

(19)



Евразийское
патентное
ведомство

(21) 202290048 (13) A1

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОЙ ЗАЯВКЕ

(43) Дата публикации заявки
2022.03.10(22) Дата подачи заявки
2020.06.12(51) Int. Cl. *A61K 31/675* (2006.01)
A61K 31/7056 (2006.01)
A61K 38/12 (2006.01)
A61K 38/14 (2006.01)
A61P 31/04 (2006.01)
A61K 45/06 (2006.01)(54) ЛЕКАРСТВЕННОЕ СРЕДСТВО И ЕГО ПРИМЕНЕНИЕ ДЛЯ ЛЕЧЕНИЯ
БАКТЕРИАЛЬНЫХ ИНФЕКЦИЙ, СВЯЗАННЫХ С БИОПЛЕНКОЙ

(31) 19180281.8

(32) 2019.06.14

(33) EP

(86) PCT/EP2020/066305

(87) WO 2020/249731 2020.12.17

(71) Заявитель:

ДЕБИОФАРМ ИНТЕРНЭШНЛ С.А.
(СН)

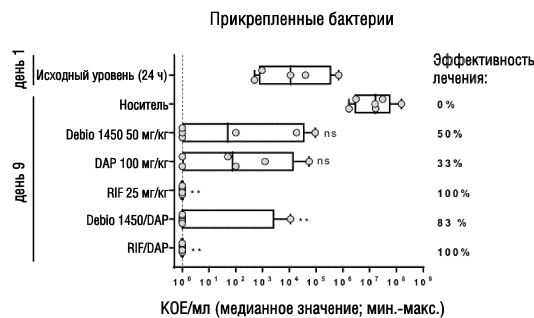
(72) Изобретатель:

Новаковска Юстина (СН), Кади
Линда (FR), Воньо Грегуар (СН)

(74) Представитель:

Медведев В.Н. (RU)

(57) Настоящее изобретение относится к применению Афацибина в способе лечения бактериальных инфекций, связанных с биопленкой, которая содержит стафилококковые бактерии, при этом способ включает введение пациенту Афацибина в комбинации с по меньшей мере одним дополнительным средством, выбранным из липопептидов, гликопептидов и линкозамидов, таких как Даптомицин и/или Ванкомицин.



A1

202290048

202290048

A1

ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ

2420-572048EA/042

АФАБИЦИН ДЛЯ ПРИМЕНЕНИЯ ДЛЯ ЛЕЧЕНИЯ БАКТЕРИАЛЬНЫХ ИНФЕКЦИЙ, СВЯЗАННЫХ С БИОПЛЕНКОЙ

1. Область техники, к которой относится изобретение

Настоящее изобретение относится к лечением бактериальных инфекций. Более конкретно, настоящее изобретение обеспечивает средства и способы для лечения бактериальных инфекций, где бактерии организованы в виде биопленок и предпочтительно биопленок, содержащих или состоящих из стафилококковых бактерий. Для достижения желаемого эффекта лечения настоящее изобретение использует комбинацию Афабицина и по меньшей мере одного дополнительного антибиотика, выбранного из группы, состоящей из липопептидов, гликопептидов и линкозамидов или их комбинации.

2. Предпосылки создания изобретения

Бактерии могут выживать в организме человека в изолированной форме, которую иногда называют планктонным состоянием. Однако бактерии также могут образовывать биопленки, т.е. сообщества клеточных кластеров, обычно прикрепленных к твердой нативной или чужеродной поверхности, такой как стоматологический материал, медицинские имплантаты, например протезы суставов, и т.п. Внутри биопленок существует определенная степень организации, включая образование водных каналов в качестве системы циркуляции для доставки питательных веществ и удаления конечных продуктов метаболизма. Более того, бактерии встроены во внеклеточный матрикс, который обычно состоит из полисахаридов, белков, тейхоевых кислот, липидов и внеклеточной ДНК.

Иммунная система человека, как правило, не способна успешно искоренять такие опосредованные биопленками инфекции, и бактериальные инфекции, связанные с биопленками, как известно, трудно поддаются лечению, при этом большинство антибиотиков, эффективных для лечения бактерий в планктонном состоянии, не проявляют эффективности против опосредованных биопленками инфекций тех же бактерий. Считается, что это вызвано комбинацией различных защитных механизмов бактерий, встроенных в биопленку, таких как:

- Внеклеточный матрикс предотвращает или затрудняет доступ лекарственного вещества к бактериям;
- Считается, что по меньшей мере некоторые из бактерий, организованных в биопленку, находятся в медленном или нерастущем состоянии, в котором очень мало внеклеточных веществ включается в клетку или вообще не включается;
- Считается, что биопленки содержат разные субпопуляции бактерий с разными уровнями резистентности; это увеличивает шансы, что по меньшей мере некоторые субпопуляции биопленки выживут после воздействия на них антибиотиков;
- Клетки в биопленке могут также полагаться на другие защитные механизмы, такие как сверхэкспрессия определенных генов и стрессовые реакции на неблагоприятные условия окружающей среды. Такие другие защитные механизмы также могут различаться

в разных субпопуляциях биопленки.

Соответственно, в настоящее время существуют лишь очень ограниченные варианты лечения опосредованных биопленками бактериальных инфекций. Существующий стандарт лечения антибиопленочной терапии опирается на Рифампицин как на краеугольный камень. Однако применению рифампицина препятствует его токсичность и непереносимость пациентами. Кроме того, монотерапия Рифампицином часто приводит к индукции бактериальной резистентности, что делает терапию неэффективной и может оставлять пациентов с неоптимальными вариантами лечения или вообще без них. Кроме того, лечение инфекции, вызванной рифампицин-резистентным стафилококком, включает также изменение хирургической процедуры на более сложную и длительную стратегию.

Показатели устойчивости стафилококков к рифампицину различаются между популяциями пациентов и странами. Согласно данным Европейского комитета по тестированию на чувствительность к противомикробным препаратам за 2016 год, показатели колеблются в пределах 0,5-17%. Однако по меньшей мере в некоторых странах, включая Беларусь, Черногорию, Сербию и Турцию, уровни резистентности к рифампицину в инвазивных клинических изолятах *S. aureus* достигли 14-24%. Более того, непереносимость и токсичность рифампицина вместе с резистентностью могут составлять до 25% всех острых стафилококковых инфекций протезированных суставов, а устойчивость к рифампицину в *S. epidermidis*, выделенных из инфекций медицинских имплантатов, в частности инфекций протезированных суставов, может составлять до 39%.

Коагулаза-негативные стафилококки (CoNS), и особенно *S. epidermidis*, наиболее частый комменсал эпителиальных поверхностей человека, стали важными условно-патогенными микроорганизмами. *S. epidermidis* в настоящее время является основным возбудителем катетер-ассоциированных инфекций кровотока и раннего неонатального сепсиса. Он также часто является причиной инфекций, связанных с биомедицинскими устройствами. В настоящее время имеет место все большее признание проблемы лечения этих инфекций, поскольку подавляющее большинство внутрибольничных инфекций *S. epidermidis* могут проявляться с мультилекарственной резистентностью (например, резистентностью к бета-лактамам, фторхинолонам и рифампицину) и могут иметь хронический характер из-за образования биопленок.

Чтобы снизить риск индукции резистентности к рифампицину, особенно в условиях биопленочных инфекций, связанных с медицинскими имплантатами, стандарт лечения основывается на комбинациях лекарственных средств, включающих рифампицин и второе антибиотическое лекарственное средство. Второе антибиотическое лекарственное средство обычно выбирают из Нафциллина, Оксациллина, Цефазолина, Ванкомицина, Даптомицина, Линезолида, Ципрофлоксацина, Левофлоксацина, Ко-тримоксазола, Миноциклина, Доксициклина, пероральных Цефалоспоринов первого поколения, таких как Цефалексин, или антистафилококковых Пенициллинов, таких как Диклоксациллин, Клиндамицин, Тейкопланин или фузидовая кислота. Однако, поскольку рифампицин и эти вторые

антибиотики связаны со специфической токсичностью, применяемая в настоящее время комбинированная терапия с Рифампицином может привести к кумулятивным нежелательным явлениям.

Кроме того, рекомендуется не использовать Рифампицин в периоперационном периоде (до, во время или после операции), когда раны еще мокнувшие или дренажи еще не удалены, а также когда планируется еще одна операция. Это связано с риском индукции резистентности к Рифампицину у комменсальных бактерий, включая стафилококки, находящиеся на коже. Из-за близости к открытым ранам и дренажам эти резистентные к Рифампицину стафилококки могут вызывать суперинфекцию медицинских имплантатов. Отсрочка применения рифампицина для минимизации этого риска может означать начальное субоптимальное лечение пациента.

Учитывая возрастающие ограничения Рифампицина, описанные выше, существует острая необходимость в обеспечении альтернативных лечений инфекций, опосредованных биопленками, которые не основаны на Рифампицине. Таким образом, целью настоящего изобретения является обеспечение таких средств и способов лечения опосредованных биопленками бактериальных инфекций и особенно опосредованных биопленками инфекций, связанных со стафилококковыми бактериями, которые не полагаются на Рифампицин в качестве лекарственного вещества.

Еще одной целью настоящего изобретения является обеспечение средств и способов для лечения биопленочных инфекций и предпочтительно биопленочных инфекций с вовлечением стафилококковых бактерий, которые демонстрируют показатели эффективности лечения $\geq 20\%$, $\geq 25\%$, $\geq 30\%$, $\geq 35\%$ или $\geq 40\%$ для инфекций с вовлечением молодой (24 ч) биопленки и показатели эффективности лечения $\geq 5\%$, $\geq 10\%$ или $\geq 15\%$ для старой (72 ч) биопленки. Специалист в данной области вполне сможет определить показатель эффективности лечения любого средства или способа. В частности, показатель эффективности лечения можно определить с использованием одной или нескольких из моделей и методов, описанных в Примерах, включенных в настоящую заявку.

Еще одной целью настоящего изобретения является обеспечение средств и способов для лечения биопленочных инфекций и предпочтительно биопленочных инфекций с вовлечением стафилококковых бактерий, которые можно использовать для пациентов с мокнущими ранами, вставленными дренажами или планируемыми хирургическими операциями (например, в периоперационный период).

Еще одной целью настоящего изобретения является обеспечение средств и способов для лечения биопленочных инфекций и предпочтительно биопленочных инфекций с вовлечением стафилококковых бактерий, которые можно использовать в случаях, когда лечения на основе рифампицина не достижимы по причинам, включающим, но не ограничиваясь этим, резистентность или непереносимость пациентом.

Другие цели, лежащие в основе настоящего изобретения, будут очевидны из подробного описания, представленного ниже.

3. Сущность изобретения

Настоящим изобретением достигаются вышеуказанные цели путем обеспечения комбинированных терапий для лечения опосредованных биопленками бактериальных инфекций и предпочтительно биопленочных инфекций с вовлечением стафилококковых бактерий, которые основаны на комбинации Афабицина и по меньшей мере одного дополнительного антибиотика, выбранного из группы, состоящей из липопептидов, гликопептидов и линкозамидов, в качестве основных активных фармацевтических ингредиентов. По меньшей мере одно дополнительное средство предпочтительно представляет собой по меньшей мере одно средство, выбранное из группы, состоящей из Даптомицина, Ванкомицина, Сурфактина, А54145, Амфомицина, Фриулимицина, ласпартомицина, WAP-8294A₂, Катанозина, Плюсбацина А₃, Оритаванцина, Телаванцина, Тейкопланина, Далбаванцина, Рамопланина, Маннопептимицина, Клиндамицина, Линкомицина и Пирлимицина, более предпочтительно Даптомицина и/или Ванкомицина и/или Клиндамицина. Также можно использовать комбинацию Афабицина с двумя или более из этих антибиотиков. Например, можно использовать комбинацию трех антибиотиков Афабицина, Даптомицина и Ванкомицина, или комбинацию Афабицина, Даптомицина и Клиндамицина, или комбинацию Афабицина, Ванкомицина и Клиндамицина. Для простоты изложения, следующее описание относится к этим вариантам осуществления настоящего изобретения, вместе указанных как "комбинация Афабицина с по меньшей мере одним дополнительным средством" или т.п. Таким образом, настоящее изобретение, в частности, относится к Афабицину для применения в комбинации с Даптомицином, и/или Ванкомицином, и/или Клиндамицином (и наоборот) для лечения опосредованных биопленками инфекций и предпочтительно опосредованных стафилококк-содержащими биопленками инфекций. Более конкретно, настоящее изобретение относится к следующим вариантам осуществления:

1. Афабицин для применения в способе лечения бактериальных инфекций, связанных с биопленками, при этом способ включает введение пациенту Афабицина в комбинации с по меньшей мере одним дополнительным средством, выбранным из группы, состоящей из липопептидов, гликопептидов и линкозамидов, где липопептид предпочтительно представляет собой Даптомицин, гликопептид предпочтительно представляет собой Ванкомицин и линкозамид предпочтительно представляет собой Клиндамицин.

2. Афабицин для применения в соответствии с пунктом 1, где биопленка содержит или состоит из стафилококковых бактерий.

3. Афабицин для применения в соответствии с любым из пунктов 1-2, где стафилококковые бактерии выбраны из группы, состоящей из следующих:

- *Staphylococcus aureus*, включая внебольничные *Staphylococcus aureus* и внутрибольничные *Staphylococcus aureus*
- Коагулаза-отрицательные стафилококки (CoNS), например *Staphylococcus epidermidis*, *Staphylococcus haemolyticus*, *Staphylococcus lugdunensis*, *Staphylococcus simulans*, *Staphylococcus hominis*, где CoNS предпочтительно представляет собой

Staphylococcus epidermidis,

- Метициллин-чувствительные или метициллин-резистентные стафилококки, где стафилококк предпочтительно представляет собой *Staphylococcus aureus* или *Staphylococcus epidermidis*,

- Штаммы *Staphylococcus aureus* или штаммы CoNS, где указанные штаммы резистентны к одному или нескольким антибиотикам и где указанный антибиотик предпочтительно выбран из β -лактамов, Цефалоспоринов, Гликопептидов, таких как Ванкомицин, Линезолида, Линкозамидов, таких как Клиндамицин, Рифампицина, Липопептидов, таких как Даптомицин, Фторхинолонов, Триметоприма/Сульфаметоксазола, Фосфомицина, Фузидовой кислоты, Тигециклина, Тетрациклинов и Далбаванцина, и где штаммы CoNS предпочтительно представляет собой *Staphylococcus epidermidis*,

- Мультилекарственно-резистентные штаммы *Staphylococcus*, где мультилекарственно-резистентный штамм *Staphylococcus* предпочтительно выбран из группы, состоящей из мультилекарственно-резистентных штаммов *Staphylococcus aureus* и мультилекарственно-резистентных штаммов CoNS, и где мультилекарственно-резистентный штамм CoNS предпочтительно представляет собой *Staphylococcus epidermidis*,

при этом стафилококковая бактерия предпочтительно представляет собой *Staphylococcus aureus* и/или CoNS, при этом CoNS предпочтительно представляет собой *S. epidermidis*.

4. Афабицин для применения в соответствии с любым из пунктов 1-3, где бактериальная инфекция связана с открытой раной, и/или мокнущей раной, и/или раной с вставленным дренажем, и предпочтительно где бактериальная инфекция связана с открытой раной.

5. Афабицин для применения в соответствии с любым из пунктов 1-4, где Афабицин в комбинации с по меньшей мере одним дополнительным средством вводят в периоперационном периоде и предпочтительно вводят до и/или после операции.

6. Афабицин для применения в соответствии с любым из пунктов 1-5, где бактериальная инфекция связана с биопленкой, которая содержит стафилококковые бактерии, резистентные к рифампицину.

7. Афабицин для применения в соответствии с любым из пунктов 1-6, где бактериальная инфекция связана с биопленкой, которая содержит метициллин-резистентные стафилококки, и предпочтительно где стафилококки представляют собой *Staphylococcus aureus* или CoNS, где CoNS предпочтительно представляет собой *Staphylococcus epidermidis*.

8. Афабицин для применения в соответствии с любым из пунктов 1-7, где бактериальная инфекция выбрана из группы, состоящей из следующих:

инфекция, ассоциированная с медицинским имплантатом,
остеомиелит,

инфекции у пациентов с кистозным фиброзом,
 плевропульмональные инфекции, такие как пневмонии, предпочтительно, когда плевропульмональная инфекция является хронической, и более предпочтительно, когда плевропульмональная инфекция представляет собой обструктивное легочное заболевание,
 эндокардит и предпочтительно, когда эндокардит представляет собой эндокардит нативного клапана,
 раневые инфекции, предпочтительно, когда указанные раневые инфекции являются хроническими,
 мастит,
 синусит, предпочтительно, когда указанный синусит является хроническим,
 воспаление среднего уха, предпочтительно, когда указанное воспаление среднего уха является хроническим,
 инфекции мочевых путей,
 тонзилит, предпочтительно, когда указанный тонзилит является хроническим,
 ларингит, предпочтительно, когда указанный ларингит является хроническим,
 инфекция, связанные с камнями в почках
 инфекции желчных путей,
 аэробный вагинит,
 септический тромбофлебит,
 инфекции, ассоциированные с внутриклеточными биопленками, например в клетках Купффера или в тонзиллярных клетках, и
 колонизация *Staphylococcus aureus*, которая делает пациента предрасположенным к инфекциям.

9. Афабицин для применения в соответствии с любым из пунктов 1-8, где бактериальная инфекция представляет собой инфекцию, связанную с медицинским имплантатом, и где медицинский имплантат представляет собой постоянное имплантированное устройство, и предпочтительно представляет собой эндопротез сустава.

10. Афабицин для применения в соответствии с любым из пунктов 1-9, где бактериальная инфекция представляет собой инфекцию, связанную с медицинским имплантатом, и предпочтительно выбрана из инфекции, связанной с катетером, инфекции, связанной с эндотрахеальными трубками, инфекции, связанной с голосовыми протезами, инфекции, связанной с филлерами мягких тканей, где указанные филлеры мягких тканей могут быть перманентными или полуперманентными.

11. Афабицин для применения в соответствии с любым из пунктов 1-10, где способ включает стадию очищения раны в дополнение к введению Афабицина в комбинации с по меньшей мере одним дополнительным средством.

12. Афабицин для применения в соответствии с пунктами 8, 9, 10 или 11, где указанный способ включает стадию замены медицинского имплантата в дополнение к введению Афабицина в комбинации с по меньшей мере одним дополнительным средством.

13. Афабицин для применения в соответствии с пунктом 12, где стадию введения

Афабицина в комбинации с по меньшей мере одним дополнительным средством осуществляют до и/или после стадии замены медицинского имплантата, и где указанное введение предпочтительно осуществляют до и после стадии замены медицинского имплантата.

14. Афабицин для применения в соответствии с любым из пунктов 1-13, где Афабицин вводят внутривенно, перорально, парентерально и/или местно и/или чрескожно.

15. Афабицин для применения в соответствии с любым из пунктов 1-14, где Афабицин вводят на первой стадии внутривенно, а на второй стадии перорально.

16. Афабицин для применения в соответствии с любым из пунктов 1-15, где по меньшей мере одно дополнительное средство вводят перорально, парентерально, чрескожно, внутривенно и/или местно.

17. Афабицин для применения в соответствии с пунктами 12 или 13, где способ включает первую стадию удаления медицинского имплантата, вторую стадию внутривенного введения Афабицина в комбинации с по меньшей мере одним дополнительным средством, третью стадию введения нового медицинского имплантата, четвертую стадию внутривенного введения Афабицина в комбинации с по меньшей мере одним дополнительным средством и пятую стадию перорального введения Афабицина в комбинации с по меньшей мере одним дополнительным средством.

18. Афабицин для применения в соответствии с любым из пунктов 1-17, где по меньшей мере одно дополнительное средство выбрано из группы, состоящей из Даптомицина, Ванкомицина, Сурфактина, А54145, Амфомицина, Фриулимицина, ласпартомицина, WAP-8294A₂, Катанозина, Плюсбацина А₃, Оритаванцина, Телаванцина, Тейкопланина, Далбаванцина, Рамопланина, Маннопептимицина, Клиндамицина, Линкомицина и Пирлимицина.

19. Афабицин для применения в соответствии с пунктом 18, где по меньшей мере одно дополнительное средство представляет собой Даптомицин, и/или Ванкомицин, и/или Клиндамицин.

20. Даптомицин для применения в способе лечения бактериальных инфекций, связанных с биопленкой, которая предпочтительно содержит стафилококковые бактерии, при этом способ определен в любом из пунктов 1-19.

21. Ванкомицин для применения в способе лечения бактериальных инфекций, связанных с биопленкой, которая предпочтительно содержит стафилококковые бактерии, при этом способ определен в любом из пунктов 1-19.

22. Клиндамицин для применения в способе лечения бактериальных инфекций, связанных с биопленкой, которая предпочтительно содержит стафилококковые бактерии, при этом способ определен в любом из пунктов 1-19.

23. Способ лечения у пациента, нуждающегося в этом, бактериальных инфекций, связанных с биопленкой, которая предпочтительно содержит стафилококковые бактерии, при этом способ определен в любом из пунктов 1-19.

24. Фармацевтическая композиция для применения в способе лечения

бактериальных инфекций, связанных с биопленкой, которая предпочтительно содержит стафилококковые бактерии, при этом фармацевтическая композиция включает Афабицин и по меньшей мере одно дополнительное средство, выбранное из группы, состоящей из липопептидов, гликопептидов и линкозамидов, предпочтительно по меньшей мере одно дополнительное средство, выбранное из группы, состоящей из Даптомицина, Ванкомицина, Сурфактина, А54145, Амфомицина, Фриулимицина, ласпартомицина, WAP-8294A₂, Катанозина, Плюсбацин А₃, Оритаванцина, Телаванцина, Тейкопланина, Далбаванцина, Рамопланина, Маннопептимицина, Клиндамицина, Линкомицина и Пирлимицина, более предпочтительно из Даптомицина, и/или Ванкомицина, и/или Клиндамицина, и при этом способ определен в любом из пунктов 1-19.

25. Набор для применения в способе лечения бактериальных инфекций, связанных с биопленкой, которая предпочтительно содержит стафилококковые бактерии, где набор содержит Афабицин и по меньшей мере одно дополнительное средство, выбранное из группы, состоящей из липопептидов, гликопептидов и линкозамидов, предпочтительно по меньшей мере одно дополнительное средство, выбранное из группы, состоящей из Даптомицина, Ванкомицина, Сурфактина, А54145, Амфомицина, Фриулимицина, ласпартомицина, WAP-8294A₂, Катанозина, Плюсбацин А₃, Оритаванцина, Телаванцина, Тейкопланина, Далбаванцина, Рамопланина, Маннопептимицина, Клиндамицина, Линкомицин и Пирлимицина, более предпочтительно из Даптомицина, и/или Ванкомицина, и/или Клиндамицина, и при этом способ определен в любом из пунктов 1-19.

Еще в одном более конкретном аспекте изобретение относится к следующему:

1. Афабицин для применения в способе лечения бактериальных инфекций, связанных с биопленкой, которая содержит стафилококковые бактерии, при этом способ включает введение пациенту Афабицина в комбинации с Даптомицином и/или Ванкомицином.

2. Афабицин для применения в соответствии с пунктом 1, где стафилококковые бактерии выбраны из группы, состоящей из следующих:

- *Staphylococcus aureus*, включая внебольничные *Staphylococcus aureus* и внутрибольничные *Staphylococcus aureus*
- Коагулаза-отрицательные стафилококки (CoNS), например *Staphylococcus epidermidis*, *Staphylococcus haemolyticus*, *Staphylococcus lugdunensis*, *Staphylococcus simulans*, *Staphylococcus hominis*, где CoNS предпочтительно представляет собой *Staphylococcus epidermidis*,
- Метициллин-чувствительные или метициллин-резистентные стафилококки, где стафилококк предпочтительно представляет собой *Staphylococcus aureus* или *Staphylococcus epidermidis*,
- Штаммы *Staphylococcus aureus* или штаммы CoNS, где указанные штаммы резистентны к одному или нескольким антибиотикам и где указанный антибиотик предпочтительно выбран из б-лактамов, Цефалоспоринов, Ванкомицина, Линезолида, Клиндамицина, Рифампицина, Даптомицина, Фторхинолонов,

Триметоприма/Сульфаметоксазола, Фосфомицина, Фузидовой кислоты, Тигециклина, Тетрациклинов и Далбаванцина, и где штамм CoNS предпочтительно представляет собой *Staphylococcus epidermidis*,

- Мультилекарственно-резистентные штаммы *Staphylococcus*, где мультилекарственно-резистентный штамм *Staphylococcus* предпочтительно выбран из группы, состоящей из мультилекарственно-резистентных штаммов *Staphylococcus aureus* и мультилекарственно-резистентных штаммов CoNS, и где мультилекарственно-резистентный штамм CoNS предпочтительно представляет собой *Staphylococcus epidermidis*, где предпочтительно стафилококковая бактерия представляет собой *Staphylococcus aureus* и/или CoNS, где CoNs предпочтительно представляет собой *S. epidermidis*.

3. Афабицин для применения в соответствии с пунктом 1 или 2, где бактериальная инфекция связана с открытой раной и/или мокнущей раной и/или раной с вставленным дренажем, и предпочтительно где бактериальная инфекция связана с открытой раной.

4. Афабицин для применения в соответствии с пунктом 1, 2 или 3, где Афабицин в комбинации с Даптомицином и/или Ванкомицином вводят в периоперационном периоде и предпочтительно вводят до и/или после операции.

5. Афабицин для применения в соответствии с пунктом 1, 2, 3 или 4, где бактериальная инфекция связана с биопленкой, которая содержит стафилококковые бактерии, резистентные к рифампицину.

6. Афабицин для применения в соответствии с любым из пунктов 1-5, где бактериальная инфекция связана с биопленкой, которая содержит метициллин-резистентные стафилококки, и предпочтительно где стафилококки представляют собой *Staphylococcus aureus* или CoNS, где CoNS предпочтительно представляет собой *Staphylococcus epidermidis*.

7. Афабицин для применения в соответствии с любым из пунктов 1-6, где бактериальная инфекция выбрана из группы, состоящей из следующих:

- инфекция, ассоциированная с медицинским имплантатом,
- остеомиелит,
- инфекции у пациентов с кистозным фиброзом,
- плевропульмональные инфекции, такие как пневмонии, предпочтительно, когда плевропульмональная инфекция является хронической, и более предпочтительно, когда плевропульмональная инфекция представляет собой обструктивное легочное заболевание,
- эндокардит, и предпочтительно, когда эндокардит представляет собой эндокардит нативного клапана,
- раневые инфекции, предпочтительно, когда указанные раневые инфекции являются хроническими,
- мастит,
- синусит, предпочтительно, когда указанный синусит является хроническим,
- воспаление среднего уха, предпочтительно, когда указанное воспаление среднего

уха является хроническим,

инфекции мочевых путей,

тонзиллит, предпочтительно, когда указанный тонзиллит является хроническим,

ларингит, предпочтительно, когда указанный ларингит является хроническим,

инфекции, связанные с камнями в почках

инфекции желчных путей,

аэробный вагинит,

септический тромбофлебит,

инфекции, ассоциированные с внутриклеточными биопленками, например в клетках

Купффера или в тонзиллярных клетках, и

колонизация *Staphylococcus aureus*, которая делает пациента предрасположенным к инфекциям.

8. Афабицин для применения в соответствии с любым из пунктов 1-7, где бактериальная инфекция представляет собой инфекцию, связанную с медицинским имплантатом, и где медицинский имплантат представляет собой постоянное имплантированное устройство и предпочтительно представляет собой эндопротез сустава.

9. Афабицин для применения в соответствии с любым из пунктов 1-8, где бактериальная инфекция представляет собой инфекцию, связанную с медицинским имплантатом, и предпочтительно выбрана из инфекции, связанной с катетером, инфекции, связанной с эндотрахеальными трубками, инфекции, связанной с голосовыми протезами, инфекции, связанной с филлерами мягких тканей, где указанные филлеры мягких тканей могут быть перманентными или полуперманентными.

10. Афабицин для применения в соответствии с любым из пунктов 1-9, при этом способ включает стадию очищения раны в дополнение к введению Афабицина в комбинации с Даптомицином и/или Ванкомицином.

11. Афабицин для применения в соответствии с пунктами 7, 8, 9 или 10, где указанный способ включает стадию замены медицинского имплантата в дополнение к введению Афабицина в комбинации с Даптомицином и/или Ванкомицином.

12. Афабицин для применения в соответствии с пунктом 11, где стадию введения Афабицина в комбинации с Даптомицином и/или Ванкомицином осуществляют до и/или после стадии замены медицинского имплантата, и где указанное введение предпочтительно осуществляют до и после стадии замены медицинского имплантата.

13. Афабицин для применения в соответствии с любым из пунктов 1-12, где Афабицин вводят внутривенно, перорально, парентерально, и/или местно, и/или чрескожно.

14. Афабицин для применения в соответствии с любым из пунктов 1-13, где Афабицин вводят на первой стадии внутривенно, а на второй стадии перорально.

15. Афабицин для применения в соответствии с любым из пунктов 1-14, где Даптомицин и/или Ванкомицин вводят внутривенно и/или местно.

16. Афабицин для применения в соответствии с пунктом 11 или 12, при этом способ

включает первую стадию удаления медицинского имплантата, вторую стадию внутривенного введения Афабицина в комбинации с Даптомицином и/или Ванкомицином, третью стадию введения нового медицинского имплантата, четвертую стадию внутривенного введения Афабицина в комбинации с Даптомицином и/или Ванкомицином и пятую стадию перорального введения Афабицина в комбинации с Даптомицином и/или Ванкомицином.

17. Даптомицин для применения в способе лечения бактериальных инфекций, связанных с биопленкой, которая содержит стафилококковые бактерии, при этом способ определен в любом из пунктов 1-16.

18. Ванкомицин для применения в способе лечения бактериальных инфекций, связанных с биопленкой, которая содержит стафилококковые бактерии, при этом способ определен в любом из пунктов 1-16.

19. Способ лечения у пациента, нуждающегося в этом, бактериальных инфекций, связанных с биопленкой, которая содержит стафилококковые бактерии, при этом способ определен в любом из пунктов 1-16.

Другие варианты осуществления настоящего изобретения будут очевидны из подробного описания изобретения, представленного ниже.

4. Описание чертежей

Фиг. 1 схематически представляет варианты лечения инфекций, связанных с медицинскими имплантатами, и более конкретно инфекций, связанных с суставными протезами, основанные на разных сценариях.

Фиг. 2 схематически представляет варианты лечения инфекций, связанных с медицинскими имплантатами, и более конкретно инфекций, связанных с суставными протезами, основанные на разных сценариях.

Фиг. 3 показывает эффект 5,5-дневного лечения антибиотиком на включенные в биопленку бактерии в мышинной модели тканевой камеры. Прикрепленную бактериальную фракцию определяли путем посева среды после обработки ультразвуком эксплантированных тканевых камер от инфицированных необработанных контрольных животных через 24 ч после заражения (исходный уровень, до лечения) и от животных, обработанных антибиотиком и носителем, в день 9. Представлен показатель эффективности лечения. Статистический анализ сравнения между группами носитель vs. лечение осуществляли с использованием непараметрического критерия Краскела-Уоллиса, а затем критерия Данна для множественных сравнений (** $p < 0,005$); ns=незначимый.

Фиг. 4 показывает эффект 11-дневного лечения антибиотиком на включенные в биопленку бактерии в мышинной модели тканевой камеры. Прикрепленную бактериальную фракцию определяли путем посева среды после обработки ультразвуком эксплантированных тканевых камер от инфицированных необработанных контрольных животных через 24 ч после заражения (исходный уровень, до лечения) и от животных, обработанных антибиотиком и носителем, в день 14. Представлен показатель эффективности лечения. Статистический анализ сравнения между группами носитель vs.

лечение осуществляли с использованием непараметрического критерия Краскела-Уоллиса, а затем критерия Данна для множественных сравнений (** $p < 0,005$); ns=незначимый.

5. Подробное описание изобретения

5.1. Определения

Следующие определения предназначены для помощи читателю. Если не указано иное, все термины данной области техники, обозначения и другие научные или медицинские термины или терминология, используемые в настоящей заявке, имеют значения, обычно понятные специалистам в области химии и медицины. В некоторых случаях термины с общепринятыми значениями определены в настоящей заявке для ясности и/или для удобства ссылок, и включение таких определений не следует истолковывать как представляющее существенное отличие по сравнению с определением термина, которое обычно понимается в данной области техники. В случае двусмысленности определения и информация, содержащиеся в WO 2013/190384 А, должны использоваться в качестве вспомогательных средств и в той степени, в которой они согласуются с настоящим изобретением. В качестве дополнительного источника информации используются химические, фармацевтические и медицинские словари и особенно Rompp "Lexikon Chemie", Thieme Verlag 1999; Remington "The Science and Practice of Pharmacy", Pharmaceutical Press, 2012; и "Stedman's Medical Dictionary", Wolters Kluwer, 2006, в качестве дополнительных источников информации, но только в той степени, в которой они соответствуют информации, представленной в настоящей заявке и в WO 2013/190384 А. Если не указано иное, ссылки на интернет-страницы следует понимать как ссылки на соответствующие страницы в версии от 14 июня 2019 г.

Если контекст не требует иного, единственное число характеризует вещество или компонент, но без ограничения его числа/количества. Например, ссылку на «связующее» следует понимать как ссылку на одно связующее или, альтернативно, на комбинацию двух или более связующих. Например, «инфекция, связанная с биопленкой», может быть связана с одной, двумя или более отдельными колониями биопленки.

В некоторых вариантах осуществления термин «около» относится к отклонению $\pm 10\%$ от указанного значения. Когда слово «около» используется в настоящей заявке в отношении числа, следует понимать, что еще один вариант осуществления изобретения включает это число, не измененное присутствием слова «около».

«Осуществление введения» или «введение» лекарственного средства пациенту (и грамматические эквиваленты этой фразы) относится к непосредственному введению, которое может быть введением пациенту, осуществляемым медицинским работником, или может быть самостоятельным введением, и/или опосредованному введению, что может быть актом прописывания лекарства. Например, врач, который инструктирует пациента самостоятельно принимать лекарство или дает пациенту рецепт на лекарство, осуществляет введение лекарства пациенту.

В контексте настоящего изобретения термин «биопленка» используется для обозначения структурированных скоплений микробных клеток одного или нескольких

видов, заключенных в самопродуцируемую матрицу и прикрепленных к биотической или абиотической поверхности. В контексте настоящего изобретения термин «биопленка» используется также для обозначения структурированных скоплений микробных клеток, как определено выше, но которые были отделены от биотической или абиотической поверхности в результате обработки раны и/или других физических и/или хирургических процедур.

Термин «комбинированный продукт» может относиться к (i') продукту, состоящему из двух или более регулируемых компонентов, которые физически, химически или иным образом объединены или смешаны и произведены как единое целое; (ii') двум или более отдельным продуктам, упакованным вместе в одну упаковку или как единое целое и состоящим из лекарственных продуктов и устройств, устройств и биологических продуктов, или биологических и лекарственных продуктов; (iii') лекарственному средству, устройству или биологическому продукту, упакованным отдельно, которые в соответствии с планом исследований или предлагаемой маркировкой предназначены для использования только с одобренным индивидуально указанным лекарственным средством, устройством или биологическим продуктом, когда оба необходимы для достижения предполагаемого применения, показателя или эффекта, и когда после утверждения предлагаемого продукта необходимо будет изменить маркировку одобренного продукта, например, чтобы отразить изменение в предполагаемом применении, лекарственной форме, активности, пути введения или значительном изменении дозы; или (iv') любому исследуемому лекарственному средству, устройству или биологическому продукту, упакованным отдельно, которые в соответствии с предлагаемой маркировкой предназначены для применения только с другим индивидуально определенным исследуемым лекарственным средством, устройством или биологическим продуктом, когда оба требуются для достижения предполагаемого применения, показателя или эффекта.

«Комбинированная терапия», «в комбинации с» или «в сочетании с» в контексте настоящего описания обозначает любую форму совместного, параллельного, одновременного, последовательного или прерывистого лечения по меньшей мере двумя различными способами лечения (т.е. соединениями, компонентами, таргетными препаратами или терапевтическими средствами). По существу, эти термины относятся к введению одного лечения до, во время или после введения субъекту другого лечения. Лечение в комбинации можно вводить в любом порядке. Терапевтически активные средства вводят вместе (например, одновременно в одной и той же или отдельных композициях, препаратах или стандартных лекарственных формах) или отдельно (например, в тот же день или в разные дни и в любом порядке в соответствии с подходящим протоколом введения для отдельных композиций, препаратов или стандартных лекарственных форм) с использованием способа и режима введения, предписанным лицом, оказывающим медицинскую помощь, или в соответствии с регулирующим органом. Как правило, каждое лечение вводят в дозе и/или по графику, определенным для этого лечения. Необязательно, в комбинированной терапии можно использовать три или более способов

лечения. Кроме того, предлагаемые в настоящей заявке комбинированные терапии могут использоваться в сочетании с другими видами лечения. Например, можно дополнительно вводить другие антибиотики.

Глаголы «включает» и «содержит» вводят открытый перечень, который допускает дополнительное присутствие дополнительных компонентов, не включенных в указанный перечень. Напротив, глагол «состоит из» вводит закрытый перечень, который не допускает дополнительного присутствия других неуказанных компонентов. Везде, где в настоящей заявке используются глаголы «включает» или «содержит», подразумевается включение опции «состоит из» в качестве предпочтительного варианта осуществления.

Настоящая заявка относится к «компонентам» фармацевтических композиций по настоящему изобретению как к любому веществу, которое присутствует в конечном продукте, включая эксципиенты, а также включая фармацевтически активный ингредиент. Термин «компоненты» также включает покрытие таблетки (при наличии) или оболочку капсулы (при наличии). «Эксципиенты» представляют собой все компоненты фармацевтической композиции, которые сами по себе не оказывают фармацевтического эффекта, т.е. все компоненты, кроме фармацевтически активного ингредиента.

Инфекция «трудно поддается лечению», если она связана с биопленкой, образованной трудно поддающимися лечению микроорганизмами. Они, в частности, представляют собой микроорганизмы, резистентные к антибиотикам, особенно резистентные к антибиотикам для перорального введения, такие как резистентные к рифампицину стафилококки, энтерококки и резистентные к хинолонам грамотрицательные бактерии и грибы.

«Доза» и «дозировка» относятся к конкретному количеству активных или терапевтических средств для введения. Такие количества включены в «лекарственную форму», которая относится к физически дискретным единицам, подходящим в качестве единичных доз для людей и других млекопитающих, где каждая единица содержит заранее определенное количество активного вещества, рассчитанное для получения желаемого начала действия, переносимости и терапевтических эффектов, в ассоциации с одним или несколькими подходящими фармацевтическими эксципиентами, такими как носители.

Термины «индивидуум», «пациент» или «субъект» используются в настоящей заявке взаимозаменяемо и никоим образом не предназначены для ограничения. «Индивидуум», «пациент» или «субъект» может быть любого возраста, пола и физического состояния. Предпочтительно способы лечения и комбинированные продукты по настоящему изобретению предназначены для использования пациентом-человеком. Другими словами, индивидуум, пациент или субъект предпочтительно является человеком. Все ссылки на «индивидуума», «пациента» или «субъекта» в настоящей заявке также должны пониматься как ссылки на человека как «конкретного человека», «пациента-человека» или «субъекта-человека».

«Инфекции, связанные с биопленкой», «инфекции, ассоциированные с биопленкой» и подобные термины используются в настоящей заявке для характеристики бактериальных

инфекций, при которых бактерии образовали биопленку. Не всегда ясно, действительно ли образовалась биопленка, например потому что этот факт не может быть установлен из-за состояния пациента. В такой ситуации можно использовать комбинированную терапию по настоящему изобретению. Это можно рассматривать как профилактическое лечение для предотвращения образования биопленки. Аналогичным образом, любая ссылка в настоящей заявке на инфекцию, которая может существовать с биопленкой или без нее, предназначена как ссылка на соответствующую инфекцию, при которой биопленка образовалась или могла образоваться.

«Инфузия» или «введение путем инфузии» относится к введению раствора, содержащего лекарственное средство, в организм через вену для терапевтических целей. Обычно это достигается с использованием мешка для внутривенного введения.

«Фармацевтически приемлемый» используется в контексте настоящего изобретения для обозначения тех соединений, веществ, композиций и/или лекарственных форм, которые в рамках здравого медицинского заключения подходят для использования в контакте с тканями человека и животных без чрезмерной токсичности, раздражения, аллергической реакции и/или других проблем или осложнений, соизмеримо с разумным соотношением польза/риск.

В контексте настоящего описания «фармацевтически приемлемый носитель» или «фармацевтически приемлемый разбавитель» означает любой и все растворители, дисперсионные среды, покрытия, антибактериальные и противогрибковые средства, изотонические агенты и агенты, замедляющие абсорбцию, совместимые с фармацевтическим введением. Использование таких сред и агентов для фармацевтически активных веществ хорошо известно в данной области. Приемлемые носители, эксципиенты или стабилизаторы нетоксичны для реципиентов в используемых дозировках и концентрациях и, без ограничения объема настоящего изобретения, включают: дополнительные буферные агенты; консерванты; соразтворители; антиоксиданты, включая аскорбиновую кислоту и метионин; хелатирующие агенты, такие как EDTA; комплексы металлов (например, комплексы Zn-белок); биоразлагаемые полимеры, такие как полиэфиры; солеобразующие противоионы, такие как натрий, многоатомные сахарные спирты; аминокислоты, такие как аланин, глицин, глутамин, аспарагин, гистидин, аргинин, лизин, орнитин, лейцин, 2-фенилаланин, глутаминовая кислота и треонин; органические сахара или сахарные спирты, такие как лактитол, стахиоза, манноза, сорбоза, ксилоза, рибоза, рибитол, миоинизитоза, миоинизитол, галактоза, галактитол, глицерин, циклитолы (например, инозитол), полиэтиленгликоль; серосодержащие восстановители, такие как мочевины, глутатион, тиоктовая кислота, тиогликолят натрия, тиоглицерин, альфа-монотиоглицерин и тиосульфат натрия; низкомолекулярные белки, такие как человеческий сывороточный альбумин, бычий сывороточный альбумин, желатин или другие иммуноглобулины; и гидрофильные полимеры, такие как поливинилпирролидон. Другие фармацевтически приемлемые носители, наполнители или стабилизаторы, такие как описанные в Remington's Pharmaceutical Sciences 16th edition, Osol, A. Ed. (1980), также

могут быть включены в фармацевтическую композицию, описанную в настоящей заявке, при условии, что они не влияют нежелательным образом на желаемые характеристики фармацевтической композиции.

«Фармацевтически приемлемая соль» используется в контексте настоящего изобретения для характеристики любой формы ионных частиц (кислотно-аддитивной соли, основно-аддитивной соли, цвиттерионной/внутренней соли и т.д.) лекарственного средства, которые являются фармацевтически приемлемыми, как определено выше. Если не указано иное, все ссылки на фармацевтически активные соединения в настоящей заявке следует понимать как ссылки на соответствующие соединения в свободной форме, а также как ссылки на фармацевтически приемлемые соли соответствующих соединений.

Термин «терапевтически эффективное количество» относится к количеству лекарственного вещества, например Афабицина и/или по меньшей мере одного дополнительного средства, выбранного из группы, состоящей из липопептидов, гликопептидов и линкозамидов, которое обладает терапевтическим эффектом и, в частности, способно лечить ассоциированные с биопленкой стафилококковые инфекции. Терапевтически эффективное количество лекарственного средства может снижать количество бактериальных клеток; уменьшать размер биопленки или нагрузку; ингибировать (т.е. замедлять до некоторой степени и в определенном варианте осуществления останавливать) инфильтрацию бактериальных клеток в периферические органы; ингибировать (т.е. замедлять до некоторой степени и в определенном варианте осуществления останавливать) рост биопленки; облегчать до некоторой степени один или несколько симптомов, связанных с инфекцией; или обеспечивать вышеуказанные эффекты в любой комбинации. «Профилактически эффективное количество» относится к количеству, эффективному в дозировках и в течение периодов времени, необходимых для достижения желаемого профилактического результата у пациента, имеющего риск ассоциированной с биопленкой стафилококковой инфекции. Обычно, но не обязательно, поскольку профилактическая доза используется у субъектов до проявления заболевания или на более ранней его стадии, профилактически эффективное количество будет меньше терапевтически эффективного количества. Тем не менее, терапевтически эффективное количество также является эффективным с профилактической точки зрения.

Термины «лечение» и «терапия», используемые в настоящей заявке, относятся к набору гигиенических, фармакологических, хирургических и/или физических средств, используемых с намерением вылечить и/или облегчить заболевание и/или симптомы с целью исправить проблему со здоровьем. Термины «лечение» и «терапия» включает профилактические и лечебные методы, поскольку оба направлены на поддержание и/или восстановление здоровья человека или животного. Независимо от происхождения симптомов, заболевания и нетрудоспособности, введение подходящего лекарственного средства для облегчения и/или лечения проблемы со здоровьем следует интерпретировать как форму лечения или терапии в контексте настоящей заявки.

В контексте настоящей заявки термин «стандартная лекарственная форма»

относится к физически дискретной единице терапевтической композиции, подходящей для субъекта, подлежащего лечению. Однако следует понимать, что общее ежедневное применение композиций по настоящему изобретению будет определяться лечащим врачом в рамках здравого медицинского заключения. Конкретный уровень эффективной дозы для любого конкретного субъекта или организма будет зависеть от множества факторов, включая заболевание, которое лечат, и тяжесть расстройства; активность конкретного применяемого активного средства; конкретную используемую композицию; возраст, массу тела, общее состояние здоровья, пол и режим питания субъекта; время введения и скорость экскреции конкретного применяемого активного средства; продолжительность лечения; лекарственные средства и/или дополнительные терапии, используемые в комбинации или одновременно с конкретным используемым соединением (соединениями), и подобные факторы, хорошо известные в области медицины.

В контексте настоящей заявки термин «медицинский имплантат» относится к любому постоянному (помещенному внутри тела пациента) медицинскому устройству, предназначенному для замены, поддержки или улучшения биологической структуры. Медицинские имплантаты могут быть постоянно установленными, например стент или протез, альтернативно, они могут размещаться временно и удаляться, когда они больше не нужны, например порт для химиотерапии или ортопедический винт.

Неограничивающие примеры медицинских имплантатов включают стенты, шунты, например вентрикулярные шунты, вспомогательные вентрикулярные устройства, сосудистые трансплантаты, сосудистые зажимы, искусственные суставы, кардиовертеры-дефибрилляторы (дефибрилляторы), кардиостимуляторы, протезы суставов, например искусственные тазобедренные и коленные суставы, искусственные клапаны сердца, грудные имплантаты, ортопедические винты, ортопедические стержни, ортопедические пластины, искусственные диски позвоночника, внутриматочные устройства (IUD), коронарные стенты, ушные трубки, внутриглазные линзы, контактные линзы, катетеры, например центральные венозные катетеры, периферические сосудистые катетеры, перитонеальные диализные катетеры, мочевые катетеры, эндотрахеальные трубки, голосовые протезы, филлеры мягких тканей (перманентные или полуперманентные тканевые филлеры).

Термин «имплантат с антибиотиком» в контексте настоящего описания относится к любому постоянному (помещенному в тело пациента) медицинскому устройству, при этом указанное медицинское устройство имплантируется пациенту с основной целью лечения или предотвращения инфекции, например бактериальной инфекции, через доставку антибиотиков. Имплантаты с антибиотиками могут размещаться на постоянной основе, в качестве альтернативы они могут размещаться на временной основе и удаляться, когда они больше не нужны, например, когда инфекция ликвидирована, или они могут просто со временем растворяться в организме.

Неограничивающие примеры имплантатов с антибиотиками включают нагруженные антибиотиками гранулы или спейсеры.

Настоящее изобретение относится к комбинациям Афабицина по меньшей мере с еще одним средством, выбранным из группы, состоящей из липопептидов, гликопептидов и линкозамидов, для использования в комбинированной терапии, комбинированных продуктах, фармацевтических композициях, содержащих комбинации лекарственных средств, наборах, содержащих такие комбинации лекарственных средств в отдельных контейнерах, фармацевтических композициях, содержащих одно из этих лекарственных средств, для использования в комбинации с соответствующим другим лекарственным средством (и наоборот), а также способах лечения, включающих введение по меньшей мере одного из этих продуктов. Если контекст не диктует иное, все ссылки на любой из вышеуказанных аспектов настоящего изобретения также следует понимать как ссылки на другие аспекты настоящего изобретения, перечисленные выше. Например, ссылки на способ по настоящему изобретению следует также понимать как раскрытие фармацевтических композиций по настоящему изобретению, которые должны использоваться в этих способах. Аналогичным образом, ссылки на фармацевтические композиции по настоящему изобретению также следует понимать как раскрытие способов по настоящему изобретению с использованием этих фармацевтических композиций.

Если не указано иное, все абсолютные количества в настоящей заявке указаны в мг. Если не указано иное, все относительные количества указаны в % по массе (% масс.) от общей массы фармацевтической композиции. Если фармацевтическая композиция находится в форме таблетки с покрытием, масса покрытия не включается в указанную общую массу. Если фармацевтическая композиция находится в форме капсулы, масса оболочки капсулы также исключается из указанной общей массы. Масса любой жидкости, которая может временно присутствовать во время влажной грануляции, но которая удаляется последующими процедурами сушки, не включается в указанную общую массу.

Если не указано иное, все абсолютные количества, например суточные дозы активного вещества Афабицина, указаны в расчете на молекулярную массу формы свободной кислоты. Следовательно, если используется солевая форма Афабицина, указанные абсолютные количества необходимо преобразовать с учетом соответствующих молекулярных масс. Это можно сделать с использованием следующего уравнения (1):

$$m(\text{соль}) = m(\text{свободная кислота}) * M(\text{соль}) / M(\text{свободная кислота}) \quad (1)$$

где m указывает абсолютное количество, а M указывает молекулярную массу соответствующей формы.

Если не указано иное, все относительные количества, например диапазоны содержания в композиции активного вещества Афабицина, указаны в расчете на молекулярную массу бис-этаноламиновой соли Афабицина (Афабицин Оламин). Следовательно, если используется другая форма соли или форма свободной кислоты Афабицина, указанные абсолютные количества необходимо преобразовать с учетом соответствующих молекулярных масс. Это можно сделать с помощью следующего уравнения (2):

$$w(s_2) = 100 * w(s_1) * M(s_2) / (M(s_1) * (100 + w(s_1) * (M(s_2) - M(s_1)) / M(s_1))) \quad (2)$$

где $w(s_2)$ представляет собой относительное количество второй солевой формы или формы свободной кислоты (в % масс. от общей массы композиции, содержащей эту солевую форму); $w(s_1)$ представляет собой относительное количество формы соли бис-этанолamina (в % масс. от общей массы композиции, содержащей форму соли бис-этанолamina); $M(s_2)$ представляет собой молекулярную массу указанной второй солевой формы или формы свободной кислоты, и $M(s_1)$ представляет собой молекулярную массу формы соли бис-этанолamina.

Указания в настоящей заявке на то, что фармацевтические композиции по настоящему изобретению «не содержат» определенного вещества, указания на отсутствие вещества этого типа, а также утверждения о том, что указанное вещество отсутствует, опущено и т.п., следует понимать таким образом, что относительное количество указанного вещества в фармацевтической композиции составляет менее 0,1% масс. и предпочтительно менее 0,01% масс. В соответствии с особенно предпочтительным вариантом осуществления указанное вещество полностью отсутствует или присутствует только в таком небольшом количестве, что оно не может быть обнаружено аналитическими методами, доступными на дату подачи заявки. В соответствии с другим вариантом осуществления фармацевтическая композиция содержит соответствующее вещество в таком небольшом количестве, что оно не оказывает заметного влияния на характеристики растворения активного ингредиента Афабицина.

Хотя настоящее изобретение описывается ниже в основном путем описания «конкретных вариантов осуществления» изобретения (или с использованием подобной терминологии, такой как «определенные варианты осуществления» и т.д.), такие раскрытия нескольких вариантов осуществления также следует понимать как раскрытие соответствующих комбинаций характерных признаков, если контекст не диктует иное.

5.2. Общее описание

Инфекции, связанные с биопленками, очень трудно лечить, и во многих случаях антибиотические препараты, которые терапевтически активны против конкретной бактерии в планктонном состоянии, не являются терапевтически активными против той же самой бактерии, когда она присутствует в форме биопленки. По этой причине существует лишь несколько эффективных лечений инфекций, связанных с биопленками.

Известно, что Афабицин эффективен при лечении стафилококковых инфекций в планктонном состоянии, но не было известно, эффективен ли Афабицин также при лечении связанных с биопленками инфекций с участием стафилококковых бактерий. Предварительные эксперименты показали, что Афабицин проявляет лишь умеренную активность против биопленок при использовании в качестве монотерапии. То же самое верно и для многих других антибиотиков, включая Даптомицин и/или Ванкомицин.

Настоящее изобретение основано на удивительном открытии, что эффективное лечение биопленочных инфекций, более конкретно биопленочных инфекций с вовлечением стафилококковых бактерий, можно обеспечить с использованием Афабицина в комбинации с по меньшей мере одним дополнительным антибиотиком, выбранным из группы,

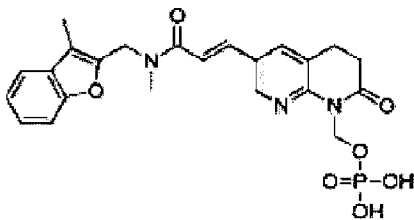
состоящей из липопептидов, гликопептидов и линкозамидов. Предпочтительно указанное по меньшей мере одно дополнительное средство выбрано из группы, состоящей из Даптомицина, Ванкомицина, Сурфактина, А54145, Амфомицина, Фриулимицина, ласпартомицина, WAP-8294A₂, Катанозина, Плюсбацин А₃, Оритаванцина, Телаванцина, Тейкопланина, Далбаванцина, Рамопланина, Маннопептимицина, Клиндамицина, Линкомицин и Пирлимицина, более предпочтительно оно представляет собой Даптомицин, и/или Ванкомицин, и/или Клиндамицин. Во всех вариантах осуществления настоящего изобретения эти средства можно использовать либо в свободной форме, либо в форме фармацевтически приемлемой соли. Подобным образом, также нет никакого конкретного ограничения в отношении возможного применения гидратов, сольватов и/или полиморфов любого из этих средств. Ссылки на Афабицин и/или любое из вышеуказанных дополнительных средств, таким образом, следует понимать как охватывающие также ссылки на соответствующие фармацевтически приемлемые соли, гидраты, сольваты и полиморфы. Настоящее изобретение, таким образом, обеспечивает лечения биопленочных инфекций и предпочтительно биопленочных инфекций с вовлечением стафилококковых бактерий, которые включают использование комбинации Афабицина с по меньшей мере одним дополнительным антибиотиком, выбранным из группы, состоящей из липопептидов, гликопептидов и линкозамидов, предпочтительно таким как средства, перечисленные выше, и более предпочтительно Даптомицином, и/или Ванкомицином, и/или Клиндамицином. Оно включает обеспечение Афабицина для применения в комбинации с по меньшей мере одним дополнительным антибиотиком, выбранным из группы, состоящей из липопептидов, гликопептидов и линкозамидов, в лечении биопленочных инфекций и предпочтительно биопленочных инфекций с вовлечением стафилококковых бактерий; оно также включает обеспечение Даптомицина, и/или Ванкомицина, и/или Клиндамицина для применения в комбинации с Афабицином в лечении биопленочных инфекций и предпочтительно биопленочных инфекций с вовлечением стафилококковых бактерий; и также оно включает обеспечение комбинации Афабицина с по меньшей мере одним дополнительным антибиотиком, выбранным из группы, состоящей из липопептидов, гликопептидов и линкозамидов, предпочтительно таким как средства, перечисленные выше, и более предпочтительно с Даптомицином, и/или Ванкомицином, и/или Клиндамицином для лечения биопленочных инфекций и предпочтительно биопленочных инфекций с вовлечением стафилококковых бактерий. Оно также включает способы лечения биопленочных инфекций и предпочтительно биопленочных инфекций с вовлечением стафилококковых бактерий у пациентов, нуждающихся в этом, включающие введение Афабицина в комбинации с введением по меньшей мере одного дополнительного антибиотика, выбранного из группы, состоящей из липопептидов, гликопептидов и линкозамидов, предпочтительно такого как средства, перечисленные выше, и более предпочтительно Даптомицина, и/или Ванкомицина, и/или Клиндамицина.

Афабицин и по меньшей мере одно дополнительное средство могут присутствовать, или нет, в одной и той же композиции. Два или более лекарственных средств можно вводить

в форме разных фармацевтических композиций, разными путями введения, в разное время введения и с разными интервалами введения, и т.д.

5.3. Афабицин

Афабицин является INN названием для {6-[(1E)-3-{метил[(3-метил-1-бензофуран-2-ил)метил]амино}-3-оксапроп-1-ен-1-ил]-2-оксо-3,4-дигидро-1,8-нафтиридин-1(2H)-ил}метил дигидрофосфата. Другие названия этого соединения ((E)-6-[(N-метил-((3-метилбензофуран-2-ил)метил)амино)-3-оксапроп-1-ен-1-ил]-2-оксо-3,4-дигидро-1,8-нафтиридин-1(2H)-ил]метилфосфат и (2E)-2-Пропенамид, N-метил-N-[(3-метил-2-бензофуранил)метил]-3-[5,6,7,8-тетрагидро-7-оксо-8-[(фосфоноокси)метил]-1,8-нафтиридин-3-ил]. Его иногда также называют Debio 1450. Он является стафилококк-селективным антибиотиком, который активен как ингибитор FabI. Важно отметить, что Афабицин активен также против штаммов стафилококков, которые резистентны к антибиотикам, включающим б-Лактамы, Ванкомицин, Даптомицин и Линезолид. Афабицин также активен против метициллин-резистентного staphylococcus aureus (MRSA). Афабицин имеет следующую структуру:



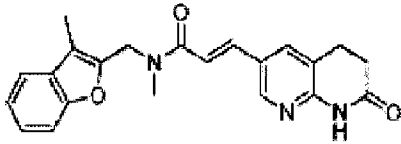
Форме свободной кислоты Афабицина присвоен следующий CAS RN 1518800-35-5.

Афабицин (Debio 1450) описан *inter alia* в WO 2013/190 384. Конкретное применение Афабицина в лечении инфекций диабетической стопы описано в WO 2017/144717. Раскрытие этих более ранних заявок включено в настоящую заявку посредством ссылки во всей полноте.

Все ссылки на Афабицин в настоящей заявке следует понимать как ссылки на Афабицин в форме свободной кислоты, как показано выше, или, альтернативно, как ссылки на фармацевтически приемлемые соли Афабицина. Предпочтительный вариант осуществления относится к применению бис-этаноламмониевой соли, или BES, Афабицина (иногда также указывается как Афабицин Оламин или бис-этаноламиновая соль Афабицина, или Debio 1450 BES). CAS RN 1518800-36-6 присвоен этой бис-этаноламиновой соли. Также предпочтительно используют смесь формы свободной кислоты и бис-этаноламиновой соли Афабицина. В соответствии с особенно предпочтительным вариантом осуществления настоящего изобретения все ссылки на Афабицин следует понимать как ссылки на бис-этаноламиновую соль Афабицина необязательно в комбинации с Афабицином в форме свободной кислоты. В наиболее предпочтительном варианте осуществления используют комбинацию бис-этаноламиновой соли Афабицина с Афабицином в форме свободной кислоты, где молярное отношение свободной кислоты к бис-этаноламиновой соли находится в пределах от 0,7 до 0,9 и еще

более предпочтительно от 0,75 до 0,85.

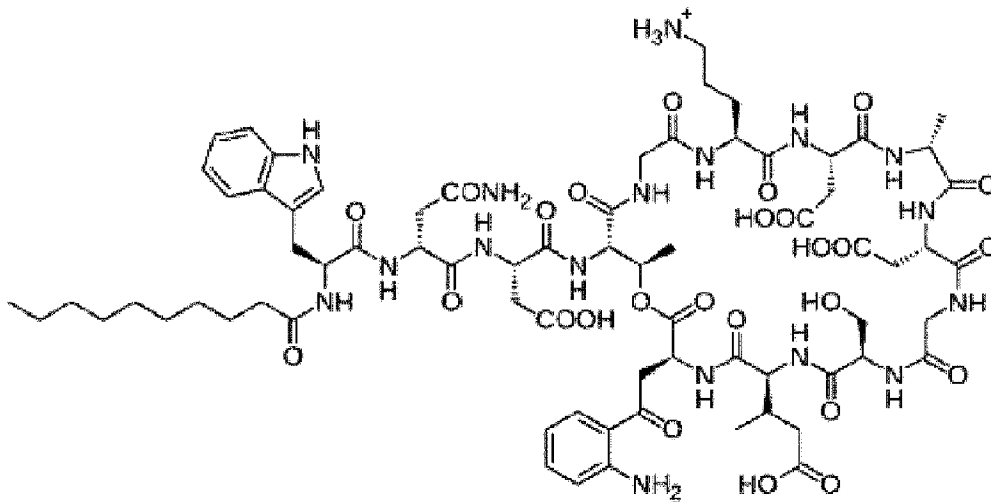
Афабицин представляет собой пролекарство. Фармацевтически активным метаболитом является (Е)-N-метил-N-((3-метилбензофуран-2-ил)метил)-3-(7-оксо-5,6,7,8-тетрагидро-1,8-нафтиридин-3-ил)акриламид, также указываемый как Debio 1452 (иногда также указывается как AFN-1252), и он имеет CAS RN 620175-39-5. Он имеет следующую структуру:



В соответствии с еще одним вариантом осуществления настоящего изобретения можно использовать исходное соединение Debio 1452 или его фармацевтически приемлемые соли вместо пролекарства. В соответствии с этим вариантом осуществления ссылки на применение Афабицина следует, таким образом, понимать как ссылки на Debio 1452, при условии, что Debio 1452 более ограничен, что касается возможных форм введения.

5.4. Даптомицин

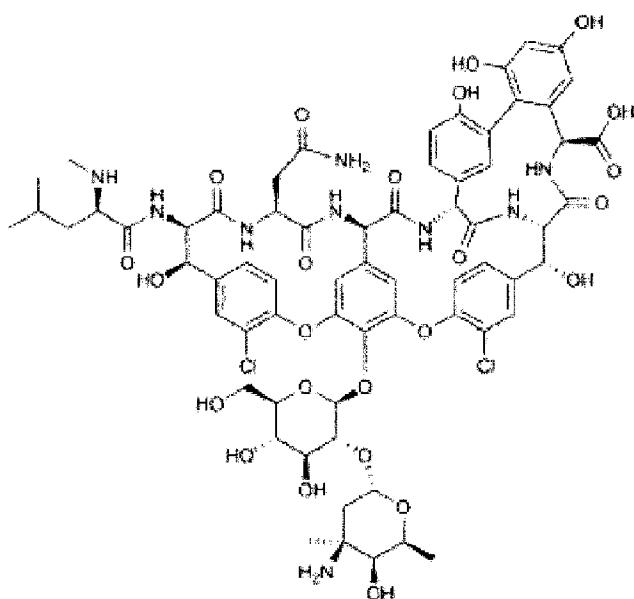
Даптомицин представляет собой природный липопептид следующей структуры:



Даптомицин поставляется на рынок в ЕС компанией Novartis, а в США компанией Cubist Pharmaceuticals. Его способ действия при включении в бактериальные клеточные мембраны состоит в образовании отверстий в мембранах, что приводит к деполяризации и, в конечном счете, к гибели бактериальной клетки. Его обычно вводят путем внутривенной инъекции или инфузии. Он продается под торговым названием Cubicin®. Подробности, касающиеся его практических применений, можно найти в кратком описании характеристик продукта, опубликованном European Medicines Agency под названием: <https://www.ema.europa.eu/en/documents/product-information/cubicin-epar-product-information-en.pdf>.

5.5. Ванкомицин

Ванкомицин представляет собой гликопептидный антибиотик. Он имеет следующую структуру:

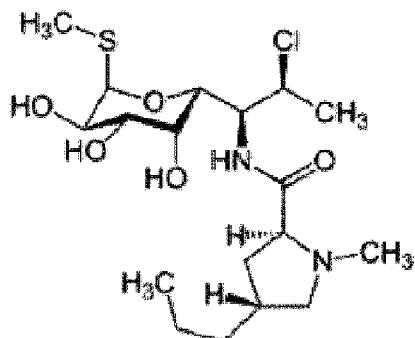


Ванкомицин был разработан компанией Eli Lilly. Он доступен *inter alia* под торговым названием Vancosin®. Он работает путем включения в клеточную мембрану грамположительных бактерий, что приводит к ослаблению и, в конечном счете, разрушению клеточной мембраны из-за осмотического давления. Его типично вводят внутривенно. Подробности, касающиеся его применения, можно найти в соответствующей статье Википедии "Ванкомицин" (версия от 17 мая 2019 г.), цитируемых в ней ссылок и в опубликованном Кратком описании характеристик продукта, которое можно найти *inter alia* на

<https://www.medicines.org.Uk/emc/product/6255/smpc#PRODUCTINFO>.

5.6. Клиндамицин

Клиндамицин действует как ингибитор синтеза бактериальных белков путем ингибирования транслокации рибосом. Он имеет следующую химическую структуру:



Клиндамицин относится к группе линкозамидных антибиотиков. Его можно вводить перорально (в форме капсул или таблеток), местно (в виде кремов или гелей) или парентерально (путем в/в инфузии или в/м или п/к инъекции). Он коммерчески доступен под торговыми названиями Sobelin® и Cleocin®. Доступны генерические формы этого

лекарственного средства. Дополнительную информацию о Клиндамицине можно найти в соответствующей статье Википедии "Клиндамицин" (версия от 5 июня 2020 г.) и цитируемых в ней ссылок. Подробную информацию о его применении можно найти на <https://www.drugs.com/clindamycin.html>, а также в опубликованном Кратком описании характеристик продукта, которое можно найти *inter alia* на <https://www.medicines.org.uk/emc/medicine/29227> для жидкости для инфузий и на <https://www.medicines.org.uk/emc/product/7337/smpc> для капсул.

5.7. Другие средства

По меньшей мере одно дополнительное средство также может быть еще одним средством, относящимся к группе липопептидов, гликопептидов и линкозамидов. Членами этой группы являются, в частности, Сурфактин, А54145, Амфомицин, Фриулимицин, ласпартомицин, WAP-8294A₂, Катанозин, Плюсбацин А₃, Оритаванцин, Телаванцин, Тейкопланин, Далбаванцин, Рамопланин, Маннопептимицин, Линкомицин и Пирлимицин.

Информацию о липопептидах можно найти, например, в R.H. Baltz et al., *Nat Prod Rep.*, 2005 Dec; 22(6):717-41. doi: 10.1039/b416648p. Epub 2005 Nov 4 (доступен на <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16311632>) и в цитируемой в нем литературе.

Информацию о гликопептидах можно найти, например, в S. Li and E.S. Starkey *Arch Dis Child Educ Pract Ed.* 2016 Dec; 101(6):323-326. doi: 10.1136/archdischild-2015-309270. Epub 2016 Jul 7 (доступен на <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27389546/>) и в цитируемой в нем литературе.

Информацию о линкозамидах можно найти, например, в J. Spizek and T. Režanka *Biochem Pharmacol.* 2017 Jun 1; 133:20-28. doi: 10.1016/j.bcp.2016.12.001. Epub 2016 Dec 7 (доступен на <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27389546/>) и в цитируемой в нем литературе.

Информацию о Сурфактине можно найти в соответствующей статье Википедии (на 10 июня 2020 г.) и в R. Sen, *Adv Exp Med Biol.* 2010; 672:316-23. doi: 10.1007/978-1-4419-5979-9_24 (доступен на <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27940264/>) и цитируемых в них ссылках.

Информацию о А54145 можно найти в D.S. Fukuda et al., *J Antibiot (Tokyo)*, 1990 Jun; 43(6):601-6. doi: 10.7164/antibiotics.43.601 (доступен на <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/2380108/>) и цитируемых в нем ссылках.

Информацию о Амфомицине можно найти в M. Singh et al., *Scientific Reports* | 6:31757 | DOI:10.1038/srep31757 (доступен на <https://www.nature.com/articles/srep31757.pdf>) и в цитируемой в нем литературе.

Информацию о Фриулимицине можно найти в соответствующей статье Википедии (на 10 июня 2020 г.) и в T. Schneider et al., *Antimicrob Agents Chemother.* 2009 Apr; 53(4):1610-8. doi: 10.1128/AAC.01040-08. Epub 2009 Jan 21 (доступен на <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/19164139/>) и цитируемых в них ссылках.

Информацию о Ласпартомицине можно найти в D.B. Borders et al. *Nat. Prod.* 2007, 70, 3, 443-446 (доступен на <https://pubs.acs.org/doi/10.1021/np068056f>) и цитируемых в нем ссылках.

Информацию о WAP-8294A₂ можно найти в A. Kato et al. *The Journal of Antibiotics*, 64, 373-379, 2011 (доступен на <https://www.nature.com/articles/ia20119>) и цитируемых в нем ссылках.

Информацию о Катанозине можно найти в соответствующей статье Википедии (на 10 июня 2020 г.) и в H. Maki et al. *Antimicrob Agents Chemother*. 2001 Jun;45(6):1823-7. doi: 10.1128/AAC.45.6.1823-1827,2001 (доступен на <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/11353632/>) и цитируемых в них ссылках. В этой последней статье также представлена информация о Плюсбацине A₃.

Информацию о Оритаванцине можно найти в соответствующей статье Википедии (на 10 июня 2020 г.) и в J. Mattox et al. *Consult Pharm*. 2016 Feb;31(2):86-95. doi: 10,4140/TCР. n.2016.86. (доступен на <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26842686/>) и цитируемых в них ссылках.

Информацию о Телаванцине можно найти в соответствующей статье Википедии (на 10 июня 2020 г.) и в B. Das *Ther Adv Infect Dis*. 2017 Mar;4(2):49-73. doi: 10,1177/2049936117690501 (доступен на <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28634536/>) и цитируемых в них ссылках.

Информацию о Тейкопланине можно найти в соответствующей статье Википедии (на 10 июня 2020 г.) и в K.W. Shea *Med Clin North Am*. 1995 Jul; 79(4):833-44. doi: 10,1016/s0025-7125(16)30042-6 (доступен на <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/7791426/>) и цитируемых в них ссылках.

Информацию о Далбаванцине можно найти в соответствующей статье Википедии (на 10 июня 2020 г.) и в V.R. Anderson and G.M. Keating *Drugs* 2008;68(5):639-48; discussion 649-51. doi: 10.2165/00003495-200868050-00006. (доступен на <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/18370443/>) и цитируемых в них ссылках.

Информацию о Рамопланине можно найти в соответствующей статье Википедии (на 10 июня 2020 г.) и в D.K. Farver et al. *Ann Pharmacother*. 2005 May;39(5):863-8. doi: 10,1345/aph.1E397. Epub 2005 Mar 22 (доступен на <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/15784805/>) и цитируемых в них ссылках.

Информацию о Маннопептимицине можно найти в соответствующей статье Википедии "Маннопептимицин гликопептид" (на 10 июня 2020 г.) и в FI. Fie *Appl Microbiol Biotechnol*. 2005 Jun;67(4):444-52. doi: 10.1007/s00253-004-1884-z. Epub 2005 Feb 9 (доступен на <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/15702316/>) и цитируемых в них ссылках.

Информацию о Линкомицине (и Клиндамицине) можно найти в соответствующей статье Википедии (на 10 июня 2020 г.) и в J. Spizek and T. Rezanka *Appl Microbiol Biotechnol*. 2004 May;64(4):455-64. doi:10.1007/s00253-003-1545-7. Epub 2004 Feb 5. (доступен на <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/14762701/>) и цитируемых в них ссылках.

Информацию о Пирлимицине можно найти в соответствующей статье Википедии (на 10 июня 2020 г.) и в R.D. Birkenmeyer et al. *J Med Chem*. 1984 Feb;27(2):216-23. doi: 10,1021/jm00368a020. (доступен на <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/6363698/>) и цитируемых в них ссылках.

5.8. Фармацевтические композиции

5.8.1. Композиции Афабицина

Афабицин можно вводить перорально, местно, трансдермально или парентерально, включая, в частности, внутривенное введение. В зависимости от типа введения композиция будет адаптирована подходящим образом. Находящаяся на одновременном рассмотрении европейская патентная заявка № 19157255.1, поданная 14 февраля 2019 г., и соответствующая международная патентная заявка РСТ/EP2020/053882, поданная 14 февраля 2020 г., описывают подходящие композиции, предназначенные для перорального введения. Композиции, описанные в этой патентной заявке, также могут использоваться для практического применения настоящего изобретения. Таким образом, раскрытие этой заявки полностью включено в настоящую заявку посредством ссылки.

В частности, композиции Афабицина для перорального введения предпочтительно представляют собой твердые композиции, выбранные из таблеток и капсул. Также предпочтительно, чтобы такие композиции содержали гистидиновое соединение. Это может быть сам гистидин или фармацевтически приемлемая соль гистидина. В соответствии с особенно предпочтительным вариантом осуществления используется таблетка, которая содержит внутреннюю фазу (т.е. внутригранулярную фазу) и внешнюю фазу (т.е. экстрагранулярную фазу), при этом Афабицин содержится в основном или исключительно во внутренней части. Гистидиновое соединение предпочтительно также присутствует только во внутренней фазе.

Композиции Афабицина для перорального введения предпочтительно содержат дополнительные фармацевтически приемлемые эксципиенты, включая один или несколько, выбранных из связующих, разбавителей, поверхностно-активных веществ, разрыхлителей и т.п. Что касается связующего компонента, предпочтительно выбирать связующее из группы, состоящей из повидона (поливинилпирролидон), коповидона (сополимер 1-винилпирролидона-винилацетата), гидроксипропилцеллюлозы, гидроксилпропилметилцеллюлозы, гидроксипропилцеллюлозы, метилцеллюлозы, микрокристаллической целлюлозы, поллоксамера (блок-сополимер с первым блоком поли(этиленоксида), вторым и центральным блоком поли(пропиленоксида) и третьим блоком поли(этиленоксида)), полиэтиленгликоля, алюмосиликата магния, желатина, аравийской камеди, альгиновой кислоты, карбомера (например, карбопол), каррагинана, декстрина, декстратов (очищенная смесь сахаридов, полученная в результате контролируемого ферментативного гидролиза крахмала), декстрозы, полидекстрозы, гуаровой камеди, гидрогенизированного растительного масла, жидкой глюкозы, мальтозы, сахарозы, лактозы, воска, мальтодекстрина, крахмала (прежелатинизированный и простой), гидроксипропилкрахмала, глицерилбегената, глицерилпальмитостеарата, полиэтиленоксида, альгината натрия, этилцеллюлозы, ацетат-фталата целлюлозы, полиметакрилата, натрий карбоксиметилцеллюлозы, поликарбофила, хитозана и их смесей.

Что касается компонента-разбавителя, предпочтительно выбирать разбавитель из группы, состоящей из маннита, изомальта, лактозы (включая безводные или

моногидратные формы), фосфата кальция (включая двухосновный и трехосновный фосфат кальция), карбоната кальция, карбоната магния, оксида магния, сульфата кальция, сахарозы, фруктозы, мальтозы, ксилита, сорбита, мальтита, лактита, трегалозы, силиката алюминия, декстрозы, циклодекстрина (природный или модифицированный), крахмала (прежелатинизированный или простой), мальтодекстрина, целлюлозы (микрористаллическая, силикатированная микрористаллическая), глюкозы, декстрина, декстратов (очищенная смесь сахаридов, полученная в результате контролируемого ферментативного гидролиза крахмала), декстрозы, полидекстрозы, альгината аммония, глицерилбегената, глицерилпальмитостеарата, альгината натрия, этилцеллюлозы, ацетата целлюлозы, ацетат-фталата целлюлозы, полиметакрилата, хитозана и их смесей.

Что касается такого компонента, как поверхностно-активное вещество, предпочтительно выбирать поверхностно-активное вещество из группы, состоящей из лаурилсульфата натрия, полоксамера, докузата натрия, дезоксихолата натрия, сложных эфиров сорбитана, полиэтиленоксида, полисорбата 20, полисорбата 40, полисорбата 60, полисорбата 80 (этоксилированный сорбитан, этерифицированный жирными кислотами, где число указывает количество повторяющихся звеньев полиэтиленгликоля), сложных эфиров сахарозы и жирных кислот, тилоксапола, лецитина и их смесей.

Что касается такого компонента, как разрыхлитель, предпочтительно выбирать разрыхлитель из группы, состоящей из кросповидона, натрийкрахмал гликолята, кроскармеллозы натрия, алюмосиликата магния, коллоидного диоксида кремния, альгината натрия, альгината кальция, прежелатинизированного крахмала, микрористаллической целлюлозы, метилцеллюлозы, гидроксипропилцеллюлозы, карбоксиметилцеллюлозы кальция, карбоксиметилцеллюлозы натрия, альгиновой кислоты, гуаровой камеди, гомо- и сополимеров (мет)акриловой кислоты и ее солей, таких как полакриллин калия, и их смесей.

Более того, предпочтительно полагаться на композиции, которые не содержат эксципиентов на основе целлюлозы (т.е. которые содержат целлюлозного типа каркас, где гидроксильные группы целлюлозного каркаса могут быть модифицированы переменными группами заместителей, такими как C_{1-6} алкил, гидроксил- C_{1-6} алкил, карбокси- C_{1-6} алкил- $(C=O)-C_{1-6}$ алкил. Также предпочтительно избегать использования крахмальных веществ в качестве эксципиентов, аналогично тому, как описано для целлюлозных материалов выше, крахмальные вещества следует понимать как вещества, имеющие амилозный или амилопектиновый каркас, в которых гидроксильные группы могут быть модифицированы, как объяснено выше.

Если композицию Афабицина следует вводить перорально, особенно предпочтительно вводить таблетку, имеющую внутреннюю и внешнюю фазы, при этом отдельные фазы имеют следующие композиции.

Внутренняя фаза

48-52% масс. Афабицина Оламина,

17-21% масс. гистидина

4,75-6,75% масс. связующего,

4,0-6,0% масс. поверхностно-активного вещества и
1,6-3,6% масс. разрыхлителя,
и внешняя фаза:
10,5-14,5% масс. разбавителя (это количество не включает гистидиновое
соединение, описанное выше),
0,75-2,75% масс. разрыхлителя,
0,1-0,7% масс. вещества, обеспечивающего скольжение, и
2,0-4,0% масс. смазывающего вещества.

Что касается других форм введения Афабицина, то особых ограничений нет. В частности, Афабицин может обеспечиваться для местного введения, трансдермального введения или парентерального введения (внутривенно, внутримышечно или подкожно), при этом соответствующие композиции конкретно не ограничиваются.

Композиции Афабицина для местного применения могут быть в форме кремов, лосьонов, гелей, мазей, паст, суспензий, капель, пен и растворов.

Композиции Афабицина для трансдермального введения могут представлять собой повязки для ран, трансдермальные пластыри.

Композиция Афабицина для парентерального введения может быть в форме растворов, суспензий, гелей, твердых веществ, которые могут быть восстановлены перед инъекцией (порошки, лиофилизированный продукт), или имплантатов с антибиотиками, таких как гранулы и/или спейсеры, содержащие афабицин и, необязательно по меньшей мере одно дополнительное средство, выбранное из группы, состоящей из липопептидов, гликопептидов и линкозамидов, таких как Даптомицин, и/или Ванкомицин, и/или Клиндамицин.

Кремы могут представлять собой эмульсии вода-в-масле или эмульсиями масло-в-воде или многослойные эмульсии. Кремы могут содержать мицеллы, липосомы, растворители, масла, поверхностно-активные вещества, солюбилизаторы, консерванты и/или усилители проникновения.

Гели могут содержать гелеобразователи, солюбилизаторы, растворители, консерванты, усилители проникновения и/или поверхностно-активные вещества.

Мази и пасты могут содержать растворители, модификаторы вязкости, поверхностно-активные вещества, усилители проникновения, консерванты, масла и/или воски.

Растворы, суспензии, пены и капли могут содержать растворители, солюбилизаторы, модификаторы вязкости, консерванты, усилители проникновения, поверхностно-активные вещества.

Композиции для парентерального введения, включая внутривенное, внутримышечное или подкожное введение, могут быть предоставлены в твердой форме во флаконах, так что их можно разбавить подходящим растворителем (например, водой, водным раствором NaCl, например, раствором 0,9% масс. NaCl, водным раствором глюкозы, раствором декстрозы). Твердый компонент может содержать, помимо

лекарственного вещества, буфер, солюбилизатор, стабилизатор, наполнитель, осмотический агент, поверхностно-активное вещество и/или модификатор вязкости. Композиция для парентерального введения также может обеспечиваться в жидкой форме, например, в инфузионном пакете или в предварительно заполненном шприце. В этом случае в жидкой композиции могут присутствовать те же компоненты, которые перечисленные выше.

Также возможны другие типы парентерального введения, включая, в частности, медицинские имплантаты, включающие Афабицин (и необязательно по меньшей мере одно дополнительное средство, указанное выше и ниже, наиболее предпочтительно Даптомицин, и/или Ванкомицин, и/или Клиндамицин) в медицинском имплантате или в покрытии на медицинском имплантате.

В одном варианте осуществления тип парентерального введения представляет собой имплантат с антибиотиком, который обеспечивается для пациента с единственной целью высвобождения антибиотика(антибиотиков). Имплантат с антибиотиком может, например, включать гранулу из инертного материала, такого как полиметилметакрилат (PMMA) или сульфат кальция, которая несет Афабицин (и необязательно по меньшей мере одно дополнительное средство, указанное выше и ниже, наиболее предпочтительно Даптомицин, и/или Ванкомицин, и/или Клиндамицин) внутри пор и/или на поверхности. Альтернативно, имплантат с антибиотиком может содержать смесь биоразлагаемого матричного материала, такого как PLGA, и Афабицина (и необязательно по меньшей мере одного дополнительного средства, указанного выше и ниже, наиболее предпочтительно Даптомицина, и/или Ванкомицина, и/или Клиндамицина). Смешанная матрица высвобождает антибиотики с течением времени, в то время как материал матрицы разрушается в теле пациента. Этот вариант осуществления может быть полезен для терапевтического лечения биопленочных инфекций.

В другом варианте осуществления тип парентерального введения представляет собой медицинский имплантат, который должен быть имплантирован по (другим) терапевтическим причинам, такой как искусственный сустав. В этом варианте осуществления можно обеспечить поверхности таких медицинских имплантатов покрытием, включающим Афабицин (и необязательно по меньшей мере одно дополнительное средство, указанное выше и ниже, наиболее предпочтительно Даптомицин, и/или Ванкомицин, и/или Клиндамицин). Такие покрытия могут включать слой, содержащий лекарственное средство, и необязательно дополнительные слои, такие как адгезивный слой под слоем, содержащим лекарственное средство, и/или верхний слой для контроля высвобождения. Эти слои могут содержать функциональные полимеры, такие как поливинилиденфторид, полиэтилен, полипропилен, полидиметилсилоксан, парилен, полиамид, политетрафторэтилен, поли (метилметакрилат), полиимид и/или полиуретан, в дополнение к соответствующим лекарственным средствам. Альтернативно, Афабицин (и необязательно по меньшей мере одно дополнительное средство, указанное выше и ниже, наиболее предпочтительно Даптомицин, и/или Ванкомицин, и/или Клиндамицин) может

быть прикреплен к материалу медицинского имплантата непосредственно или через подходящий спейсерный фрагмент. Этот вариант осуществления может быть полезен для профилактики биопленочных инфекций.

Комбинация Афабицина и по меньшей мере одного дополнительного средства, указанного выше и ниже, наиболее предпочтительно Даптомицина, и/или Ванкомицина, и/или Клиндамицина, также может применяться для медицинских инструментов, например хирургических инструментов или швов. Это может предотвратить рост бактерий на указанном медицинском инструменте. Указанный медицинский инструмент может также доставлять комбинацию Афабицина и по меньшей мере одного дополнительного средства, указанного выше и ниже, в участок хирургического вмешательства или участок раны, например в случае наложения швов.

Термин «медицинский инструмент», используемый в настоящей заявке, относится к любому инструменту, используемому в медицинских учреждениях для диагностики или лечения пациентов, например хирургическим инструментам, таким как скальпели и щипцы, ножницы и нити.

Термин «медицинский инструмент», используемый в настоящей заявке, охватывает стоматологические инструменты.

5.8.2. Композиции по меньшей мере одного дополнительного средства

Нет конкретных ограничений в отношении композиций, используемых для введения по меньшей мере одного дополнительного средства. Как правило, по меньшей мере одно дополнительное антибиотическое средство можно вводить в любой форме, которая является коммерчески доступной и/или получила маркетинговое одобрение и/или обычно признается практикующим врачом как безопасная и эффективная. Удобно и поэтому предпочтительно полагаться на разрешенные и коммерчески доступные композиции и формы введения соответствующих средств. Например, Даптомицин и Ванкомицин обычно вводят внутривенно. Может использоваться любая композиция, подходящая для инъекции или инфузии.

Они могут содержать те же компоненты, которые перечислены выше в связи с Афабицином. Предпочтительно использовать коммерчески доступные препараты Cubicin® и Vancocin®, соответственно.

Даптомицин и/или Ванкомицин также могут быть представлены в виде препарата для местного применения. Нет никаких особых ограничений относительно типа препарата для местного применения. Опять же, информация, представленная выше в отношении композиций Афабицина для местного применения, аналогичным образом применима также к композициям Даптомицина и/или Ванкомицина для местного применения. Более того, Даптомицин и/или Ванкомицин могут быть представлены в виде геля, например, как описано в WO 2015/118496, описание которой полностью включено в качестве ссылки.

Клиндамицин коммерчески доступен в различных формах и для разных типов введения. Можно использовать все эти композиции. Использование коммерчески доступных композиций является предпочтительным, но настоящее изобретение не

ограничивается использованием таких коммерческих композиций.

Аналогичные соображения касаются также использования еще одного из дополнительных средств, описанных выше и ниже. Нет ограничений относительно формы введения, типа композиции, эксципиентов, присутствующих в композиции, и т.д.

5.8.3. Комбинированные композиции

Если афабицин и по меньшей мере еще один антибиотик нужно вводить одним и тем же путем, эти антибиотики также могут быть включены в одну и ту же фармацевтическую композицию. Например, если Афабицин следует вводить внутривенно, он также может обеспечиваться в форме композиции, содержащей Афабицин вместе с по меньшей мере одним дополнительным средством, наиболее предпочтительно Даптомицином, и/или Ванкомицином, и/или Клиндамицином. Это может быть, например, композиция, сопоставимая с коммерческим препаратом Cubicin®. Указанный коммерческий препарат Cubicin® содержит Даптомицин в форме порошка вместе с гидроксидом натрия в качестве эксципиента. Эта твердая композиция представлена в виде флакона для восстановления раствором хлорида натрия 9 мг/мл (0,9%). Таким образом, комбинированная композиция может состоять из Даптомицина, Афабицина и гидроксида натрия, а также необязательных дополнительных эксципиентов (в твердой форме после восстановления) или в виде раствора этих компонентов в 0,9% растворе хлорида натрия.

Аналогичным образом можно использовать комбинированный препарат для инъекций, содержащий Афабицин и Ванкомицин или Клиндамицин, который основан на коммерческом препарате Vancosin® или одном из коммерчески доступных препаратов Клиндамицина.

В другом варианте осуществления композиция, включающая комбинацию Афабицина и по меньшей мере одного другого средства, такого как Даптомицин, и/или Ванкомицин, и/или Клиндамицин, представляет собой композицию для местного применения и, в частности, композицию для местного применения того же типа, как описано выше в связи с композициями Афабицина и композициями Даптомицина, такую как гелевая композиция. В соответствии с одним конкретным вариантом осуществления такие композиции для местного применения могут быть гелевыми композициями, содержащими Афабицин и по меньшей мере одно другое средство, наиболее предпочтительно Даптомицин, и/или Ванкомицин, и/или Клиндамицин. Такие гели предпочтительно вводят непосредственно в открытую рану вокруг имплантата, чтобы в идеале обеспечить прямой доступ к биопленке.

5.9. Инфекции, связанные с биопленкой

5.9.1. Типы стафилококков

Комбинированные лечения по настоящему изобретению можно использовать для лечения любой биопленочной инфекции и предпочтительно любой биопленочной инфекции, содержащей или состоящей из любого конкретного вида стафилококка, включая, например, следующие виды:

- Виды *Staphylococcus*, резистентные к антибиотикам, обычно используемым для

лечения инфекций, вызванных грамположительными бактериями, включающим, но не ограничиваясь этим, β -лактамы, такие как пенициллины (например, оксациллин, ампициллин) и цефалоспорины (например, цефазолин, цефтаролин), ванкомицин, линезолид, клиндамицин, рифампицин, Даптомицин, фторхинолоны, такие как левофлоксацин и ципрофлоксацин, триметоприм/сульфаметоксазол, фосфомицин, фузидовую кислоту, тигециклин и тетрациклины, такие как доксициклин, и далбаванцин

- Мультилекарственно-резистентные штаммы *Staphylococcus*
- *Staphylococcus aureus*
- Внебольничные *Staphylococcus aureus*
- Внутрибольничные *Staphylococcus aureus*
- Метициллин-чувствительные *Staphylococcus aureus* (MSSA)
- Метициллин-резистентные *Staphylococcus aureus* (MRSA)

• Штаммы *Staphylococcus aureus*, резистентные к антибиотикам, обычно используемым для лечения инфекций, вызванных грамположительными бактериями, включающим, но не ограничиваясь этим, β -лактамы, такие как пенициллины (например, оксациллин, ампициллин) и цефалоспорины (например, цефазолин, цефтаролин), ванкомицин, линезолид, клиндамицин, рифампицин, Даптомицин, фторхинолоны, такие как левофлоксацин и ципрофлоксацин, триметоприм/сульфаметоксазол, фосфомицин, фузидовую кислоту, тигециклин и тетрациклины, такие как доксициклин, и далбаванцин

- Мультилекарственно-резистентные штаммы *Staphylococcus aureus*
- Коагулаза-отрицательные стафилококки (CoNS)
- Коагулаза-отрицательные штаммы *Staphylococcus*, резистентные к антибиотикам,

обычно используемым для лечения инфекций, вызванных грамположительными бактериями, включающим, но не ограничиваясь этим, β -лактамы, такие как пенициллины (например, оксациллин, ампициллин) и цефалоспорины (например, цефазолин, цефтаролин), ванкомицин, линезолид, клиндамицин, рифампицин, Даптомицин, фторхинолоны, такие как левофлоксацин и ципрофлоксацин, триметоприм/сульфаметоксазол, фосфомицин, фузидовую кислоту, тигециклин и тетрациклины, такие как доксициклин, и далбаванцин

- Мультилекарственно-резистентные штаммы CoNS
- *Staphylococcus epidermidis*
- Метициллин-резистентные *Staphylococcus epidermidis* (MRSE)
- Метициллин-чувствительные *Staphylococcus epidermidis* (MSSE)

• Штаммы *Staphylococcus epidermidis*, резистентные к антибиотикам, обычно используемым для лечения инфекций, вызванных грамположительными бактериями, включающим, но не ограничиваясь этим, β -лактамы, такие как пенициллины (например, оксациллин, ампициллин) и цефалоспорины (например, цефазолин, цефтаролин), ванкомицин, линезолид, клиндамицин, рифампицин, Даптомицин, фторхинолоны, такие как левофлоксацин и ципрофлоксацин, триметоприм/сульфаметоксазол, фосфомицин, фузидовую кислоту, тигециклин и тетрациклины, такие как доксициклин, и далбаванцин

- Мультилекарственно-резистентные штаммы *Staphylococcus epidermidis*
- *Staphylococcus haemolyticus*
- *Staphylococcus lugdunensis*
- *Staphylococcus simulans*
- *Staphylococcus hominis*
- *Staphylococcus arlettae*
- *Staphylococcus auricularis*
- *Staphylococcus capitis*
- *Staphylococcus caprae*
- *Staphylococcus cohnii*
- *Staphylococcus equorum*
- *Staphylococcus gallinarum*
- *Staphylococcus jettensis*
- *Staphylococcus kloosii*
- *Staphylococcus lentus*
- *Staphylococcus massiliensis*,
- *Staphylococcus pasteurii*
- *Staphylococcus pattenkoferi*
- *Staphylococcus petrasii*
- *Staphylococcus saccharolyticus*
- *Staphylococcus saprophyticus*
- *Staphylococcus schleiferi*
- *Staphylococcus sciuri*
- *Staphylococcus succinus*
- *Staphylococcus vitulinus*
- *Staphylococcus warneri*
- *Staphylococcus xylosum*

В конкретных вариантах осуществления стафилококковая бактерия выбрана из *Staphylococcus aureus* и CoNS, таких как *S. epidermidis*. Это включает также все антибиотик-резистентные штаммы, включая, но не ограничиваясь этим, MRSA, MRSE и штаммы, резистентные к рифампицину.

Конечно, комбинированное лечение по настоящему изобретению также можно использовать для лечения бактериальных инфекций, опосредованных биопленками, которые включают два или более видов стафилококков. Аналогичным образом, инфекция, опосредованная биопленкой, которую необходимо лечить, может включать виды стафилококков вместе с другими микроорганизмами (например, бактериями, грибами). В таких случаях может быть выгодно дополнительно использовать еще один или несколько дополнительных антибиотиков, подходящих для лечения дополнительно присутствующих микроорганизмов. Это важно особенно в тех случаях, когда дополнительно присутствующие микроорганизмы не чувствительны ни к лечению Афацицином, ни к

лечению Даптомицином и/или Ванкомицином.

5.9.2. Участки и типы инфекции с биопленкой

Биопленки могут образовываться на различных участках человеческого тела, включая, например, естественные поверхности частей человеческого тела (дентальные материалы, кости и т.д.) или инородные поверхности (медицинские имплантаты, например, контактные линзы, суставные протезы и т.д.). Как следствие, существует множество известных инфекций, которые могут включать биопленки и особенно биопленки, содержащие стафилококковые бактерии. К ним относятся следующие:

- о Инфекция, связанная с медицинским имплантатом
- о остеомиелит;
- о инфекции у пациентов с кистозным фиброзом;
- о плевропульмональные инфекции, такие как пневмонии, предпочтительно, когда плевропульмональная инфекция является хронической, и более предпочтительно, когда плевропульмональная инфекция представляет собой обструктивное легочное заболевание;
- о эндокардит и предпочтительно, когда эндокардит представляет собой эндокардит нативного клапана;
- о раневые инфекции, предпочтительно, когда указанные раневые инфекции являются хроническими;
- о мастит;
- о синусит, предпочтительно, когда указанный синусит является хроническим;
- о воспаление среднего уха, предпочтительно, когда указанное воспаление среднего уха является хроническим;
- о инфекции мочевых путей;
- о тонзилит, предпочтительно, когда указанный тонзилит является хроническим;
- о ларингит, предпочтительно, когда указанный ларингит является хроническим;
- о инфекция, связанные с камнями в почках;
- о инфекции желчных путей;
- о аэробный вагинит;
- о септический тромбофлебит;
- о инфекции, связанные с внутриклеточными биопленками, например в клетках Купффера или в тонзиллярных клетках; и
- о колонизация *S. aureus*, что делает носителя предрасположенным к инфекциям.

Инфекция, связанная с медицинским имплантатом, может быть инфекцией, связанной с любым медицинским имплантатом, таким как суставные протезы, ортопедические имплантаты, сердечные клапаны, грудные имплантаты, вентрикулярные шунты, кардиостимуляторы, дефибрилляторы, вентрикулярные вспомогательные устройства, сосудистые трансплантаты, эндотрахеальные трубки, голосовые протезы, филлеры мягких тканей (включая перманентные или полуперманентные тканевые филлеры), связанные с катетером инфекции, такие как инфекции, связанные с центральными венозными катетерами, катетерами периферических сосудов,

перитонеальными диализными катетерами, мочевыми катетерами, кератит, вызванный биопленками на контактных линзах. В частности, инфекция, связанная с медицинским имплантатом, будет представлять собой инфекцию, связанную с медицинским имплантатом, который является постоянным введенным устройством, таким как эндопротезы суставов, ортопедические имплантаты, сердечные клапаны, грудные имплантаты, вентрикулярные шунты, кардиостимуляторы, дефибрилляторы, вентрикулярные вспомогательные устройства, сосудистые трансплантаты. Инфекции, связанные с медицинским имплантатом, включают перечисленные выше инфекции, например остеомиелит, возникновение которого может быть связано, или не связано, с медицинским имплантатом.

Нет конкретных ограничений в отношении участков и типов инфекции с биопленкой, которые поддаются лечению средствами и способами по настоящему изобретению. В соответствии с предпочтительным вариантом осуществления комбинированная терапия по настоящему изобретению используется для лечения инфекций протезированных суставов (РП), связанных с биопленками.

Как отмечалось выше, все ссылки на медицинские показания, которые могут включать или не включать образование биопленки, предназначены конкретно для обозначения тех форм соответствующих медицинских показаний, при которых биопленка фактически образуется или предположительно образуется, например, инфекция протезированного сустава предназначена для обозначения инфекции протезированного сустава, при которой фактически образуется или предположительно образуется биопленка.

5.10. Способ лечения

5.10.1. Дозы

Как отмечалось выше, Афабицин можно использовать в форме свободной кислоты, в форме соли Оламина (или в любой другой подходящей солевой форме), или можно использовать комбинацию этих различных форм. Указанные количества Афабицина относятся к количеству в форме свободной кислоты. Если используется соль Афабицина, количество должно быть соответствующим образом скорректировано с учетом более высокой молекулярной массы соли Афабицина. Это проще всего сделать при указании абсолютного количества в мг. При необходимости скорректированное значение может быть затем преобразовано в относительное количество.

Обычно однократную стандартную дозу препарата Афабицина вводят по меньшей мере один раз в день, и предпочтительно вводят два раза в день. Суточная дозировка определяется врачом с учетом тяжести инфекции, пола, массы тела, возраста и общего состояния пациента. Типичный диапазон суточных доз для человека составляет от 120 до 480 мг. Типичная суточная доза составляет 120 или 240 мг два раза в день, всего от 240 до 480 мг в день. Следовательно, настоящее изобретение предпочтительно основывается на дозировке, равной 120 мг или 240 мг активного фармацевтического ингредиента (в расчете на Афабицин; например, если используется Афабицин Оламин, предпочтительная стандартная доза с точки зрения общей массы Афабицина Оламина составляет 150 мг или

300 мг, соответственно).

Даптомицин можно вводить в общей суточной дозе от 0,1 до 10 мг/кг. Более предпочтительно Даптомицин вводят в соответствии с указаниями, приведенными в разделе 4.2 Краткого описания характеристик продукта для Cubicin® (Кубицин), включая, в частности, следующие подробности введения.

- cSSTI (осложненные инфекции кожи и мягких тканей) без сопутствующей SAB (бактериemia *Staphylococcus aureus*): Кубицин 4 мг/кг вводят один раз каждые 24 часа в течение 7-14 дней или вплоть до устранения инфекции (см. раздел 5.1);

- cSSTI с сопутствующей SAB: Кубицин 6 мг/кг вводят один раз каждые 24 часа. Может потребоваться продолжительность терапии больше 14 дней в соответствии с ощущаемым риском осложнений у конкретного пациента.

- Известный или подозреваемый RIE (правосторонний инфекционный эндокардит) из-за *Staphylococcus aureus*: Кубицин 6 мг/кг вводят один раз каждые 24 часа.

Ванкомицин можно вводить внутривенно в соответствии со следующими подробностями введения:

- Пациенты в возрасте от 12 лет и старше: рекомендуемая доза составляет от 15 до 20 мг/кг массы тела каждые 8-12 ч (не более 2 г на дозу). Для тяжелобольных пациентов можно использовать нагрузочную дозу 25-30 мг/кг массы тела для быстрого достижения целевой минимальной концентрации ванкомицина в сыворотке крови.

- Младенцы и дети в возрасте от одного месяца до 12 лет: рекомендуемая доза составляет от 10 до 15 мг/кг массы тела каждые 6 часов.

Клиндамицин можно вводить взрослым внутривенно или внутримышечно в суточных дозах от 600 мг до 1,2 г при серьезных инфекциях и от 1,2 до 2,7 г для более тяжелых инфекций, которые следует вводить в двух, трех или четырех дозах. Для детей вводимая доза может составлять 15-25 мг/кг/день для серьезных инфекций и 25-40 мг/кг/день для более тяжелых инфекций, которые можно вводить в трех или четырех дозах.

Если в качестве по меньшей мере одного дополнительного средства используют другой антибиотик, т.е. другое средство, выбранное из липопептидов, гликопептидов и линкозамидов, рекомендуется выбрать дозировку, тип введения, частоту и любые другие важные детали введения на основе установленных и/или разрешенных процедур с соответствующим средством.

В зависимости от состояния пациента можно регулировать дозировку, частоту введения и/или продолжительность введения. Например, можно вводить Даптомицин в дозе 4 мг/кг или 6 мг/кг с частотой менее 24 часов и/или в течение более 7-14 дней, если состояние пациента серьезное или лечение показывает только медленный ответ. Дозировка и частота введения Ванкомицина или любого другого средства, относящегося к группе липопептидов, гликопептидов и линкозамидов, например Даптомицина или Клиндамицина, также могут быть скорректированы по мере необходимости в зависимости от состояния конкретного пациента.

5.10.2. Тип введения

Афабицин можно вводить перорально, местно, чрескожно или парентерально, включая, в частности, внутривенное введение. Если активный метаболит Debio 1452 используют в качестве соединения Афабицина, это лекарственное средство можно вводить перорально или местно.

Нет никаких конкретных ограничений для по меньшей мере одного другого средства, выбранного из липопептидов, гликопептидов и линкозамидов. Можно использовать любое введение, подходящее для средства, представляющего интерес.

Разрешенные формы введения предпочтительны, особенно если соответствующие фармацевтические композиции коммерчески доступны. Например, Даптомицин и Ванкомицин обычно вводят внутривенно. Однако известны формы местного применения, такие как гели. В соответствии с настоящим изобретением можно вводить Даптомицин и/или Ванкомицин внутривенно, местно или комбинируя эти пути введения. Если в будущем будут разработаны другие формы введения Даптомицина и/или Ванкомицина, также можно будет полагаться на такие другие формы введения для практического применения изобретения. Например, возможно введение Афабицина, и/или Даптомицина, и/или Ванкомицина в виде покрытия на поверхности медицинского имплантата или внутри или на имплантате с антибиотиком. Аналогичные соображения применимы также к другим средствам, относящимся к группе липопептидов, гликопептидов и линкозамидов.

Если пациента лечат с использованием алгоритма, включающего разные стадии, можно вводить Афабицин на первой стадии внутривенно, а на второй стадии перорально (или наоборот). Стадии также могут повторяться в той же или в другой последовательности. При таком многостадийном лечении введение по меньшей мере одного дополнительного средства конкретно не ограничивается, за исключением того, что оно ограничивается формами введения, которые являются доступны или по меньшей мере подходящими для этого лекарственного средства.

При таком многостадийном лечении внутривенное или пероральное введение может быть заменено или дополнено другими путями введения или их комбинациями (например, местное введение Афабицина, и/или местное введение Даптомицина, и/или местное введение Ванкомицина, и/или местное введение Клиндамицина).

5.10.3. Применение дополнительных лекарственных средств

Дополнительные лекарственные средства также можно использовать в дополнение к комбинациям лекарственных средств по настоящему изобретению, как определено в прилагаемой формуле изобретения. В принципе, нет никаких конкретных ограничений относительно дополнительных лекарственных средств, которые можно использовать. В соответствии с предпочтительными вариантами осуществления дополнительные лекарственные средства (или сопутствующие лекарственные средства) выбирают из антибиотиков. Подходящие сопутствующие лекарственные средства перечислены, например, в абзацах [00131]-[00140] и пунктах 32-34 формулы изобретения WO 2013/190384 А. Конкретные сопутствующие лекарственные средства, включая указанные в WO 2013/190384 А, перечислены ниже.

Возможные сопутствующие лекарственные средства включают другие ингибиторы FabI, другие антибиотики или антибактериальные средства, как описано ниже.

Неограничивающие примеры антибиотиков, которые можно использовать в качестве сопутствующих лекарственных средств, включают цефалоспорины, хинолоны и фторхинолоны, пенициллины, пенициллины и ингибиторы бета-лактамазы, карбапенемы, монобактамы, макролиды и липогликопептиды, рифамицин, оксазолидоны, тетрациклины, аминогликозиды, стрептограмин, сульфонамиды и др. Каждое семейство включает множество членов.

Цефалоспорины могут дополнительно классифицироваться по поколениям. Подходящие неограничивающие примеры цефалоспоринов по поколениям включают следующие. Примеры цефалоспоринов первого поколения включают Цефадроксил, Цефазолин, Цефалексин, Цефалотин, Цефапирин и Цефрадин. Соединения второго поколения включают Цефаклор, Цефамандол, Цефоницид, Цефотетан, Цефокситин, Цефпрозил, Цефтметазол, Цефуроксим, Цефуроксим аксетил и Лоракарбеф. Соединения третьего поколения включают Цефдинир, Цефтибутен, Цефдиторен, Цефетамет, Цефбодоксим, Цефпрозил, Цефутоксим (аксетил), Цефутоксим (натрия), Цефоперазон, Цефиксим, Цефотаксим, Цефподоксим проксетил, Цефтазидим, Цефтизоксим, Цефкапен, Цефдалоксим, Цефменоксим, Цефпирамид и Цефтриаксон. Соединения четвертого поколения включают Цефепим. Соединения пятого поколения включают Цефтаролин фосамил, Цефтолозан и Цефтобипрол.

Неограничивающие примеры подходящих хинолонов и фторхинолонов включают Циноксацин, Ципрофлоксацин, Эноксацин, Гатифлоксацин, Грепафлоксацин, Левофлоксацин, Ломефлоксацин, Безифлоксацин, Финафлоксацин, Моксифлоксацин, Налидиксовую кислоту, Норфлоксацин, Офлоксацин, Спарфлоксацин, Тровафлоксацин, Оксолиновую кислоту, Гемифлоксацин, Перфлоксацин и Немоноксацин и Новобиоцин.

Неограничивающие примеры подходящих пенициллинов включают Амоксициллин, Ампициллин, Бакампициллин, Карбенициллин Инданил, Мезлоциллин, Пиперациллин и Тикарциллин.

Неограничивающие примеры подходящих пенициллинов и ингибиторов бета-лактамазы включают Амоксициллин-Клавулановую кислоту, Ампициллин-Сулбактам, Бензилпенициллин, Клоксациллин Диклоксациллин, Метициллин, Оксациллин, Пенициллин G (Бензатин, Калий, Прокаин), Пенициллин V, Пиперациллин+Тазобактам, Тикарциллин+Клавулановую кислоту и Нафциллин.

Неограничивающие примеры подходящих карбапенемов включают Дорипенем, Этрапенем, Имипенем-Циластатин и Меропенем. Неограничивающий пример подходящего монобактама включает Азтреонам. Неограничивающие примеры подходящих макролидов и линкозаминов включают Азитромицин, Кларитромицин, Диритромицин, Эритромицин, Флуритромицин, Джозамицин, Мидекамицин, Миокамицин, Олеандомицин, Рокитамицин, Рокситромицин, Спирамицина, Тилозин, Кетолиды и Тролеандомицин. Неограничивающие примеры подходящих рифампинов включают Рифабутин, Рифампин и

Рифапентин. Неограничивающий пример подходящих оксазолидононов включает Линезолид, Эперезолид, Позизолид, Раделозид, Ранбезолид, Сутезолид, Тедизолид. Неограничивающие примеры подходящих тетрациклинов включают Демеклоциклин, Доксициклин, Метациклин, Миноциклин, Окситетрациклин, Тетрациклин, Кломоциклин, Лимециклин, Меклоциклин, пенемепициклин, Ролитетрациклин, Тигециклин и Хлортетрациклин.

Неограничивающие примеры подходящих аминогликозидов включают Амикацин, Арбакацин, Гентамицин, Капамицин, Сизомицин, Арбекацин, Неомицин, Нетилмицин, Стрептомицин, Тобрамицин, Беканамицин, Рибостамицин, Спектиномицин, Гигромицин В, Дигидрострептомицин, Вердамицин, Астромицин и Паромомицин. Неограничивающий пример подходящих стрептограминов включает Хинопристин+далфопристин, Пристинамицин и Виргиниамицин.

Неограничивающие примеры подходящих сульфонамидов включают Мафенид, Сульфадиазин Серебра, Сульфацетамид, Сульфадиазин, Сульфаметоксазол, Сульфасалазин, Сульфизоксазол, Триметоприм-Сульфаметоксазол, Сульфаметизол, Сульфаизодимидин, Сульфаметизол, Сульфадимидин, Сульфапиридин, Сульфафуразол, Сульфаниламид, Сульфатиазол, Сульфатиомочевину, Сульфамоксол, Сульфадиметоксин, Сульфадоксин, Сульфален, Сульфаметомидин, Сульфаметоксидиазин, Сульфаметоксипирадазин, Сульфапериин, Сульфамеразин, Сульфафеназол, Сульфамазон.

Неограничивающие примеры других подходящих антибиотиков включают Бацитрацин, Хлорамфеникол, Азидамфеникол, Тиамфеникол, Флорфеникол, Ретапамулин, Тиамулин, Валнемулин, Фузидовую кислоту, Колистиметат, Фосфомицин, Изониазид, Метенамин, Метронидазол, Нупрантазол, Тинидазол, Омидазол, Мупироцин, Нитрофурантоин, Нитрофуразон, Нифуртоинол, Новобиоцин, Полимиксин В, Спектиномицин, Тобрамицин, Тигециклин, Триметоприм, Бродимоприм, Тетроксоприм, Колистин, Полимиксин В, Грамицидин, Изониазид, Тейксобактин, Циклосерин, Капреомицин, Пикразинамидин, пара-Аминосалициловую кислоту и Эритромицин этилсукцинат+сульфизоксазол.

Если будет принято решение использовать комбинацию с одним или несколькими такими дополнительными лекарственными средствами, может потребоваться соответствующая корректировка приведенных выше указаний в отношении формы введения, дозировки и т.д. с учетом характеристик дополнительного сопутствующего лекарственного средства. Одно или несколько дополнительных сопутствующих лекарственных средств, указанных выше, можно вводить до, одновременно и/или после введения содержащей Афабицин комбинации лекарственных средств по настоящему изобретению.

В соответствии с еще одним предпочтительным вариантом осуществления настоящего изобретения, не используют никакого дополнительного антибиотика, т.е. лечение включает введение комбинации лекарственных средств, состоящей из Афабицина и по меньшей мере одного дополнительного антибиотика, выбранного из липопептидов,

гликопептидов и линкозамидов. В соответствии с еще одним предпочтительным вариантом осуществления настоящего изобретения, лечение включает введение комбинации лекарственных средств, состоящей из Афабицина и по меньшей мере одного дополнительного антибиотика, выбранного из липопептидов, гликопептидов и линкозамидов, и необязательно одного или нескольких дополнительных антибиотиков, указанных в данном разделе, но за исключением Рифампицина в качестве дополнительного антибиотика.

5.10.4. Время введения

В большинстве вариантов осуществления введение Афабицин-содержащей комбинации лекарственных средств по настоящему изобретению следует начинать как можно раньше и продолжать в течение достаточно долгого периода времени для обеспечения успеха лечения. Необходимая продолжительность лечения зависит от конкретного типа инфекции, общего состояния пациента, возраста, сопутствующих патологий и т.д., и это может определить лечащий врач.

Некоторые варианты осуществления настоящего изобретения относятся к лечению бактериальных инфекций, опосредованных биопленкой, и предпочтительно опосредованных биопленкой стафилококковых бактериальных инфекций, связанных с медицинскими имплантатами (временными или постоянными медицинскими устройствами), например инфекций, связанных с катетером, инфекций протезированных суставов (РЛ), или инфекций, связанных с филлерами мягких тканей. Предпочтительный вариант осуществления относится к лечению РЛ. Для этих вариантов осуществления могут быть рассмотрены следующие сценарии и связанные с ними лечения для осуществления настоящего изобретения:

(i) Если у пациента наблюдаются симптомы продолжительностью три недели или меньше, или инфекция возникает в течение четырех недель после имплантации, и если медицинский имплантат стабилен и нет синус-тракта, метод лечения может включать сохранение медицинского имплантата (протез сустава). В этом случае предпочтительно удалить некротические ткани путем хирургической обработки раны. За этой операцией предпочтительно следует первая фаза лечения, в которой комбинацию лекарственных средств по настоящему изобретению вводят внутривенно. Эта первая фаза лечения может длиться обычно от двух до шести недель. Впоследствии, в зависимости от состояния пациента, за первой фазой лечения предпочтительно следует вторая фаза лечения, в которой комбинацию лекарств по настоящему изобретению вводят таким образом, что Афабицин вводят перорально, в то время как по меньшей мере одно дополнительное средство, такое как Даптомицин, и/или Ванкомицин, и/или Клиндамицин, вводят внутривенно. Продолжительность указанной второй фазы лечения зависит от состояния пациента и обычно может длиться от шести до десяти недель. Также возможно более короткое или более длительное время лечения. Если состояние пациента тяжелое, можно также рассмотреть возможность продления первой фазы лечения, например, до десяти или двенадцати недель. Как правило, вторая фаза лечения по времени такая же, как первая фаза

лечения, или более продолжительная.

(ii) Если не все вышеперечисленные условия, указанные в пункте (i), выполняются одновременно, т.е. если медицинский имплантат (эндопротез сустава) нестабилен и/или наблюдается наличие синус-тракта, медицинский имплантат (эндопротез сустава) предпочтительно заменяют.

(ii-1) Если ткань, окружающая медицинский имплантат (эндопротез сустава), цела или повреждена незначительно, процедура замены медицинского имплантата (эндопротеза сустава) может быть одностадийной. Затем следуют две фазы лечения, описанные выше в пункте (i).

(ii-2) При повреждении мягких тканей, абсцесса или синус-тракта предпочтительно осуществляют двухстадийную замену с коротким интервалом между удалением и имплантацией. Указанный короткий интервал обычно может составлять от двух до четырех недель. Вышеуказанную первую стадию лечения комбинацией лекарственных средств по настоящему изобретению осуществляют по меньшей мере в течение этого короткого интервала. После имплантации нового медицинского имплантата (эндопротеза сустава) может последовать еще один период времени первой стадии лечения, а затем вторая стадия лечения, либо после этого может последовать только вторая стадия лечения.

Если биопленка трудно поддается лечению, период времени между удалением и имплантацией может быть увеличен, например, после удаления медицинского имплантата (эндопротеза сустава) будет шестинедельный период первой стадии лечения, за которым следуют две недели без введения любых антибиотиков с последующей имплантацией нового медицинского имплантата (эндопротеза сустава) и последующим внутривенным введением в соответствии с первой стадией лечения до определения результатов культурального анализа.

(iii) Если пациент неоперабелен, ослаблен или прикован к постели, целесообразным является длительное супрессивное противомикробное лечение с использованием комбинации лекарственных средств по настоящему изобретению. В этом случае доступны как лечение/введение первой стадии лечения, так и второй стадии лечения, описанные выше, и они могут быть выбраны практикующим врачом в зависимости от конкретных обстоятельств случая.

(iv) Если не ожидается функционального улучшения при замене медицинского имплантата (эндопротеза сустава), может быть наиболее целесообразным удалить медицинский имплантат (эндопротез сустава) без замены. За этой процедурой также может следовать лечение комбинацией лекарственных средств по настоящему изобретению, предпочтительно включающее лечение в две стадии, как описано в пункте (i) выше.

Сценарии лечения, подробно описанные выше, схематически представлены на Фиг. 1 и 2.

В случае опосредованных биопленкой инфекций, связанных с медицинскими имплантатами, отличными от протезов суставов, вышеуказанные общие правила также могут применяться аналогичным образом. Однако, в зависимости от состояния пациента,

типа и размера медицинского имплантата, может быть выгодно адаптировать периоды времени и последовательность фаз, которые указаны выше. Альтернативные стратегии лечения можно использовать в соответствии с рекомендациями, включенными в Bennett J et al. eds. in Mandell, Douglas, and Bennett's Principles and Practice of Infectious Diseases, Vol 1. 8th ed. Philadelphia, PA; Elsevier 2015:1328-35.

5.11. Аббревиатуры

ACN - Ацетонитрил

AM - Аналитический метод

BES - бис-этаноламиновая соль

bid - два раза в день (bis in die)

BLOQ - Ниже нижнего предела количественного определения

C - Калибровочные стандарты

КОЕ - колониеобразующие единицы

cSSTI - осложненные инфекции кожи и мягких тканей

CV (%) - Мера точности: Коэффициент вариации= $100 \times SD / \text{среднее значение}$

Д или д - день

DAP - Даптомицин

DMSO - Диметилсульфоксид

ESI - Ионизация электрораспылением

FA - Муравьиная кислота

GLP - Надлежащая лабораторная практика

HED - Эквивалентная доза для человека

IS - Внутренний стандарт

и/п - интраперитонеальный

ISR - Воспроизводимость исследуемых образцов

ЖХ - Жидкостная хроматография

ЖХ-МС-МС - Жидкостная хроматография - тандемная масс-спектрометрия

LLOQ - Нижний предел количественного определения

LOD - Предел детекции

MeOH - Метанол

MIC - Минимальная ингибирующая концентрация

MHA - Агар Мюллер-Хинтона

MRM - Мониторинг множественных реакций

MRSA - Метициллин-резистентные *Staphylococcus (S.) aureus*

МС/МС - Тандемная масс-спектрометрия

NH₃ - Гидроксид аммония

Nt - не определяли

OI - Рабочие инструкции

o/n - в течение ночи

PBS - Фосфатно-солевой буферный раствор

PJI - Инфекция протезированного сустава
 PK - Фармакокинетика
 п/о - перорально (per os)
 QC - Контроль качества
 QD или q.d. - один раз в день (quaque die)
 qdam - один раз в день утром (quaque die ante meridiem)
 RIE - правосторонний инфекционный эндокардит
 RIF - рифампицин
 RT - Комнатная температура
 S - Staphylococcus
 SA - Staphylococcus aureus
 SAB - Бактериemia Staphylococcus aureus
 п/к - Подкожный
 SD - Стандартное отклонение
 SOC - Стандарт лечения
 SOP - Стандартная рабочая процедура
 TCF - Жидкость тканевой камеры
 ULOQ - Верхний предел количественного определения
 UPLC Ultra-Сверхпроизводительная жидкостная хроматография

6. Примеры

6.1. Пример 1: Оценка активности Debio 1450 BES как отдельного средства или в комбинации с антистафилококковыми соединениями против 24ч и 72ч MRSA биопленок в *in vivo* мышинной модели связанной с катетером инфекции

В этом исследовании использовали два типа экспериментальных условий для оценки эффективности лечения ранних (24 часа) и/или зрелых (72 часа) образованных на катетере MRSA биопленок. Вкратце, мышей анестезировали и/п инъекцией около 120 мл смеси кетамина (50 мг/кг) и ксилазина (10 мг/кг) (4 мл кетамина+2 мл ксилазина+10 мл физиологического раствора). Правый бок выбривали, а затем дезинфицировали 3 последовательными нанесениями бетадина. Кожные, а затем подкожные (п/к) разрезы размером 0,2 см делали в стерильных условиях, и 1 см сегмент полиуретанового катетера (Ref. No. ES-04730 Arrow International), разрезанный на 2 продольных фрагмента, вставляли п/к (в разрез, а затем проталкивали далее под кожей, примерно на 2 см от разреза). Инокуляцию осуществляли одновременно путем помещения 50 мл бактериальной культуры на катетер (10^6 КОЕ ATCC 43300 MRSA штамма). Разрез зашивали и дезинфицировали. День заражения обозначали как День 0 (D0). Чтобы гарантировать, что исследование проводилось в стерильных условиях от начала до конца эксперимента, были включены неинфицированные мыши (контрольная группа). Лечение начинали либо в D1, либо в D3 после инфицирования, что соответствовало ранним (24 ч) или более зрелым (72 ч) образованным на катетере биопленкам, соответственно, и оно продолжалось в течение 5,5 дней (D1-D6) или (D3-D8) в обоих условиях 24ч и 72ч образования биопленок, две

группы инфицированных необработанных животных (контрольные, которым вводили носители) оценивали на количество бактерий: на исходном уровне (24ч или Д1 [для 24-ч биопленки] и 72ч или Д3 [для 72-ч биопленки]) после инфицирования, т.е. точки времени, соответствующие началу лечения) и по окончании периода лечения (Д6 [для 24-ч биопленки] и Д8 [для 72-ч биопленки] после заражения). КОЕ после лечения подсчитывали в Д6 или Д8, и результаты выражали как Log_{10} КОЕ/г катетера (Среднее значение \pm SEM). Предел детекции был определен как 1 Log_{10} КОЕ/г катетера. Также рассчитывали изменения КОЕ/г катетера (ΔLog_{10}) от исходного уровня (Д1 или Д3 для 24-ч и 72-ч биопленки, соответственно) и показатели эффективности лечения (что соответствует проценту мышей без катетер-ассоциированных бактерий в данной группе лечения). Индукцию антибиотик-резистентных бактерий *in vivo* анализировали для всех испытываемых антибиотиков.

Дозы антибиотиков были выбраны в соответствии с эффективными дозами для животных, которые приближались к терапевтическим эквивалентным дозам для человека (HED) (Таблица 1).

Таблица 1

	Уровень доз (мг/кг)	Путь введения	Частота	Терапевтическая эквивалентная доза для человека (HED)	Примечание
Debio 1450 BES	50	п/о	БID	240 мг BID п/о или суточная доза 480 мг/день	Несколько выше чем HED, использовали для монотерапии и комбинированной терапии (против 24-ч и 72-ч биопленок)
Даптомицин	120	и/п	QD	>6 мг/кг QD и/п	Испытывали в условиях моно- и комбинированной терапии (против 24-ч и 72-ч биопленок)
Рифампицин	30	и/п	БID	10-15 мг/кг BID	Испытывали в

				и/п	условиях моно- и комбинированной терапии (против 24-ч и 72-ч биопленок)
Ванкомицин	110	п/к	VID	1г в/в каждые 12 часов, 2-3 г/день	Испытывали в условиях моно- и комбинированной терапии (против 24-ч и 72-ч биопленок)

Мыши получали антибиотики в Д1, Д2, Д3, Д4, Д5 и Д6 (только одно введение в Д6) или Д3, Д4, Д5, Д6, Д7 и Д8 (только одно введение в Д8). Все антибиотики вводили VID и/п, за исключением Debio 1450 BES и Ванкомицина, которые вводили соответственно п/о и п/к. Даптомицин испытывали при введении один раз в день, чтобы избежать проблем с переносимостью. Ежедневное введение антибиотиков осуществляли с интервалом 10-12 часов между двумя введениями. Для комбинированной терапии антибиотики вводили одновременно каждые 10-12 часов (время, необходимое между инъекцией первого антибиотика и инъекцией второго антибиотика, составляло менее 30 секунд на мышь).

В каждом подисследовании животных случайным образом распределяли в группы лечения антибиотиками или контрольные группы введения носителя. Объемы доз рассчитывали в соответствии с индивидуальной массой тела каждого животного.

После сбора крови животных умерщвляли путем цервикальной дислокации после анестезии. Собирали по два фрагмента катетера на мышь и использовали для подсчета бактерий после обработки ультразвуком. Каждый фрагмент катетера отдельно промывали в асептических условиях в пробирке Эппендорфа (3 последовательных стадии промывки с использованием 300 мкл стерильного физиологического раствора). После последней промывки катетер суспендировали в 1 мл стерильного физиологического раствора, помещали в ультразвуковую ванну (Advantage Lab) на 3 минуты при комнатной температуре, затем сильно встряхивали для отделения всех прилипших бактерий от катетера. Несколько последовательных разведений этой суспензии (неразбавленная, 10^{-2} , 10^{-4}) культивировали на чашках с агаром Чепмена в течение 48 часов при 37°C . При необходимости разведения повторяли в случае неубедительных или неадекватных результатов, предварительно проверив стабильность бактериальной суспензии при 4°C . Подсчет бактериальных колоний осуществляли вручную, определяли количество КОЕ/мл и вычисляли количество на г катетера.

В целом, испытание осуществляли в стерильных условиях, так как не наблюдалось роста бактерий на катетерах, эксплантированных у сентинельных мышей. Бактериальная нагрузка оставалась стабильной в течение 5,5 дней в контрольных группах введения носителя (24-ч и 72-ч биопленки). Результаты 5,5-дневной моно- и комбинированной терапии 24-ч и 72-ч MRSA биопленок представлены в Таблице 2. Даптомицин/Рифампицин использовали в комбинации в качестве стандартного лечения (SOC), и они служили в качестве средства сравнения в течение всего исследования.

В условиях монотерапии рифампицин (30 мг/кг BID и/п) показал лучшую активность среди всех испытанных антибиотиков против 24-ч и 72-ч MRSA биопленок, приводя к среднему снижению начальной MRSA нагрузки на $4,17 \pm 0,072 \text{ Log}_{10} \text{ КОЕ/г}$ и $2,98 \pm 0,113 \text{ Log}_{10} \text{ КОЕ/г}$ катетера и показателям эффективности лечения 39% и 8%, соответственно. SOC комбинация Даптомицин (120 мг/кг QD и/п) + Рифампицин (30 мг/кг BID и/п) показала наиболее заметную эффективность против 24-ч и 72-ч биопленки и привела к показателям эффективности лечения 58% и 25% и среднему снижению начальной MRSA нагрузки на $5,00 \pm 0,069 \text{ Log}_{10} \text{ КОЕ/г}$ и $3,52 \pm 0,135 \text{ Log}_{10} \text{ КОЕ/г}$ катетера, соответственно.

Хотя Debio 1450 BES, используемый отдельно при 50 мг/кг BID п/о, показал относительно слабый эффект против биопленок, комбинация Debio 1450 BES (50 мг/кг BID п/о) + Даптомицин (120 мг/кг QD и/п) показала активность, сравнимую с SOC Рифампицин/Даптомицин. Debio 1450 BES/Даптомицин продемонстрировали показатели эффективности лечения 42%, 17% и снижение исходной MRSA нагрузки на $4,38 \pm 0,105 \text{ Log}_{10} \text{ КОЕ/г}$ и $3,36 \pm 0,121 \text{ Log}_{10} \text{ КОЕ/г}$ катетера в условиях 24-ч и 72-ч биопленки, соответственно.

Вторая многообещающая комбинированная терапия против 24-ч и 72-ч биопленок состояла из Debio 1450/Ванкомицина (среднее снижение $3,69 \pm 0,118$ и $2,99 \pm 0,162 \text{ Log}_{10} \text{ КОЕ/г}$ катетера, показатели эффективности лечения 25% и 17% в условиях 24-ч и 72-ч биопленки, соответственно), при этом ни Debio 1450, ни Ванкомицин не могли продемонстрировать хорошую активность против биопленки при использовании в качестве монотерапии.

Исследования индукции резистентности (определяли после ex vivo воздействия на бактерии 4ХМІС Debio 1452, Даптомицина, Рифампицина или Ванкомицина) при моно- и комбинированной терапии не показали появления резистентных мутантов, независимо от испытываемого антибиотика или модели условий образования биопленки (24 ч или 72 ч биопленка).

Таблица 2

Бактериальная нагрузка на катетеры после 5,5-дневного лечения мышей BALB/c одним или комбинацией антибиотиков в условиях 24ч или 72ч биопленки. Результаты представлены как $\text{Log}_{10}\text{КОЕ/г}$ катетера в конце лечения (Д6) и (Д8) для 24-ч и 72-ч биопленки, соответственно, и изменения $\text{Log}_{10}\text{КОЕ/г}$ катетера (ΔLog_{10}) от исходного уровня до лечения (Д1 или Д3 для 24 ч и 72ч биопленки, соответственно). Показано среднее значение \pm стандартная ошибка среднего (SEM). Представлены показатели эффективности лечения (CR, %). Статистическую значимость (p) $\text{Log}_{10}\text{КОЕ/г}$ катетера (сравнение групп лечения с необработанной контрольной группой в конце лечения) определяли с использованием ANOVA (в завершение использовали апостериорный критерий Бонферрони) *: $p < 0,05$; **: $p < 0,005$; ***: $p < 0,001$. NS=не значимый, NT=не определяли

Группы обработки	Биопленка (24ч)				Биопленка (72ч)			
	$\text{Log}_{10}\text{КОЕ/г}$ катетера (Д6) Среднее значение \pm SEM	ΔLog_{10} КОЕ/г катетера от (Д1) Среднее значение \pm SEM	p	CR (%)	$\text{Log}_{10}\text{КОЕ/г}$ катетера (Д6) Среднее значение \pm SEM	ΔLog_{10} КОЕ/г катетера от (Д1) Среднее значение \pm SEM	p	CR (%)
Необработанный контроль	5,95 \pm 0,051	-0,71 \pm 0,051	-	-	6,47 \pm 0,070	-0,31 \pm 0,07	-	-
Debio 1450 50 мг/кг BID п/о	4,31 \pm 0,109	-2,35 \pm 0,109	*	8	5,75 \pm 0,069	-1,03 \pm 0,069	ns	0
Даптомицин 120 мг/кг QD и/п	3,02 \pm 0,110	-3,64 \pm 0,110	***	25	5,42 \pm 0,104	-1,37 \pm 0,104	ns	0
Combo 1	2,28 \pm 0,105	-4,38 \pm 0,105	***	42	3,42 \pm 0,121	-3,36 \pm 0,121	** *	17

Debio 1450 50 мг/кг BID п/о	4,31±0,109	-2,35±0,109	*	8	5,75 ±0,069	-1,03±0,069	ns	0
Ванкомицин 110 мг/кг BID п/к	5.08±0,105	-1,59±0,105	ns	0	4,84 ±0,077	-1,94±0,077	*	0
Combo 2	2,98±0,118	-3,69±0,118	***	25	3,79 ±0,162	-2,99±0,162	** *	17
Рифампицин 30 мг/кг BID и/п	2,50±0,072	-4,17±0,072	***	39	3,80 ±0,113	-2,98±0,113	** *	8
Даптомицин 120 мг/кг QD и/п	3,02±0,110	-3,64±0,110	***	25	5,42 ±0,104	-1,37±0,104	ns	8
Стандарт лечения Combo	1,67±0,069	-5,00±0,069	***	58	3,26 ±0,135	-3,52±0,135	** *	25

Combo 1. Debio 1450 (50мг/кг bid п/о) + Даптомицин (120мг/кг qd и/п)

Combo 2. Debio 1450 (50мг/кг bid п/о) + Ванкомицин (1 10мг/кг bid п/к)

Стандарт лечения combo. Даптомицин (120мг/кг qd и/п) + Рифампицин (30мг/кг bid и/п)

В заключение, комбинации Debio 1450 BES/Даптомицин и Debio 1450 BES/Ванкомицин показали существенную антибиопленочную активность, подобную SOC Рифампицин/Даптомицин. Поэтому комбинации Debio 1450/Даптомицин и Debio 1450/Ванкомицин могли бы быть сильнодействующими кандидатами для ограниченных вариантов лечения опосредованных биопленками MRSA инфекций.

6.2. Пример 2: Эффективность Debio 1450 BES в мышинной модели тканевой камеры MRSA инфекции

Целью этого исследования была оценка эффективности Debio 1450 BES отдельно и в комбинации с Даптомицином (DAP) в мышинной модели тканевой камеры связанных с имплантатом инфекций, вызванных метициллин-резистентным *Staphylococcus (S.) aureus* (MRSA). Эффективность против 24-ч биопленки *S. aureus* ATCC 43300 (MRSA) исследовали и сравнивали со стандартной комбинацией рифампицина (RIF) и DAP в дозах, эквивалентных дозам для человека. Использование небольшого исходного инокулята (около 300 КОЕ/камера) вместе с 24-ч биопленкой позволяло имитировать клинические условия острой связанной с имплантатом инфекции и/или хирургической обработки раны.

Модель тканевой камеры инфекций протезированных суставов очень хорошо известна и близко имитирует инфекции протезированных суставов человека. Эта модель основана на подкожном введении тканевых камер с последующим экспериментальным заражением инородным телом путем инъекции бактериального инокулята в камеры.

Вкратце, один стерильный политетрафторэтиленовый (тефлоновый) цилиндр (32×10 мм), перфорированный 130 регулярно расположенными отверстиями диаметром 1 мм (тканевые камеры; Angst-Pfister AG, Zurich), подкожно имплантировали в спину мышей C57BL/6 в асептических условиях (минимальная масса 20 г). Эксперименты начинали после полного заживления раны (минимум через 2 недели после операции). Для представленного здесь исследования эффективности камеры у всех животных инфицировали примерно 300 колониеобразующими единицами (КОЕ) штамма MRSA ATCC 43300 на камеру, и биопленка развивалась в течение 24 часов до начала лечения.

Животные получали лечение антибиотиками и/п (Debio 1450 BES и DAP) или п/к (RIF) в день 1, 2, 3, 4, 5 и 6 (только утреннее введение в день 6). Одна группа получала только 5% раствор глюкозы и служила инфицированной необработанной контрольной группой (носитель). Продолжительность лечения и дозы антибиотиков были выбраны для лучшего сравнения результатов этого исследования с исследованием из Примера 1 выше, где комбинация Debio 1450 BES (50 мг/кг)/DAP (120 мг/кг) против 24- ч MRSA биопленки показала эффективность лечения 42%.

Debio 1450 и носитель вводили bid, а в день 6 qdam. DAP и RIF вводили qdam. Доза Debio 1450 BES 50 мг/кг была выбрана в качестве HED. Была выбрана доза DAP 100 мг/мл, поскольку она тесно коррелирует с клинической дозой для человека 10 мг/кг один раз в день. Доза RIF 25 мг/кг является одной из наиболее часто используемых при лечении экспериментальных биопленочных инфекций.

За 5-6 дней до инфицирования TCF аспирируют, чтобы убедиться в стерильности

имплантированных камер, высевая TCF на чашки с кровяным агаром. TCF аспирировали и высевали на чашки в день 1 (до лечения) для подтверждения установления инфекции. Кроме того, количество бактерий в TCF определяли в день 3 (перед первой инъекцией в этот день), в день 6 (перед последней обработкой) и в день 9 (перед эксплантацией камер) для оценки эффективности лечения против планктонных бактерий. Указывали номер мыши и количество бактерий в данной камере для анализа антибактериальной активности испытываемых лекарственных средств в зависимости от времени. Эффективность против бактерий, встроенных в биопленку, оценивали качественно и количественно после асептической эксплантации тканевых камер через 3 дня после завершения лечения. 3 дня отдыха помогут избежать эффекта переноса антибиотиков. После эксплантации камеры дважды промывали фосфатно-солевым буферным раствором (PBS) (партия № 5060914) и сразу же переносили в 5 мл 0,9% NaCl (партия № L161619 или L162658). После 30-секундного встряхивания, обработки ультразвуком (3 мин при 130 Вт) и дополнительного встряхивания в течение 30 секунд определяли количество бактерий, диспергированных из биопленки, путем посева. Обработанные ультразвуком камеры промывали один раз PBS, переносили в 5 мл TSB (партия # 0286463) и инкубировали в течение 48 часов при 37°C с дополнительной стадией встряхивания после 24 часов инкубации. После инкубации пробирки снова встряхивали и повторный рост бактерий оценивали визуально. Кроме того, 100 мкл каждой культуры помещали на чашки с кровяным агаром, чтобы убедиться в возобновлении роста. Положительную культуру определяли как неудачное лечение. Эффективность лечения против прикрепившихся бактерий выражается как показатель эффективности лечения (в процентах), определяемый как количество камер без роста, деленное на общее количество камер в отдельной группе лечения. Кроме того, отдельные колонии из чашек для повторного роста использовали для достижения значения 0,5 по шкале Макфарланда. 100 мкл каждой культуры, соответствующей 0,5 по МакФарланду, помещали на чашки с МНА, содержащие антибиотики, соответствующие применяемому лечению (примечание: бактерии от мышей, обработанных Debio 1450, помещали на чашки, содержащие Debio 1452). Условия роста показаны в следующей Таблице 3.

Таблица 3

Группа лечения:	Чашка:
Debio 1450 50 мг/кг	Чашки с МНА, дополненные: 4×MIC Debio 1452 (0,008 мкг/мл, 0,032 мкг/мл, 0,0625 мкг/мл и 0,25 мкг/мл Debio 1452
DAP 50 мг/кг	Чашки с МНА: Е-тест для DAP
RIF 25 мг/кг	Чашки с МНА, дополненные: 4 пг/мл RIF ²
Debio 1450 50 мг/кг/DAP 100 мг/кг	Чашки с МНА, дополненные: 4×MIC Debio 1452 (0,008 мкг/мл, 0,032 мкг/мл, 0,0625 мкг/мл и 0,25 мкг/мл) ¹ и чашки с МНА для Е-теста для DAP
RIF 25 мг/кг/ DAP 100 мг/кг	Чашки с МНА, дополненные: 4 пг/мл RIF ² и чашки с МНА для Е-теста для DAP

Носитель (5% раствор глюкозы)	Чашки с МНА, дополненные: 4xMIC Debio 1452 (0,008 мкг/мл, 0,032 мкг/мл, 0,0625 мкг/мл и 0,25 мкг/мл) ¹
-------------------------------	---

¹ Диапазон концентраций Debio 1452 использовали для охвата MIC MRSA 43300, определенной на месте (0,0625 мкг/мл), и ранее полученных данных от спонсора (0,008 мкг/мл).

² Эти концентрации отражают предел чувствительности CLSI.

Debio 1450 BES, используемый отдельно, демонстрировал лишь умеренный антибиопленочный эффект с уменьшением количества прикрепленных бактерий по сравнению с исходным уровнем на $3,81 \pm 1,15 \log_{10}$ КОЕ/мл (среднее значение \pm SD, n=3) и эффективность лечения 50% (n=6) (Таблица 4 и Фиг. 3). Для этого антибиотика наблюдалось снижение на $3,91 \pm 0,98 \log_{10}$ КОЕ/мл (n=3) и эффективность лечения 33% (n=6). Как и ожидалось, исходя из известного антибиопленочного эффекта, рифампицин оказался наиболее активным среди испытанных монотерапий ($3,37 \pm 0 \log_{10}$ КОЕ/мл (n=3) и эффективность лечения 100% (n=5)).

Комбинация Debio 1450 BES/Даптомицин показала более высокую активность, чем любое соединение по отдельности, уменьшая биопленку на $4,48 \pm 0 \log_{10}$ КОЕ/мл (n=3) и уничтожая инфекцию у 83% животных (n=6, неэффективность лечения наблюдалась только у 1 животного). Антибиопленочная активность комбинации Debio 1450 BES/Даптомицин была сопоставима со стандартом лечения рифампицин/Даптомицин (уменьшение биопленки на $4,48 \pm 0 \log_{10}$ КОЕ/мл (n=3) и эффективность лечения 100% (n=5)). Уровень прикрепившихся бактерий на 9 день был значительно ниже у животных, получавших Debio 1450 BES/Даптомицин (p=0,0044, n=6, критерии Краскела-Уоллиса и Данна), рифампицин/Даптомицин (p=0,0014, n=5) и рифампицин (p=0,0014, n=5), по сравнению с группой введения носителя.

Исследование планктонных бактерий показало, что рифампицин и Даптомицин в качестве монотерапии и в комбинации оказывали бактерицидный эффект (т.е. среднее снижение бактериальной нагрузки на $\geq 3 \log_{10}$) в день 3 (т.е. после 2 дней лечения), тогда как Debio 1450 BES и Debio 1450 BES/Даптомицин в день 6 (т.е. через 5 дней лечения). Поскольку дополнительные временные точки между днем 1 и днем 6 не оценивались, невозможно сделать вывод о точной временной динамике бактерицидного эффекта. Результаты приведены в Таблице 4 ниже.

Таблица 4

Эффект лечения антибиотиками на планктонные и прикрепленные бактерии. Уменьшение планктонной и прикрепившейся бактериальной фракции по сравнению с исходным уровнем (день 1, до лечения) определяли путем посева жидкости из тканевой камеры (день 1, 3, 6 и 9) и среды после обработки ультразвуком эксплантированных тканевых камер (день 1 и день 9). Указаны повторный рост прикрепленных бактерий после обработки ультразвуком и эффективность лечения; nt=не определяли

	Планктонные									Прикрепленные			Повторн.рост	Эффективность лечения (%)
	День 3			День 6			День 9							
	Δ Log	Средн.знач.	SD	Δ Log	Средн.знач.	SD	Δ Log	Средн.знач.	SD	Δ Log	Средн.знач.	SD		
5% глюкоза (200 мкл; и/п, 12ч)	1,37	2,11	0,76	3,68	3,05	0,91	3,70	3,35	0,50	nt	2,92	0,17	+	0
	1,31			2,32			2,73			nt			+	
	2,56			4,60			4,03			2,72			+	
	2,87			2,87			2,89			3,00			+	
	1,6			2,5			3,2			2,9			+	
	2,9			2,3			3,6			3,1			+	
Debio 1450 (50 мг/кг; и/п; 12ч)	-1,42	-2,62	1,50	-3,24	-4,45	1,18	-5,85	-3,90	1,70	nt	-3,81	1,15	-	50
	-1,40			-2,69			-3,41			nt			+	
	-2,10			-5,64			-1,32			nt			+	

	-5,10			- 5,10			-5,10			-4,48			-	
	-1,93			- 4,91			-4,91			-4,48			-	
	-3,79			- 5,09			-2,79			-2,48			+	
DAP (100 мг/кг; и/п; 24ч)	-2,41	-3,10	1,65	- 5,72	-4,91	1,27	-1,07	-3,60	2,74	nt	-3,91	0,98	+	33
	-4,79			- 4,79			-4,79			nt			+	
	-0,67			- 2,46			0,73			nt			+	
	-5,15			- 5,15			-5,15			-4,48			-	
	-2,91			- 5,95			-5,95			-2,78			+	
	-2,70			- 5,38			-5,38			-4,48			-	
Debio 1450 (50 мг/кг; и/п; 12ч) + DAP (100 мг/кг; и/п; 24ч)	-2,00	-2,68	0,46	- 5,60	-5,53	0,44	-0,38	-4,66	2,14	nt	-4,48	0	+	83
	-2,93			- 6,01			-6,01			nt			-	
	-2,98			-			-5,98			nt			-	

				5,98										
	-2,32			- 4,92			-4,92			-4,48			-	
	-2,62			- 5,11			-5,11			-4,48			-	
	-3,22			- 5,56			-5,56			-4,48			-	
RIF (25 мг/кг; п/к; 24ч)	-4,08	-4,53	1,37	- 4,08	-4,53	1,37	-4,08	-4,53	1,37	nt	-3,37	0	-	
	-6,73			- 6,73			-6,73			nt			-	100
	-3,5			-3,5			-3,5			-3,4			-	
	-3,4			-3,4			-3,4			-3,4			-	
	-4,9			-4,9			-4,9			-3,4			-	
DAP (100 мг/кг; и/п; 24ч)	-6,15	-5,64	0,62	- 6,15	-5,64	0,62	-6,15	-5,62	0,72	nt	-3,37	0	-	
+ RIF (25 мг/кг; п/к; 24ч)	-5,75			- 5,75			нет TCF			nt			-	100
	-4,6			-4,6			-4,6			-3,4			-	
	-6,1			-6,1			-6,1			-3,4			-	
	-5,6			-5,6			-5,6			-3,4			-	

Результаты графически представлены на Фиг. 3. *Ex vivo* исследование индуцированной лечением резистентности *in vivo* не выявило снижения чувствительности к соответствующим антибиотикам, используемым в качестве монотерапии и в комбинации.

Таким образом, антибиопленочная активность комбинации Debio 1450 BES/Даптомицин, аналогичная стандарту лечения рифампицин/Даптомицин, полученная в этом исследовании, подтверждает данные, наблюдаемые в мышинной модели катетер-ассоциированной биопленочной инфекции (см. Пример 1 выше).

6.3. Пример 3: Эффективность Debio 1450 BES в мышинной модели тканевой камеры MRSA инфекции

Целью этого исследования была оценка эффективности Debio 1450 BES отдельно и в комбинации с Даптомицином (DAP) в мышинной модели тканевой камеры имплантат-ассоциированных инфекций, вызванных метициллин-резистентным *Staphylococcus (S.) aureus* (MRSA), при более низких дозах и большей продолжительности лечения, чем в предыдущем исследовании (Пример 2). Исследовали эффективность против 24-ч биопленки *S. aureus* ATCC 43300 (MRSA). Использование небольшого начального инокулята (около 300 КОЕ/камера) вместе с 24-ч биопленкой позволило имитировать клинические условия острой связанной с имплантатом инфекции и/или хирургической обработки раны.

Доза Debio 1450 BES 20 мг/кг BID отражает самую последнюю HED 240 мг BID, полученную в недавних РК исследованиях (50 мг/кг BID использовали в Примере 2 на основании предыдущего РК анализа). Дозу Даптомицина также снижали от 100 мг/кг qdam (Пример 2) до 50 мг/кг qdam, дозы, которую ранее использовали в этой модели и которая представляет собой более низкий клинически рекомендуемый диапазон доз. Продолжительность лечения 11 дней была выбрана для компенсации снижения дозы Debio 1450 BES (5,5-дневное лечение использовали в Примере 2) и соответствует длительной антибактериальной терапии, применяемой для пациентов с инфекциями протезированных суставов.

Использовали ту же мышиную модель тканевой камеры, как описано в Примере 2 выше. Животные получали лечение антибиотиками и/п с 1-го дня после заражения до 11-го дня. Одна группа получала только 5% раствор глюкозы и служила в качестве инфицированной необработанной контрольной группы (носитель). Продолжительность лечения и дозы антибиотиков были выбраны для лучшего сравнения результатов этого исследования с исследованием Примера 1 (мышинная модель связанной с катетером биопленочной инфекции), где комбинация Debio 1450 BES (50 мг/кг)/DAP (120 мг/кг) против 24-ч биопленки MRSA показала эффективность лечения 42%. Debio 1450 BES и носитель вводили два раза в день, а DAP вводили qdam. В настоящем исследовании авторы изобретения исследовали эффективность более низких доз при увеличении продолжительности лечения.

За 5-6 дней до инфицирования TCF аспирировали для подтверждения стерильности имплантированных клеток путем посева TCF на чашки с кровяным агаром. TCF

аспирировали и высевали на чашки в день 1 (до лечения) для подтверждения установления инфекции. Кроме того, количество бактерий в TCF определяли в день 3 (перед первой инъекцией в этот день), в день 6, 9 и 11 (перед последней обработкой) и в день 14 (перед эксплантацией клеток) для оценки эффективности лечения против планктонных бактерий. Указывали номер мыши и количество бактерий в данной камере для анализа антибактериальной активности испытываемых лекарственных средств в зависимости от времени. Эффективность против бактерий, встроенных в биопленку, оценивали качественно и количественно после асептической эксплантации тканевых камер через 3 дня после завершения лечения. 3 дня отдыха помогут избежать эффекта переноса антибиотиков. После эксплантации камеры дважды промывали фосфатно-солевым буферным раствором (PBS) (партия № 5060914) и сразу же переносили в 5 мл 0,9% NaCl (партия № L171095). После 30-секундного встряхивания, обработки ультразвуком (3 мин при 130 Вт) и дополнительного встряхивания в течение 30 секунд определяли количество бактерий, диспергированных из биопленки, путем посева. Обработанные ультразвуком камеры промывали один раз PBS, переносили в 5 мл TSB (партия # 0286463) и инкубировали в течение 48 часов при 37°C с дополнительной стадией встряхивания после 24 часов инкубации. После инкубации пробирки снова встряхивали и повторный рост бактерий оценивали визуально. Кроме того, 100 мкл каждой культуры помещали на чашки с кровяным агаром, чтобы убедиться в возобновлении роста. Положительный посев определяли как неудачное лечение. Эффективность лечения против прикрепившихся бактерий выражали как показатель эффективности лечения (в процентах), определяемый как количество камер без роста, деленное на общее количество камер в отдельной группе лечения. Кроме того, отдельные колонии из чашек для повторного роста использовали для достижения значения 0,5 по шкале Макфарланда. 100 мкл каждой культуры, соответствующей 0,5 по МакФарланду, помещали на чашки с МНА, содержащие антибиотики, соответствующие применяемому лечению (примечание: бактерии от мышей, обработанных Debio 1450, помещали на чашки, содержащие Debio 1452). Условия роста показаны в следующей таблице 5.

Таблица 5

Группа лечения:	Чашка:
Debio 1450 BES (20 мг/кг)	Чашки с МНА, дополненные: 4×MIC Debio 1452 (0,032 мкг/мл) и 8×MIC Debio (0,0625 мкг/мл)
DAP 50 мг/кг	Чашки с кровяным агаром: E-тест для DAP
RIF 25 мг/кг	Чашки с МНА, дополненные: 4 пг/мл RIF ²
Debio 1450 BES (20 мг/кг)/ DAP 50 мг/кг	Чашки с МНА, дополненные: 4×MIC Debio 1452 (0,032 мкг/мл) и 8×MIC Debio (0,0625 мкг/мл), и чашки с кровяным агаром для E-теста для DAP
Носитель (5% раствор глюкозы)	Чашки с МНА, дополненные: 4×MIC Debio 1452 (0,032 мкг/мл) и 8×MIC Debio (0,0625 мкг/мл), и чашки с кровяным агаром для E-теста для DAP

Применение только Debio 1450 BES показал хороший антибиопленочный эффект с уменьшением количества прикрепившихся бактерий по сравнению с исходным уровнем на $4,35 \pm 2,5 \log_{10}$ КОЕ/мл (среднее значение \pm SD) и показателем эффективности лечения 83% (n=6) (Таблица 6 и Фиг. 4). В соответствии с предыдущим отчетом об активности Даптомицина в этой модели, для этого антибиотика наблюдалось снижение на $3,15 \pm 2,74 \log_{10}$ КОЕ/мл и показатель эффективности лечения 50% (n=6). Комбинация Debio 1450 BES/Даптомицин показала более высокую активность, чем любое соединение по отдельности, уменьшая биопленку на $5,13 \pm 0,99 \log_{10}$ КОЕ/мл и уничтожая инфекцию у 100% животных (n=6). Эти показатели эффективности лечения были немного выше, чем в исследовании Примера 2, где монотерапия Debio 1450 BES и Даптомицином, комбинация Debio 1450 BES/Даптомицин ликвидировали инфекцию у 50%, 33% и 83% (n=6) животных, соответственно. По сравнению с группой введения носителя уровень прикрепленных бактерий на 14 день был значительно ниже у животных, которых обрабатывали Debio 1450 BES ($p=0,0069$, n=6, критерии Краскела-Уоллиса и Данна) и Debio 1450 BES/Даптомицином ($p=0,0011$, n=6), но не Даптомицином ($p=0,00631$, n=6).

Исследование планктонных бактерий показало, что Debio 1450 BES и Даптомицин в качестве монотерапии и в комбинации оказывали бактерицидный эффект (т.е. среднее снижение бактериальной нагрузки на $\geq 3 \log_{10}$) в день 6 (т.е. после 5 дней лечения). Поскольку дополнительные временные точки между днем 1 и днем 6 не оценивались, невозможно сделать вывод о точной динамике бактерицидного эффекта.

Таблица 6

Эффект лечения антибиотиками на планктонные и прикрепленные бактерии. Снижение планктонной и прикрепленной бактериальной фракции по сравнению с исходным уровнем (день 1, до лечения) определяли путем посева жидкости из тканевой камеры (день 1, 3, 6, 9, 11 и 14) и среды после обработки ультразвуком эксплантированных тканевых камер (день 1 и день 14). Указаны повторный рост прикрепленных бактерий после обработки ультразвуком и показатель эффективности лечения

Результаты:	Планктонные															Прикрепленные			Повторн. рост	Эффективность
	День 3			День 6			День 9			День 11			День 14			ΔLog	Сре	SD		
AKW109	ΔLog	Сре	SD	ΔLog	Сре	SD	ΔLog	Ср	SD	ΔLog	Сре	SD	ΔLog	Сре	SD				ΔLog	Сре
Часть 1 и 2	от исходн. уровня	дне значе		от исходн. уровня	дне значе		от исходн. уровня	едн значе		от исходн. уровня	дне значе		от исходн. уровня	дне значе		от исходн. уровня	дне значе			
5% раствор глюкозы (200 мкл; и/п, 24ч)	3,20	2,19	1,4	4,08	3,22	1,28	3,61	3,54	1,03	4,29	4,14	0,81	Нет TCF	3,78	1,24	3,59	1,62	1,72	+	0
	1,56			1,93			2,96			3,46			2,65			2,92			+	
	3,64			5,01			5,31			5,43			5,30			1,05			+	
	1,21			2,60			2,93			3,46			2,88			1,35			+	
	1,3			2,5			2,9			4,0			4,3			-0,79			+	
Debio 1450	-1,46	-2,6	0,82	-3,06	-3,50	0,44	-3,06	-4,1	1,32	-3,06	-4,10	1,32	-3,06	-3,11	1,64	-4,23	-4,3	2,50	-	83

Результаты графически представлены на Фиг. 4. Ex vivo исследование индуцированной лечением резистентности in vivo не выявило снижения чувствительности к соответствующим используемым антибиотикам.

Таким образом, антибиопленочная активность комбинации Debio 1450 BES/Даптомицин, полученная в этом исследовании, подтверждает данные, наблюдаемые в предыдущем исследовании с использованием этой модели, как описано в Примере 2 выше, и мышинной модели связанной с катетером биопленочной инфекции, описанной в Примере 1 выше.

6.1. Пример 4: Эффективность Debio 1450 BES в мышинной модели тканевой камеры стафилококковой биопленочной инфекции.

Целью этого исследования была оценка эффективности Debio 1450 BES в комбинации с Клиндамицином или Ванкомицином и сравнение с соответствующими комбинациями Рифампицина с использованием мышинной модели тканевой камеры связанных с имплантатом инфекций. Эффективность против 24-ч биопленки *S. aureus* ATCC 29213 (метициллин-чувствительный *S. aureus* [MSSA]) и *S. aureus* ATCC 43300 (MRSA) оценивали для комбинаций с Клиндамицином и с Ванкомицином, соответственно.

Использовали ту же мышиную модель тканевой камеры, которая описана в Примере 3 выше. Животные получали лечение антибиотиками с дня 1 после инфицирования по день 11 (т.е. 11-дневное лечение) по схеме введения, указанной в Таблице 7. Эффективность против встроенных в биопленку бактерий оценивали количественно после асептической эксплантации тканевых камер через 3 дня после завершения лечения. После эксплантации камеры дважды промывали фосфатно-солевым буферным раствором (PBS) и сразу же переносили в 5 мл 0,9% NaCl. После 30 сек встряхивания, обработки ультразвуком (3 мин при 130 Вт) и дополнительной 30-сек стадии встряхивания обработанные ультразвуком камеры промывали один раз PBS, переносили в 5 мл TSB и инкубировали в течение 48 часов при 37°C, с дополнительной стадией встряхивания после 24 ч инкубации. После инкубации пробирки снова встряхивали и повторный рост бактерий оценивали визуально. Положительную культуру определяли как неудачное лечение. Эффективность лечения против прикрепившихся бактерий выражали как показатель эффективности лечения (в процентах), определяемый как количество камер без роста, деленное на общее количество камер в отдельной группе лечения.

Результаты представлены в таблице 7. Антибиопленочная активность (выраженная как эффективность лечения (%)) комбинации Debio 1450 BES/Клиндамицин и комбинации Debio 1450 BES/Ванкомицин была аналогична комбинации Рифампицин/Клиндамицин и Рифампицин/Ванкомицин, соответственно.

Таблица 7

Эффективность лечения после 11-дневной обработки 24-ч стафилококковой биопленки в мышинной модели тканевой камеры. Был определен повторный рост стафилококков из тканевых камер, эксплантированных в день 14 (т.е. через 3 дня после окончания лечения).

Положительная бактериальная культура была определена как неэффективное лечение. Эффективность лечения против прикрепившихся бактерий выражали как показатель эффективности лечения (в процентах), определяемый как количество камер без роста, деленное на общее количество камер в отдельной группе обработки

Обработка*	Биопленка (24-ч)	Показатель эффективности лечения Количество камер без повторного роста/Общее количество камер (%)
Debio 1450	MSSA ATCC 29213	1/7 (14,3)
Рифампицин		7/7 (100)
Debio 1450+Клиндамицин	MSSA ATCC 29213	4/5 (80)
Рифампицин+Клиндамицин		4/4 (100)
Debio 1450+Ванкомицин	MRSA ATCC 43300	4/5 (80)
Рифампицин+Ванкомицин		4/4 (100)

* Антибиотики вводили следующим образом: Debio 1450 (20мг/кг, и/п VID), Рифампицин (25мг/кг, п/к QD), Клиндамицин (300мг/кг, и/п VID), Ванкомицин (110 мг/кг п/к VID)

ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Афабицин или его фармацевтически приемлемая соль, гидрат, сольват или полиморф для применения в способе лечения бактериальных инфекций, связанных с биопленкой, при этом способ включает введение пациенту Афабицина в комбинации с по меньшей мере одним дополнительным средством или его фармацевтически приемлемой солью, гидратом, сольватом или полиморфом, выбранным из группы, состоящей из липопептидов, гликопептидов и линкозамидов, где предпочтительно липопептид представляет собой Даптомицин, предпочтительно гликопептид представляет собой Ванкомицин и предпочтительно линкозамид представляет собой Клиндамицин.

2. Афабицин для применения по п. 1, где биопленка содержит или состоит из стафилококковых бактерий.

3. Афабицин для применения по любому из пп. 1-2, где стафилококковые бактерии выбраны из группы, состоящей из:

- *Staphylococcus aureus*, включая внебольничные *Staphylococcus aureus* и внутрибольничные *Staphylococcus aureus*

- Коагулаза-отрицательных стафилококков (CoNS), например *Staphylococcus epidermidis*, *Staphylococcus haemolyticus*, *Staphylococcus lugdunensis*, *Staphylococcus simulans*, *Staphylococcus hominis*, где CoNS предпочтительно представляет собой *Staphylococcus epidermidis*,

- Метициллин-чувствительных или метициллин-резистентных стафилококков, где стафилококк предпочтительно представляет собой *Staphylococcus aureus* или *Staphylococcus epidermidis*,

- Штаммов *Staphylococcus aureus* или штаммов CoNS, где указанные штаммы резистентны к одному или нескольким антибиотикам и где указанный антибиотик предпочтительно выбран из β -лактамов, Цефалоспоринов, Гликопептидов, таких как Ванкомицин, Линезолида, Линкозамидов, таких как Клиндамицин, Рифампицина, Липопептидов, таких как Даптомицин, Фторхинолонов, Триметоприма/Сульфаметоксазола, Фосфомицина, Фузидовой кислоты, Тигециклина, Тетрациклинов и Далбаванцина, и где штамм CoNS предпочтительно представляет собой *Staphylococcus epidermidis*,

- Мультилекарственно-резистентных штаммов *Staphylococcus*, где мультилекарственно-резистентный штамм *Staphylococcus* предпочтительно выбран из группы, состоящей из мультилекарственно-резистентных штаммов *Staphylococcus aureus* и мультилекарственно-резистентных штаммов CoNS, и где мультилекарственно-резистентный штамм CoNS предпочтительно представляет собой *Staphylococcus epidermidis*,

при этом предпочтительно стафилококковая бактерия представляет собой *Staphylococcus aureus* и/или CoNS, где CoNS предпочтительно представляет собой *S. epidermidis*.

4. Афабицин для применения по любому из пп. 1-3, где бактериальная инфекция

связана с открытой раной, и/или мокнущей раной, и/или раной с вставленным дренажем, и предпочтительно где бактериальная инфекция связана с открытой раной.

5. Афабицин для применения по любому из пп. 1-4, где Афабицин в комбинации с по меньшей мере одним дополнительным средством вводят в периоперационном периоде и предпочтительно вводят до и/или после операции.

6. Афабицин для применения по любому из пп. 1-5, где бактериальная инфекция связана с биопленкой, которая содержит стафилококковые бактерии, резистентные к рифампицину.

7. Афабицин для применения по любому из пп. 1-6, где бактериальная инфекция связана с биопленкой, которая содержит метициллин-резистентные стафилококки, и предпочтительно где стафилококки представляют собой *Staphylococcus aureus* или CoNS, где CoNS предпочтительно представляет собой *Staphylococcus epidermidis*.

8. Афабицин для применения по любому из пп. 1-7, где бактериальная инфекция выбрана из группы, состоящей из:

инфекции, ассоциированной с медицинским имплантатом,
 остеомиелита,
 инфекций у пациентов с кистозным фиброзом,
 плевропульмональных инфекций, таких как пневмонии, предпочтительно, когда плевропульмональная инфекция является хронической, и более предпочтительно, когда плевропульмональная инфекция представляет собой обструктивное легочное заболевание, эндокардита и предпочтительно, когда эндокардит представляет собой эндокардит нативного клапана,
 раневых инфекций, предпочтительно, когда указанные раневые инфекции являются хроническими,
 мастита,
 синусита, предпочтительно, когда указанный синусит является хроническим, воспаления среднего уха, предпочтительно, когда указанное воспаление среднего уха является хроническим,
 инфекций мочевых путей,
 тонзилита, предпочтительно, когда указанный тонзилит является хроническим, ларингита, предпочтительно, когда указанный ларингит является хроническим, инфекции, связанной с камнями в почках
 инфекций желчных путей,
 аэробного вагинита,
 септического тромбоза,
 инфекций, связанных с внутриклеточными биопленками, например в клетках Купффера или в тонзиллярных клетках, и колонизации *Staphylococcus aureus*, которая делает пациента предрасположенным к инфекциям.

9. Афабицин для применения по любому из пп. 1-8, где бактериальная инфекция

представляет собой инфекцию, связанную с медицинским имплантатом, и где медицинский имплантат представляет собой постоянное имплантированное устройство и предпочтительно представляет собой эндопротез сустава.

10. Афабицин для применения по любому из пп. 1-9, где бактериальная инфекция представляет собой инфекцию, связанную с медицинским имплантатом, и предпочтительно выбрана из инфекции, связанной с катетером, инфекции, связанной с эндотрахеальными трубками, инфекции, связанной с голосовыми протезами, инфекции, связанной с филлерами мягких тканей, где указанные филлеры мягких тканей могут быть перманентными или полуперманентными.

11. Афабицин для применения по любому из пп. 1-10, при этом способ включает стадию очищения раны в дополнение к введению Афабицина в комбинации с по меньшей мере одним дополнительным средством.

12. Афабицин для применения по пп. 8, 9, 10 или 11, при этом указанный способ включает стадию замены медицинского имплантата в дополнение к введению Афабицина в комбинации с по меньшей мере одним дополнительным средством.

13. Афабицин для применения по п. 12, где стадию введения Афабицина в комбинации с по меньшей мере одним дополнительным средством осуществляют до и/или после стадии замены медицинского имплантата, и где указанное введение предпочтительно осуществляют до и после стадии замены медицинского имплантата.

14. Афабицин для применения по любому из пп. 1-13, где Афабицин вводят внутривенно, перорально, парентерально и/или местно и/или чрескожно.

15. Афабицин для применения по любому из пп. 1-14, где Афабицин вводят на первой стадии внутривенно, а на второй стадии перорально.

16. Афабицин для применения по любому из пп. 1-15, где по меньшей мере одно дополнительное средство вводят перорально, парентерально, чрескожно, внутривенно и/или местно.

17. Афабицин для применения по п. 12 или 13, при этом способ включает первую стадию удаления медицинского имплантата, вторую стадию внутривенного введения Афабицина в комбинации с по меньшей мере одним дополнительным средством, третью стадию введения нового медицинского имплантата, четвертую стадию внутривенного введения Афабицина в комбинации с по меньшей мере одним дополнительным средством и пятую стадию перорального введения Афабицина в комбинации с по меньшей мере одним дополнительным средством.

18. Афабицин для применения по любому из пп. 1-17, где по меньшей мере одно дополнительное средство выбрано из группы, состоящей из Даптомицина, Ванкомицина, Сурфактина, А54145, Амфомицина, Фриулимицина, ласпартомицина, WAP-8294A₂, Катанозина, Плюсбацина А₃, Оритаванцина, Телаванцина, Тейкопланина, Далбаванцина, Рамопланина, Маннопептимицина, Клиндамицина, Линкомицина и Пирлимицина.

19. Афабицин для применения по п. 18, где по меньшей мере одно дополнительное средство представляет собой Даптомицин, и/или Ванкомицин, и/или Клиндамицин.

20. Даптомицин или его фармацевтически приемлемая соль, гидрат, сольват или полиморф для применения в способе лечения бактериальных инфекций, связанных с биопленкой, которая предпочтительно содержит стафилококковые бактерии, при этом способ определен в любом из пп. 1-19.

21. Ванкомицин или его фармацевтически приемлемая соль, гидрат, сольват или полиморф для применения в способе лечения бактериальных инфекций, связанных с биопленкой, которая предпочтительно содержит стафилококковые бактерии, при этом способ определен в любом из пп. 1-19.

22. Клиндамицин или его фармацевтически приемлемая соль, гидрат, сольват или полиморф для применения в способе лечения бактериальных инфекций, связанных с биопленкой, которая предпочтительно содержит стафилококковые бактерии, при этом способ определен в любом из пп. 1-19.

23. Способ лечения у пациента, нуждающегося в этом, бактериальных инфекций, связанных с биопленкой, которая предпочтительно содержит стафилококковые бактерии, при этом способ определен в любом из пп. 1-19.

24. Фармацевтическая композиция для применения в способе лечения бактериальных инфекций, связанных с биопленкой, которая предпочтительно содержит стафилококковые бактерии, при этом фармацевтическая композиция включает Афабицин или его фармацевтически приемлемую соль, гидрат, сольват или полиморф и по меньшей мере одно дополнительное средство или его фармацевтически приемлемую соль, гидрат, сольват или полиморф, выбранное из группы, состоящей из липопептидов, гликопептидов и линкозамидов, предпочтительно по меньшей мере одно дополнительное средство, выбранное из группы, состоящей из Даптомицина, Ванкомицина, Сурфактина, А54145, Амфомицина, Фриулимицина, ласпартомицина, WAP-8294A₂, Катанозина, Плюсбацина А₃, Оритаванцина, Телаванцина, Тейкопланина, Далбаванцина, Рамопланина, Маннопептимицина, Клиндамицина, Линкомицина и Пирлимицина, более предпочтительно Даптомицина и/или Ванкомицина и/или Клиндамицина, и при этом способ определен в любом из пп. 1-19.

25. Набор для применения в способе лечения бактериальных инфекций, связанных с биопленкой, которая предпочтительно содержит стафилококковые бактерии, где набор содержит Афабицин или его фармацевтически приемлемую соль, гидрат, сольват или полиморф и по меньшей мере одно дополнительное средство или его фармацевтически приемлемую соль, гидрат, сольват или полиморф, выбранное из группы, состоящей из липопептидов, гликопептидов и линкозамидов, предпочтительно по меньшей мере одно дополнительное средство, выбранное из группы, состоящей из Даптомицина, Ванкомицина, Сурфактина, А54145, Амфомицина, Фриулимицина, ласпартомицина, WAP-8294A₂, Катанозина, Плюсбацина А₃, Оритаванцина, Телаванцина, Тейкопланина, Далбаванцина, Рамопланина, Маннопептимицина, Клиндамицина, Линкомицина и Пирлимицина, более предпочтительно Даптомицина, и/или Ванкомицина, и/или Клиндамицина, и при этом способ определен в любом из пп. 1-19.

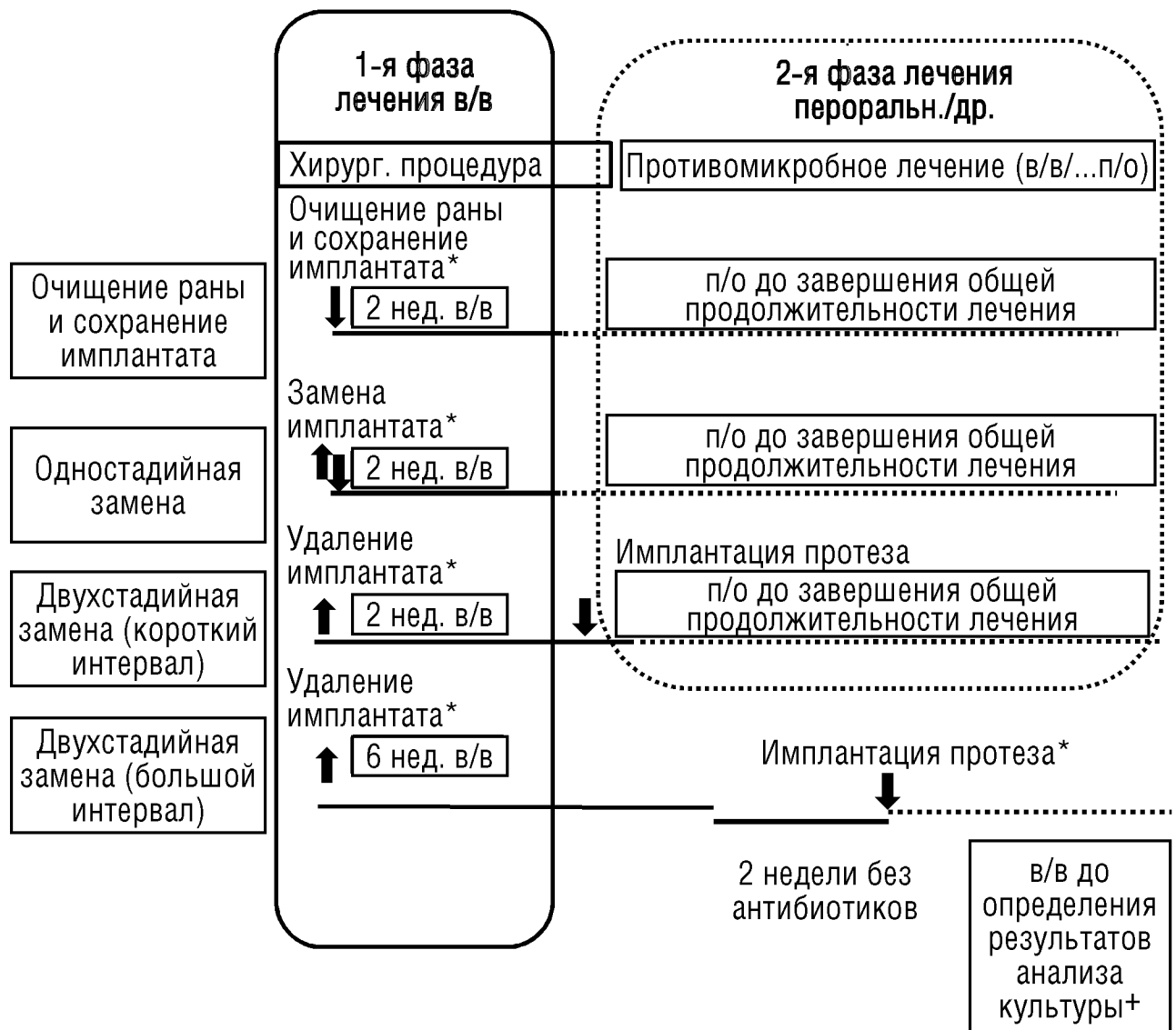
ФИГ.1



Zimmerli W et al. Orthopedic Implant-Associated Infections. In: Bennett J et al. eds. Mandell, Douglas, and Bennett's Principles and Practice of Infectious Diseases, Vol 1. 8th ed. Philadelphia, PA; Elsevier 2015

ФИГ.2

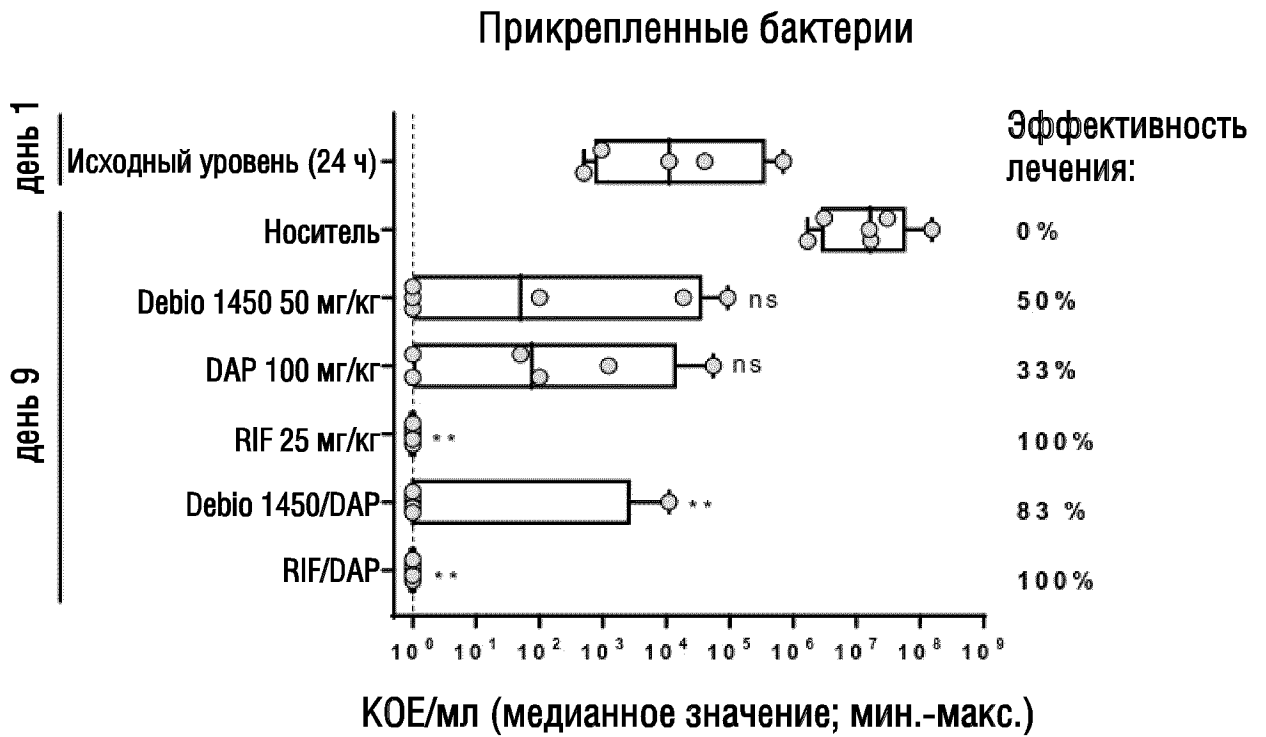
Обычные фазы:



*Отбор проб для микробиологического анализа

†Продолжение такого же режима лечения антибиотиками

ФИГ.3



ФИГ.4

