

(19)



**Евразийское
патентное
ведомство**

(21) **202391673** (13) **A1**

(12) **ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОЙ ЗАЯВКЕ**

(43) Дата публикации заявки
2023.10.12

(22) Дата подачи заявки
2021.12.30

(51) Int. Cl. *A61K 31/343* (2006.01)
A61P 31/04 (2006.01)
A61P 31/14 (2006.01)
A61K 47/69 (2017.01)
A23L 33/00 (2016.01)
A23L 29/00 (2016.01)

(54) **УСНИНОВАЯ КИСЛОТА ИЛИ ЕЕ КОМПЛЕКСЫ ВКЛЮЧЕНИЯ ДЛЯ ПРИМЕНЕНИЯ
В ЛЕЧЕНИИ ИНФЕКЦИЙ, ВЫЗВАННЫХ КОРОНАВИРУСОМ ИЛИ БАКТЕРИЯМИ**

(31) **10202000032909**
(32) **2020.12.30**
(33) **IT**
(86) **PCT/IB2021/062486**
(87) **WO 2022/144835 2022.07.07**
(71) Заявитель:
ВЕСТАТИС ГМБХ (DE)

(72) Изобретатель:
**Черана Джорджи Стефано, Бос
Петер, Франк Петер, Бонер Томас
Детлеф (DE)**

(74) Представитель:
**Билык А.В., Поликарпов А.В.,
Соколова М.В., Путинцев А.И.,
Черкас Д.А., Игнатьев А.В., Дмитриев
А.В., Бучака С.М., Бельтюкова М.В.
(RU)**

(57) Изобретение относится к смеси М, содержащей или альтернативно состоящей из (а) усниновой кислоты, и/или (b) ее родственной соли, и/или (c) соединения включения (сi), либо их смесей, где указанное соединение включения (сi) содержит или, альтернативно, состоит из (i) указанной (а) усниновой кислоты и/или указанной (b) ее родственной соли и (ii) циклодекстрина, предпочтительно бета-циклодекстрина, где указанная смесь М предназначена для применения в способе лечения вирусных инфекций, при этом указанная смесь М преимущественно способна к ингибированию спайкового белка коронавируса. Кроме того, настоящее изобретение относится к композиции для применения в способе лечения согласно настоящему изобретению, предпочтительно для перорального или назального применения, где указанная композиция содержит указанную смесь М и по меньшей мере одну(один) приемлемую добавку и/или приемлемый эксципиент фармацевтического или пищевого класса.

A1

202391673

202391673

A1

РСТ/IB2021/062486 **МПК: A61K 31/343** (2006.01) **A61K 47/69** (2006.01)
A61P 31/04 (2006.01) *A23L 33/00* (2006.01)
A61P 31/14 (2006.01) *A23L 29/00* (2006.01)

УСНИНОВАЯ КИСЛОТА ИЛИ ЕЕ КОМПЛЕКСЫ ВКЛЮЧЕНИЯ ДЛЯ ПРИМЕНЕНИЯ В ЛЕЧЕНИИ ИНФЕКЦИЙ, ВЫЗВАННЫХ КОРОНАВИРУСОМ ИЛИ БАКТЕРИЯМИ

Настоящее изобретение относится к смеси М, содержащей или, альтернативно, состоящей из: (а) усниновой кислоты и/или (b) ее родственной соли, и/или (с) соединения включения (сi), либо их смеси, где указанное соединение включения (сi) содержит или, альтернативно, состоит из: (i) указанной (а) усниновой кислоты и/или ее указанной (b) родственной соли и (ii) циклодекстрина, предпочтительно бета-циклодекстрина, где указанная смесь М предназначена для применения в качестве лекарственного средства. Кроме того, настоящее изобретение относится к композиции, предпочтительно к композиции для перорального, либо назального, либо отиатрического применения (полость рта, горло, нос и ухо), содержащей указанную смесь М и возможно по меньшей мере одно из приемлемых добавок и/или эксципиентов фармацевтического или пищевого класса; где указанная композиция предназначена для применения в качестве лекарственного средства. Наконец, настоящее изобретение относится к указанной смеси М и указанной композиции, содержащей указанную смесь М, для применения в способе лечения бактериальных инфекций, стимулированных или вызванных грамположительными и или грамотрицательными бактериями, или для применения в способе лечения вирусных инфекций, стимулируемых или вызываемых вирусами, при этом указанная смесь М и указанная содержащая смесь М композиция способны к ингибированию спайкового белка вируса, выбранного из группы, содержащей или, альтернативно, состоящей из коронавирусов, предпочтительно вируса SARS-CoV-2. Коронавирусное заболевание (COVID-19) представляет собой инфекцию, вызываемую вирусом SARS-CoV-2 (SARS означает тяжелый острый респираторный синдром).

Настоящее изобретение относится к смеси М и к содержащей указанную смесь М композиции в качестве противовирусного агента, предпочтительно для перорального, либо назального, либо отиатрического (полость рта, горло, нос и ухо) применения в качестве противовирусного агента, предпочтительно для применения в лечении вирусных инфекций

дыхательной системы и симптомов или расстройств, возникающих вследствие указанных вирусных инфекций или связанных с ними, предпочтительно вирусных инфекций, вызванных SARS-коронавирусом (например, вирусом SARS-CoV-2, вызывающим заболевание COVID-19).

Вирусные инфекции дыхательных путей, как свидетельствует само название, представляют собой инфекционные заболевания, вызванные вирусами, которые поражают органы верхних и/или нижних отделов дыхательной системы (нос, полость рта, горло, глотку, гортань, трахею, бронхи и легкие). Предпочтительно настоящее изобретение относится к вирусным инфекциям, вызванным по меньшей мере одним вирусом из вида коронавирус, вызывающий тяжелый острый респираторный синдром, сокращенно SARS-CoV. Указанные вирусы вида SARS-CoV представляют собой РНК-вирусы положительной нити РНК (группа IV классификации по Балтимору), относящиеся к роду *Betacoronavirus*. Вирус вида коронавирус, вызывающий тяжелый острый респираторный синдром, представляет собой вирус, вызвавший эпидемию SARS 2002–2003 гг. в Китае, относящийся к штамму SARS-CoV. Он был впервые обнаружен в ноябре 2002 г. в китайской провинции Гуандун. С 1 ноября 2002 г. по 31 августа 2003 г. этим вирусом было инфицировано 8096 человек примерно в тридцати странах, что вызвало 774 летальных исхода, главным образом в Китае, Гонконге, на Тайване и во всей Юго-Западной Азии. К концу 2019 г. второй вирус вида коронавирус, вызывающий тяжелый острый респираторный синдром, относящийся к штамму SARS-CoV-2 или, альтернативно, 2019-nCoV, вызвал новую эпидемию заболевания SARS Китае и остальных странах мира, более известного как COVID-19 (*COronaVirus Disease 19*, также известно как острое респираторное заболевание SARS-CoV-2 или коронавирусное заболевание 2019, а также коронавирусный синдром 2019).

ГРАФИЧЕСКИЕ МАТЕРИАЛЫ

На Фиг. 1 и 2 изображены гистограммы, показывающие процент жизнеспособности клеток после 8 часов и 24 часов соответственно в присутствии различных концентраций комплекса усниновой кислоты и β -циклодекстрина на линии клеток Vero E6.

На Фиг. 3 изображена гистограмма, показывающая значение люминесценции по мере изменения множественности инфекции (МИ) псевдовirusами на линии клеток Vero E6.

На Фиг. 4 А–В, 5 А–В и 6 А–В: изображены гистограммы, показывающие количество испускаемой люминесценции (А) и проникновение псевдовirusа в клетки Vero E6 (В) по прошествии 1 часа предварительной инкубации псевдовirusа, содержащего спайковый белок SARS-CoV-2, при МИ 10 с комплексом усниновой кислоты и β -

циклодекстринов в концентрации 0,01%, 0,03% и 0,05% соответственно, по сравнению с результатами, полученными без предварительной инкубации псевдовirusа с вирицидным комплексом (контроль).

На Фиг. 7 приведен пример технологической блок-схемы процесса для получения усниновой кислоты в соответствии с возможным воплощением.

На Фиг. 8 показано среднее распределение твердых частиц усниновой кислоты в соответствии с возможным воплощением.

КРАТКОЕ ИЗЛОЖЕНИЕ СУЩНОСТИ ИЗОБРЕТЕНИЯ

В первом аспекте настоящее изобретение относится к смеси М (или к композиции, содержащей указанную смесь М и добавки/эксципиенты), как определено в настоящем изобретении, для применения в способе лечения вирусных инфекций, предпочтительно вирусных инфекций дыхательных путей, более предпочтительно вирусных инфекций (например, дыхательных путей), вызванных коронавирусом, например SARS-CoV-2).

Во втором аспекте настоящее изобретение относится к способу лечения вирусных инфекций, предпочтительно вирусных инфекций дыхательных путей, более предпочтительно вирусных инфекций (например, дыхательных путей), вызванных коронавирусом, например SARS-CoV-2), где указанный способ лечения предусматривает введение нуждающемуся в этом субъекту терапевтически эффективного количества указанной смеси М (или указанной композиции, содержащей указанную смесь М и добавки/эксципиенты), как определено в настоящем изобретении.

В третьем аспекте настоящее изобретение относится к смеси М (или к композиции, содержащей указанную смесь М и добавки/эксципиенты), как определено в настоящем изобретении, для применения в способе лечения бактериальных инфекций, предпочтительно бактериальных инфекций дыхательных путей, более предпочтительно бактериальных инфекций, вызванных грамположительными и/или грамотрицательными бактериями.

В четвертом аспекте настоящее изобретение относится к способу лечения бактериальных инфекций, предпочтительно бактериальных инфекций дыхательных путей, более предпочтительно бактериальных инфекций, вызванных грамположительными и/или грамотрицательными бактериями, где указанный способ лечения предусматривает введение нуждающемуся в этом субъекту терапевтически эффективного количества указанной смеси М (или указанной композиции, содержащей указанную смесь М и добавки/эксципиенты), как определено в настоящем изобретении.

ПОДРОБНОЕ ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ

В результате обширных исследований и разработки, предпринятых заявителем, ему удалось решить проблему, связанную с лечением бактериальных инфекций и вирусных инфекций, предпочтительно вирусных инфекций дыхательных путей (верхних и нижних дыхательных путей), в частности вирусных инфекций дыхательных путей, вызванных по меньшей мере одним вирусом вида коронавирус, вызывающий тяжелый острый респираторный синдром (такой как штамм SARS-CoV, SARS-CoV-2/2019-nCoV, вызывающий заболевание, известное, как COVID-19, или SARS-CoV-подобный штамм), путем обеспечения смеси М и композиции, содержащей указанную смесь М, для применения в качестве лекарственного средства, предпочтительно для перорального или назального применения.

Объектом настоящего изобретения является смесь М, содержащая или, альтернативно, состоящая из: (а) усниновой кислоты и/или (b) ее родственной соли, и/или (с) соединения включения (сi), либо их смесей, где указанное соединение включения (сi) содержит или, альтернативно, состоит из: (i) указанной (а) усниновой кислоты и/или ее указанной (b) родственной соли и (ii) циклодекстрина, где указанная смесь М предназначена для применения в качестве лекарственного средства.

Объектом настоящего изобретения является композиция, содержащая смесь М и, возможно, по меньшей мере одно из приемлемой добавки или эксципиента фармацевтического или пищевого класса, где указанная композиция предназначена для применения в качестве лекарственного средства.

Смесь М и композиция, содержащая указанную смесь М, обладают антибактериальной или бактериостатической и противовирусной активностью и способны к ингибированию спайкового белка вируса, выбранного из группы, содержащей или, альтернативно, состоящей из коронавирусов, предпочтительно SARS-CoV-2.

В одном воплощении указанная смесь М (или композиция, содержащая указанную смесь М) предназначена для применения в способе лечения бактериальных инфекций, стимулируемых или вызываемых грамположительными и/или грамотрицательными бактериями.

В другом воплощении указанная смесь М (или композиция, содержащая указанную смесь М) предназначена для применения в способе лечения вирусных инфекций, стимулируемых или вызываемых вирусами. Предпочтительно указанная смесь М (или композиция, содержащая указанную смесь М) способна к ингибированию спайкового белка вируса, выбранного из группы, содержащей или, альтернативно, состоящей из коронавирусов, предпочтительно SARS-CoV-2.

Проведены наблюдение и оценка способности/возможностей усниновой кислоты, предпочтительно комбинации или ассоциации правовращающей усниновой кислоты природного происхождения D(+) и левовращающей усниновой кислоты природного происхождения L(-) 50%-50%, предпочтительно только правовращающей формы D(+), к связыванию с по меньшей мере одной протеазой SARS-CoV-2 и/или с по меньшей мере одним рецептор-связывающим доменом (RBD) SARS-CoV-2. Неожиданно была получена положительная оценка лучшей связывающей аффинности природной усниновой кислоты совместно с природной натриевой солью усниновой кислоты, предпочтительно усниновой кислоты и ее соли только в правовращающей форме D(+), в отношении по массе (усниновая кислота: натриевая соль усниновой кислоты), находящемся в диапазоне от 1:10 до 10:1 (например, 1:9, 1:8, 1:7, 1:6, 1:5, 1.4, 1:3, 1:2, 1:1, 2:1, 3:1, 4:1, 5:1, 6:1, 7:1, 8:1 или 9:1), предпочтительно от 1:5 до 5:1, например от 1:3 до 3:1, от 1:2 до 2:1 или 1:1, в отношении по меньшей мере одной основной протеазы SARS-CoV-2 и/или по меньшей мере одного RBD (например, 6M0J) спайкового белка SARS-CoV-2.

Такая же тенденция в отношении улучшенной связывающей аффинности также наблюдалась с указанным (c) соединением включения (ci), где указанное соединение включения (ci) содержит или, альтернативно, состоит из (i) указанной (a) усниновой кислоты и/или указанной (b) ее родственной соли и (ii) циклодекстрина, предпочтительно бета-циклодекстрина. Также в этом случае усниновая кислота, предпочтительно комбинация или ассоциация правовращающей усниновой кислоты природного происхождения D(+) и левовращающей усниновой кислоты природного происхождения L(-) 50%-50%, предпочтительно имеет только правовращающую форму D(+). Усниновая кислота обладает возможностью связывания по меньшей мере одной протеазы SARS-CoV-2 и/или по меньшей мере одного RBD спайкового белка SARS-CoV-2. Была получена положительная оценка лучшей связывающей аффинности природной усниновой кислоты совместно с природной натриевой солью усниновой кислоты, предпочтительно усниновой кислоты и ее соли только в правовращающей форме D(+), в отношении по массе (усниновая кислота: натриевая соль усниновой кислоты), находящемся в диапазоне от 1:10 до 10:1 (например, 1:9, 1:8, 1:7, 1:6, 1:5, 1.4, 1:3, 1:2, 1:1, 2:1, 3:1, 4:1, 5:1, 6:1, 7:1, 8:1 или 9:1), предпочтительно от 1:5 до 5:1, например от 1:3 до 3:1, от 1:2 до 2:1 или 1:1, в отношении по меньшей мере одной основной протеазы SARS-CoV-2 и/или по меньшей мере одного RBD (например, 6M0J) спайкового белка SARS-CoV-2.

Указанная лучшая связывающая аффинность смеси M или композиции по настоящему изобретению в отношении по меньшей мере одной основной протеазы SARS-

CoV-2 и/или по меньшей мере одного RBD (например, 6M0J) спайкового белка SARS-CoV-2 наблюдалась, в частности, если указанная смесь М содержала или, альтернативно, состояла из указанного (сi) соединения включения, содержащего или, альтернативно, состоящего из (a) усниновой кислоты и (ii) циклодекстрина: альфа-, бета- и/или гамма-циклодекстрина, предпочтительно бета-циклодекстрина, предпочтительно где отношение по массе (a) усниновой кислоты и (ii) циклодекстрина, предпочтительно бета-циклодекстрина [(a):(ii)], содержится в количестве, находящемся в диапазоне от 1:5 до 5:1, предпочтительно от 1:3 до 3:1, еще более предпочтительно от 1:2 до 2:1, например, около 1:1 или 1:2 (усниновая кислота:циклодекстрин).

В одном воплощении указанная смесь М (или композиция, содержащая указанную смесь М) содержит или, альтернативно, состоит из указанной (a) усниновой кислоты природного происхождения, которая предпочтительно имеет рацемическую форму 50% (+) и 50% (-) или только правовращающую форму D(+). Указанное (b) предпочтительно представляет собой соль усниновой кислоты природного происхождения. Указанная соль представляет собой соль щелочного металла или щелочноземельного металла; предпочтительно указанная соль усниновой кислоты природного происхождения представляет собой натриевую соль усниновой кислоты.

В одном воплощении смесь М (или композиция, содержащая указанную смесь М) содержит или, альтернативно, состоит из указанной (a) усниновой кислоты природного происхождения; предпочтительно указанная смесь М (или композиция, содержащая указанную смесь М) предназначена либо для перорального, либо для назального, либо для отиатрического (полость рта, горло, нос и ухо) применения в способе лечения бактериальных или вирусных инфекций, поражающих людей и животных, предпочтительно предназначена для перорального применения в области медицины и ветеринарии. Составляющая предмет настоящего изобретения смесь М и композиция, содержащая указанную смесь М, не применяются ни в лечении кариеса зубов, ни в профилактическом лечении кариогенных зубных бляшек, ни, гораздо меньше, против (грамположительной) бактерии *Streptococcus mutans*, являющейся одним из патогенных организмов, вызывающих кариес и кариогенные очаги поражения.

В другом воплощении смесь М (или композиция, содержащая указанную смесь М) содержит или, альтернативно, состоит из указанной (a) усниновой кислоты природного происхождения; предпочтительно указанная смесь М (или композиция, содержащая указанную смесь М) предназначена для применения в способе лечения вирусной инфекции дыхательной системы и симптомов и/или расстройств, возникающих вследствие указанной

вирусной инфекции или связанных с ней; предпочтительно вирусных инфекций верхних дыхательных путей и/или нижних дыхательных путей. Указанную вирусную инфекцию стимулирует или вызывает вирус семейства *Coronaviridae*, подсемейства: *Coronavirinae*, рода: *Betacoronavirus*, вида: коронавирусы, вызывающий тяжелый острый респираторный синдром, выбранным из штаммов: коронавирусы, вызывающий тяжелый острый респираторный синдром (SARS-CoV), коронавирусы-2, вызывающий тяжелый острый респираторный синдром (SARS-CoV-2 или 2019-nCoV) и ответственный за заболевание COVID-19, и коронавирусы, подобный коронавирусу, вызывающему тяжелый острый респираторный синдром (SARS-CoV-подобный или SL-CoV); предпочтительно SARS-CoV-2. Указанная смесь М обладает возможностью связывания по меньшей мере одной протеазы SARS-CoV-2 и/или по меньшей мере одного RBD (например, 6M0J) спайкового белка SARS-CoV-2.

В одном воплощении смесь М (или композиция, содержащая указанную смесь М) предназначена для применения в способе лечения симптомов и/или расстройств, где указанные симптомы и/или расстройства (возникающие вследствие указанной вирусной инфекции или связанных с ней) выбраны из: тяжелого острого респираторного синдрома (SARS), осложнений со стороны дыхательной системы, бронхиальной астмы, хронической обструктивной болезни легких (ХОБЛ), бронхита, эмфиземы легких, муковисцидоза, кашля, коклюша, пневмонии, плеврита, бронхолита, острого респираторного заболевания, синусита, ринита, трахеита, фарингита, ларингита, острого ларинготрахеобронхита, эпиглоттита, бронхоэктаза, затрудненного дыхания, одышки, дыхательной недостаточности, удушья, лихорадки, утомляемости, мышечных болей, боли в мышце, заложенности носа, насморка, першения в горле, желудочно-кишечных симптомов, тошноты, диареи, почечной недостаточности, потери аппетита, ощущения общего недомогания.

В одном воплощении смесь М (или композиция, содержащая указанную смесь М) содержит или, альтернативно, состоит из указанной (а) усниновой кислоты природного происхождения, присутствующей в виде комбинации или ассоциации (С/А) между правовращающей природной усниновой кислотой D(+) и левовращающей природной усниновой кислотой L(-); предпочтительно правовращающая форма D(+) содержится в количестве, находящемся в диапазоне от 0,1% до 99,9% по массе (например (1%, 10%, 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80% или 90%)) по отношению к общей массе комбинации или ассоциации (С/А), и/или левовращающая форма L(-) содержится в количестве, находящемся в диапазоне от 99,9% до 0,1% по массе (например, 90%, 80%, 70%, 60%, 50%,

40%, 30%, 20% или 10%) по отношению к общей массе комбинации или ассоциации. Предпочтительно указанная (а) усниновая кислота природного происхождения имеет рацемическую форму 50% (+) и 50% (-) или правовращающую форму D(+) (100%).

В одном воплощении смесь М (или композиция, содержащая указанную смесь М) содержит или, альтернативно, состоит из указанной (b) соли усниновой кислоты природного происхождения, которая присутствует в форме соли щелочного металла или щелочноземельного металла; предпочтительно указанная соль усниновой кислоты природного происхождения представляет собой натриевую соль усниновой кислоты. Предпочтительно указанная (b) соль усниновой кислоты природного происхождения имеет рацемическую форму или правовращающую форму D(+); предпочтительно указанная соль может присутствовать в правовращающей форме D(+) в количестве, находящемся в диапазоне от 0,1% до 99,9% по массе (например (1%, 10%, 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80% или 90%) по отношению к общей массе комбинации или ассоциации (C/A), и/или в левовращающей форме L(-) в количестве, находящемся в диапазоне от 99,9% до 0,1% по массе (например, 90%, 80%, 70%, 60%, 50%, 40%, 30%, 20% или 10%), по отношению к общей массе комбинации или ассоциации (C/A).

Предпочтительно указанная (а) усниновая кислота природного происхождения и указанная (b) ее родственная соль присутствуют в смеси М (или композиции, содержащей указанную смесь М) в отношении по массе, находящемся в диапазоне от 1:10 до 10:1 (например, 1:9, 1:8, 1:7, 1:6, 1:5, 1:4, 1:3, 1:2, 1:1, 2:1, 3:1, 4:1, 5:1, 6:1, 7:1, 8:1 или 9:1), предпочтительно от 1:5 до 5:1, еще более предпочтительно от 1:3 до 3:1, например 1:1.

Предпочтительно указанная (а) усниновая кислота природного происхождения и указанная (b) ее родственная соль присутствуют в смеси М (или композиции, содержащей указанную смесь М) в количестве по массе, находящемся в диапазоне от 1:10 до 9:10 (например, 1,5:10, 2:10, 2,5:10, 3:10, 3,5:10, 4:10, 4,5:10, 5:10, 5,5:10, 6:10, 6,5:10, 7:10, 7,5:10, 8:10 или 8,5:10), предпочтительно от 1:10 до 6:10 или от 4:10 до 8:10, по отношению к общей массе смеси М (или композиции, содержащей указанную смесь М), где масса указанной смеси М равна 10.

Химическим наименованием усниновой кислоты (D(+)) и/или L(-)) является 2,6-диацетил-7,9-дигидрокси-8,9b-диметил-1,3(2H,9bH)-добензофурандион или 2,6-диацетил-7,9-дигидрокси-8,9b-диметилдобензо[b,d]фуран-1,3(2H,9bH)-дион.

Предпочтительно усниновая кислота, которую можно использовать в настоящем изобретении, может быть представлена соединением: (+)-усниновая кислота 2,6-диацетил-7,9-дигидрокси-8,9b-диметилдобензо[b,d]фуран-1,3(2H,9bH)-дион; (+)-усниновая кислота

от *Usnea*; например, регистрационный номер CAS (+) усниновой кислоты: 7562-61-0, ЕС (+) усниновой кислоты: 231-456-0; предпочтительно натриевая соль усниновой кислоты, которую можно использовать в настоящем изобретении, может быть представлена соединением: моноватриевая соль 2,6-диацетил-7,9-дигидрокси-8,9b-диметилдибензо-1,3(2H,9bH)-диона; регистрационный номер CAS: 34769-44-3, ЕС: 252-204-6; предпочтительно чистота указанной (а) усниновой кислоты и/или указанной (b) соли усниновой кислоты находится в диапазоне от 95% до 99,9%, предпочтительно от 96% до 99,5%, еще более предпочтительно от 97% до 98% или 98%, например 98% (% масс/масс).

Объектом настоящего изобретения является смесь М (или композиция, содержащая указанную смесь М), где указанная смесь М (или композиция, содержащая указанную смесь М) содержит или, альтернативно, состоит из (с) соединения включения (CI), содержащего или, альтернативно, состоящего из: (i) указанной (а) усниновой кислоты и/или указанной (b) ее родственной соли и (ii) циклодекстрина: альфа-, бета- и/или гамма-циклодекстрина, предпочтительно бета-циклодекстрина, где указанная смесь М (или композиция, содержащая указанную смесь М) предназначена для применения в качестве лекарственного средства; предпочтительно для применения в способе лечения бактериальных инфекций, стимулируемых или вызываемых грамположительными и/или грамотрицательными бактериями, или для применения в способе лечения вирусных инфекций, стимулируемых или вызываемых вирусами. Предпочтительно указанная смесь М (или композиция, содержащая указанную смесь М), содержащая указанное соединение включения (ci), обладает возможностью ингибирования спайкового белка вируса, выбранного из группы, содержащей или, альтернативно, состоящей из коронавирусов; более предпочтительно указанное соединение включения (ci) обладает возможностью связывания по меньшей мере одной протеазы SARS-CoV-2 и/или по меньшей мере одного RBD спайкового белка (например, 6M0J) SARS-CoV-2.

В контексте описания настоящего изобретения выражение «соединение включения» используется для указания типа химической структуры, подобного химическому комплексу, в котором химическое соединение («хозяин») может иметь полости (например, либо одну, либо две, либо три полости, предпочтительно одну) определенных размеров, идентичных или отличающихся друг от друга, в которых могут быть размещены, расположены или установлены молекулы (например, либо одна, либо две, либо три молекулы, предпочтительно одна) второго химического соединения («гостя»), имеющие размеры, подобные размерам соответствующих полостей, где молекулы «хозяина» и «гостя» связаны нековалентной связью, как правило, посредством межмолекулярных сил,

таких как ван-дер-ваальсовы силы, либо электростатические связи или взаимодействия между заряженными молекулами «хозяина» и «гостя» с зарядами противоположного знака.

«Соединение включения» можно получить, например, путем приведения в контакт (а) и/или (b) с (ii) циклодекстрином в заданных массовых отношениях, предпочтительно в форме либо порошков, либо гранул, либо хлопьев, при перемешивании (а) и/или (b) с (ii) циклодекстрином в течение заданного времени в оборудовании, которое позволяет выполнять механическое перемешивание, такое как, например, шаровая мельница, с получением (ci). Циклодекстрины представляют собой натуральные циклические олигосахариды, образованные мономерами 6, 7 или 8 D-(+) глюкопиранозы, соединенными вместе α ,1–4 глюкозидной связью и замкнутыми в кольцо, которое имеет полости (например, одну или две полости) заданных размеров, идентичных или отличающихся друг от друга.

В соединении включения (ci) по настоящему изобретению циклодекстрины (ii) образуют молекулярную клетчатую структуру, ограничивающую липофильную полость с возможностью размещения в ней указанной (i), например усниновой кислоты (а) или ее соли (b), либо их смесей, за счет энергии, обеспечиваемой механическим ударом и/или силой перемешивания в условиях шаровой мельницы.

Предпочтительно указанные циклодекстрины (ii), используемые в соединении включения (ci), выбраны из группы, содержащей или, альтернативно, состоящей из α -циклодекстринов, β -циклодекстринов, γ -циклодекстринов и их смесей. Более предпочтительно указанные циклодекстрины (ii) представляют собой бета-циклодекстрины.

Предпочтительно указанный по меньшей мере один циклодекстрин (ii), содержащийся в соединении включения (ci) вместе с (а) и/или (b), представляет собой бета-циклодекстрин; предпочтительно он представляет собой (2-гидроксипропил)- β -циклодекстрин; указанный по меньшей мере один циклодекстрин (ii) присутствует в указанном соединении включения (ci) в отношении по массе, находящемся в диапазоне от 3:1 до 1:3, предпочтительно в диапазоне от 2:1 до 1:2, более предпочтительно в диапазоне от 1,5:1 до 1:1,5, еще более предпочтительно составляющем 1:1, по отношению к указанному (а) и/или указанному (b) (*m. e.* [(ii):(a)] или [(ii):[(a)+b)]]). Примером (2-гидроксипропил)- β -циклодекстрина, который можно использовать в контексте настоящего изобретения, является (2-гидроксипропил)- β -циклодекстрин, имеющий среднюю молекулярную массу, находящуюся в диапазоне от около 1350–1380 до 1460–1480, и/или регистрационный номер CAS 128446-35-5.

В предпочтительном воплощении указанная смесь М (или композиция, содержащая указанную смесь М) состоит из указанного (с) соединения включения (сi), содержащего или, альтернативно, состоящего из указанной (а) усниновой кислоты (или ее соли) и (ii) бета-циклодекстрина, предпочтительно (2-гидроксипропил)-β-циклодекстрина.

В предпочтительном воплощении указанная смесь М (или композиция, содержащая указанную смесь М) состоит из указанного (с) соединения включения (сi), содержащего или, альтернативно, состоящего из: указанной (а) усниновой кислоты (или ее соли) и указанного (ii) бета-циклодекстрина (предпочтительно (2-гидроксипропил)-β-циклодекстрина), где указанная (а) усниновая кислота и указанный (ii) бета-циклодекстрин присутствуют в отношении по массе [(а):(ii)], находящемся в диапазоне от 1:5 до 5:1, предпочтительно от 1:3 до 3:1, еще более предпочтительно от 1:2 до 2:1, например, около 1:1 или 1:2 (усниновая кислота:циклодекстрин).

Согласно одному примеру указанное соединение включения (сi), содержит или, альтернативно, состоит из (а) усниновой кислоты (или ее соли) и (ii) бета-циклодекстрина (предпочтительно (2-гидроксипропил)-β-циклодекстрина) в отношении по массе [(а):(ii)] около 1:1 или 1:2, где предпочтительно указанная (а) усниновая кислота представляет собой D(+) усниновую кислоту в виде по существу чистого энантиомера и указанный (ii) β-циклодекстрин представляет собой бета-циклодекстрин =(2-гидроксипропил)-β-циклодекстрин.

Предпочтительно указанная смесь М (или композиция, содержащая указанную смесь М) согласно любому из описанных воплощений может находиться в твердом или мягком состоянии, в диспергированной или суспендированной форме, в форме геля или в жидком состоянии; предпочтительно указанная смесь М (или композиция, содержащая указанную смесь М) может иметь форму хлопьев, гранул, порошков, пеллет, либо может представлять собой водный или водно-спиртовой раствор или раствор в органических растворителях, такой как, например, водный раствор в виде спрея (который можно распылять (распыляемый)).

Предпочтительно указанная (а) усниновая кислота природного происхождения и/или ее указанная (b) родственная соль имеют порошкообразную твердую форму со средним размером частиц, находящимся в диапазоне от 0,1 или 1 микрометров до 100 микрометров (например, 0,5 мкм, 5 мкм, 10 мкм, 20 мкм, 30 мкм, 40 мкм, 50 мкм, 60 мкм, 70 мкм, 80 мкм или 90 мкм), предпочтительно от 5 микрометров до 50 микрометров, еще более предпочтительно от 10 микрометров до 20 микрометров (микрометры = мкм; 1 мкм = 10⁻⁶ м; размеры ячеек имеют порядок величины, находящийся в диапазоне от около 10

мкм до около 50 мкм).

В одном воплощении указанная смесь М (или композиция, содержащая указанную смесь М) согласно любому из описанных воплощений предназначена для применения в области медицины или ветеринарии в качестве антибактериального агента, антибактериального антипролиферативного агента, бактериостатического агента, бактерицидного агента, противогрибкового агента, противодрожжевого агента (пример *Candida*), противогрибкового или антимикотического агента (пример *Saccharomycetes*), предпочтительно предназначена для применения против грамположительных и/или грамотрицательных бактерий, таких как, например, бактерии, имеющие научное название *Klebsiella*, *Enterobacteriaceae*, *Enterobacter*, *Pseudomonas* и *Escherichia*.

Указанная смесь М (или композиция, содержащая указанную смесь М) согласно любому из описанных воплощений также предназначена для применения в качестве антибактериального или бактериостатического агента как против грамположительных бактерий, так и против грамотрицательных бактерий; где указанные бактерии предпочтительно выбраны из группы, содержащей или, альтернативно, состоящей из: *Escherichia coli*, *Klebsiella*, *Acinetobacter baumannii*, *Staphylococcus aureus*, метициллин-резистентного *Staphylococcus aureus* (MRSA), *Enterococcus*, ванкомицин-резистентного *Enterococcus spp.* (VRE), *Actinobacter*, *Actinobacter spp.*, *Clostridium difficile* и их комбинаций.

Преимущественно усниновую кислоту и/или ее родственную соль, которую можно использовать в контексте настоящего изобретения (например, в соединении включения (ci)), экстрагируют из лишайников; предпочтительно указанные лишайники выбраны из группы, содержащие или, альтернативно, состоящей из *Usnea*, *Cladonia*, *Hypotrachyna*, *Lecanora*, *Ramalina*, *Evernia*, *Parmelia*, *Alectoria* и их комбинаций, более предпочтительно указанные лишайники выбраны из *Usnea*, еще более предпочтительно из *Usnea longissima* Ach.

В соединении включения (ci) по настоящему изобретению указанные циклодекстрины (ii) содержат или, альтернативно, состоят из бета-циклодекстринов, предпочтительно указанный циклодекстрин (ii) представляет собой (2-гидроксипропил)-β-циклодекстрин, более предпочтительно в отношении по массе (ii):(i), равном около 1:1.

Указанное соединение включения (ci) содержит вместе с указанным (ii) циклодекстрином твердые частицы указанной (a) усниновой кислоты, предпочтительно D(+)-усниновой кислоты в виде чистого энантиомера (или в виде по существу чистого энантиомера), или ее родственной соли, где указанные твердые частицы имеют среднее

распределение частиц по размеру, находящееся в диапазоне от 0,01 мкм до 50 мкм (например, 0,1 мкм, 0,5 мкм, 1 мкм, 10 мкм, 20 мкм, 30 мкм или 40 мкм), предпочтительно находящееся в диапазоне от 0,1 мкм до 30 мкм, более предпочтительно находящееся в диапазоне от 0,15 мкм до 20 мкм, еще более предпочтительно находящееся в диапазоне от 0,2 мкм до 15 мкм.

Указанное среднее распределение частиц указанной (а) усниновой кислоты по размеру можно определять и измерять, например, используя метод лазерной дифракции согласно стандарту GB/T 19077-2016, например, используя прибор Malvern Mastersizer 3000. Указанный стандарт подразумевается в версии, действительной на момент действия настоящей заявки на патент.

Предпочтительно указанные твердые частицы указанной (а) усниновой кислоты имеют среднее распределение частиц по размеру, такое как $D_{10} = 0,236$ мкм, $D_{50} = 1,570$ мкм и $D_{90} = 31,800$ мкм.

В одном воплощении настоящего изобретения указанные твердые частицы имеют распределение в соответствии с картой на Фиг. 8.

Объектом настоящего изобретения является композиция, содержащая смесь М и, возможно, по меньшей мере одно из приемлемой добавки и/или эксципиента фармацевтического или пищевого класса, где указанная композиция предназначена для применения в качестве лекарственного средства.

В одном воплощении указанная композиция представляет собой фармацевтическую композицию, композицию медицинского изделия в соответствии с Регламентом (ЕС) 2017/745, композицию продукта питания для специальных медицинских целей (Food for Special Medical Purposes, FSMP), композицию для *Нового продукта питания* в соответствии с Регламентом (ЕС) 2015/2283 или композицию пищевых продуктов или пищевых добавок.

В одном воплощении указанная композиция предназначена для внутреннего, наружного, парентерального, местного, дерматологического применения; или для применения на тканях, коже или слизистой оболочке; либо предназначена для перорального, назального, глазного применения; либо предназначена для применения в ушном канале, горле, трахее, пищеводе, глазу, носу или ухе; либо предназначена для применения на слизистой оболочке полости рта, слизистой оболочке полости носа, слизистой оболочке глаза или ушного канала; либо предназначена для применения в желудке, кишечнике, желудочно-кишечном тракте; либо предназначена для вагинального или ректального применения, как в области медицины, так и в области ветеринарии, для человека и животных.

Предпочтительно указанная композиция имеет твердую форму, выбранную из: таблеток, жевательных таблеток, таблеток, растворяющихся в полости рта, гранул, порошка, хлопьев, растворимого или водорастворимого порошка или гранул, порошков или гранул, растворяющихся в полости рта, капсул; либо жидкую форму, выбранную из: растворов, суспензий, дисперсий, эмульсий, жидкость, которую можно дозировать в форме спрея, перорального спрея или назального спрея, сухого порошка для пероральной ингаляции, аэрозоля, перорального аэрозоля или назального аэрозоля, сиропов; либо в полужидкой или мягкой форме, выбранной из: мягкого геля, геля, мази, крема, крема для местного (накожного), перорального, глазного или назального применения.

В одном воплощении композицию по настоящему изобретению включают в лекарственную форму с использованием по меньшей мере одного из приемлемых добавок и/или эксципиентов фармацевтического или пищевого класса, которые выбраны из: коллагена, хондроитина, гиалуроновой кислоты или ее соли, такой как гиалуронат натрия, витаминов, аминокислот, антиоксидантов, диоксида кремния, целлюлозы, карбоксиметилцеллюлозы (КМЦ), карбоксиэтилцеллюлозы, карбоксипропилцеллюлозы, гидроксипропилцеллюлозы (ГПЦ), гидроксипропилметилцеллюлозы (ГПМЦ), гидроксиметилцеллюлозы, гидроксипропилцеллюлозы, полоксамеров, волокон, инулина, мальтодекстрина, жиров, восков, масел, животных масел, растительных масел, вазелина, карбоната, бикарбоната, солей аммония, хлорида натрия, глин, каолина, антиоксидантов, таких как, например, глутатион, кверцетин, коэнзим Q10 или витамины, в частности витамины группы С или Е, такие как, например, токоферолы и токотриенолы, токотриенолы растительного происхождения, такие как, например, токотриенолы из риса, консервантов, таких как, например, бензоат натрия и калия, либо сорбат натрия или калия, минеральные соли, хлорид натрия, и рН-буферных растворов, таких как, например, лимонная кислота и ее растворимая соль, например моногидрат лимонной кислоты.

Цель предпочтительного воплощения композиции, составляющей предмет настоящего изобретения, состоит в обеспечении жидкого водного раствора, который вводят с помощью распылителя или аэрозольного баллончика. Указанную композицию включают в лекарственную форму, используя приемлемые добавки и/или эксципиенты фармацевтического или пищевого класса, которые позволяют в случае жидкой композиции, например, при комнатной температуре около 20°C или 5°C, наносить ее посредством назального пути субъекту с температурой тела, например, находящейся в диапазоне от 36°C до 40°C, с доведением жидкой водной композиции до комнатной температуры, при которой

она приобретает консистенцию геля. Например, их можно использовать в водной композиции, предназначенной для распыления, объединения или связывания с (а) и/или (b) и (ii) циклодекстрином, гидроксипропилметилцеллюлозой (ГПМЦ) и токотриенолами, предпочтительно токотриенолами из риса. Предпочтительно токотриенолы из риса (*Oryza sativa* L.) могут иметь форму диспергируемого в воде порошка, например, в которой содержание токотриенола находится в диапазоне от 5% до 75%, предпочтительно от 15% до 60%, например 25%, или 30%, или 40%, или 50% по массе (продукт под торговым наименованием TheraPrimE®-BGG). Диспергируемый в воде порошок может также содержать, вместе с токотриенолами, предпочтительно мальтодекстрины (9050-36-6), крахмал и диоксид кремния SiO₂ (7631-86-9). Предпочтительно диспергируемый в воде порошок может содержать от 30% до 60% масляного экстракта рисовых отрубей, от 25% до 45% модифицированного крахмала, от 20% до 40% мальтодекстрина и от 0,2 до 1,5% SiO₂. Предпочтительно можно использовать диспергируемый в воде порошок, содержащий смесь токотриенолов и токоферолов в общем количестве по массе, находящемся в диапазоне от 15% до 60%, например 25%, или 30%, или 40%, или 50%; предпочтительно в случае общего содержания в смеси 25% по массе это количество может составлять, например, около 10% по массе токотриенолов и около 15% по массе токоферолов (количество, определенное методом высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ)), при этом в случае общего содержания в смеси 30% по массе это количество может составлять около 15% по массе токотриенолов и около 15% по массе токоферолов, а остальную часть до 100% могут составлять крахмал, мальтодекстрины, SiO₂ и другое. Усниновая кислота D(+) по настоящему изобретению может предпочтительно иметь температуру плавления (ДСК), находящуюся в диапазоне от 190°C до 210°C, предпочтительно от 192°C до 198°C, молекулярное вращение, находящееся в диапазоне от 480° до 540°, предпочтительно от 490° до 520°; значение распределения частиц по размеру (particle size distribution, PSD): D50, находящееся в диапазоне от 1 мкм до 15 мкм, предпочтительно от 2 мкм до 10 мкм, например 5 мкм. Предпочтительно указанная усниновая кислота имеет низкое содержание патогенных микроорганизмов, например, минимальная ингибирующая концентрация (МИК) *Staphylococcus aureus* меньше или равна 500 ppm, а МИК *Escherichia coli* меньше или равна 1000 ppm.

Цель предпочтительного воплощения композиции, составляющей предмет настоящего изобретения, состоит в обеспечении жидкого водного раствора, как указано ниже в таблице:

Ингредиенты	Состав (от x% до y%)			
Вода	94–99	95–98	96–97,8	Жидкие водные растворы при 20°C
КМЦ, или ГПЦ, или ГПМЦ	0,25–2,5	0,5–1,5	0,65–0,95	
Усниновая кислота или натриевая соль	0,0001–0,5	0,0005–0,05	0,001–0,0075	
Бета- циклодекстрин	0,005–0,5	0,0075–0,25	0,01–0,015	
NaCl	0,1–2	0,3–1,5	0,5–0,9	
Бензоат натрия	0,001–1	0,01–0,75	0,05–0,1	
Сорбат калия	0,001–1	0,01–0,75	0,05–0,1	
Токотриенолы или смесь токотриенолов и токоферолов	0,001–1	0,01–0,75	0,05–0,1	
Лимонная кислота	0,001–0,1	0,01–0,005	0,015–0,02	
Общая масса (м/м)	100			
Плотность 1 г/куб. см.				

В одном воплощении композиция по настоящему изобретению, например, такая, как указано в таблице выше, имеет форму водного раствора и содержит или, альтернативно, состоит из:

- воды, предпочтительно деминерализованной воды, в количестве по массе, находящемся в диапазоне от 90% до 99,5%, предпочтительно от 94% до 99%;

- (a) усниновой кислоты и/или (b) соли усниновой кислоты и/или (c) соединения включения (ci) или их смесей, предпочтительно в форме D(+), в количестве по массе, находящемся в диапазоне от 0,0001% до 0,5%, предпочтительно от 0,01 до 0,25%;

- полимера, выбранного из группы, содержащей или, альтернативно, состоящей из: целлюлозы, карбоксицеллюлозы, карбоксиметилцеллюлозы (КМЦ), карбоксиэтилцеллюлозы, карбоксипропилцеллюлозы, гидроксипропилцеллюлозы (ГПЦ), гидроксипропилметилцеллюлозы (ГПМЦ), гидроксиметилцеллюлозы, гидроксиэтилцеллюлозы, гидроксипропилцеллюлозы, полоксамеров, предпочтительно гидроксипропилцеллюлозы (ГПМЦ), в количестве по массе, находящемся в диапазоне от

0,25% до 2,5%, предпочтительно от 0,5% до 1,5%;

- соединения с антиоксидантной активностью, выбранного из группы, содержащей или, альтернативно, состоящей из: глутатиона, кверцетина, коэнзима Q10, витаминов, в частности витаминов группы С или Е, таких как, например, токоферолы и токотриенолы, предпочтительно растительного происхождения, таких как, например, токотриенолы из риса;

- предпочтительно минеральных солей, консервирующих агентов и рН-буферных растворов или стабилизаторов, обычно используемых в данной отрасли промышленности. Указанная композиция в форме водного раствора может предпочтительно иметь значение вязкости при 20°C (мПа•секунда) около 240 +/- 40; значение рН около 5 +/- 0,2, значение плотности около 1,01 +/- 0,1 г/куб. см и микробиологическую нагрузку (общая нагрузка, дрожжи, плесневые грибы, 2 патогенных организма (*Staphylococcus aureus* и *Pseudomonas*)) типа: Общая нагрузка <= 100 КОЕ, дрожжи <= 100 КОЕ, плесневые грибы <= 10 КОЕ и отсутствие патогенных организмов. В одном воплощении композиция по настоящему изобретению, например, такая, как указано в таблице выше, может быть получена с использованием способа получения, включающего или, альтернативно, состоящего из следующих стадий:

1) стадии сушки порошков, предпочтительно активных ингредиентов (а) и/или b и/или (с) соединения включения (сi) и полимеров КМЦ, или ГПЦ, или ГПМЦ при температуре, предпочтительно находящейся в диапазоне от 90°C до 150°C, еще более предпочтительно от 100°C до 110°C;

2) стадии добавления порошков в соответствии со стадией 1) в объеме воды, например 100 литров деминерализованной воды, предпочтительно нагретой до температуры, находящейся в диапазоне от 50°C до 90°C, предпочтительно от 60°C до 80°C +/- 2°C, с получением раствора;

3) стадии перемешивания указанного раствора в соответствии со стадией 2), предпочтительно с использованием магнитной мешалки, например, в течение периода времени, находящегося в диапазоне от 30 минут до 240 минут, предпочтительно от 60 минут до 120 минут, с получением конечного водного раствора; и возможно

4) стадии регулирования и доведения значения рН до значения, находящегося в диапазоне от 5±0,1 до 7±0,1, предпочтительно от 5,5±0,1 до 6,5±0,1, с получением конечного раствора (предмет настоящего изобретения). Предпочтительно указанный конечный раствор готов к упаковке, например, в распылительный контейнер, с получением раствора в виде спрея, который при контакте с температурой тела субъекта принимает

консистенцию, подобную гелю или крему, в частности, при нанесении указанного раствора посредством назального пути.

На прилагаемой Фиг. 7 схематически представлена технологическая блок-схема воплощения процесса получения усниновой кислоты природного происхождения, предпочтительно D(+)-усниновой кислоты. В соответствии с таким воплощением процесса усниновую кислоту в высушенной форме получают после следующих стадий:

(a.1) мацерации и экстракции из растительного материала, выбранного из лишайника, предпочтительно выбранного из группы, содержащей или, альтернативно, состоящей из *Usnea*, *Cladonia*, *Hypotrachyna*, *Lecanora*, *Ramalina*, *Evernia*, *Parmelia*, *Alectoria* и их комбинаций, более предпочтительно *Usnea*, еще более предпочтительно *Usnea longissima* Ach., органическим растворителем, предпочтительно растворителем, выбранным из группы, содержащей или, альтернативно, состоящей из бензола, гексана, ацетона, хлороформа, трихлорэтилена или спиртового растворителя, еще более предпочтительно этанолом, с получением экстракционного раствора, и концентрирования указанного экстракционного раствора с получением концентрированного экстракционного раствора и остаточного растворителя;

(a.2) кристаллизации и фильтрования концентрированного экстракционного раствора, полученного со стадии (a.1), с получением кристаллизованного и фильтрованного продукта экстракции;

(a.3) растворения, фильтрования и концентрирования кристаллизованного и фильтрованного продукта экстракции, полученного со стадии (a.2), с получением концентрированного экстракта и остаточного растворителя;

(a.4) кристаллизации, фильтрования и последующей сушки и измельчения концентрированного экстракта, полученного со стадии (a.3), с получением сухого измельченного экстракта усниновой кислоты, предпочтительно имеющего титр, находящийся в диапазоне от 80% до 99,9%, более предпочтительно находящийся в диапазоне от 90% до 99,5%, еще более предпочтительно находящийся в диапазоне от 95% до 98% (% масс/масс или объем/объем).

Стадию (a.1) мацерации и экстракции предпочтительно проводят в экстракционном резервуаре, предпочтительно выполненном из нержавеющей стали, оборудованном средствами перемешивания и нагревания. Предпочтительно на стадии (a.1) мацерации и экстракции используется отношение [масса растительного материала]:[объем органического растворителя], находящееся в диапазоне от 10:1 до 1:50, предпочтительно находящееся в диапазоне от 5:1 до 1:40, еще более предпочтительно находящееся в

диапазоне от 1:1 до 1:35. Стадию (а.1) мацерации и экстракции предпочтительно проводят при давлении окружающей среды и при температуре, находящейся в диапазоне от 10°C до 80°C, предпочтительно находящейся в диапазоне от 20°C до 70°C, еще более предпочтительно находящейся в диапазоне от 25°C до 60°C.

На стадии (а.1) слоевище (ветвь или вырост) *Usnea (longissima Ach.)* предпочтительно используется вместе с растворителем этилацетатом, например, в количестве 350 кг растительной части и 2600 литров растворителя. Мацерацию предпочтительно проводят при температуре около 25°C и давлении 1 атмосфера в течение периода времени, находящегося в диапазоне от 2 часов до 10 часов, предпочтительно от 4 часов до 8 часов, например, от 5 часов до 6 часов. Мацерацию можно проводить в реакторе, обеспеченном средствами перемешивания, нагревания и рециркуляции жидкостей. Например, мацерацию проводят путем непрерывной рециркуляции дистиллята (растворителя) на растительной части. Экстракцию, проводимую в одну стадию, предпочтительно проводят при температуре около 25°C и давлении 1 атмосфера. Концентрирование используемого для экстракции растворителя, содержащего усниновую кислоту, экстрагируемую из растительной части, предпочтительно проводят с учетом температуры кипения этилацетата, которая составляет около 77,1°C, возможно, также действующей на давление экстракции. Получают плотную концентрированную жидкость и почти полностью регенерированный растворитель.

При кристаллизации и фильтровании на стадии (а.2), следующей за стадией (а.1), для получения кристаллизованного и фильтрованного продукта экстракции предпочтительно используют органический растворитель, выбранный из группы, содержащей или, альтернативно, состоящей из бензола, гексана, ацетона, хлороформа, трихлорэтилена или спиртового растворителя, еще более предпочтительно этанол. При кристаллизации и фильтровании стадии (а.2) предпочтительно используется отношение [концентрированный экстракционный раствор] : [органический растворитель] по объему, находящееся в диапазоне от 10:1 до 1:40, предпочтительно находящееся в диапазоне от 5:1 до 1:30, еще более предпочтительно находящееся в диапазоне от 1:1 до 1:20. При кристаллизации на стадии (а.2) концентрированный экстракционный раствор, полученный со стадии (а.1), предпочтительно охлаждают, чтобы способствовать кристаллизации, более предпочтительно при температуре, находящейся в диапазоне от 1°C до 20°C при давлении окружающей среды, еще более предпочтительно находящейся в диапазоне от 5°C до 15°C при давлении окружающей среды. В конце стадии (а.2) кристаллический материал чистоты по меньшей мере 80%, от 85% до 90%, и в количестве около 20 кг при начальном количестве

полученной растительной части, составляющем 350 кг.

На стадии (а.3), следующей за стадией (а.2), кристаллизованный и фильтрованный продукт экстракции, полученный со стадии (а.2), растворяют, фильтруют и концентрируют с получением концентрированного экстракта и остаточного растворителя. На стадии (а.3) предпочтительно используют органический растворитель, более предпочтительно выбранный из группы, содержащей или, альтернативно, состоящей из бензола, гексана, ацетона, хлороформа, трихлорэтилена или спиртового растворителя, еще более предпочтительно этанол. При растворении на стадии (а.3) предпочтительно используется отношение [масса кристаллизованного и фильтрованного продукта экстракции] : [объем органического растворителя], находящееся в диапазоне от 10:1 до 1:40, предпочтительно находящееся в диапазоне от 5:1 до 1:30, еще более предпочтительно находящееся в диапазоне от 1:1 до 1:20. На стадии (а.3) их растворяют в хлороформе 2х20 кг с получением 20 кг усниновой кислоты минимальной чистоты 98%.

На стадии (а.4), следующей за стадией (а.3), концентрированный экстракт, полученный со стадии (а.3), кристаллизуют, фильтруют и впоследствии сушат и измельчают с получением сухого измельченного экстракта усниновой кислоты. При кристаллизации на стадии (а.4) предпочтительно используют органический растворитель, более предпочтительно выбранный из группы, содержащей или, альтернативно, состоящей из бензола, гексана, ацетона, хлороформа, трихлорэтилена или спиртового растворителя, еще более предпочтительно этанол. При кристаллизации на стадии (а.4) предпочтительно используется отношение [масса концентрированного экстракта]: [объем органического растворителя], находящееся в диапазоне от 10:1 до 1:40, предпочтительно находящееся в диапазоне от 5:1 до 1:30, еще более предпочтительно находящееся в диапазоне от 1:1 до 1:20. При кристаллизации на стадии (а.4) концентрированный экстракт, полученный со стадии (а.3), предпочтительно охлаждают, чтобы способствовать кристаллизации, более предпочтительно при температуре, находящейся в диапазоне от 1°C до 20°C при давлении окружающей среды, еще более предпочтительно находящейся в диапазоне от 5°C до 15°C при давлении окружающей среды. Сушку на стадии (а.4) предпочтительно проводят до содержания остаточного растворителя, находящегося в диапазоне от 0,5% до 10% по массе, предпочтительно находящегося в диапазоне от 1% до 5% по массе, еще более предпочтительно находящегося в диапазоне от 1,5% до 3% по массе по отношению к общей массе сухого экстракта усниновой кислоты. Предпочтительно измельчение на стадии (а.4) проводят с помощью мельницы, более предпочтительно ротационной шаровой мельницы. Сушку фильтрованного и кристаллизованного твердого вещества, полученного со стадии

(а.4), завершают, например, при содержании остаточного растворителя, равного около 2%-5% по массе по отношению к начальной массе. Используется тарельчатая сушилка (без вакуумметрического давления) при температуре предпочтительно 95°C-99°C с воздушной циркуляцией. Измельченное твердое вещество имеет, например, среднее распределение частиц по размерам, находящееся в диапазоне от 20 меш до 40 меш, и содержит 98% усниновой кислоты по массе (ВЭЖХ с помощью метода компании Sigma Aldrich). Из исходного количества 2х350 кг растительной части в начале процесса (исходный материал) можно получить выход 3–4% материала (сухое твердое вещество) в конце процесса, эквивалентный около 14–28 кг усниновой кислоты с содержанием 98% по массе (13,72–27,44 кг). Полученная усниновая кислота представляет собой усниновую кислоту в D(+) форме чистоты 99,9% или в виде рацемата.

После получения сухого измельченного экстракта усниновой кислоты (стадия (а.4)) в виде рацемической смеси избирательно образуют комплексы указанного сухого экстракта с циклодекстринами, предпочтительно с бета-циклодекстринами, с получением указанного соединения включения (сi). Предпочтительно указанное избирательное образование комплексов получают посредством соосаждения усниновой кислоты или ее соли, либо их смесей (i) и циклодекстринов (ii). Соединение включения (сi) предпочтительно получают посредством соосаждения усниновой кислоты (предпочтительно D(+)-усниновой кислоты) или ее соли, либо их смесей (i), и циклодекстринов (ii), предпочтительно бета-циклодекстринов. Например, циклодекстрины (ii) сначала растворяют в воде или в другом подходящем водном растворителе и впоследствии добавляют сухой измельченный экстракт усниновой кислоты стадии (а.4), при этом содержащий циклодекстрины водный раствор (ii) поддерживают при перемешивании. В присутствии достаточно высокой концентрации циклодекстринов (ii) в растворе осаждение соединения включения (сi) начнется по мере прогресса протекания реакции образования комплекса с усниновой кислотой или ее солью, либо их смесей (i), с циклодекстринами (ii). Предпочтительно, чтобы началось осаждение, может потребоваться охлаждение содержащего соединения включения (сi) раствора до температуры, находящейся в диапазоне от 1°C до 18°C, предпочтительно при перемешивании. Соединения включения (сi) можно собрать посредством декантации, центрифугирования или фильтрования. Соединение включения (сi) предпочтительно представляет собой водорастворимый клатрат или суспендируемый в воде клатрат, где указанная усниновая кислота (в виде чистого энантиомера D(+) или в виде рацемической смеси) или ее соль, либо их смеси (i), размещаются в полости указанного клатрата при приведении в контакт указанной D-усниновой кислоты или ее соли, либо их смесей (i), с

указанными циклодекстринами (ii).

Ниже представлены воплощения настоящего изобретения (FRn).

FR1. Смесь М для применения в способе лечения вирусной инфекции, стимулируемой или вызываемой по меньшей мере одним вирусом,

где указанная смесь М содержит или, альтернативно, состоит из:

- (a) усниновой кислоты и/или

- (b) ее родственной соли и/или

- (c) соединения включения (ci), либо их смесей, где указанное соединение включения (ci) содержит или, альтернативно, состоит из:

- (i) указанной (a) усниновой кислоты и/или указанной (b) ее родственной соли и

- (ii) по меньшей мере один циклодекстрина.

FR2. Смесь М для применения согласно FR1, где указанная смесь М предназначена для применения в способе лечения вирусных инфекций, стимулируемых или вызываемых коронавирусом, предпочтительно вирусом SARS-CoV-2; более предпочтительно указанная смесь М способна к ингибированию спайкового белка коронавируса, предпочтительно вируса SARS-CoV-2.

FR3. Смесь М для применения согласно FR1 или FR2,

где указанная смесь М содержит или, альтернативно, включает состоит из указанного (c) соединения включения (ci):

где указанное соединение включения (ci) содержит или, альтернативно, состоит из:

- (i) указанной (a) усниновой кислоту и/или указанной (b) ее родственной соли и

- (ii) по меньшей мере одного циклодекстрина.

FR4. Смесь М для применения согласно любому из FR1-FR3, где указанный (ii) по меньшей мере один циклодекстрин содержит или, альтернативно, состоит из по меньшей мере одного бета-циклодекстрина.

FR5. Смесь М для применения согласно любому из FR1-FR4, где указанный (ii) по меньшей мере один бета-циклодекстрин содержит или, альтернативно, состоит из 2-(гидроксипропил)-бета-циклодекстрина.

FR6. Смесь М для применения согласно любому из FR1 – FR5, где в указанном соединении включения (ci) указанный (ii) по меньшей мере один циклодекстрин, предпочтительно по меньшей мере один бета-циклодекстрин, а указанная (i) усниновая кислота и/или ее родственная соль присутствуют в отношении по массе [(ii):(i)], находящемся в диапазоне от 3:1 до 1:3, предпочтительно находящемся в диапазоне от 2:1 до 1:2, более предпочтительно находящемся в диапазоне от 1,5:1 до 1:1,5, еще более

предпочтительно составляющем 1:1.

FR7. Смесь М для применения согласно любому из FR1 – FR6, где указанная (а) усниновая кислота имеет природное происхождение; предпочтительно где указанная смесь М предназначена для перорального применения в способе лечения вирусных инфекций, поражающих человека и животных; более предпочтительно для перорального применения в области медицины.

FR8. Смесь М для применения согласно любому из FR1 – FR7, где указанная смесь М предназначена для применения в способе лечения вирусной инфекции дыхательной системы и симптомов и/или расстройств, возникающих вследствие указанной вирусной инфекции или связанных с ней; предпочтительно вирусных инфекций верхних дыхательных путей и/или нижних дыхательных путей.

FR9. Смесь М для применения согласно FR8, где указанная вирусная инфекция, запускаемая или вызываемая вирусом семейства *Coronaviridae*, подсемейство: *Coronavirinae*, рода: *Betacoronavirus*, вида: коронавирус, вызывающий тяжелый острый респираторный синдром, выбранным из штаммов: коронавирус, вызывающий тяжелый острый респираторный синдром (SARS-CoV), коронавирус-2, вызывающий тяжелый острый респираторный синдром (SARS-CoV-2 или 2019-nCoV) и ответственный за заболевание COVID-19, и коронавирус, подобный коронавирусу, вызывающему тяжелый острый респираторный синдром (SARS-CoV-подобный или SL-CoV); предпочтительно SARS-CoV-2.

FR10. Смесь М для применения согласно FR8 или FR9, где указанная смесь М способна к связыванию с по меньшей мере одной протеазой SARS-CoV-2 и/или со спайковым белком SARS-CoV-2; предпочтительно с RBD спайкового белка SARS-CoV-2.

FR11. Смесь М для применения согласно любому из FR1–FR10, где указанные симптомы и/или расстройства, возникающие вследствие указанной вирусной инфекции или связанные с ней, выбраны из: тяжелого острого респираторного синдрома (SARS), осложнений со стороны дыхательной системы, бронхиальной астмы, хронической обструктивной болезни легких (ХОБЛ), бронхита, эмфиземы легких, муковисцидоза, кашля, коклюша, пневмонии, плеврита, бронхолита, острого респираторного заболевания, синусита, ринита, трахеита, фарингита, ларингита, острого ларинготрахеобронхита, эпиглоттита, бронхоэктаза, затрудненного дыхания, одышки, дыхательной недостаточности, удушья, лихорадки, утомляемости, мышечных болей, боли в мышце, заложенности носа, насморка, першения в горле, желудочно-кишечных симптомов, тошноты, диареи, почечной недостаточности, потери аппетита, ощущения общего

недомогания.

FR12. Смесь М для применения согласно любому из FR1–FR11, где указанная (а) усниновая кислота природного происхождения представляет собой комбинацию или ассоциацию (C/A) между правовращающей природной усниновой кислотой D(+) и левовращающей природной усниновой кислотой L(-); предпочтительно правовращающая форма D(+) содержится в количестве, находящемся диапазоне от 0,1% до 99,9% по массе по отношению к общей массе комбинации или ассоциации (C/A), и/или левовращающая форма L(-) содержится в количестве, находящемся в диапазоне от 99,9% до 0,1% по массе по отношению к общей массе комбинации или ассоциации.

FR13. Смесь М для применения согласно любому из FR1–FR12, где (а) усниновая кислота природного происхождения представляет собой рацемическую форму 50% (+) и 50% (-), или по существу 100% правовращающую форму D(+).

FR14. Смесь М для применения согласно любому из FR1–FR13, где указанная (b) соль усниновой кислоты природного происхождения представляет собой соль щелочного металла или щелочноземельного металла; предпочтительно указанная соль усниновой кислоты природного происхождения представляет собой натриевую соль усниновой кислоты.

FR15. Смесь М для применения согласно любому из FR1–FR14, где указанная (b) соль усниновой кислоты природного происхождения имеет рацемическую форму или правовращающую форму D(+); предпочтительно указанная соль может присутствовать в правовращающей форме D(+) в количестве, находящемся в диапазоне от 0,1% до 99,9% по массе по отношению к общей массе комбинации или ассоциации (C/A), и/или в левовращающей форме L(-) в количестве, находящемся в диапазоне от 99,9% до 0,1% по массе по отношению к общей массе комбинации или ассоциации (C/A).

FR16. Смесь М для применения согласно любому из FR1–FR15, где указанная (а) усниновая кислота природного происхождения и указанная (b) ее родственная соль присутствуют в отношении по массе [(a):(b)], находящемся в диапазоне от 1:10 до 10:1, предпочтительно от 1:5 до 5:1, еще более предпочтительно от 1:3 до 3:1 или 1:1.

FR17. Смесь М для применения согласно любому из FR1–FR16, где усниновая кислота состоит из соединения: (+)-усниновая кислота, химическое наименование 2,6-диацетил-7,9-дигидрокси-8,9b-диметилдибензо[b,d]фуран-1,3(2H,9bH)-дион; (+)-усниновая кислота от *Usnea*; регистрационный номер CAS: 7562-61-0, EC: 231-456-0; предпочтительно натриевая соль усниновой кислоты состоит из соединения: моноватриевая соль 2,6-диацетил-7,9-дигидрокси-8,9b-диметилдибензо-1,3(2H,9bH)-

диона; регистрационный номер CAS: 34769-44-3, ЕС: 252-204-6; предпочтительно чистота указанной (а) усниновой кислоты и/или указанной (b) соли усниновой кислоты находится в диапазоне от 95% до 99,9%, предпочтительно от 96% до 99,5%, еще более предпочтительно от 97% до 98% или 98% (% масс/масс).

FR18. Смесь М для применения согласно любому из FR1–FR17, где указанная смесь М может находиться в твердом или мягком состоянии, в диспергированной или суспендированной форме, в форме геля, либо в жидком состоянии; предпочтительно указанная смесь М может принимать форму хлопьев, гранул, порошков, пеллет, либо может представлять собой водный или водно-спиртовой раствор или раствор в органических растворителях.

FR19. Смесь М для применения согласно любому из FR1–FR18, где указанная (а) усниновая кислота природного происхождения и/или указанная (b) ее родственная соль имеют порошкообразную твердую форму со средним размером частиц, находящимся в диапазоне от 1 мкм до 100 мкм, предпочтительно от 5 мкм до 50 мкм, еще более предпочтительно от 10 мкм до 20 мкм.

FR20. Смесь М для применения согласно любому из FR1–FR19, где указанную (а) усниновую кислоту природного происхождения и/или указанную (b) ее родственную соль экстрагируют из лишайников, предпочтительно выбранных из группы, содержащей или, альтернативно, состоящей из *Usnea*, *Cladonia*, *Hypotrachyna*, *Lecanora*, *Ramalina*, *Evernia*, *Parmelia*, *Alectoria* и их комбинаций, более предпочтительно из *Usnea*, еще более предпочтительно из *Usnea longissima* Ach., и где указанный по меньшей мере один циклодекстрин (ii) содержит или, альтернативно, состоит из по меньшей мере одного бета-циклодекстрина; предпочтительно указанный по меньшей мере один бета-циклодекстрин представляет собой (2-гидроксипропил)-β-циклодекстрин.

FR21. Смесь М для применения согласно FR20, где указанная (а) усниновая кислота и/или указанная (b) ее родственная соль и указанный (ii) по меньшей мере один циклодекстрин, предпочтительно по меньшей мере один бета-циклодекстрин, присутствуют в отношении по массе [(а)и/или (b):(ii)], по существу равном 1:1.

FR22. Смесь М для применения согласно любому из FR1–FR21, где указанное соединение включения (сi) содержит твердые частицы указанной (а) усниновой кислоты, предпочтительно D(+)-усниновой кислоты в виде по существу чистого энантиомера, или ее родственной соли, где указанные твердые частицы имеют среднее распределение частиц по размерам, находящееся в диапазоне от 0,01 мкм до 50 мкм, предпочтительно находящееся в диапазоне от 0,1 мкм до 30 мкм, более предпочтительно находящееся в диапазоне от 0,15

мкм до 20 мкм, еще более предпочтительно находящееся в диапазоне от 0,2 мкм до 15 мкм.

FR23. Композиция для применения согласно любому из FR1–FR2 и FR8–FR11, где указанная композиция содержит смесь М согласно любому из FR1–22 и по меньшей мере одно из приемлемых добавок и/или эксципиентов фармацевтического или пищевого класса.

FR24. Композиция для применения согласно FR23, где указанная композиция представляет собой фармацевтическую композицию, композицию медицинского изделия в соответствии с Регламентом (ЕС) 2017/745, композицию для продукта питания для специальных медицинских целей (FSMP), композицию для нового продукта питания в соответствии с Регламентом (ЕС) 2015/2283 или композицию для пищевых продуктов.

FR25. Композиция для применения согласно любому из FR23–FR24, где указанная композиция предназначена для внутреннего, наружного, парентерального, местного, дерматологического применения; или для применения на тканях, коже или слизистой оболочке; либо для перорального, назального, глазного применения; либо для применения в слуховом проходе, горле, трахее, пищеводе, глазу, носу или ухе; либо для применения на слизистой оболочке полости рта, слизистой оболочке полости носа, слизистой оболочке глаза или слухового прохода; либо для применения в желудке, кишечнике, желудочно-кишечном тракте; либо для вагинального или ректального применения.

FR26. Композиция для применения согласно любому из FR23–FR25, где указанная композиция имеет:

- твердую форму, выбранную из: таблеток, жевательных таблеток, таблеток, растворяющихся в полости рта, гранул, порошка, хлопьев, растворимых или водорастворимых порошков или гранул, порошков или гранул, растворяющихся в полости рта, капсул; или

- жидкую форму, выбранную из: растворов, суспензий, дисперсий, эмульсий, жидкости, которую можно дозировать в форме спрея, перорального спрея или назального спрея, аэрозоля, перорального аэрозоля или назального аэрозоля, сиропов; или

- полужидкую или мягкую форму, выбранную из: мягкого геля, геля, мази, крема, крема для местного, перорального или назального применения.

FR27. Композиция для применения согласно любому из FR23–FR26, где указанное по меньшей мере одно из приемлемых добавок и/или эксципиентов фармацевтического или пищевого класса выбрано из группы, содержащей или, альтернативно, состоящей из: коллагена, хондроитина, гиалуроновой кислоты или ее соли, предпочтительно гиалуроната натрия, витаминов, аминокислот, антиоксидантов, диоксида кремния, целлюлозы, карбоксиметилцеллюлозы, карбоксиметилцеллюлозы (КМЦ), карбоксиэтилцеллюлозы,

карбокситропилцеллюлозы, гидрокситропилцеллюлозы, гидрокситропилметилцеллюлозы (ГПМЦ), полоксамеров, волокон, инулина, мальтодекстрина, жиров, восков, масел, животных масел, растительных масел, вазелина, карбоната, бикарбоната, солей аммония, хлорида натрия, глин, каолина.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ (I)

1. Дизайн исследования

Задача настоящего исследования *in vitro* заключается в оценке противовирусных эффектов комплекса, содержащего усниновую кислоту и β -циклодекстрины (комплекс включения согласно настоящему изобретению) против коронавируса SARS-CoV-2.

С этой целью был исследован ингибирующий эффект указанного комплекса согласно настоящему изобретению, инкубируемого с линией клеток почек африканской зеленой мартышки Vero E6 CRL-1586 (ATCC), против псевдовируса. На международном уровне указанная линия клеток Vero E6 выбрана в связи с тем, что она богата рецептором ангиотензинпревращающего фермента 2 (ACE2), при посредстве которого коронавирусы, включая псевдовирс, проникают в клетки. Известно, что коронавирусы и псевдовирс связываются с рецептором ACE2 при посредстве поверхностного гликопротеина вируса, называемого спайковым белком.

Комплекс в соответствии с настоящим изобретением, который был исследован, представляет собой комплекс усниновой кислоты с бета-циклодекстринами (в отношении по массе 1:1 и 1:2).

Данная линия клеток Vero E6 прежде всего использовалась для исследования возможной цитотоксичности комплекса, подлежащего анализу.

2. Анализ цитотоксичности комплекса усниновой кислоты и β -циклодекстрина на линии клеток Vero E6.

2.1. Культура клеток линии Vero E6.

Культуру клеток линии Vero E6 выращивали в модифицированной Дульбекко среде Игла (D-MEM) (Corning) с 1% L-глутамина, 10% фетальной бычьей сыворотки (ФБС) и 1% пенициллина и стрептомицина (% масс/масс или % масс/объем) и инкубировали при 37°C в инкубаторе с атмосферой 5% CO₂.

Размножение клеток проводили в культуральных матрасах 75 см², содержащих 10 мл питательной среды для культуры клеток, с целью поддержания достаточного количества клеток для инокуляции 96-луночных планшетов, в которых клетки подвергали анализу на цитотоксичность.

2.2. Растворимость комплекса усниновой кислоты и β -циклодекстринов.

Перед проведением анализа на цитотоксичность были проведены исследования растворимости комплекса усниновой кислоты и β -циклодекстринов, как в стерильной дистиллированной воде, так и в модифицированной Дульбекко среде Игла (D-MEM, Corning).

Растворимость этого комплекса равна 1% масс/масс в деминерализованной воде при T 20°C. Чтобы получить надлежащее диспергирование комплекса, требуется энергичное перемешивание, например механическое перемешивание. Полученный таким образом раствор может медленно образовывать осадок. Для лучшей солюбилизации рекомендуется погружать 1% раствор в воду при 50°C, также при помощи перемешивания, например механического типа, что позволяет достичь лучшей растворимости комплекса.

В целях верификации растворимости комплекса усниновой кислоты и β -циклодекстринов в стерильной дистиллированной воде и в среде D-MEM были исследованы следующие концентрации для последующего использования в анализе на цитотоксичность:

- комплекс 1% усниновой кислоты и β -циклодекстринов, соответствующий концентрации 10 мг/мл;
- комплекс 0,5% усниновой кислоты и β -циклодекстринов, соответствующий концентрации 5 мг/мл;
- комплекс 0,1% усниновой кислоты и β -циклодекстринов, соответствующий концентрации 1 мг/мл;
- комплекс 0,05% усниновой кислоты и β -циклодекстринов, соответствующий концентрации 500 мкг/мл;
- комплекс 0,01% усниновой кислоты и β -циклодекстринов, соответствующий концентрации 100 мкг/мл;
- комплекс 0,005% усниновой кислоты и β -циклодекстринов, соответствующий концентрации 50 мкг/мл;
- комплекс 0,001% усниновой кислоты и β -циклодекстринов, соответствующий концентрации 10 мкг/мл.

Исследования растворимости показали, что ни в дистиллированной воде, ни в используемой питательной среде для клеточной культуры различий по растворимости не наблюдалось. В результате для растворения комплекса, подлежащего использованию в анализе на цитотоксичность, использовали питательную среду D-MEM для культуры клеток. Данная методика оказалась оптимальной, так как в питательной среде D-MEM для культуры клеток клетки сохраняют свою жизнеспособность.

При растворении комплекса усниновой кислоты и β -циклодекстринов, растворенного в D-MEM при концентрациях 1%, 0,5% и 0,1%, показано медленное образование осадка пропорционально концентрации исследуемого комплекса. Поэтому при данных концентрациях собирали только надосадочную жидкость и инкубировали с клетками линии Vero E6. При более низких концентрациях, составляющих 0,05%, 0,01%, 0,005% и 0,001%, осадков не было выявлено, и необходимости в сборе надосадочной жидкости не было.

2.3. Анализ на цитотоксичность (анализ на основе 3-4,5-диметилтиазол-2-ил-2,5-дифенилтетразолия бромид (МТТ))

Чтобы определить не вызывающую цитотоксичности концентрацию комплекса усниновой кислоты и β -циклодекстринов, исследование цитотоксичности этого комплекса проводили при различных концентрациях и при двух периодах инкубации с линией клеток Vero E6.

Для проверки возможной цитотоксической активности комплекса усниновой кислоты и β -циклодекстринов при различных концентрациях использовали тиазолил-тетразолиевый синий-бромид или МТТ (Sigma Aldrich). Анализ на основе МТТ представляет собой колориметрический анализ, основанный на восстановлении соединения бромид тетразолиевого желтого НАД(P)H-зависимым ферментом оксидоредуктазой в жизнеспособных клетках с образованием формазана, который осаждается в жизнеспособных клетках в виде нерастворимых кристаллов розового цвета. Чем интенсивнее наблюдаемый розовый цвет, тем большее количество жизнеспособных клеток присутствует.

Подробно, для эксперимента по оценке цитотоксичности использовали 96-луночные планшеты, в которых были высеяны клетки, предварительно извлеченные из культуральных матрасов 75 см² (Corning), при конечной концентрации 1×10^4 клеток/луночка. Впоследствии содержащие клетки многолуночные планшеты инкубировали в течение 24 часов при 37°C в инкубаторе с увлажнением и атмосферой 5% CO₂. После 24 часов инкубации питательную среду для культуры клеток удаляли и добавляли 100 мкл комплекса усниновой кислоты и β -циклодекстринов при различных концентрациях, таких как 1%; 0,5%; 0,1%; 0,05%; 0,01%, 0,005% и 0,001%, предварительно растворенного в среде D-MEM (параграф 2.2.). Впоследствии многолуночные планшеты инкубировали в течение 8 часов и 24 часов при 37°C в инкубаторе с увлажнением и атмосферой 5% CO₂

После 8 часов и 24 часов инкубации питательную среду для культуры клеток с различными концентрациями комплекса усниновой кислоты и β -циклодекстринов удаляли

из многолуночных планшетов и проводили промывание 100 мкл/лунка фосфатно-солевого буферного раствора (ФСБ).

В этот момент проводили анализ на основе МТТ для исследования цитотоксичности.

В отсутствие источников света добавляли 100 мкл/лунка раствора 0,5 мг/мл МТТ, растворенного в ФСБ, и многолуночные планшеты инкубировали при 37°C в инкубаторе с увлажнением и атмосферой 5% CO₂ в темноте в течение 3 часов.

По прошествии 3 часов раствор МТТ удаляли из многолуночных планшетов и проводили промывание ФСБ, после чего добавляли 100 мкл/лунка диметилсульфоксида (DMSO). Многолуночные планшеты инкубировали в течение 15 минут при комнатной температуре в темноте. Затем проводили регистрацию показаний спектрофотометра при длине волны 570 нм.

2.4. Результаты исследования цитотоксичности.

Результаты, полученные в исследовании цитотоксичности, представлены на Фиг. 1 и на Фиг. 2 соответственно для 8 часов и 24 часов инкубации комплекса усниновой кислоты и β-циклодекстринов с клетками Vero E6.

На Фиг. 1 и 2 жизнеспособность клеток выражена в процентах. При жизнеспособности клеток в присутствии комплекса ниже 70% комплекс расценивают как цитотоксичный при данной концентрации.

Как наблюдается на Фиг. 1 и 2, комплекс усниновой кислоты и β-циклодекстринов при концентрациях 1%, 0,5% и 0,1% является цитотоксичным для клеток Vero E6, как после 8 часов, так и после 24 часов инкубации.

Что касается цитотоксичности комплекса усниновой кислоты и β-циклодекстрина при концентрации 0,05%, он не является цитотоксичным (жизнеспособность 71%) после 8 часов инкубации (Фиг. 1); после 24 часов инкубации жизнеспособность клеток незначительно снижается ниже 70% (Фиг. 2).

Что касается других анализируемых концентраций комплекса усниновой кислоты и β-циклодекстринов, то есть от 0,01 до 0,001%, эти концентрации не являются цитотоксичными для клеток линии Vero E6, как после 8 часов, так и после 24 часов инкубации (Фиг. 1 и 2).

Таким образом, противовирусная активность комплекса будет исследована при концентрации 0,01%.

3. Противовирусная активность комплекса усниновой кислоты и β-циклодекстринов против псевдовируса, содержащего спайковый белок SARS-CoV-2, исследованная на клетках линии Vero E6.

3.1. Культура клеток линии Vero E6

Возможную противовирусную активность комплекса усниновой кислоты и β -циклодекстринов против псевдовируса, содержащего спайковый белок SARS-CoV-2, была исследована при концентрации 0,01%.

Как и при анализе цитотоксичности, для исследования противовирусной активности также использовали линию клеток почек африканской зеленой мартышки Vero E6 CRL-1586 (Американская коллекция типовых культур, ATCC). Культуру клеток этой линии выращивали в модифицированной Дульбекко среде Игла (D-MEM) (Corning) с 1% L-глутамина, 10% фетальной бычьей сыворотки (ФБС) и 1% пенициллина и стрептомицина (% масс/масс или % масс/объем) и инкубировали при 37°C в инкубаторе с атмосферой 5% CO₂.

Размножение клеток проводили в культуральных матрасах 75 см², содержащих 10 мл питательной среды для культуры клеток, с целью поддержания достаточного количества клеток для инокуляции 96-луночных планшетов, в которых клетки подвергали исследованию на противовирусную активность комплекса усниновой кислоты и β -циклодекстринов.

3.2. Растворение комплекса усниновой кислоты и β -циклодекстринов.

Комплекс усниновой кислоты и β -циклодекстрина растворяли в D-MEM (питательная среда для культуры клеток) при 0,01%, что соответствует концентрации, равной 100 мкг/мл.

3.3. Псевдовирус.

Банк псевдовирусов, содержащих спайковый белок SARS-CoV-2 (Creative Biogene, США), используемый для настоящего эксперимента, содержит 10⁷ трансдукционных единиц (ТЕ)/мл, где ТЕ представляет собой единицу измерения, используемую для определения количества псевдовирусов. Следует отметить, что используемый в данном эксперименте псевдовирус также содержит ген-репортер фермента люциферазы светляка, который позволяет количественно определять люминесценцию, испускаемую вирусными частицами, которые инфицировали монослой клеток.

При проведении эксперимента авторы изобретения использовали концентрацию 10⁵ ТЕ, что соответствует множественности инфекции (МИ) 10. Множественность инфекции показывает, сколько вирусных частиц вступает в контакт с известным количеством клеток на лунку (1x10⁴). Таким образом, после исследования различных значений МИ, в данном эксперименте в контакт вступали 10 частиц псевдовируса на клетку (МИ 10) (Фиг. 3). Как наблюдается на Фиг. 3, оптимальной является концентрация, полученная при МИ 10, с

учетом того, что более низкие концентрации не попадают в линейную область стандартной кривой; то же применимо для случая избыточной люминесценции, наблюдаемой при МИ 100.

3.4. Анализ противовирусной активности.

Vero E6 является оптимальной линией клеток для исследования вирусной инфекции с учетом того, что они имеют рецептор ACE2 для присоединения спайкового белка SARS-CoV-2 и последующего проникновения вируса в клетку. Подробно, для эксперимента по оценке противовирусной активности использовали 96-луночные планшеты, в которых были высеяны клетки, предварительно извлеченные из культуральных матрасов 75 см² (Corning), при конечной концентрации 1×10^4 клеток/луночка. Впоследствии содержащие клетки многолуночные планшеты инкубировали в течение 24 часов при 37°C в инкубаторе с увлажнением и атмосферой 5% CO₂.

На следующий день проводили подсчет клеток, чтобы удостовериться в отсутствии их репликации, и предварительно инкубировали с псевдовиром, содержащим спайковый белок SARS-CoV-2, в течение 1 часа при 37°C в инкубаторе с увлажнением и 5% CO₂ при МИ 10 с добавлением комплекса усниновой кислоты и β-циклодекстринов при концентрации 0,01%. Предварительную инкубацию проводили в пробирках вместимостью 1,5 мл.

По окончании времени контакта псевдовиром и комплекса усниновой кислоты и β-циклодекстринов из пробирки отбирали всю суспензию и добавляли к монослою клеток линии Vero E6. Монослой инкубировали в течение 8 часов при 37°C в инкубаторе с увлажнением и атмосферой 5% CO₂.

После 8 часов инкубации питательную среду для культуры клеток, содержащую комплекс усниновой кислоты и β-циклодекстринов с псевдовиром, удаляли из многолуночных планшетов и проводили промывание 100 мкл/луночка фосфатно-солевого буферного раствора (ФСБ), что достаточно для удаления вируса, не проникшего в клетки.

Впоследствии к монослою добавляли новую питательную среду D-MEM инкубировали в течение 48 часов при 37°C в инкубаторе с увлажнением и атмосферой 5% CO₂.

По истечении этого периода времени монослой клеток подвергали лизису с использованием реактива для лизиса культур клеток с люциферазой (*Luciferase Cell Culture Lysis Reagent*) (Promega, Италия). Затем проводили исследование люциферазной активности (Promega, Италия). Исследование люциферазной активности основано на окислении люциферина до оксильюциферина с использованием фермента люциферазы светляка,

клонированного в псевдовирусе. Продукты этой реакции за счет переноса электронов испускают световой сигнал, который обнаруживают с помощью люминометра (Biontek).

В результате интенсивность испускаемого света будет прямо пропорциональна количеству частиц псевдовируса, инфицирующих монослой клеток, и, следовательно, обратно пропорциональна аффинности комплекса по настоящему изобретению к псевдовирусу (спайковому белку псевдовируса).

Количество люминесценции, испускаемой образцами, в которых псевдовирус был предварительно проинкубирован с комплексом усниновой кислоты и β -циклодекстрина, сравнивали с количеством люминесценции, полученным с псевдовирусом, проинкубированным при 37°C в отсутствие комплекса усниновой кислоты и β -циклодекстрина (контроль).

3.5. Результаты анализа противовирусной активности.

Результаты, полученные из исследования на противовирусную активность комплекса усниновой кислоты и β -циклодекстринов при концентрации 0,01%, предварительно проинкубированного в течение 1 часа с псевдовирусом при МИ 10 и впоследствии приведенного в контакт с клетками Vero E6 в течение 8 часов, представлены на Фиг. 4.

Результаты образцов, в которых псевдовирус был предварительно проинкубирован с комплексом усниновой кислоты и β -циклодекстринов, сравнивали с результатами, полученными с псевдовирусом без предварительной инкубации с вирицидным комплексом (контроль). Данные приведены как в виде количества испускаемой люминесценции (Фиг. 4А), так и в виде коэффициента проникновения псевдовируса в монослой клеток (Фиг. 4В).

Как наблюдается на Фиг. 4, при приведении в контакт псевдовируса при МИ 10 с комплексом усниновой кислоты и β -циклодекстринов при 0,01%, отмечается снижение люминесценции по отношению к контролю с высокой степенью усиления (4195 по сравнению с 28405 соответственно) (Фиг. 4А). Это указывает на снижение проникновения псевдовируса и на ингибирование проникновения вируса в клетки на 85,2% по отношению к контролю (Фиг. 4В).

В заключение, проиллюстрированные эксперименты показали вирицидную активность комплекса усниновой кислоты и β -циклодекстринов в концентрации, не вызывающей цитотоксичности, равной 0,01% против псевдовируса, содержащего спайковый белок SARS-CoV-2.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ (II)

1. Цель эксперимента

Анализ на цитотоксичность комплекса усниновой кислоты и β -циклодекстринов (1:1) на линии клеток Vero E6 и на противовирусную активность указанного комплекса против псевдовируса, содержащего спайковый белок SARS-CoV-2, на линии клеток Vero E6, как представлено в Экспериментальной части (I), повторяли с использованием комплекса усниновой кислоты и β -циклодекстринов (1:1) при концентрации в питательной среде D-MEM для культуры клеток, составляющей 0,03% (что соответствует концентрации 300 мкг/мл), и при концентрации 0,05% (что соответствует концентрации 500 мкг/мл).

2. Анализ на цитотоксичность (анализ на основе 3-4,5-диметилтиазол-2-ил-2,5-дифенилтетразолия бромид (МТТ))

Анализы на цитотоксичность комплексов усниновой кислоты и β -циклодекстринов (1:1) при концентрации 0,03% и 0,05% (комплексы включения согласно настоящему изобретению) проводили с точным соблюдением условий, представленных в параграфах 2.1.–2.3. Экспериментальной части (I).

Было обнаружено, что процент жизнеспособности клеток линии Vero E6 после 8 часов инкубации с комплексом усниновой кислоты и β -циклодекстринов (1:1) при концентрации 0,03% составляет 83%.

Было обнаружено, что процент жизнеспособности клеток линии Vero E6 после 8 часов инкубации с комплексом усниновой кислоты и β -циклодекстринов (1:1) при концентрации 0,05% составляет 68% в первом исследовании и 69% во втором исследовании (значения, стабильные при пороговом значении жизнеспособности 70%, установленном как минимальное значение для определения концентрации, не вызывающей цитотоксичности).

В свете вышеописанного было установлено, что при обеих концентрациях, 0,03% и 0,05%, комплекс усниновой кислоты и β -циклодекстринов (комплексы включения согласно настоящему изобретению) не являются цитотоксичными для линии клеток Vero E6 после 8 часов инкубации.

3. Анализ противовирусной активности.

Анализы на противовирусную активность комплексов усниновой кислоты и β -циклодекстринов (1:1) при концентрации 0,03% и 0,05% (комплексы включения согласно настоящему изобретению) проводили с точным соблюдением условий, представленных в параграфах 3.1.–3.4. Экспериментальной части (I).

Результаты, полученные из исследования на противовирусную активность комплекса усниновой кислоты и β -циклодекстринов при концентрации 0,03% и 0,05%, предварительно проинкубированного в течение 1 часа с псевдовирусом при МИ 10 и впоследствии приведенного в контакт с клетками Vero E6 в течение 8 часов, представлены

на Фиг. 5 и 6.

Результаты образцов, в которых псевдовиром был предварительно проинкубирован с комплексом усниновой кислоты и β -циклодекстринов, сравнивали с результатами, полученными с псевдовиром без предварительной инкубации с вирицидным комплексом (контроль). Данные приведены как в виде количества испускаемой люминесценции (Фиг. 5А и 6А), так и в виде коэффициента проникновения псевдовиром в монослой клеток (Фиг. 5В и 6В).

Как наблюдается на Фиг. 5, при приведении в контакт псевдовиром при МИ 10 с комплексом усниновой кислоты и β -циклодекстринов при 0,03% отмечается снижение люминесценции по отношению к контролю с высокой степенью усиления (2558 по сравнению с 25178 соответственно) (Фиг. 5А). Это указывает на снижение проникновения псевдовиром и на ингибирование проникновения вируса в клетки на 89,8% по отношению к контролю (Фиг. 5В).

Как наблюдается на Фиг. 6, при приведении в контакт псевдовиром при МИ 10 с комплексом усниновой кислоты и β -циклодекстринов при 0,05% отмечается снижение люминесценции по отношению к контролю с высокой степенью усиления (398 по сравнению с 1515 соответственно) (Фиг. 6А). Это указывает на снижение проникновения псевдовиром и на ингибирование проникновения вируса в клетки на 73,7% по отношению к контролю (Фиг. 6В).

В заключение, проиллюстрированные эксперименты показали вирицидную активность комплекса усниновой кислоты и β -циклодекстринов в концентрации, не вызывающей цитотоксичности, равной 0,03% и 0,05%, против псевдовиром, содержащего спайковый белок SARS-CoV-2.

Композиции, представленные ниже в таблице, были исследованы Заявителем для оценки, среди прочего, жизнеспособности клеток, в частности клеток полости носа, защиты назального эпителия и митохондриального баланса, а также определения способности композиций предотвращать проникновение вируса SARS-CoV-2 в эпителий полости носа, который является первым барьером, задействованным при инфекции, вызывающей Covid-19.

P21H006	150 мкг/мл усниновой кислоты + 150 мкг/мл бета-циклодекстрина, без консервантов
P21H007	150 мкг/мл усниновой кислоты + 150 мкг/мл бета-циклодекстрина, с консервантом

P21H008	75 мкг/мл усниновой кислоты + 150 мкг/мл бета-циклодекстрина, с консервантом
P21H008	75 мкг/мл усниновой кислоты + 150 мкг/мл бета-циклодекстрина, с консервантом + коэнзим Q10
P21H008	75 мкг/мл усниновой кислоты + 150 мкг/мл бета-циклодекстрина с консервантом + кверцетин
P21H009	150 мкг/мл бета-циклодекстрина, с консервантом
P21H0013	75 мкг/мл усниновой кислоты + 150 мкг/мл бета-циклодекстрина с консервантом + глутатион
P21H0014	75 мкг/мл усниновой кислоты + 150 мкг/мл бета-циклодекстрина, с консервантом + токоферолы или смесь токоферолов и токотриенолов

Все составы, представленные выше в таблице, показали хорошие результаты.

ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Смесь М для применения в способе лечения вирусной инфекции, стимулируемой или вызываемой по меньшей мере одним коронавирусом,

где указанная смесь М содержит или, альтернативно, состоит из:

- (a) усниновой кислоты и/или

- (b) ее родственной соли, или

- (c) соединения включения (ci), либо их смесей, где указанное соединение включения (ci) содержит или, альтернативно, состоит из:

- (i) указанной (a) усниновой кислоты и/или указанной (b) ее родственной соли и

- (ii) по меньшей мере одного циклодекстрина.

2. Смесь М для применения по п. 1, где указанная смесь М предназначена для применения в способе лечения вирусных инфекций дыхательной системы, стимулируемых или вызываемых вирусом SARS-CoV-2; предпочтительно указанная смесь М способна к ингибированию связывания спайкового белка указанного вируса SARS-CoV-2 с по меньшей мере одной протеазой SARS-CoV-2 и/или одним спайковым белком SARS-CoV-2, предпочтительно с рецептор-связывающим доменом (RBD) спайкового белка SARS-CoV-2.

3. Смесь М для применения по п. 1 или 2,

где указанная смесь М содержит или, альтернативно, состоит из указанного (c) соединения включения (ci):

где указанное соединение включения (ci) содержит или, альтернативно, состоит из:

- (i) указанной (a) усниновой кислоты и/или указанной (b) ее родственной соли, предпочтительно натриевой соли усниновой кислоты, и

- (ii) по меньшей мере одного бета-циклодекстрина.

4. Смесь М для применения по любому из пп. 1-3, где в указанном соединении включения (ci) указанный (ii) по меньшей мере один циклодекстрин, предпочтительно по меньшей мере один бета-циклодекстрин, и указанная (i) усниновая кислота и/или ее родственная соль присутствуют в отношении по массе [(ii):(i)], находящемся в диапазоне от 3:1 до 1:3, предпочтительно находящемся в диапазоне от 2:1 до 1:2, более предпочтительно находящемся в диапазоне от 1,5:1 до 1:1,5, еще более предпочтительно составляющем 2:1 или 1:1.

5. Смесь М для применения по любому из пп. 1-4, где указанная (a) усниновая

кислота природного происхождения представляет собой комбинацию или ассоциацию (С/А) между правовращающей природной усниновой кислотой D(+) и левовращающей природной усниновой кислотой L(-); предпочтительно правовращающая форма D(+) содержится в количестве, находящемся диапазоне от 0,1% до 99,9% по массе по отношению к общей массе комбинации или ассоциации (С/А), и/или левовращающая форма L(-) содержится в количестве, находящемся в диапазоне от 99,9% до 0,1% по массе по отношению к общей массе комбинации или ассоциации, предпочтительно где указанная (а) усниновая кислота природного происхождения находится в рацемической форме 50% (+) и 50% (-) или по существу равна 100% правовращающей формы D(+).

6. Смесь М для применения по любому из пп. 1-5, где указанная (b) соль усниновой кислоты природного происхождения представляет собой соль щелочного металла или щелочноземельного металла; предпочтительно указанная соль усниновой кислоты природного происхождения представляет собой натриевую соль усниновой кислоты D(+).

7. Смесь М для применения по любому из пп. 1-6, где усниновая кислота по существу состоит из следующего соединения: (+)-усниновая кислота, химическое наименование 2,6-диацетил-7,9-дигидрокси-8,9b-диметилдibenzo[b,d]фуран-1,3(2H,9bH)-дион; (+)-усниновая кислота от *Usnea*; регистрационный номер CAS: 7562-61-0, ЕС: 231-456-0; предпочтительно натриевая соль усниновой кислоты по существу состоит из следующего соединения: моноватриевая соль 2,6-диацетил-7,9-дигидрокси-8,9b-диметилдibenzo-1,3(2H,9bH)-диона; регистрационный номер CAS: 34769-44-3, ЕС: 252-204-6; предпочтительно чистота указанной (а) усниновой кислоты и/или указанной (b) соли усниновой кислоты находится в диапазоне от 95% до 99,9%, предпочтительно от 96% до 99,5%, еще более предпочтительно от 97% до 98% или 99% (% масс/масс).

8. Смесь М для применения по любому из пп. 1-7, где указанная (а) усниновая кислота природного происхождения и/или указанная (b) ее родственная соль имеют порошкообразную твердую форму со средним размером частиц, находящимся в диапазоне от 1 мкм до 100 мкм, предпочтительно от 5 мкм до 50 мкм, еще более предпочтительно от 10 мкм до 20 мкм.

9. Смесь М для применения по любому из пп. 1-8, где указанная (а) усниновая кислота и/или указанная (b) ее родственная соль и указанный (ii) по меньшей мере один циклодекстрин, предпочтительно по меньшей мере один бета-циклодекстрин, присутствуют в отношении по массе [(а)и/или (b):(ii)], по существу равном 1:2 или 1:1.

10. Смесь М для применения по любому из пп. 1-9, где указанное соединение

включения (сi) содержит твердые частицы указанной (а) усниновой кислоты, предпочтительно D(+)-усниновой кислоты в виде по существу чистого энантиомера, или ее родственной соли, где указанные твердые частицы имеют среднее распределение частиц по размерам, находящееся в диапазоне от 0,01 мкм до 50 мкм, предпочтительно находящееся в диапазоне от 0,1 мкм до 30 мкм, более предпочтительно находящееся в диапазоне от 0,15 мкм до 20 мкм, еще более предпочтительно находящееся в диапазоне от 0,2 мкм до 15 мкм.

11. Смесь М по любому из пп. 1-10 для применения в способе лечения бактериальной инфекции, стимулируемой или вызываемой грамположительными и/или грамотрицательными бактериями, где указанная смесь М содержит или, альтернативно, состоит из:

- (а) усниновой кислоты и/или
- (b) ее родственной соли и/или
- (с) соединения включения (сi), либо их смесей, где указанное соединение включения (сi) содержит или, альтернативно, состоит из:
 - (i) указанной (а) усниновой кислоты и/или указанной (b) ее родственной соли и
 - (ii) по меньшей мере одного циклодекстрина.

12. Смесь М для применения по п. 11, где указанная смесь М предназначена для применения в области медицины или ветеринарии в качестве антибактериального агента, антибактериального антипролиферативного агента, бактериостатического агента, бактерицидного агента, противогрибкового агента, противодрожжевого агента (пример *Candida*), противогрибкового агента или антимикотического агента (пример *Saccharomycetes*), предпочтительно против грамположительных и/или грамотрицательных бактерий, таких как, например, бактерии, имеющие научное название *Klebsiella*, *Enterobacteriaceae*, *Enterobacter*, *Pseudomonas* и *Escherichia*.

13. Смесь М для применения по п. 11 или 12, где указанная смесь М предназначена для применения в качестве антибактериального или бактериостатического агента как против грамположительных бактерий, так и против грамотрицательных бактерий; где указанные бактерии предпочтительно выбраны из группы, содержащей или, альтернативно, состоящей из: *Escherichia coli*, *Klebsiella*, *Acinetobacter baumannii*, *Staphylococcus aureus*, метициллин-резистентного *Staphylococcus aureus* (MRSA), *Enterococcus*, ванкомицин-резистентного *Enterococcus spp.* (VRE), *Actinobacter*, *Actinobacter spp.*, *Clostridium difficile* и их комбинаций.

14. Фармацевтическая композиция, композиция медицинского изделия в

соответствии с Регламентом (ЕС) 2017/745, композиция для продукта питания для специальных медицинских целей (FSMP), композиция для нового продукта питания в соответствии с Регламентом (ЕС) 2015/2283 или композиция для пищевых продуктов, где указанная композиция для применения содержит смесь М по любому из пп. 1-13 и по меньшей мере одну(один) приемлемую добавку и/или приемлемый эксципиент фармацевтического или пищевого класса, где указанная композиция предназначена для внутреннего, наружного, парентерального, местного, дерматологического применения; или для применения на тканях, коже или слизистой оболочке; либо для перорального, назального, глазного применения; либо для применения в ушном канале, горле, трахее, пищеводе, глазу, носу или ухе; либо для применения на слизистой оболочке полости рта, слизистой оболочке полости носа, назальном эпителии, слизистой оболочке глаза или ушного канала; либо для применения в желудке, кишечнике, желудочно-кишечном тракте; либо для вагинального или ректального применения.

15. Композиция для применения по п. 14, где указанная композиция имеет:

- твердую форму, выбранную из: таблеток, жевательных таблеток, таблеток, растворяющихся в полости рта, гранул, порошка, хлопьев, растворимых или водорастворимых порошков или гранул, порошков или гранул, растворяющихся в полости рта, капсул, или

- жидкую форму, выбранную из: растворов, суспензий, дисперсий, эмульсий, жидкости, которую можно дозировать в форме спрея, спрея для горла, перорального спрея или назального спрея, аэрозоля, перорального аэрозоля или назального аэрозоля, сиропов; или

- полужидкую или мягкую форму, выбранную из: мягкого геля, геля, назального геля, перорального геля, мази, крема, кремов или гелей для местного, перорального или назального применения.

16. Композиция по п. 14 или 15, где указанную композицию включают в лекарственную форму с использованием по меньшей мере одного из приемлемых добавок и/или эксципиентов фармацевтического или пищевого класса, которые выбраны из: коллагена, хондроитина, гиалуроновой кислоты или ее соли, такой как гиалуронат натрия, витаминов, аминокислот, антиоксидантов, диоксида кремния, целлюлозы, карбоксицеллюлозы, карбоксиметилцеллюлозы (КМЦ), карбоксиэтилцеллюлозы, карбоксипропилцеллюлозы, гидроксипропилцеллюлозы (ГПЦ), гидроксипропилметилцеллюлозы (ГПМЦ), гидроксиметилцеллюлозы,

гидроксиэтилцеллюлозы, гидроксипропилцеллюлозы, полуксамеров, волокон, инулина, мальтодекстрина, жиров, восков, масел, животных масел, растительных масел, вазелина, карбоната, бикарбоната, солей аммония, хлорида натрия, глины, каолина, антиоксидантов, таких как, например, глутатион, кверцетин, коэнзим Q10 или витамины, в частности витамины группы С или Е, такие как, например, токоферолы и токотриенолы, токотриенолы растительного происхождения, такие как, например, токотриенолы из риса, консервантов, таких как, например, бензоат натрия и калия, либо сорбат натрия или калия, минеральные соли, хлорид натрия, и рН-буферных растворов, таких как, например, лимонная кислота и ее растворимая соль, например моногидрат лимонной кислоты.

17. Композиция по любому из пп. 14-16, где указанная композиция представляет собой жидкий водный раствор, который вводят с помощью распылителя, либо пульверизатора, либо аэрозольного баллончика; предпочтительно указанную композицию включают в лекарственную форму, используя добавки и/или эксципиенты фармацевтического или пищевого класса, которые позволяют в случае жидкой композиции, например, при комнатной температуре около 20°C или 5°C, наносить ее посредством назального пути субъекту с температурой тела, например, находящейся в диапазоне от 36°C до 40°C, с доведением жидкой водной композиции до комнатной температуры, при которой она приобретает консистенцию геля.

18. Композиция по п. 17, где указанную композицию используют в водной композиции, предназначенной для распыления, объединения или связывания с (a) и/или (b) и (ii) циклодекстрином, гидроксипропилметилцеллюлозой (ГПМЦ) и токотриенолами, предпочтительно токотриенолами из риса; предпочтительно токотриенолы из риса (*Oryza sativa* L.) могут иметь форму диспергируемого в воде порошка, например, в которой содержание токотриенола находится в диапазоне от 5% до 75%, предпочтительно от 15% до 60%, например 25%, или 30%, или 40%, или 50% по массе (продукт под торговым наименованием TheraPrimE®-BGG).

19. Композиция по п. 17 или 18, где указанный диспергируемый в воде порошок может содержать, наряду с токотриенолами, еще более предпочтительно мальтодекстрин (9050-36-6), крахмал и диоксид кремния SiO₂ (7631-86-9); предпочтительно диспергируемый в воде порошок может содержать от 30% до 60% масляного экстракта рисовых отрубей, от 25% до 45% модифицированного крахмала, от 20% до 40% мальтодекстрина и от 0,2% до 1,5% SiO₂; еще более предпочтительно, можно применять диспергируемый в воде порошок, содержащий смесь токотриенолов и токоферолов в

общем количестве по массе, находящемся в диапазоне от 15% до 60%, например 25%, или 30%, или 40%, или 50%; еще более предпочтительно, в случае общего содержания в смеси 25% по массе это количество может составлять, например, около 10% по массе токотриенолов и около 15% по массе токоферолов (количество, определенное методом высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ)), при этом в случае общего содержания в смеси 30% по массе это количество может составлять около 15% по массе токотриенолов и около 15% по массе токоферолов, а остальную часть до 100% могут составлять крахмал, мальтодекстрины, SiO₂ и другое.

20. Композиция по любому из пп. 14-19, где усниновая кислота D(+) по настоящему изобретению может предпочтительно иметь температуру плавления (ДСК), находящуюся в диапазоне от 190°C до 210°C, предпочтительно от 192°C до 198°C, молекулярное вращение, находящееся в диапазоне от 480° до 540°, предпочтительно от 490° до 520°; значение распределения частиц по размеру (particle size distribution, PSD): D50, находящееся в диапазоне от 1 мкм до 15 мкм, предпочтительно от 2 мкм до 10 мкм, например 5 мкм; еще более предпочтительно указанная усниновая кислота имеет низкое содержание патогенных микроорганизмов, например, минимальная ингибирующая концентрация (МИК) *Staphylococcus aureus* меньше или равна 500 ppm, а МИК *Escherichia coli* меньше или равна 1000 ppm.

21. Композиция по любому из пп. 14-20, где указанная композиция содержит:

Ингредиенты	Состав (от x% до y%)			Жидкие водные растворы при 20°C
Вода	94–99	95–98	96–97,8	
КМЦ, или ГПЦ, или ГПМЦ	0,25–2,5	0,5–1,5	0,65–0,95	
Усниновая кислота или натриевая соль	0,0001–0,5	0,0005–0,05	0,001–0,0075	
Бета-циклодекстрин	0,005–0,5	0,0075–0,25	0,01–0,015	
NaCl	0,1–2	0,3–1,5	0,5–0,9	
Бензоат натрия	0,001–1	0,01–0,75	0,05–0,1	
Сорбат калия	0,001–1	0,01–0,75	0,05–0,1	
Токотриенолы или смесь токотриенолов и	0,001–1	0,01–0,75	0,05–0,1	

токоферолов				
Лимонная кислота	0,001–0,1	0,01–0,005	0,015–0,02	
Общая масса (м/м)	100			
Плотность 1 г/куб. см.				

22. Композиция по любому из пп. 14-21, где указанная композиция в форме водного раствора содержит или, альтернативно, состоит из:

- воды, предпочтительно деминерализованной воды, в количестве по массе, находящемся в диапазоне от 90% до 99,5%, предпочтительно от 94% до 99%;

- (а) усниновой кислоты и/или (b) соли усниновой кислоты и/или (с) соединения включения (сi) или их смесей, предпочтительно в форме D(+), в количестве по массе, находящемся в диапазоне от 0,0001% до 0,5%, предпочтительно от 0,01 до 0,25%;

- полимера, выбранного из группы, содержащей или, альтернативно, состоящий из: целлюлозы, карбоксицеллюлозы, карбоксиметилцеллюлозы (КМЦ), карбоксиэтилцеллюлозы, карбоксипропилцеллюлозы, гидроксипропилцеллюлозы (ГПЦ), гидроксипропилметилцеллюлозы (ГПМЦ), гидроксиметилцеллюлозы, гидроксиэтилцеллюлозы, гидроксипропилцеллюлозы, полоксамеров, предпочтительно гидроксипропилцеллюлозы (ГПМЦ), в количестве по массе, находящемся в диапазоне от 0,25% до 2,5%, предпочтительно от 0,5% до 1,5%;

- соединения с антиоксидантной активностью, выбранного из группы, содержащей или, альтернативно, состоящей из: глутатиона, кверцетина, коэнзима Q10, витаминов, в частности витаминов группы С или Е, таких как, например, токоферолы и токотриенолы, предпочтительно растительного происхождения, такие как, например, токотриенолы из риса;

- предпочтительно минеральных солей, консервирующих агентов и рН-буферных растворов или стабилизаторов, обычно используемых в данной отрасли промышленности.

23. Композиция по п. 22, где указанная композиция в форме водного раствора может предпочтительно иметь значение вязкости при 20°C (мПа•секунда) около 240 +/- 40; значение рН около 5 +/- 0,2, значение плотности г/куб. см около 1,01 +/- 0,1 г/куб. см и микробиологическую нагрузку (общая нагрузка, дрожжи, плесневые грибы, 2 патогенных организма (*Staphilococcus aureus* и *Pseudomonas*)) типа: общая нагрузка <= 100 КОЕ, дрожжи <= 100 КОЕ, плесневые грибы <= 10 КОЕ и отсутствие патогенных организмов.

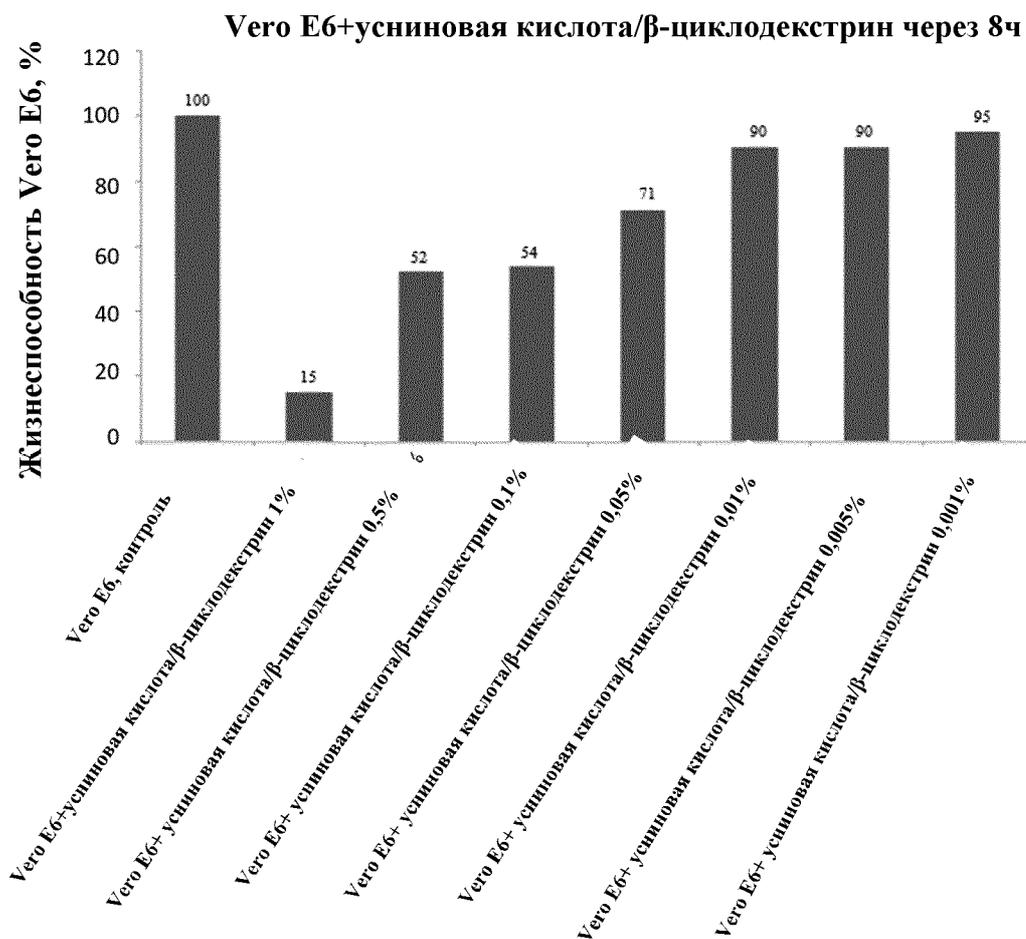
24. Способ получения композиции по любому из пп. 14-23, где указанный способ включает или, альтернативно, состоит из следующих стадий:

1) стадии сушки порошков, предпочтительно активных ингредиентов (а) и/или (b) и/или (с) соединения включения (сi) и полимеров КМЦ, или ГПЦ, или ГПМЦ при температуре, предпочтительно находящейся в диапазоне от 90°C до 150°C, еще более предпочтительно от 100°C до 110°C;

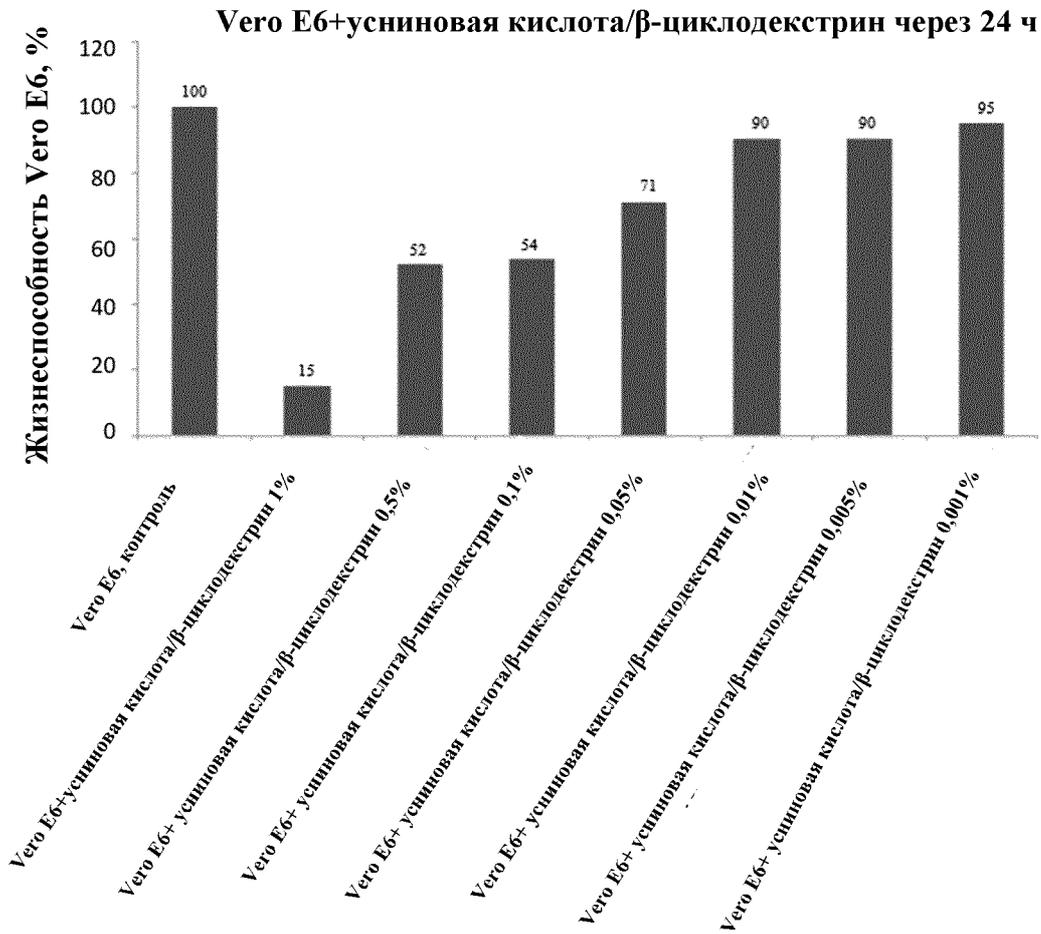
2) стадию добавления порошков в соответствии со стадией 1) в объеме воды, например 100 литров деминерализованной воды, предпочтительно нагретой до температуры, находящейся в диапазоне от 50°C до 90°C, предпочтительно от 60°C до 80°C +/- 2°C, с получением раствора;

3) стадию перемешивания указанного раствора в соответствии со стадией 2), предпочтительно с использованием магнитной мешалки, например, в течение периода времени, находящегося в диапазоне от 30 минут до 240 минут, предпочтительно от 60 минут до 120 минут, с получением конечного водного раствора; и возможно

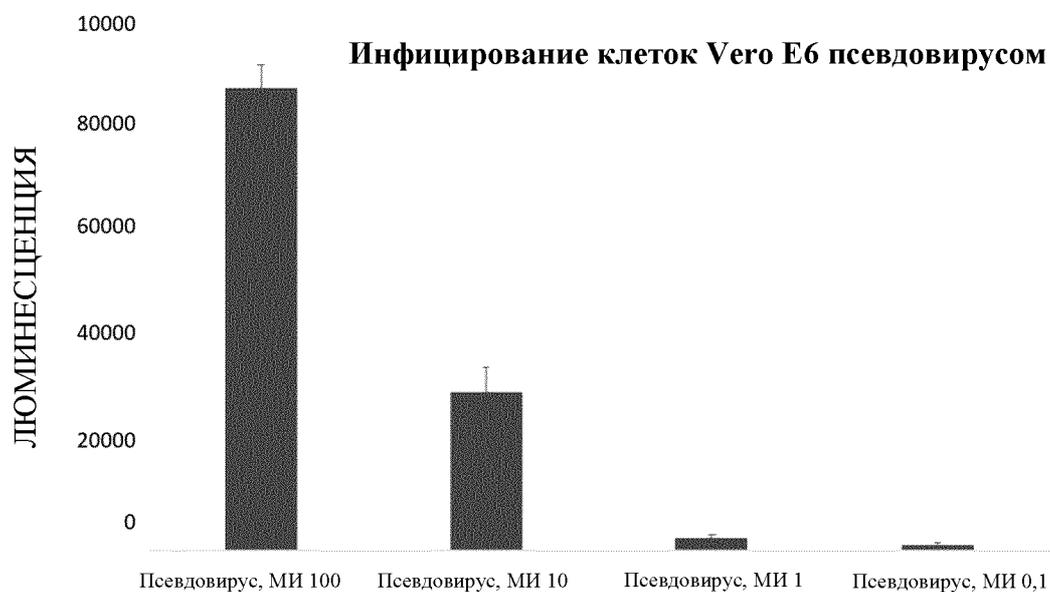
4) стадию регулирования и доведения значения рН до значения, находящегося в диапазоне от 5±0,1 до 7±0,1, предпочтительно от 5,5±0,1 до 6,5±0,1, с получением конечного раствора, готового к упаковке.



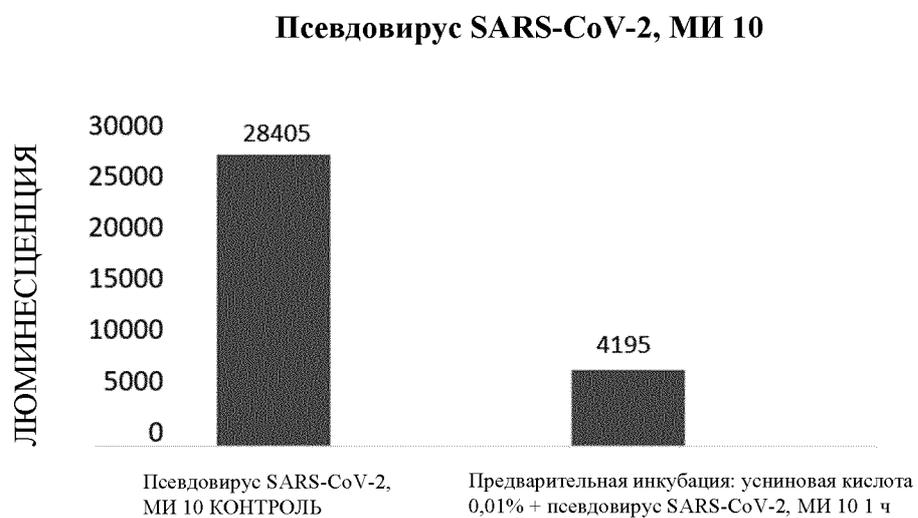
Фиг. 1



Фиг.2

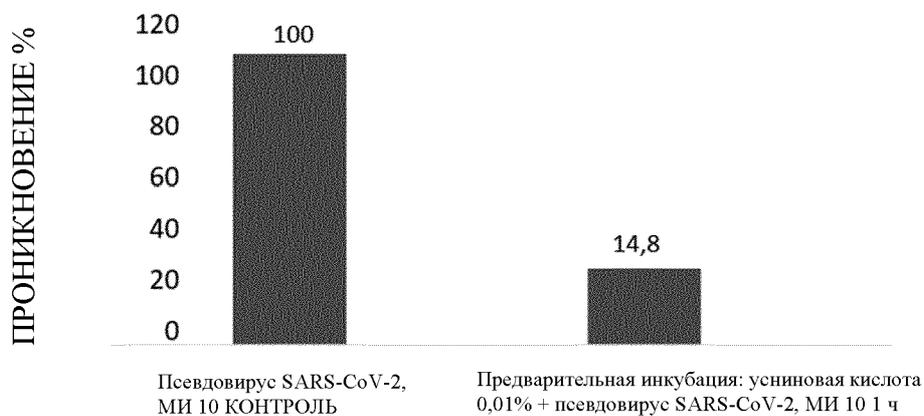


Фиг. 3



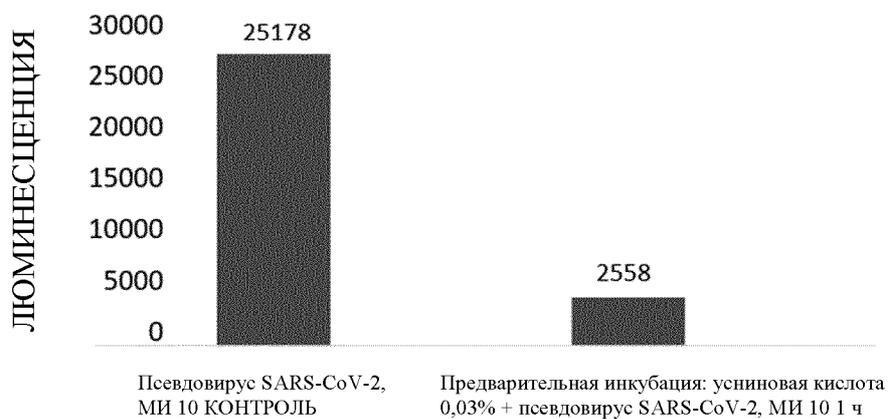
Фиг. 4А

Псевдовирус SARS-CoV-2, МИ 10



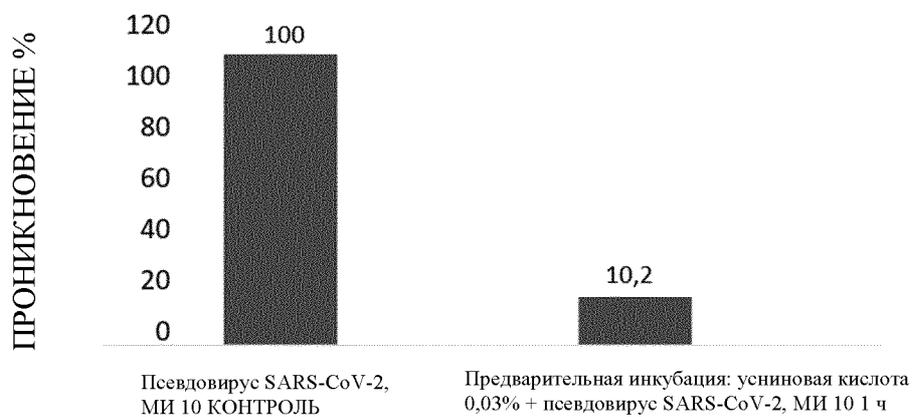
Фиг. 4В

Псевдовирус SARS-CoV-2, МИ 10



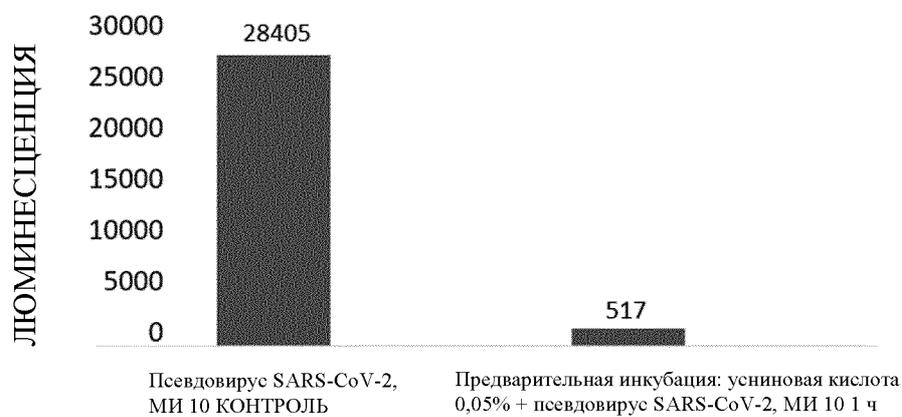
Фиг. 5А

Псевдовирол SARS-CoV-2, МИ 10



Фиг. 5В

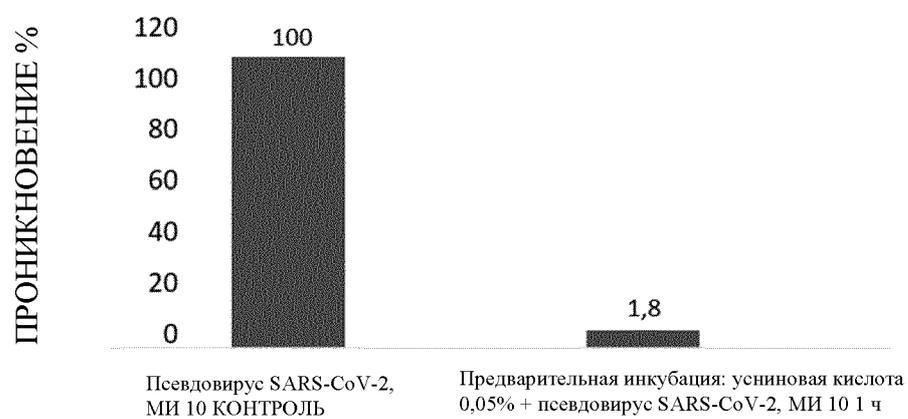
Псевдовирол SARS-CoV-2, МИ 10



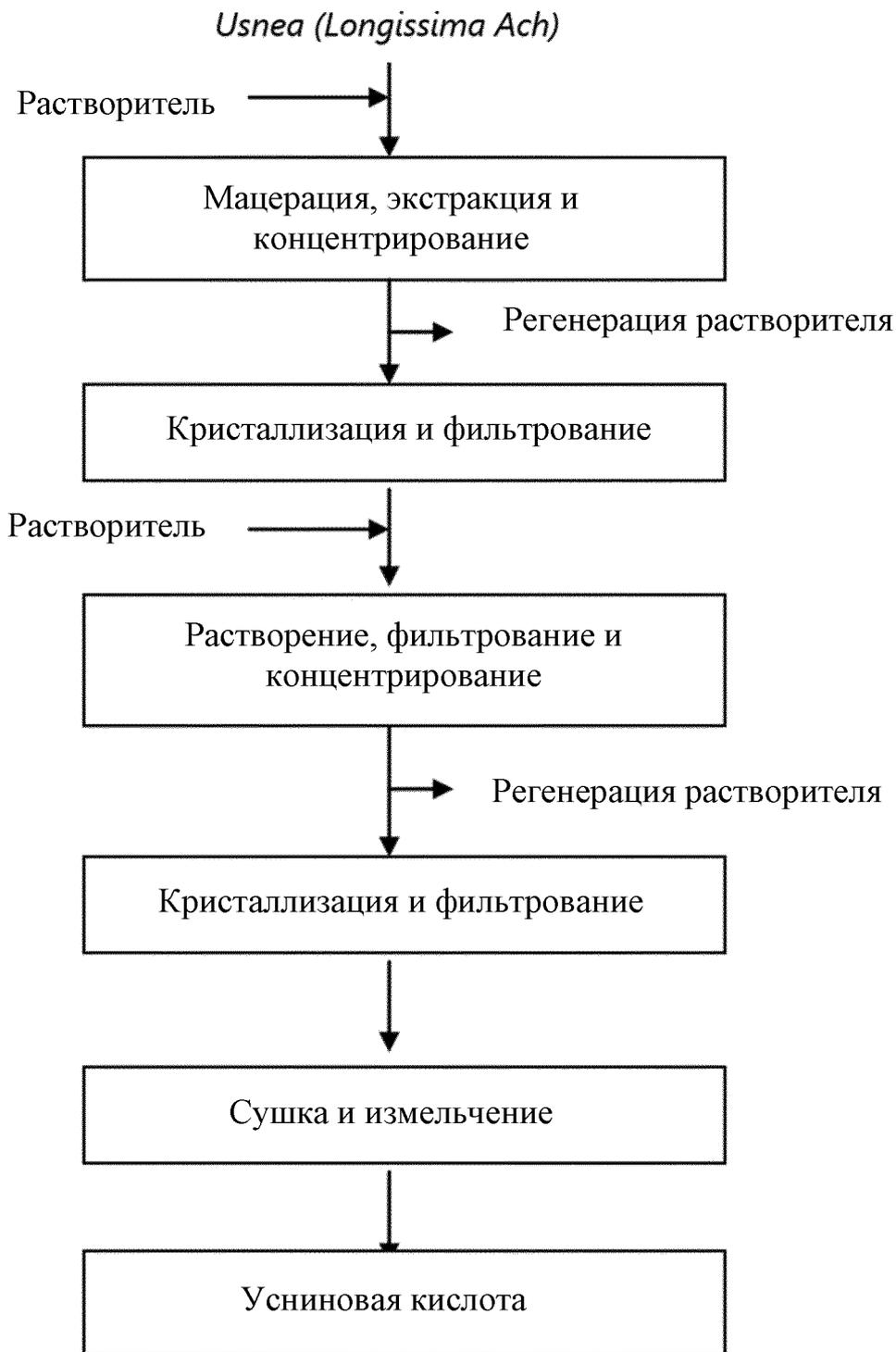
Фиг. 6А

6 Усиновая кислота или ее комплексы включения для применения в лечении инфекций, вызванных коронавирусом или бактериями

Псевдовирол SARS-CoV-2, МИ 10

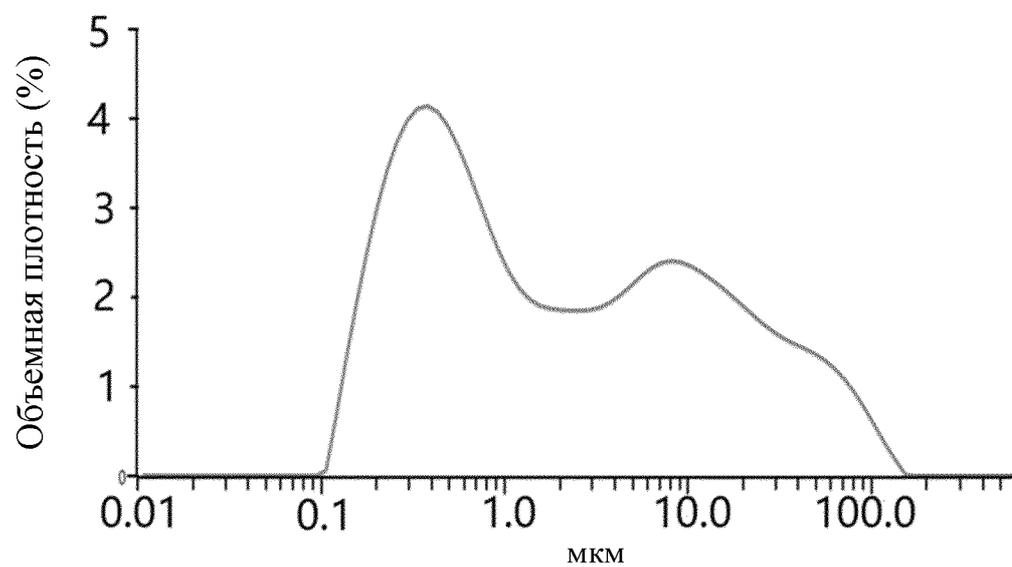


Фиг. 6В



Фиг. 7

8 Усиновая кислота или ее комплексы включения для применения в лечении инфекций, вызванных коронавирусом или бактериями



Фиг. 8