.

#### 1. Получение культуры/посевого материала.

Используя замороженную исходную суспензию (при -70°C) первую субкультуру *Staphylococcus aureus* высевали штрихом на ОСА (организм-специфичный агар). Планшеты инкубировали в соответствующих условиях размножения в течение 20±2 ч и далее хранили при температуре 4°C.

Вторую субкультуру, отобранную из первой субкультуры, высевали штрихом на ОСА. Планшеты инкубировали в соответствующих условиях размножения в течение 20±2 ч. Отдельную колонию из второй субкультуры асептически отбирали с планшета с ОСА и высевали в 50 мл стерильного жидкого бульона для размножения бактерий, с последующей инкубацией в соответствующих условиях размножения в течение 20±2 ч (при 150 встряхиваниях в мин).

Посевой материал доводили до приблизительной плотности клеток 10<sup>6</sup> КОЕ/мл.

Образцы (100 мкл) разбавленного организма использовали для проверки посевого материала путем последовательного разбавления и точечного посева на ОСА в трех повторах.

Подготовка планшета для провокации.

По 150 мкл оставшейся разбавленной суспензии организма помещали в каждую из соответствующих лунок устройства МВЕС™ R&G за исключением лунок для контроля стерильности (табл. 5). Устройство помещали на орбитальный шейкер (110 встряхиваний в мин) в увлажненном инкубаторе при температуре 37±1°C.

Контроль стерильности образцов: колышки отламывали из лунок ВГСН с помощью обожженных плоскогубцев. Каждый колышек помещали в 200 мкл нейтрализатора. Колышки обрабатывали ультразвуком в течение 30 мин. Суспензию для выделения затем последовательно разводили и точно высевали на ОАС. Полученные культуры использовали для проверки размножения биопленки.

200 мкл стерильного TSB добавляли в лунки GC и SC-M планшета для провокации соответственно. Указанные лунки использовали в качестве контроля стерильности (SC) и контроля размножения (GC) в каждом исследовании для каждого организма. BGCh использовали для проверки размножения биопленки. Лунки N - контроль токсичности нейтрализатора и лунки N:50 - контроль эффективности нейтрализатора.

Таблица 4

Планшет для провокации												
	β-ТСП			Исследуемое изделие			β-ТСП + свободный доксициклин			Гентамицин		
	A	A 30%	A 30%	A 30%	B 30%	B 30%	B 30%	C 30%	C 30%	C 30%	32	32
B	A 10%	A 10%	A 10%	B 10%	B 10%	B 10%	C 10%	C 10%	C 10%	16	16	16
C	A 3,0%	A 3,0%	A 3,0%	B 3,0%	B 3,0%	B 3,0%	C 3,0%	C 3,0%	C 3,0%	8,0	8,0	8,0
D	A 1,0%	A 1,0%	A 1,0%	B 1,0%	B 1,0%	B 1,0%	C 1,0%	C 1,0%	C 1,0%	4,0	4,0	4,0
E	A 0,3%	A 0,3%	A 0,3%	B 0,3%	B 0,3%	B 0,3%	C 0,3%	C 0,3%	C 0,3%	2,0	2,0	2,0
F	SC-A	SC-A	SC-A	SC-B	SC-B	SC-B	(0,06 мкг Dox)	(0,06 мкг Dox)	(0,06 мкг Dox)	1,0	1,0	1,0
G	N:50	N:50	N:50	N	N	N	SC-C	SC-C	SC-C	A 0,3%	A 0,3%	A 0,3%
H	BGCh	BGCh	BGCh	SC	SC	SC	GC	GC	GC	(0,006 мкг Dox)	(0,006 мкг Dox)	(0,006 мкг Dox)

Используя стерильный 96-луночный планшет для микротитрования, следующие этапы выполняли в асептических условиях, чтобы подготовить планшеты для провокации, перечисленные в табл. 4.

Контроль нейтрализации: 200 мкл нейтрализатора добавляли к 300 мкг доксициклина в лунках N:50 (конечная концентрация доксициклина в D/E (нейтрализатор) составляет 1,5 мг/мл).

Контроль токсичности нейтрализатора: 200 мкл нейтрализатора добавляли к лункам N.

Контроль стерильности биоцидного агента: 60 мг β-ТСП, исследуемого изделия и β-ТСП+доксициклин вносили в лунки SC A-C.

Антимикробная провокация для образованной биопленки: биопленку, образованную на крышке устройства МВЕС, промывали путем погружения крышки в физиологический раствор (~30 с), чтобы удалить планктонные клетки. Крышку затем помещали поверх планшета для провокации и инкубировали на ротационном шейкере при скорости 110 об/мин при 35±2°C в течение 24±2 ч.

Выделение биопленки: после инкубации (указанной выше) планктонные клетки смывали с биопленки путем погружения крышки в физиологический раствор (~20-30 с). Крышку затем переносили на планшеты с нейтрализатором/планшеты для выделения и помещали в ультразвуковую баню (~30 мин), чтобы отделить выжившую биопленку.

Определение планктонных МВС: 20 мкл из каждой лунки планшета для провокации отбирали и помещали в соответствующие лунки свежего 96-луночного планшета, содержащего 180 мкл нейтрализатора DE. Планшет инкубировали при 35±2°C в течение 24±2 ч. Результаты определения МВС визуально оценивали после инкубации.

Уменьшение количества клеток бактерий, log<sub>10</sub>: После обработки ультразвуком 100 мкл из каждой лунки планшета МВЕС™ переносили в первые 12 пустых лунок первого ряда 96-луночного планшета

для микротитрования и дополнительно разбавляли в 10 раз и вносили в последующие 8 рядов лунок (разведение  $10^0-10^7$ ). По 5 мкл из каждой лунки затем использовали для точечного высева на чашки с ОСА. Чашки с агаром инкубировали при  $37\pm 1^\circ\text{C}$ , и колонии подсчитывали приблизительно через 24-48 ч инкубации. Рассчитывали среднее арифметическое от количества колоний, подсчитанных на чашках. По 100 мкл стерильного нейтрализатора добавляли в каждую лунку планшета для выделения, чтобы вновь довести объем до 200 мкл. Вновь заполненный планшет инкубировали при  $35\pm 2^\circ\text{C}$  в течение  $24\pm 2$  ч.

Результаты сравнительного МВЕС определяли после  $24\pm 2$  ч инкубации с помощью планшет-ридера.

Плотность в  $\log_{10}$  для одного колышка рассчитывали следующим образом:

$$\log_{10}(\text{КОЕ/колышек}) = \log_{10}[(X/V)(D)],$$

где X- среднее количество КОЕ;

V - высаженный объем (0,02 мл); и

D - разведение.

Общее накопление биопленки определяли путем вычисления среднего значения рассчитанных величин  $\log_{10}$  плотности.

Уменьшение количества клеток бактерий ( $\log_{10}$ ) для каждого разбавления рассчитывали следующим образом:  $\log_{10}$  = среднее значение  $\log_{10}$  для контроля размножения - среднее значение  $\log_{10}$  для исследуемого образца

Результаты.

Средние величины  $\log_{10}$  КОЕ/колышек представлены в табл. 5.

Таблица 5

Средние величины  $\log_{10}$  КОЕ/колышек для выделенных бактерий

A	1	2	3	Среднее	Стандартное отклонение
30,0%	3,90	3,60	3,60	3,70	0,17
10,0%	3,60	3,90	3,60	3,70	0,17
3,0%	3,60	3,78	3,60	3,66	0,17
1,0%	3,60	3,60	3,60	3,70	0,17
B	1	2	3	Среднее	Стандартное отклонение
30,0%	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
10,0%	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
3,0%	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
1,0%	1,91	2,45	0,00	1,45	1,29
0,3%	2,08	3,30	3,08	2,82	0,65
C	1	2	3	Среднее	Стандартное отклонение
30,0%	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
10,0%	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
3,0%	2,90	3,20	3,08	3,06	0,15
1,0%	3,60	3,60	3,90	3,70	0,17
0,3%	2,90	3,60	3,56	3,35	0,39
D (нг)	1	2	3	Среднее	Стандартное отклонение
32	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
16	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
8,0	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
4,0	1,61	2,30	0,00	1,31	1,18
2,0	2,30	0,00	2,78	1,69	1,49
1,0	4,72	2,60	2,30	3,21	1,32
0,5	3,90	2,90	3,64	3,48	0,52

Данные по логарифмическому уменьшению количества клеток бактерий ( $\log_{10}$ ) представлены в табл. 6.

Таблица 6

Логарифмическое уменьшение количества клеток бактерий ( $\log_{10}$ )				
Уменьшение кол-ва клеток бактерий ( $\log_{10}$ )	Сравнение (%)	Log R	T-тест	S/NS
А по сравнению с В	30,0%	3,70	0,00	S
	10,0%	3,70	0,00	S
	3,0%	3,66	0,00	S
	1,0%	2,25	0,02	S
	0,3%	0,98	0,03	S
Уменьшение кол-ва клеток бактерий ( $\log_{10}$ )	Сравнение (%)	Log R	T-тест	S/NS
А по сравнению с С	30,0%	3,70	0,00	S
	10,0%	3,70	0,00	S
	3,0%	0,60	0,00	S
	1,0%	0,00	0,50	NS
	0,3%	0,45	0,07	NS
Уменьшение кол-ва клеток бактерий ( $\log_{10}$ )	Сравнение (%)	Log R	T-тест	S/NS
GC по сравнению с D	32	4,59	0,00	S
	16	4,59	0,00	S
	8,0	4,59	0,00	S
	4,0	3,29	0,00	S
	2,0	2,90	0,00	S
	1,0	1,38	0,02	S
	0,5	1,11	0,00	S

Результаты визуального определения МВС и МВЕС представлены в табл. 7.

Таблица 7

Результаты визуального определения МВС и МВЕС

МВЕС	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-
B	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-
C	+	+	+	-	-	-	+	+	+	-	+	-
D	+	+	+	-	-	-	+	+	+	+	+	+
E	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
F	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+
G	+	+	+	+	+	+	-	-	-	+	+	+
H	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+
МВС	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-
B	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-
C	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-
D	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	+	+
E	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	+	+
F	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+
G	+	+	+	+	+	+	-	-	-	+	+	+
H	-	-	+	-	-	-	+	+	+	+	+	+

Вывод: данные по логарифмическому уменьшению количества клеток бактерий ( $\log_{10}$ ) свидетельствовали о том, что исследуемое изделие (гранулы ТСП, покрытые матричным составом в соответствии с вариантами реализации настоящего изобретения) было способно вызывать гибель заранее образованной биопленки при минимальной концентрации 3,0% и было эффективным даже при 1,0% (процент гибели >99%). Напротив, доксициклин совместно с Р-ТСП при использовании не в виде композиции был эффективен при концентрациях 10% или выше.

Пример 6. Ингибирование образования биопленки в присутствии частиц ТСП, покрытых матричной композицией в соответствии с некоторыми вариантами реализации настоящего изобретения.

Эффективность гранул ортофосфата кальция, покрытых матричной композицией в соответствии с вариантами реализации настоящего изобретения, в ингибировании образования биопленки оценивали путем расчета значений логарифмического уменьшения количества бактерий с помощью методики физиологического и генетического количественного исследования МВЕС™ (минимальная концентрация эрадикации биопленки) (система описана выше в примере 5).

Получение культуры/инокулята осуществляли в соответствии со способом, описанным выше в примере 5.

Получение планшета для провокации.

Таблица 8

	Staphylococcus aureus								
A	SC-A	SC-A	SC-A	B1	B1	B1	A1	A1	A1
B	SC-B	SC-B	SC-B	B2	B2	B2	A2	A2	A2
C	N:50	N:50	N:50	B3	B3	B3	A3	A3	A3
D	N	N	N	B4	B4	B4	A4	A4	A4
E				B5	B5	B5	A5	A5	A5
F									
G									
H	BGCh	BGCh	BGCh						

Дизайн получения планшета для провокации: лунки SC использовали для контроля стерильности для каждого эксперимента; GC использовали в качестве контроля размножения; BGCh использовали для контроля образования биопленки; лунки N использовали для контроля токсичности нейтрализатора; лунки N:50 использовали для контроля эффективности.

Используя стерильный 96-луночный планшет для микротитрования, следующие этапы выполняли в асептических условиях, чтобы получить вышеуказанные планшеты для провокации.

Контроль эффективности: 150 мкл нейтрализатора добавляли к 672 мкг доксициклина в лунках N:50 (конечная концентрация доксициклина в D/E составила 4,48 мг/мл).

Контроль токсичности нейтрализатора: 150 мкл нейтрализатора добавляли в лунки N.

Контроль стерильности биоцидного агента: 60 мг исследуемого изделия добавляли в лунки SC.

По 60 мг ТСП и исследуемого изделия вносили в соответствии со схемой, представленной в табл. 8 в столбцах 1-9 (n=3). По 150 мкл инокулированных сред вносили в каждую лунку 96-луночного планшета для образования биопленки/провокации за исключением лунок для контроля стерильности.

Антимикробная провокация для ингибирования образования биопленки: крышку переносили на планшет для провокации и инкубировали на ротационном шейкере при 110 об/мин при  $35\pm 2^\circ\text{C}$  в течение  $24\pm 2$  ч. Планктонные клетки промывали из биопленки, которая образовалась на крышке устройства МВЕС, путем погружения крышки в планшет для ополаскивания (200 мкл физиологического раствора на лунку) в течение 30 с. По истечении указанного времени контакта крышку МВЕС™ переносили на планшет с нейтрализатором (200 мкл нейтрализатора на лунку).

Планшет помещали в соникатор и обрабатывали ультразвуком в течение 30 мин, чтобы отделить выжившую биопленку.

Определение планктонных МВС и величину логарифмического уменьшения определяли, как описано выше в примере 5. Средняя величина  $\log_{10}$  выделения бактериальных клеток представлена в табл. 9, приведенной ниже.

Таблица 9

Средняя величина  $\log_{10}$  выделения бактериальных клеток

А	1	2	3	Среднее	Стандартное отклонение
30,0%	4,60	5,38	4,90	4,96	0,39
10,0%	5,30	5,56	5,45	5,43	0,13
3,0%	4,90	5,30	5,08	5,09	0,20
1,0%	5,38	5,51	5,60	5,50	0,11
0,3%	5,60	5,20	5,60	5,47	0,23
В	1	2	3	Среднее	Стандартное отклонение
30,0%	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
10,0%	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
3,0%	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
1,0%	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
0,3%	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00

Таблица 10

Логарифмическое уменьшение количества клеток бактерий

Уменьшение количества клеток бактерий ( $\log_{10}$ )	Сравнение (%)	Log R	T-тест	S/NS
А по сравнению с В	30,0%	4,96	0,00	S
	10,0%	5,43	0,00	S
	3,0%	5,09	0,00	S
	1,0%	5,50	0,00	S
	0,3%	5,47	0,00	S

Результаты визуального определения МВС и МВЕС представлены в табл. 11.

Таблица 11

Результаты визуального определения МВС и МВЕС

МВС	1	2	3	4	5	6	7	8	9
A	-	-	-	-	-	-	+	+	+
B	-	-	-	-	-	-	+	+	+
C	-	-	-	-	-	-	+	+	+
D	+	+	+	-	-	-	+	+	+
E	+	+	+	-	-	-	+	+	+
F									
G									
H									
МВЕС	1	2	3	4	5	6	7	8	9
A	-	-	-	-	-	-	+	+	+
B	-	-	-	-	-	-	+	+	+
C	-	-	-	-	-	-	+	+	+
D	+	+	+	-	-	-	+	+	+
E	+	+	+	-	-	-	+	+	+
F									
G									
H	+	+	+						

Выводы: контрольное соединение А (только ТСП) вызывало нормальное выделение и размножение бактерий на протяжении всего периода провокации и при всех испытанных концентрациях ТСП.

Исследуемое соединение В вызывало полную гибель бактерий, которые высевали в исследуемые лунки, при каждой исследуемой концентрации. Данные МВС указывают на то, что все клетки погибли, а не были подавлены при исследуемых концентрациях. Пример 7: доклиническое исследование частиц ТСП, покрытых/пропитанных матричной композицией в соответствии с вариантами реализации настоящего изобретения, для лечения грудинных инфекций области хирургического вмешательства.

Цель данного исследования заключалась в оценке эффективности гранул ортофосфата кальция (-100 мкм), покрытых матричной композицией, содержащей доксициклин в соответствии с некоторыми вариантами реализации настоящего изобретения ("исследуемое изделие"), в снижении пролиферации бактерий после индукции инфекции в модели инфекции области хирургического вмешательства (ИОХВ), которую достигали путем имплантации в область грудины исследуемого изделия в комбинации с *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923) у новозеландских белых кроликов. Получение "исследуемого изделия" описано в примере 1.

Описание.

Повреждение грудины в половину глубины грудины производили у новозеландских белых кроликов. 12 самок новозеландских белых кроликов случайным образом разделяли на две равные группы по 6 животных. Животных подвергали срединной стернотомии с применением "контрольного изделия" (без покрытия ТСП) или "исследуемого изделия" (частицы ТСП, покрытые/пропитанные матричной композицией, полученной, как описано в примере 1), смешанного с определенной калиброванной дозой бактериального инокулята, которые вносили в образованный зазор (например, повреждение грудины).

Кроликов подвергали анестезии с помощью кетамина (30 мг/кг), ксилазина (5 мг/кг) и атропина (от 1 до 3 мг/кг) внутримышечно и поддерживали на изофлуране после интубации.

Стернотомию выполняли с использованием стандартных асептических методик. Осуществляли повреждение грудины в половину глубины грудины. Равные количества контрольного изделия или исследуемых изделий, смешанных по отдельности с бактериальным инокулятом, наносили, чтобы покрыть поверхность среза кости и регистрировали время до гемостаза. Грудину закрывали хирургическим путем (половинки грудины скрепляли мононитевым швом и разрез закрывали в слоях). Общее состояние здоровья контролировали ежедневно. Животных умерщвляли через 6 недель. Каждую грудину собирали для радиологических, гистологических, гематологических и механических количественных исследований, чтобы оценить заживление грудины.

Вышеизложенное описание конкретных вариантов реализации полностью раскрывает общий характер изобретения, что позволяет с использованием современных знаний легко модифицировать и/или адаптировать для различных способов применения указанные конкретные варианты реализации без

чрезмерных экспериментов, не отступая от общей концепции настоящего изобретения, и, следовательно, подразумевается, что указанные адаптации и модификации должны быть понятны в рамках смысла и диапазона эквивалентов раскрытых вариантов реализации. Следует понимать, что фразеология или терминология используется в настоящем документе для описания и не ограничивает настоящее изобретение. Средства, материалы и этапы для реализации различных раскрытых функций могут принимать различные альтернативные формы, не выходящие за пределы объема настоящего изобретения.

#### ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Применение фармацевтической композиции, содержащей биологически разлагаемый минеральный субстрат, где указанный минеральный субстрат пропитан или его поверхность покрыта полностью или частично матричной композицией, содержащей

(a) биологически разлагаемый сложный полиэфир, выбранный из группы, состоящей из PLA (полимолочной кислоты), PGA (полигликолевой кислоты), PLGA (сополимера молочной кислоты и гликолевой кислоты);

(b) первый липидный компонент, содержащий холестерин;

(c) второй липидный компонент, содержащий фосфатидилхолин, содержащий фрагменты жирных кислот, содержащие по меньшей мере 14 атомов углерода; и

(d) фармацевтически активный агент, содержащий антибиотический агент, выбранный из группы, состоящей из доксицилина или доксицилина гиклата,

для лечения или профилактики инфекции области разреза мягких тканей, связанной с хирургической операцией, где указанный минеральный субстрат состоит из частиц  $\beta$ -ортофосфата кальция ( $\beta$ -TCP) и где указанная фармацевтическая композиция предназначена для местного введения в область разреза мягких тканей.

2. Применение по п.1, отличающееся тем, что инфекция включает по меньшей мере одну из поверхностной инцизионной инфекции, глубокой инцизионной инфекции и инфекции органа/пространства.

3. Применение по п.1 или 2, подходящее по меньшей мере для одного из снижения общей частоты инфекций после операции, эрадикации инфекций мягких тканей, которые могли существовать до операции, ингибирования образования биопленки в области разреза и эрадикации существующей биопленки в области разреза мягких тканей.

4. Применение по любому из пп.1-3, отличающееся тем, что инфекция включает метициллин-резистентный *S. aureus* (MRSA).

5. Применение по любому из пп.1-4, отличающееся тем, что указанная хирургическая операция выбрана из ортопедических хирургических операций, хирургических операций на позвоночнике, хирургических операций на органе пищеварительной системы, кардиохирургических операций, иссечения грыжи, ангиопластики, кесарева сечения, простатэктомии, акушерских и гинекологических хирургических операций, хирургических операций рака головы и шеи, хирургических операций по трансплантации, нейрохирургических операций и пластических хирургических операций.

6. Применение по п.5, отличающееся тем, что указанные хирургические операции на органе пищеварительной системы выбраны из операций на пищеводе, желудке, тонком кишечнике, толстом кишечнике, прямой кишке, ободочной кишке, аппендиксе, печени, поджелудочной железе, желчном пузыре, язве желудка, раке желудка, создании открытого желудочного анастомоза, аппендэктомии, колэктомии, холецистэктомии, ваготомии, открытых операций желчевыводящих путей, операций на тонком кишечнике и колоректальных операций.

7. Применение по п.5, отличающееся тем, что указанная хирургическая операция представляет собой кардиохирургическую операцию.

8. Применение по любому из пп.1-7, отличающееся тем, что указанный минеральный субстрат состоит из частиц, средний размер которых составляет менее приблизительно 200 микрон (мкм), предпочтительно менее приблизительно 150 микрон (мкм), более предпочтительно при этом указанный биологически разлагаемый субстрат состоит из частиц, средний размер которых находится в диапазоне 50-150 микрон (мкм), еще более предпочтительно указанное большинство частиц имеют сферическую и/или шаровидную форму.

9. Применение по любому из пп.1-8, отличающееся тем, что указанный фосфатидилхолин содержит фрагменты жирных кислот, содержащих 14-18 атомов углерода.

10. Применение по любому из пп.1-9, отличающееся тем, что указанный фармацевтически активный агент дополнительно содержит активный агент, выбранный из группы, состоящей из антибиотического агента, антисептического агента, противовоспалительного агента, противогрибкового агента и любой их комбинации; или указанный фармацевтически активный агент дополнительно содержит по меньшей мере один противовоспалительный агент.

11. Применение по любому из пп.1-10, отличающееся тем, что массовое отношение общего количества липидов к указанному биологически разлагаемому сложному полиэфиру составляет от 1:1 до 9:1 включительно.

12. Применение по любому из предшествующих пунктов, отличающееся тем, что указанный покрытый биоразлагаемый минеральный субстрат содержит приблизительно 60-90% мас./мас. биоразлагаемого минерального субстрата и 10-40% мас./мас. матричной композиции, при этом предпочтительно указанный покрытый биоразлагаемый минеральный субстрат содержит приблизительно 70-90% мас./мас. биоразлагаемого минерального субстрата и 10-30% мас./мас. матричной композиции.

13. Применение фармацевтической композиции по п.1, где матричная композиция содержит

(a) 15- 25% мас./мас. сополимера молочной кислоты и гликолевой кислоты (PLGA);

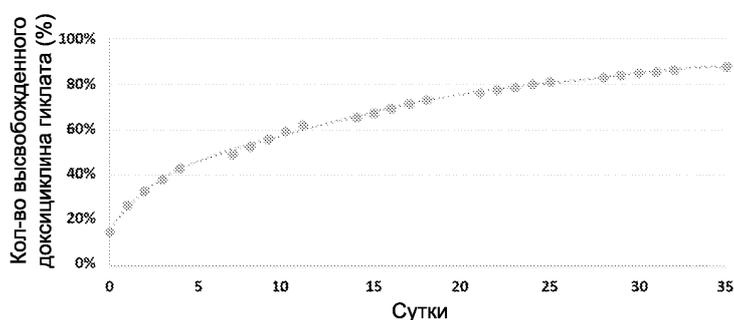
(b) 5-15% мас./мас. холестерина;

(c) 50-70% мас./мас. смеси 1,2-дипальмитоил-sn-глицеро-3-фосфохолина (DPPC) и 1,2-дистеароил-sn-глицеро-3-фосфохолина (DSPC), причем соотношение DPPC и DSPC составляет от 5:1 до 2:1; и

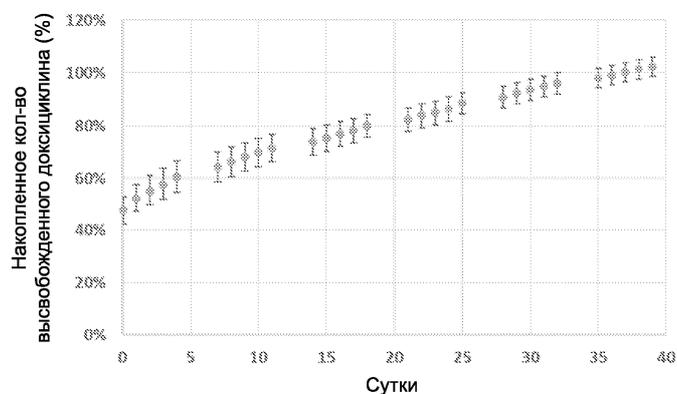
(d) 7-12% мас./мас. доксицилина или доксицилина гиклата.

14. Применение по п.13, отличающееся тем, что указанный минеральный субстрат составляет приблизительно 80-90% мас./мас. и матричная композиция составляет приблизительно 10-20% мас./мас. от общей массы фармацевтической композиции.

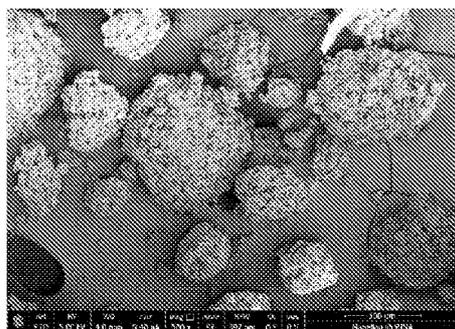
15. Применение по любому из предшествующих пунктов, где фармацевтическая композиция приготовлена в виде пасты.



Фиг. 1



Фиг. 2



Фиг. 3А

