

(19)



**Евразийское  
патентное  
ведомство**

(11) **033965**

(13) **B1**

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

- |  |   |
|--|---|
| <p><b>(45)</b> Дата публикации и выдачи патента<br/><b>2019.12.13</b></p> <p><b>(21)</b> Номер заявки<br/><b>201700424</b></p> <p><b>(22)</b> Дата подачи заявки<br/><b>2015.02.26</b></p> | <p><b>(51)</b> Int. Cl. <i>A61K 31/4152</i> (2006.01)<br/><i>A61K 31/381</i> (2006.01)<br/><i>A61K 31/14</i> (2006.01)<br/><i>A61K 47/00</i> (2006.01)<br/><i>A61J 3/00</i> (2006.01)<br/><i>A61P 23/02</i> (2006.01)<br/><i>A61P 31/00</i> (2006.01)</p> |
|--|---|

**(54) ФАРМАЦЕВТИЧЕСКАЯ КОМПОЗИЦИЯ ДЛЯ ЛЕЧЕНИЯ ВОСПАЛИТЕЛЬНЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ УША, СПОСОБ ЕЕ ПОЛУЧЕНИЯ И СПОСОБ ЛЕЧЕНИЯ УКАЗАННОЙ КОМПОЗИЦИЕЙ**

- |  |  |
|--|--|
| <p><b>(43)</b> 2018.01.31</p> <p><b>(86)</b> PCT/RU2015/000120</p> <p><b>(87)</b> WO 2016/137352 2016.09.01</p> <p><b>(71)(73)</b> Заявитель и патентовладелец:<br/><b>ОБЩЕСТВО С ОГРАНИЧЕННОЙ<br/>ОТВЕТСТВЕННОСТЬЮ<br/>"КОНСОРЦИУМ-ПИК" (RU)</b></p> <p><b>(72)</b> Изобретатель:<br/><b>Хмельщиков Юрий Владимирович,<br/>Носков Дмитрий Сергеевич (RU)</b></p> <p><b>(74)</b> Представитель:<br/><b>Кравченко А.А. (RU)</b></p> | <p><b>(56)</b> WO-A2-2009142719<br/>US-A1-20120252720<br/>WO-A1-2014179814<br/>CHUESHOV V.I. Promyshlennaia<br/>tehnologiia lekarstv. T 2. Kharkov: MTK - Kniga<br/>Izdatelstvo NFAU, 2002, p. 63-64</p> |
|--|--|

**(57)** Фармацевтическая композиция, обладающая анальгетическим, анестетическим и антисептическим действием, способ получения фармацевтической композиции и способ лечения отитов и других повреждений уха. Группа изобретений относится к медицине и может быть использована при лечении отитов и других повреждений уха. Изобретение относится к фармацевтической композиции в виде ушных капель, содержащей феназона или пропифеназона 4 мас.%, артикаина 2 мас.% и бензалкония хлорида 0,05-0,2 мас.%.

**033965 B1**

**033965 B1**

### Область техники

Группа изобретений относится к медицине и может быть использована при лечении отитов и других воспалительных заболеваний в ухе.

#### Предшествующий уровень техники

Отит - это заболевание, представляющее собой воспалительный процесс в ухе. Ухо человека состоит из наружного уха, среднего уха и внутреннего уха.

В зависимости от локализации патологического процесса, соответственно, различают наружный отит, средний отит и внутренний отит.

Среди воспалительных заболеваний наружного уха различают ограниченный и диффузный наружный отит. Примером ограниченного наружного отита является фурункул наружного слухового прохода. Диффузный наружный отит представлен большой группой воспалительных заболеваний бактериальной вирусной, грибковой природы.

Заболевания среднего уха встречаются у представителей всех возрастных групп и имеют важное клиническое и социальное значение. Многообразие патогенетических механизмов этих заболеваний определяется особенностями анатомии и физиологии среднего уха, этиологического фактора в каждом конкретном случае, состоянием иммунной системы организма и т.п. При определении нозологической формы обычно учитывается преимущественное развитие процесса в том или ином отделе среднего уха. Термином "острый средний отит" принято обозначать преимущественное воспаление в барабанной полости, развитие острого воспаления главным образом в слуховой трубе - евстахиит, в сосцевидном отростке - мастоидит. По течению различают острый и хронический средний отит, по характеру воспаления - катаральный, серозный и гнойный. (Пальчун В.Т. и др./Оториноларингология: учебник. - 2-е изд., испр. и доп. - М.: ГЭОТАР-Медиа, 2011 - 656 с.: ил.; ISBN 978-5-9704-1804-8).

Одним из способов лечения воспалительных заболеваний уха является применение ушных капель. Традиционные ушные капли в основном базируются на аминогликозидных антибиотиках (софрадекс, гаразон, анауран). К антибиотикам класса аминогликозидов чувствительны основные группы микроорганизмов, вызывающих воспалительные заболевания уха. Однако аминогликозиды обладают потенциальной ототоксичностью, что ограничивает их применение только наружными отитами и неперфоративными формами средних отитов (Балясинская Г.Л. Ушные капли отофа и полидекса при лечении детей с острым средним и наружным отитами//Вестник оториноларингологии, 2003, № 3, с. 53-54.).

Из заявки WO 2009142719, MASSACHUSETTS INSTITUTE OF TECHNOLOGY et al., A61K 8/00, 8/18, опубликованной 26.11.2009 на 83 листах (D1), известна фармацевтическая композиция для лечения заболеваний уха, содержащая терапевтический агент, которым, в частности, может быть анестетик, например артикаин, или противовоспалительное средство, в частности феназон.

Из патента CN 101584689 B, NAVY MEDICINE RESEARCH INSTITUTE OF PLA, A61K 31/167, 31/4152, A61P 27/16, 29/00, опубликованного 16.03.2011 на 9 листах (D2) известна фармацевтическая композиция для лечения отитов, содержащая феназон и лидокаин.

Техническое решение, описанное в D2, может быть принято в качестве ближайшего аналога.

Составы заявляемой фармацевтической композиции предложены авторами впервые. Совместное применение артикаина и пропифеназона (равно как и совместное применение артикаина, пропифеназона и бензалкония хлорида) для изготовления фармацевтической композиции, предназначенной для наружного или местного применения, предложено авторами впервые.

#### Раскрытие изобретения

В связи с вышесказанным целью изобретения является создание новой эффективной фармацевтической композиции для лечения отитов.

Техническим результатом изобретения является повышение эффективности (усиление клинического эффекта) лечения отитов и обеспечение эффективной и стабильной фармацевтической композиции, которая может быть использована для лечения отитов.

Варианты осуществления изобретения относятся к фармацевтической композиции для лечения отитов, содержащей, по меньшей мере, феназон или пропифеназон и артикаин, а также бензалкония хлорид.

Варианты осуществления изобретения относятся так же к способу лечения отитов и способу получения фармацевтической композиции для лечения отитов.

#### Краткое описание чертежей

На фиг. 1 представлена фотография после скарификации опытного уха кролика, получавшего рецептуру № 1, до нанесения рецептуры;

на фиг. 2 - фотография после скарификации опытного уха кролика, получавшего рецептуру № 1, через одни сутки после первого нанесения рецептуры;

на фиг. 3 - фотография после скарификации опытного уха кролика, получавшего рецептуру № 1, через двое суток после первого нанесения рецептуры;

на фиг. 4 - фотография после скарификации опытного уха кролика, получавшего рецептуру № 1, через трое суток после первого нанесения рецептуры;

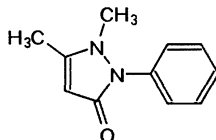
на фиг. 5 - фотография после скарификации опытного уха кролика, получавшего рецептуру № 2, до нанесения рецептуры;

на фиг. 6 - фотография после скарификации опытного уха кролика, получавшего рецептуру № 2, через одни сутки после первого нанесения рецептуры;  
 на фиг. 7 - фотография после скарификации опытного уха кролика, получавшего рецептуру № 2, через двое суток после первого нанесения рецептуры;  
 на фиг. 8 - фотография после скарификации опытного уха кролика, получавшего рецептуру № 2, через трое суток после первого нанесения рецептуры;  
 на фиг. 9 - фотография после скарификации опытного уха кролика, получавшего рецептуру № 3, до нанесения рецептуры;  
 на фиг. 10 - фотография после скарификации опытного уха кролика, получавшего рецептуру № 3, через одни сутки после первого нанесения рецептуры;  
 на фиг. 11 - фотография после скарификации опытного уха кролика, получавшего рецептуру № 3, через двое суток после первого нанесения рецептуры;  
 на фиг. 12 - фотография после скарификации опытного уха кролика, получавшего рецептуру № 3, через трое суток после первого нанесения рецептуры;  
 на фиг. 13 - фотография после скарификации контрольного уха кролика;  
 на фиг. 14 - фотография после скарификации контрольного уха кролика через одни сутки;  
 на фиг. 15 - фотография после скарификации контрольного уха кролика через двое суток;  
 на фиг. 16 - фотография после скарификации контрольного уха кролика через трое суток;  
 на фиг. 17-23 - исходные данные иммуноферментного анализа для цитокинов IL-1 $\beta$  и TNF- $\alpha$ ;  
 на фиг. 24 показан уровень TNF- $\alpha$  в супернатантах активированных макрофагов (МФ) через 6 ч инкубации в зависимости от концентрации бензалкония хлорида;  
 на фиг. 25 - уровень TNF- $\alpha$  в супернатантах активированных макрофагов (МФ) через 24 ч инкубации в зависимости от концентрации бензалкония хлорида;  
 на фиг. 26 - влияние на уровень синтеза IL-1 $\beta$  в супернатантах активированных МФ через 6 ч инкубации в зависимости от концентрации бензалкония хлорида;  
 на фиг. 27 - влияние на уровень синтеза IL-1 $\beta$  в супернатантах активированных МФ через 24 ч инкубации в зависимости от концентрации бензалкония хлорида.

#### Варианты осуществления изобретения

Феназон (торговая марка: "Антипирин") - лекарственное средство, анальгетик и антипиретик из группы пиразолонов.

Структурная формула феназона



Согласно номенклатуре ИЮПАК: 1,2-dihydro-1,5-dimethyl-2-phenyl-3H-pyrazol-3-one.

Представляет собой бесцветные кристаллы или белый кристаллический порошок без запаха, слабгорького вкуса. Очень легко растворим в воде (1:1), легко - в спирте. Растворы (рН 6,0-7,5) стерилизуют при +120°C в течение 20 мин.

Синтезирован Людвигом Кнорром (Хёхст) в 1883 году.

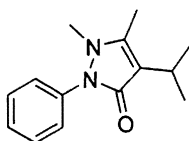
Феназон был одним из первых синтетических анальгетиков, производных пиразолона, нашедших применение в медицине (1884). С получением других анальгетиков им стали пользоваться относительно редко. Широкого применения феназон в настоящее время не имеет.

Как и другие производные пиразолона, феназон оказывает болеутоляющее, жаропонижающее и в той или иной степени противовоспалительное действие. По анальгезирующей и жаропонижающей активности препараты этой группы близки к производным салициловой кислоты. Производные пиразолона уменьшают проницаемость капилляров и препятствуют развитию воспалительной реакции.

Феназон оказывает умеренное анальгезирующее, жаропонижающее и противовоспалительное действие. При местном применении отмечается некоторое кровоостанавливающее действие. Применяется при невралгиях, простудных заболеваниях.

Пропифеназон - анальгетик и антипиретик из группы пиразолонов, является производным феназона и имеет аналогичные болеутоляющие и жаропонижающие свойства.

Структурная формула пропифеназона



Согласно номенклатуре ИЮПАК: 1,5-dimethyl-2-phenyl-4-propan-2-yl-pyrazol-3-one (4-изопропил-1,5-диметил-2-фенил-1Н-пиразол-3(2Н)-он).

Общеизвестно, что при пероральном приеме обладает выраженным анальгезирующим и жаропони-

жающим действием, противовоспалительная активность выражена слабо, как и у других пиразолонов. Быстро всасывается в желудочно-кишечном тракте, максимальная концентрация в крови развивается через 30 мин после приема внутрь.

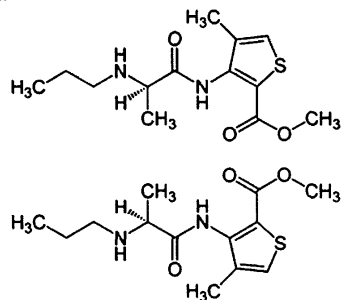
По сравнению с другими производными пиразолона наиболее безопасен. При его применении, в частности, не отмечено развития агранулоцитоза.

При этом необходимо отметить, что из уровня техники неизвестны случаи применения пропифеназона в качестве активного компонента фармацевтической композиции для наружного или местного применения.

Артикаин (Articaine) (торговое наименование - Ультракаин) - лекарственное средство с высокой анестезирующей активностью.

Более конкретно, в рамках изобретения описываются фармацевтические композиции, содержащие артикаина гидрохлорид.

Структурная формула артикаина



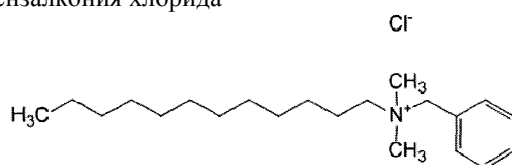
Согласно номенклатуре ИЮПАК: (RS)-methyl 4-methyl-3-(2-propylamino)propanoylamino)thiophene-2-carboxylate ((RS)-метил 4-метил-3-(2-пропиламинопропаноиламино)тиофен-2-карбоксилат).

Артикаин - местный анестетик, который применяется для инфильтрационной и проводниковой анестезии. Препарат обладает высоким обезболивающим эффектом, в 2 раза сильнее лидокаина и в 6 раз прокаина. Анестетик проникает через мембрану внутрь нервного волокна, высвобождая основание с липофильными свойствами в результате гидролиза в слабощелочной среде тканей организма (в кислой среде эффект препарата снижается). Таким образом, ультракаин взаимодействует с нервными рецепторами, блокирует вход  $\text{Na}^+$  в клетку в фазу деполяризации и блокирует проведение импульсов по нервному волокну. Анестезия наступает сразу после введения и длится от 1 до 5 ч.

В стоматологическую практику вошёл в 1978 году. Действующее вещество - артикаина гидрохлорид (метилловый эфир 4-метил-3[2-пропиламинопропионамидо]-2-тиофекарбоновой кислоты) + адреналина гидротартрат (эпинефрин).

Бензалкония хлорид - антисептическое лекарственное средство, оказывает также противогрибковое, антипротозойное, местное контрацептивное (сперматоцидное) действие; инактивирует вирусы, вызывающие простой герпес (*Herpes simplex*).

Структурная формула бензалкония хлорида



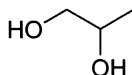
Согласно номенклатуре ИЮПАК: alkyldimethylbenzylammonium chloride (алкилбензилдиметиламмония хлорид).

Проявляет бактерицидную активность в отношении стафилококков, стрептококков, грамотрицательных бактерий (кишечной и синегнойной палочек, протей, клебсиеллы и др.), анаэробных бактерий, грибов, в том числе плесеней и дрожжей, а также вирусов. Действует на штаммы бактерий, устойчивых к антибиотикам и др. химиотерапевтическим лекарственным средствам; подавляет плазмокоагулазу и гиалуронидазу стафилококков. Предупреждает вторичное инфицирование ран госпитальными штаммами микроорганизмов. Сперматоцидное действие обусловлено способностью повреждать мембраны сперматозоидов (в начале жгутиков, затем головки), что обуславливает невозможность оплодотворения поврежденным сперматозоидом. Эффект развивается через 8-10 мин (таблетки), 5 мин (вагинальные свечи), 3 мин (крем) или немедленно после введения во влагалище (тампон), *in vitro* активен в отношении *Neisseria gonorrhoeae*, *Chlamydia* spp., *Trichomonas vaginalis*, Human herpesvirus 2, *Staphylococcus aureus*. Не оказывает действия на *Mycoplasma* spp. и слабо действует на *Gardnerella vaginalis*, *Candida albicans*, *Haemophilus ducreyi* и *Treropema pallidum*. *In vivo* проявляет некоторую активность в предупреждении некоторых заболеваний, передающихся половым путем. Не влияет на нормальную микрофлору влагалища (в т.ч. на палочку Додерляйна) и гормональный цикл.

Пропиленгликоль - используется как наполнитель и основной растворитель субстанции пропифеназона (в комбинации с глицерином). Также в виду отсутствия в заявляемых композициях консервантов

совместно с бензалкония хлоридом может выступать в виде консерванта, поскольку обладает бактерицидным действием.

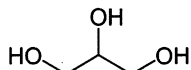
Структурная формула пропиленгликоля



Согласно номенклатуре ИЮПАК: propane-1,2-diol (пропан-1,2-диол).

Глицерин - наполнитель, соразтворитель; также выступает в качестве заменителя воды, уменьшая количество используемого растворителя (вода) в котором нерастворима активная субстанция пропифеназона, тем самым повышая стабильность композиции при хранении. За счет своей вязкости повышает общую вязкость композиции, в целом способствуя в том числе улучшению реологических свойств композиции и процесса дозирования капель при применении.

Структурная формула глицерина



Согласно номенклатуре ИЮПАК: propane-1,2,3-triol (пропантриол-1,2,3).

Соответственно, основным аспектом осуществления настоящего изобретения является фармацевтическая композиция, обладающая анальгетическим, анестетическим, антисептическим и противовоспалительным действием, которая может быть использована для лечения отитов, в частности наружного и среднего отитов, а также других воспалительных заболеваний уха, содержащая, по меньшей мере: в качестве анальгетического агента феназон или пропифеназон; в качестве анестетического агента артикаин; и в качестве антисептического и противовоспалительного агента бензалкония хлорид.

Другим аспектом осуществления настоящего изобретения является фармацевтическая композиция, обладающая анальгетическим, анестетическим и бактерицидным действием, содержащая, по меньшей мере: в качестве анальгетического агента феназон или пропифеназон в количестве 4 мас.%; в качестве анестетического агента артикаин в количестве 2 мас.%; и в качестве антисептического агента бензалкония хлорид в количестве от 0,05 до 0,2 мас.%.

Другим аспектом осуществления настоящего изобретения является фармацевтическая композиция, обладающая анальгетическим, анестетическим и бактерицидным действием, содержащая, по меньшей мере: в качестве анальгетического агента феназон или пропифеназон, в частности, в количестве 4 мас.%; в качестве анестетического агента артикаин, в частности, в количестве 2 мас.%; в качестве антисептического агента бензалкония хлорид, в частности, в количестве от 0,05 до 0,2 мас.%; и дополнительно обязательно содержащая в качестве вспомогательного вещества пропиленгликоль, в частности, в количестве от 44 до 60 мас.%, и дополнительно содержащая в качестве вспомогательного вещества глицерин, в частности, в количестве от 20 до 30 мас.%.

Другим аспектом осуществления настоящего изобретения является фармацевтическая композиция по любому из описанных выше аспектов осуществления настоящего изобретения, отличающаяся тем, что представляет собой ушные капли.

Другим аспектом осуществления настоящего изобретения является способ получения фармацевтической композиции, содержащей, по меньшей мере, пропифеназон, артикаин и бензалкония хлорид, заключающийся в

растворении пропифеназона в пропиленгликоле при температуре 30-45°C при перемешивании до полного растворения и растворении артикаина и бензалкония хлорида в воде при температуре 30-45°C при перемешивании до полного растворения;

смешивании полученного раствора пропифеназона и пропиленгликоля с полученным раствором артикаина, бензалкония хлорида и воды при перемешивании до достижения однородности получаемого смешиванием раствора;

добавлении глицерина к полученному смешиванием раствору при перемешивании до достижения однородности получаемого добавлением глицерина раствора;

постепенном добавлении воды до заданного объема при перемешивании.

Другим аспектом осуществления настоящего изобретения является описанный выше способ получения фармацевтической композиции, содержащей, по меньшей мере, пропифеназон, артикаин и бензалкония хлорид, отличающийся тем, что перемешивание является интенсивным.

Другим аспектом осуществления настоящего изобретения является описанный выше способ получения фармацевтической композиции, содержащей, по меньшей мере, пропифеназон, артикаин и бензалкония хлорид, отличающийся тем, что смешивание полученного раствора пропифеназона и пропиленгликоля с полученным раствором артикаина, бензалкония хлорида и воды осуществляют при перемешивании в течение не более чем 30 мин.

Другим аспектом осуществления настоящего изобретения является описанный выше способ получения фармацевтической композиции, содержащей, по меньшей мере, пропифеназон, артикаин и бензалкония хлорид, отличающийся тем, что добавление глицерина к полученному смешиванием раствору осуществляют при перемешивании в течение не более чем 30 мин.

Другим аспектом осуществления настоящего изобретения является описанный выше способ получения фармацевтической композиции, содержащей, по меньшей мере, пропифеназон, артикаин и бензалкония хлорид, отличающийся тем, что после постепенного добавления воды до заданного объема осуществляют фильтрацию, в частности через сито, в частности капроновое.

Другим аспектом осуществления настоящего изобретения является способ получения фармацевтической композиции, содержащей, по меньшей мере, феназон, артикаин и бензалкония хлорид, заключающийся в

растворении феназона, артикаина и бензалкония хлорида в воде при температуре 30-45°C при перемешивании до полного растворения;

добавлении глицерина к полученному перемешиванием раствору при перемешивании до достижения однородности получаемого добавлением глицерина раствора;

постепенном добавлении воды до заданного объема при перемешивании.

Другим аспектом осуществления настоящего изобретения является описанный выше способ получения фармацевтической композиции, содержащей, по меньшей мере, феназон, артикаин и бензалкония хлорид, отличающийся тем, что перемешивание является интенсивным. Другим аспектом осуществления настоящего изобретения является описанный выше способ получения фармацевтической композиции, содержащей, по меньшей мере, феназон, артикаин и бензалкония хлорид, отличающийся тем, что добавление глицерина к полученному перемешиванием раствору осуществляют при перемешивании в течение не более чем 30 мин.

Другим аспектом осуществления настоящего изобретения является описанный выше способ получения фармацевтической композиции, содержащей, по меньшей мере, феназон, артикаин и бензалкония хлорид, отличающийся тем, что после постепенного добавления воды до заданного объема осуществляют фильтрацию, в частности через сито, в частности капроновое.

Другим аспектом осуществления настоящего изобретения является способ лечения отитов, заключающийся в введении фармацевтической композиции по любому из описанных выше аспектов осуществления настоящего изобретения в виде ушных капель в ухо пациента, страдающего воспалительным процессом в ухе.

Другим аспектом осуществления настоящего изобретения является способ лечения отитов, заключающийся в введении фармацевтической композиции по любому из описанных выше аспектов осуществления настоящего изобретения в виде ушных капель в ухо пациента, страдающего воспалительным процессом в ухе, причем воспалительным процессом в ухе является наружный или средний отит.

#### **Осуществление изобретения**

Антисептическая и противовоспалительная активность фармацевтической композиции.

На антисептическую и противовоспалительную активность проверялись следующие рецептуры фармацевтической композиции:

рецептура № 1 - феназон 4 мас.%, артикаин 2 мас.%, бензалкония хлорид 0,2 мас.%;

рецептура № 2 - феназон 4 мас.%, артикаин 2 мас.%, бензалкония хлорид 0,1 мас.%;

рецептура № 3 - феназон 4 мас.%, артикаин 2 мас.%, бензалкония хлорид 0,05 мас.%;

рецептура № 4 - пропифеназон 4 мас.%, артикаин 2 мас.%, бензалкония хлорид 0,2 мас.%;

рецептура № 5 - пропифеназон 4 мас.%, артикаин 2 мас.%, бензалкония хлорид 0,1 мас.%;

рецептура № 6 - пропифеназон 4 мас.%, артикаин 2 мас.%, бензалкония хлорид 0,05 мас.%.  
 На антисептическую и противовоспалительную активность на животных проверялись рецептуры №

1-3.

Оценивали противовоспалительное и антисептическое действие трех образцов ушных капель по ранозаживляющему эффекту кожного дефекта на кроликах и морфологическому исследованию мазков-отпечатков с раневой поверхности. По характеру и продолжительности заживления ран наблюдался выраженный эффект. При этом, судя по снижению общего количества лейкоцитов в раневом отделяемом, образцы ушных капель обладают противовоспалительным действием.

Основным показанием для разрабатываемых ушных капель являются отиты. Поскольку адекватная модель этих заболеваний на животных отсутствует, то противовоспалительное действие трех образцов ушных капель изучали на модели скарифицированных кожных ран в экспериментах на кроликах. Основными критериями оценки действия препаратов были характер и продолжительность ранозаживления, а также морфологические показатели раневого отделяемого.

Тест-система.

Эксперименты проводили на кроликах-самцах породы шиншилла массой 2,5-3,0 кг. Животных получали из Филиала "Андреевка" ГУ НЦ "Биомедицинские Технологии" РАМН и содержали в виварии согласно санитарным правилам на стандартном рационе с использованием сухого гранулированного корма.

Сформировали 3 опытные группы по 4 кролика в каждой на каждую рецептуру ушных капель:

1 группа - рецептура № 1;

2 группа - рецептура № 2;

3 группа - рецептура № 3.

Описание эксперимента.

Скарифицированные кожные раны воспроизводили у кроликов следующим образом. На наружном ухе (с учетом предназначения капель максимально близко к наружному слуховому проходу) каждого кролика с обеих сторон на участке примерно 1×1 см скальпелем делали несколько поверхностных насечек. На раневую поверхность на правом ухе (далее по тексту - "опытное ухо") всех опытных кроликов примерно через 1 ч наносили определенную рецептуру ушных капель соответственно номеру группы, указанной выше, в количестве 2-3 капель. Аппликации капель проводили два раза с интервалом 24 ч до образования плотного струпа.

Контролем служила раневая поверхность на противоположном левом ухе (далее по тексту также "контрольное ухо"), которое лечению не подвергалось.

На протяжении всего эксперимента проводили наблюдение за общим состоянием и поведением подопытных кроликов.

В течение 7 суток ежедневно оценивали клиническое состояние ран и окружающих тканей, сроки образования струпа и полного заживления ран. Сразу же после скарификации и через 24 ч после лечения с раневой поверхности опытного уха каждого кролика делали мазок-отпечаток; в указанные сроки мазок-отпечаток делали с раны контрольного уха. Мазки окрашивали азур-эозином; микроскопические препараты исследовали под микроскопом "Micos" (Австрия); увеличение 90×10.

Результаты.

После воспроизведения раневой поверхности и в последующие сроки наблюдений (7 суток) общее состояние и поведение кроликов оставалось без видимых нарушений. Все животные охотно потребляли корм и воду.

Ежедневно осматривали раневую поверхность у всех кроликов. Ниже приводятся результаты этих наблюдений во временной динамике.

Через 24 ч после первого нанесения всех трех образцов на раневых поверхностях в опыте и контроле появились признаки эпителизации ткани в виде каемки по периферии ран. В центре раневого участка хорошо просматривалась тонкая, сухая и бесцветная пленка. Ни в одном случае не наблюдали гнойных и кровянистых выделений. Отмечали начало формирования струпа. В приранековой зоне гиперемия, отеки и уплотнения отсутствовали.

Через 48 ч струп сформировался полностью только на опытном ухе. Струп был чистый, ровный, плотный и сухой. Во всех случаях не отмечали раневого отделяемого. Кожа вокруг ран была ровная, гладкая, чистая, без покраснений и припухлости. Признаков воспаления не отмечали (см. фиг. 1-12). Струп на контрольном ухе полностью не был сформирован и на третьи сутки (см. фиг. 13-16).

В последующие периоды времени имело место дальнейшее заживление ран. Во всех группах полное восстановление кожных дефектов контрольных ушей имело место примерно на 7 сутки. Полное восстановление кожных дефектов опытных ушей наблюдалось уже на 4-5 сутки.

Таким образом, рецептуры № 1-3 обладают выраженным антисептическим и противовоспалительным действием, что проявляется в более быстром формировании струпа и более быстром заживлении раны опытного уха.

Материалы и методы исследования противовоспалительной активности рецептур № 1-3 *in vitro*.

Получение культуры сенсibilизированных перитонеальных макрофагов (МФ) крысы.

Активированные МФ выделяли из перитонеального экссудата крысы через 4 дня после внутрибрюшинной инъекции 5 мл лошадиной сыворотки. Перитонеальную полость промывали PBS (ПанЭко, Россия), затем полученную суспензию собирали в центрифужную пробирку (CORNING, 50 ml). После центрифугирования (Eppendorf, 5702RH, Германия), в течение 5 мин при 200 об/мин, удаляли супернатант, а клеточный осадок ресуспендировали в ростовой среде RPMI-1640 (GIBCO) с добавлением 10% FBS (GIBCO), L-Glutamine и антибиотика/антимикотика (GIBCO) стандартной концентрации. Мононуклеарные клетки считали в камере Горяева на микроскопе "Олимпус" (Olympus SK 40, Япония), после чего готовили клеточную суспензию с концентрацией  $1,6 \times 10^6$  кл/мл. Готовую суспензию мононуклеаров вносили по 1 мл в каждую лунку 24-луночного планшета (CORNING) и инкубировали во влажных условиях CO<sub>2</sub> - инкубатора (New Brunswick, Galaxy 170R) при t=37°C и 5% CO<sub>2</sub>.

Для исследования выделенные МФ высевали в два 24-луночных планшета. После двух часов инкубации удаляли не прикрепившиеся клетки и отмывали лунки теплым раствором Хенкса (ПанЭко, Россия). Прикрепившиеся МФ составляют приблизительно 50-60% от тотального количества посаженных мононуклеарных клеток.

Приготовление исследуемых препаратов.

Действие препарата на сенсibilизированных МФ изучали в трех разведениях. Для этого на ростовой среде RPMI-1640 (GIBCO) с добавлением 1% FBS, L-Glutamine и антибиотика/антимикотика, в стерильных условиях готовили рецептуры № 1-3 в указанных концентрациях.

Готовые стерильные растворы рецептур № 1-3 вносили по 500 мкл в каждую лунку. Контрольные лунки разделили на две группы К1 и К2, по четыре лунки на каждую группу. В первую группу (К1) внесли по 500 мкл исходной ростовой среды RPMI-1640 с 1% FBS без исследуемых препаратов. В лунки

второй контрольной группы (K2) внесли ростовую среду, содержащую феназон и артикаин.

Пробы супернатанта для иммуноферментного анализа отбирали в четырех повторах через 6 и 24 ч после внесения исследуемых препаратов. Перед замораживанием супернатант центрифугировали (2 мин, 10000 об/мин) и хранили в аликвотных частях при  $-70^{\circ}\text{C}$  до проведения иммуноферментного анализа (ИФА).

Иммуноферментный анализ.

Количественное содержание растворимых цитокинов IL-1 $\beta$  и TNF- $\alpha$  в супернатантах активированных МФ определяли стандартным методом твердофазного ИФА. Исследования выполнены со стандартными наборами реактивов для ИФА "Quantikine ELISA Rat TNF- $\alpha$ " (Catalog Number RTA00) и "Quantikine ELISA Rat IL-1 $\beta$ " (Catalog Number RLB00), производитель R&D Systems (Великобритания). Анализ проводили по стандартному протоколу. Оптическую плотность измеряли на ридер-спектрофотометре "Anthos 2010" (Австрия) при длине волны 450 нм. Исходные данные иммуноферментного анализа для обоих цитокинов приведены на фиг. 17-23.

Результаты.

В работе было исследовано влияние рецептур № 1-3 на синтез IL-1 $\beta$  и TNF- $\alpha$  активированными МФ в модели *in vitro*. В ходе всего эксперимента проводили светоскопическое наблюдение за состоянием культуры МФ. При визуальном осмотре через 6 и 24 ч культивирования не обнаружено морфологических различий между клетками в контрольных и исследуемых лунках. Клетки во всех лунках имели одинаковую степень расплывчатости, детрит в среде отсутствовал. Из чего можно заключить, что исследуемые препараты не вызывают цитотоксического действия на культуру клеток в течение 24-часовой инкубации.

На фиг. 24 и 25 показан уровень TNF- $\alpha$  в супернатантах активированных МФ через 6 и 24 ч инкубации в зависимости от концентрации бензалкония хлорида. Ко - контроль, не кондиционированная среда RPMI-1640 с 1% FBS. Через 6 ч концентрация TNF- $\alpha$  по сравнению с контрольными группами K1 и K2 снижается в среднем на 30%. Причем рецептуры № 1-3 в равной степени ингибируют синтез TNF- $\alpha$  активированных макрофагов. Через сутки к конечной точке исследования эта тенденция сохраняется. Из этого можно заключить, что исследуемые рецептуры в равной степени ингибируют синтез TNF- $\alpha$  активированных МФ в течение 24 ч.

На фиг. 26 и 27 показано влияние исследуемых препаратов на уровень синтеза IL-1 $\beta$  в супернатантах активированных МФ. Концентрация IL-1 $\beta$  имеет тенденцию к снижению через 6 ч инкубации. По отношению к контрольным группам K1 и K2 концентрация IL-1 $\beta$  уменьшается примерно в 2 раза под действием рецептур № 1 и 2. Рецептура № 3 в меньшей степени ингибирует синтез IL-1 $\beta$ . К 24 ч ингибирующее действие исследуемых препаратов ослабевает.

Таким образом, исследование противовоспалительной активности рецептур № 1-3 на активированных МФ показало, что данные образцы обладают наиболее выраженным противовоспалительным действием на ранних сроках воспалительной реакции. Ингибирование синтеза цитокинов активированных МФ имеет прямопропорциональную зависимость от концентрации бензалкония хлорида. Наиболее эффективным противовоспалительным действием обладает рецептура № 1.

Материалы и методы исследования антисептической активности рецептур № 4-6 *in vitro*.

Изучение антисептической активности рецептур № 4-6 проведено на тест-культурах референтных штаммов *Haemophilus influenzae* (H.influenzae) ATCC 49247, *Moraxella catarrhalis* ATCC 25235, *Staphylococcus aureus* (S.aureus) ATCC 29213, полученных из музея ГИСК им. Л.А. Тарасевича, а также на тест-штаммах *Streptococcus pneumoniae* (S.pneumoniae) № 1, *Streptococcus pyogenes* (S.pyogenes) № 664, выделенных из клинического материала (музей межклинической бактериологической лаборатории Первого МГМУ им. И.М. Сеченова).

Антисептическую активность рецептур исследовали в жидкой питательной среде и на плотной питательной среде.

Исследование антибактериальной активности рецептур № 4-6 в жидкой питательной среде.

Для культивирования *M.catarrhalis*, *S.aureus*, *S.pneumoniae*, *S.pyogenes* использовали агар с сердечно-мозговым экстрактом с добавлением 5% крови, культивирование *H.influenzae* проводили на шоколадном агаре на основе сердечно-мозгового экстракта. Суточную агаровую культуру соответствующего тест-микроорганизма смывали стерильным физиологическим раствором и полученную бактериальную взвесь доводили до концентрации 1-1,5 млрд микробных клеток в 1 мл по стандарту МакФарланда. Из приготовленных взвесей готовили 10-кратные бульонные разведения, содержащие примерно  $1,0-1,5 \times 10^8$  КОЕ/мл, *M.catarrhalis*, *S.pneumoniae*, *S.pyogenes*, *H.influenzae* - в сердечно-мозговом бульоне, *S.aureus* - в бульоне Мюллера-Хинтона.

Приготовленные бульонные культуры тест-микроорганизмов разливали в 4 пробирки по 1 мл. В пробирки № 1, 2, 3 вносили по 1 мл соответствующих рецептур. В качестве контроля служила пробирка № 4 с культурой, в которую вместо рецептур вносили 1 мл соответствующего бульона. Все пробы инкубировали в термостате при  $t = 350^{\circ}\text{C}$  и через определенные промежутки времени - 1 и 4 ч, - делали высевы на чашки с плотной питательной средой для определения бактериальной концентрации (БК). Через



24-48 ч инкубации чашек с посевами, в зависимости от вида микроорганизма, подсчитывали количество выросших колоний и определяли БК.

Исследование антибактериальной активности рецептур № 4-6 на твердой питательной среде.

Из суточных культур испытуемых тест-микроорганизмов, выращенных на соответствующих твердых питательных средах (шоколадный и 5% кровяной агар с сердечно-мозговым экстрактом), готовили стандартные бактериальные суспензии, соответствующие по плотности 0,5 по стандарту МакФарланда (примерно  $1,5 \times 10^8$  КОЕ/мл). Стерильным ватным тампоном суспензия наносилась на чашку Петри со средой для определения чувствительности. После подсушивания в течение 5 мин на поверхность питательной среды с тест-микроорганизмом были нанесены по 1 капле (20 мкл) рецептур № 4-6. Учет результатов проводили через 24-48 ч инкубации чашек с посевами по зоне задержки роста тест-микроорганизма.

Результаты.

Результаты изучения антимикробной активности рецептур № 4-6 представлены в табл. 1-6.

Как видно из табл. 1-5, рецептуры № 4-6 при исследовании в жидкой питательной среде обладают выраженной антисептической активностью в отношении тестируемых бактерий. Рецептуры № 4-6 обеспечивают гибель *S.aureus*, *M.catarrhalis*, *S.pneumoniae*, *S.pyogenes*, *H.influenzae* через 60 мин.

Таблица 1. Результаты исследования антисептического действия рецептур № 4-6 на *S.aureus* ATCC 29213

	БК тест-микроорганизма (КОЕ/мл)		
	Экспозиция		
	0 час	1 час	4 час
Рецептура № 4	$2,0 \times 10^8$	отсутствие роста	отсутствие роста
Рецептура № 5	$2,0 \times 10^8$	отсутствие роста	отсутствие роста
Рецептура № 6	$2,0 \times 10^8$	отсутствие роста	отсутствие роста
Контроль	$2,0 \times 10^8$	$1,0 \times 10^8$	$2,0 \times 10^9$

Таблица 2. Результаты исследования антисептического действия рецептур № 4-6 на *H.influenzae* ATCC 49247

	БК тест-микроорганизма (КОЕ/мл)		
	Экспозиция		
	0 час	1 час	4 час
Рецептура № 4	$1,2 \times 10^8$	отсутствие роста	отсутствие роста
Рецептура № 5	$1,2 \times 10^8$	отсутствие роста	отсутствие роста
Рецептура № 6	$1,2 \times 10^8$	отсутствие роста	отсутствие роста
Контроль	$1,2 \times 10^8$	$1,0 \times 10^8$	$1,0 \times 10^8$

Таблица 3. Результаты исследования антисептического действия рецептур № 4-6 на *M.catarrhalis* ATCC 25235

	БК тест-микроорганизма (КОЕ/мл)		
	Экспозиция		
	0 час	1 час	4 час
Рецептура № 4	$1,4 \times 10^8$	отсутствие роста	отсутствие роста
Рецептура № 5	$1,4 \times 10^8$	отсутствие роста	отсутствие роста
Рецептура № 6	$1,4 \times 10^8$	отсутствие роста	отсутствие роста
Контроль	$1,4 \times 10^8$	$1,0 \times 10^7$	$8,0 \times 10^6$

Таблица 4. Результаты исследования антисептического действия рецептур № 4-6 на *S.pyogenes* № 664

	БК тест-микроба (КОЕ/мл)		
	Экспозиция		
	0 час	1 час	4 час
Рецептура № 4	$2,0 \times 10^7$	отсутствие роста	отсутствие роста
Рецептура № 5	$2,0 \times 10^7$	отсутствие роста	отсутствие роста
Рецептура № 6	$2,0 \times 10^7$	отсутствие роста	отсутствие роста
Контроль	$2,0 \times 10^7$	$4,0 \times 10^7$	$4,0 \times 10^8$

Таблица 5. Результаты исследования антисептического действия рецептур № 4-6 на *S.pneumoniae* № 1

	БК тест-микроба (КОЕ/мл)		
	Экспозиция		
	0 час	1 час	4 час
Рецептура № 4	$2,0 \times 10^6$	отсутствие роста	отсутствие роста
Рецептура № 5	$2,0 \times 10^6$	отсутствие роста	отсутствие роста
Рецептура № 6	$2,0 \times 10^6$	отсутствие роста	отсутствие роста
Контроль	$2,0 \times 10^6$	$2,0 \times 10^6$	$8,0 \times 10^6$

Выраженная антисептическая активность рецептур № 4-6 на тест-микробах также была выявлена при исследовании на твердых питательных средах (табл. № 6). В зоне воздействия (капля) рецептур № 4-6 отмечается полное подавление роста *S.aureus*, *M.catarrhalis*, *S.pneumoniae*, *S.pyogenes*, *H.influenzae*.

Таблица 6. Антисептическая активность рецептур № 4-6

Тест-микроб	Наличие (+) или отсутствие (-) роста тест-микроба		
	Рецептура		
	№ 4	№ 5	№ 6
<i>S. aureus</i>	-	-	-
<i>M. catarrhalis</i>	-	-	-
<i>H. influenzae</i>	-	-	-
<i>S. pyogenes</i>	-	-	-
<i>S. pneumoniae</i>	-	-	-

Таким образом, рецептуры № 4-6 обладают выраженной антисептической активностью в отношении *S.aureus*, *M.catarrhalis*, *S.pneumoniae*, *S.pyogenes*, *H.influenzae*.

Принимая во внимание тот факт, что рецептуры № 4-6 отличались от соответствующих рецептур № 1-3 только применением пропифеназона вместо феназона, можно сделать вывод, что по своим антисептическим и противовоспалительным действиям оба типа рецептур идентичны, т.к. этот эффект обусловлен, в целом, наличием и концентрацией бензалкония хлорида.

Анальгетический и анестетический эффект при этом обеспечивается, соответственно, феназоном или пропифеназоном и артикаином, о чем свидетельствуют менее выраженные реакции кроликов на воздействие на скарифицированное опытное ухо.

Предпочтительные рецептуры.

Предпочтительные рецептуры помимо феназона (или пропифеназона), артикаина и бензалкония хлорида дополнительно содержат вспомогательные вещества. Этими рецептурами являются следующие рецептуры:

рецептура № 7 - феназон 4 мас.%, артикаин 2 мас.%, бензалкония хлорид 0,2 мас.%; дополнительно содержащая глицерин;

рецептура № 8 - феназон 4 мас.%, артикаин 2 мас.%, бензалкония хлорид 0,1 мас.%; дополнительно содержащая глицерин;

рецептура № 9 - феназон 4 мас.%, артикаин 2 мас.%, бензалкония хлорид 0,05 мас.%; дополнительно содержащая глицерин;

рецептура № 10 - пропифеназон 4 мас.%, артикаин 2 мас.%, бензалкония хлорид 0,2 мас.%; дополнительно содержащая пропиленгликоль и глицерин;

рецептура № 11 - пропифеназон 4 мас.%, артикаин 2 мас.%, бензалкония хлорид 0,1 мас.%; допол-

нительно содержащая пропиленгликоль и глицерин;

рецептура № 12 - пропифеназон 4 мас.%, артикаин 2 мас.%, бензалкония хлорид 0,05 мас.%; дополнительно содержащая пропиленгликоль и глицерин.

Содержание пропиленгликоля в упомянутых рецептурах при этом должно быть в пределах от 40 до 60 мас.%. Содержание глицерина - от 20 до 30 мас.%. Остальное - вода.

Такие предпочтительные рецептуры могут быть получены следующим образом. Рецептуры № 7-9, содержащие феназон, получали путем растворения феназона, артикаина и бензалкония хлорида в воде при температуре 30-45°C при перемешивании до полного растворения, последующим добавлением глицерина к полученному перемешиванием раствору при перемешивании до достижения однородности получаемого добавлением глицерина раствора и последующим постепенным добавлением воды до заданного объема при перемешивании. Перемешивание при этом может быть интенсивным, т.е. таким перемешиванием, которое обеспечивало бы получение однородного раствора. Добавление глицерина к полученному перемешиванием раствору может осуществляться, в частности, при перемешивании в течение не более чем 30 мин. После постепенного добавления воды до заданного объема при этом может быть осуществлена фильтрация, в частности через сито, например капроновое. В свою очередь рецептуры № 10-12, содержащие пропифеназон, получали путем растворения пропифеназона в пропиленгликоле при температуре 30-45°C при перемешивании до полного растворения и растворения артикаина и бензалкония хлорида в воде при температуре 30-45°C при перемешивании до полного растворения, после чего полученные растворы пропифеназона с пропиленгликолем и артикаина с бензалкония хлоридом и водой смешивали при перемешивании до достижения однородности получаемого смешиванием раствора, после чего осуществляли добавление глицерина к полученному смешиванием раствору при перемешивании до достижения однородности получаемого добавлением глицерина раствора и после этого осуществляли постепенное добавление воды до заданного объема так же при перемешивании. Для обеспечения однородности получаемого смешиванием раствора перемешивание может осуществляться интенсивно. Смешивание полученного раствора пропифеназона и пропиленгликоля с полученным раствором артикаина, бензалкония хлорида и воды при этом может осуществляться при перемешивании в течение не более чем 30 мин. Добавление глицерина к полученному смешиванием раствору так же может осуществляться при перемешивании в течение не более чем 30 мин. После постепенного добавления воды до заданного объема при этом может быть осуществлена фильтрация, в частности через сито, например капроновое.

#### ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Фармацевтическая композиция для лечения отитов и других воспалительных заболеваний уха, содержащая, по меньшей мере, феназон или пропифеназон в количестве до 4 мас.%, артикаин в количестве до 2 мас.%, бензалкония хлорид в количестве от 0,05 до 0,2 мас.%, остальное - вспомогательные вещества и вода.

2. Композиция по п.1, отличающаяся тем, что в качестве одного из вспомогательных веществ содержит глицерин.

3. Композиция по п.2, отличающаяся тем, что содержит глицерин в количестве от 20 до 30 мас.%.

4. Композиция по любому из пп.1, 2 или 3, отличающаяся тем, что когда содержит пропифеназон, то в качестве дополнительного вспомогательного вещества содержит пропиленгликоль.

5. Композиция по п.4, отличающаяся тем, что содержит пропиленгликоль в количестве от 44 до 60 мас.%.

6. Композиция по любому из пп.1-3 или 5, отличающаяся тем, что представляет собой ушные капли.

7. Композиция по п.4, отличающаяся тем, что представляет собой ушные капли.

8. Способ получения фармацевтической композиции для лечения отитов и других воспалительных заболеваний уха, содержащей, по меньшей мере, феназон в количестве до 4 мас.%, артикаин в количестве до 2 мас.%, бензалкония хлорид в количестве от 0,05 до 0,2 мас.%, остальное - вспомогательные вещества и вода, заключающийся в

растворении феназона, артикаина и бензалкония хлорида в воде при температуре 30-45°C при перемешивании до полного растворения,

последующем добавлении глицерина к полученному перемешиванием раствору при перемешивании до достижения однородности получаемого добавлением глицерина раствора; и последующем постепенном добавлении воды до заданного объема при перемешивании.

9. Способ по п.8, отличающийся тем, что добавление глицерина к полученному перемешиванием раствору осуществляется при перемешивании в течение не более чем 30 мин.

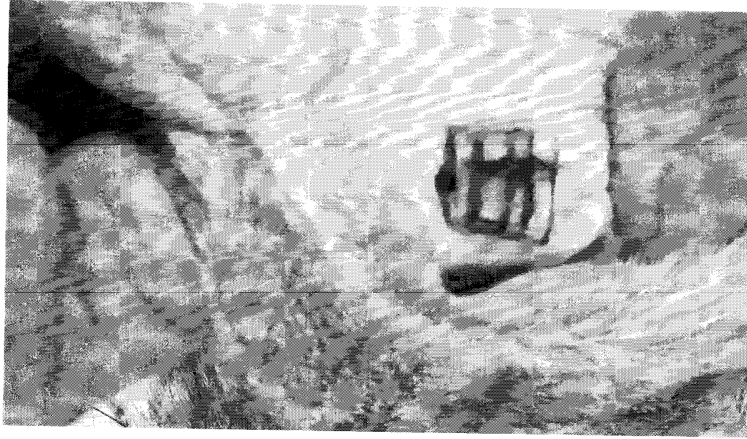
10. Способ по любому из пп.8 или 9, отличающийся тем, что перемешивание является интенсивным.

11. Способ по любому из пп.8 или 9, отличающийся тем, что после постепенного добавления воды до заданного объема осуществляют фильтрацию.

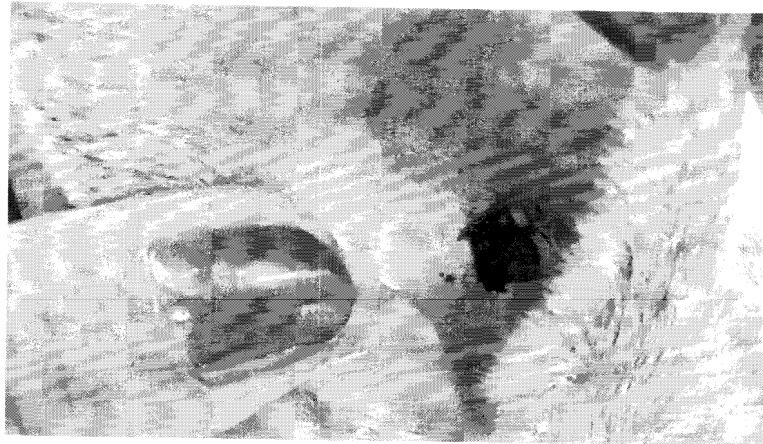
12. Способ по п.11, отличающийся тем, что фильтрацию осуществляют через сито.

13. Способ по п.10, отличающийся тем, что после постепенного добавления воды до заданного объема осуществляют фильтрацию.

14. Способ по п.13, отличающийся тем, что фильтрацию осуществляют через сито.
15. Способ получения фармацевтической композиции для лечения отитов и других воспалительных заболеваний уха, содержащей, по меньшей мере, пропифеназон в количестве до 4 мас.%, артикаин в количестве до 2 мас.% и бензалкония хлорид в количестве от 0,05 до 0,2 мас.%, остальные - вспомогательные вещества и вода, заключающийся в  
растворении пропифеназона в пропиленгликоле при температуре 30-45°C при перемешивании до полного растворения и растворении артикаина и бензалкония хлорида в воде при температуре 30-45°C при перемешивании до полного растворения;  
последующем смешивании полученного раствора пропифеназона и пропиленгликоля с полученным раствором артикаина, бензалкония хлорида и воды при перемешивании до достижения однородности получаемого смешиванием раствора;  
последующем добавлении глицерина к полученному смешиванием раствору при перемешивании до достижения однородности получаемого добавлением глицерина раствора; и  
последующем постепенном добавлении воды до заданного объема при перемешивании.
16. Способ по п.15, отличающийся тем, что смешивание полученного раствора пропифеназона и пропиленгликоля с полученным раствором артикаина, бензалкония хлорида и воды осуществляется при перемешивании в течение не более чем 30 мин.
17. Способ по любому из пп.15 или 16, отличающийся тем, что добавление глицерина к полученному смешиванием раствору осуществляется при перемешивании в течение не более чем 30 мин.
18. Способ по любому из пп.15 или 16, отличающийся тем, что перемешивание является интенсивным.
19. Способ по п.17, отличающийся тем, что перемешивание является интенсивным.
20. Способ по любому из пп.15, 16, 19, отличающийся тем, что после постепенного добавления воды до заданного объема осуществляют фильтрацию.
21. Способ по п.20, отличающийся тем, что фильтрацию осуществляют через сито.
22. Способ по п.18, отличающийся тем, что после постепенного добавления воды до заданного объема осуществляют фильтрацию.
23. Способ по п.22, отличающийся тем, что фильтрацию осуществляют через сито.
24. Применение фармацевтической композиции по любому из пп.1-7 для лечения отитов и других воспалительных заболеваний уха.
25. Применение по п.24, отличающееся тем, что отитом или другим воспалительным заболеванием уха является наружный отит или средний отит.
26. Совместное применение феназона или пропифеназона в количестве до 4 мас.%, а также артикаина в количестве до 2 мас.% и бензалкония хлорида в количестве от 0,05 до 0,2 мас.% для изготовления фармацевтической композиции для лечения отитов и других воспалительных заболеваний уха.
27. Применение по п.26, отличающееся тем, что отитом или другим воспалительным заболеванием уха является наружный отит или средний отит.
28. Совместное применение феназона в количестве до 4 мас.%, артикаина в количестве до 2 мас.%, бензалкония хлорида в количестве от 0,05 до 0,2 мас.% и глицерина для изготовления фармацевтической композиции для лечения отитов и других воспалительных заболеваний уха.
29. Применение по п.28, отличающееся тем, что отитом или другим воспалительным заболеванием уха является наружный отит или средний отит.
30. Совместное применение пропифеназона в количестве до 4 мас.%, артикаина в количестве до 2 мас.%, бензалкония хлорида в количестве от 0,05 до 0,2 мас.%, пропиленгликоля и глицерина для изготовления фармацевтической композиции для лечения отитов и других воспалительных заболеваний уха.
31. Применение по п.30, отличающееся тем, что отитом или другим воспалительным заболеванием уха является наружный отит или средний отит.
32. Совместное применение феназона или пропифеназона в количестве до 4 мас.%, а также артикаина в количестве до 2 мас.% и бензалкония хлорида в количестве от 0,05 до 0,2 мас.% для изготовления фармацевтической композиции для наружного или местного применения.
33. Применение по п.32, отличающееся тем, что фармацевтическая композиция представляет собой ушные капли.
34. Способ лечения отитов и других воспалительных заболеваний уха, заключающийся в введении фармацевтической композиции по любому из пп.1-7 в ухо пациента, страдающего воспалительным процессом в ухе.
35. Способ по п.34, отличающийся тем, что воспалительным процессом в ухе является наружный отит или средний отит.



Фиг. 1



Фиг. 2



Фиг. 3



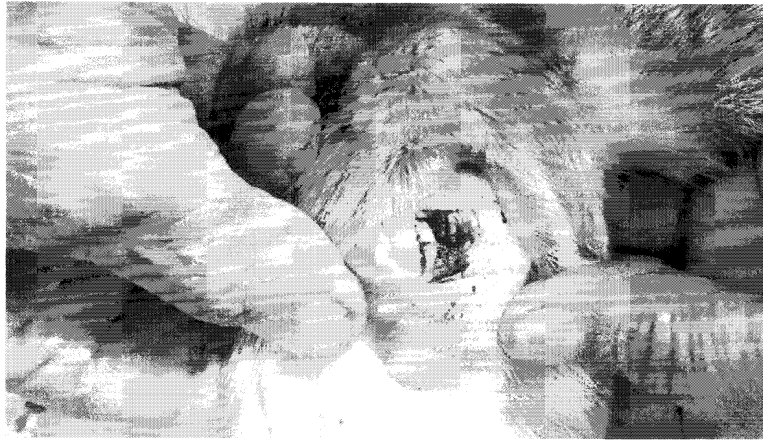
Фиг. 4



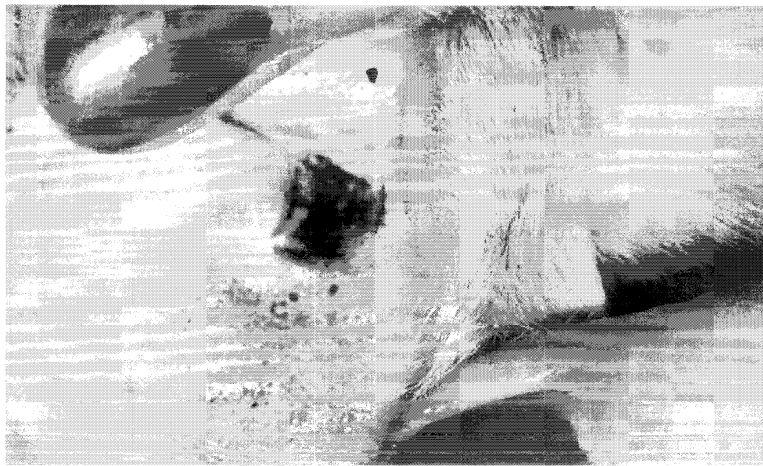
Фиг. 5



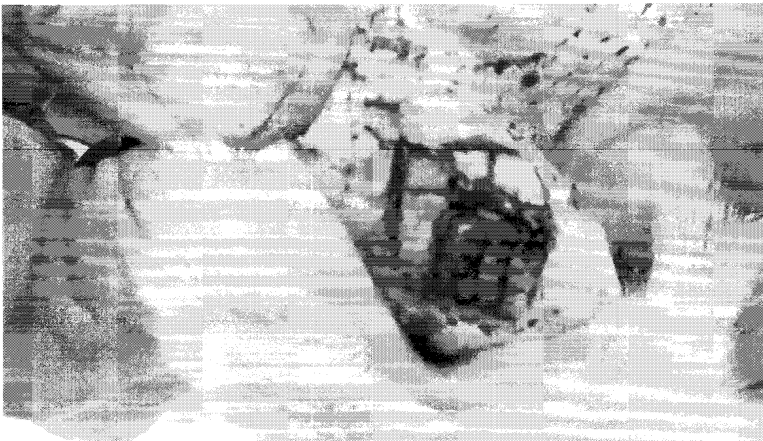
Фиг. 6



Фиг. 7

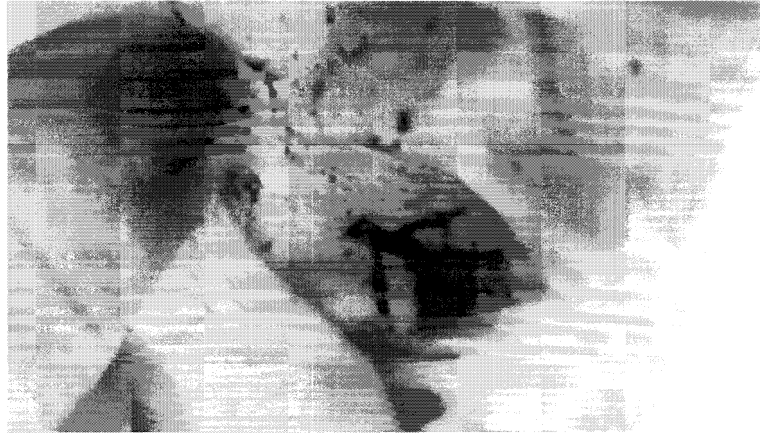


Фиг. 8



Фиг. 9

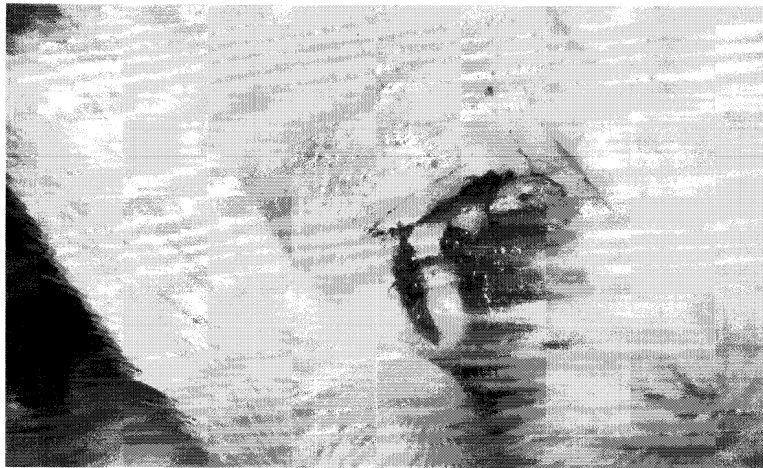




Фиг. 10



Фиг. 11

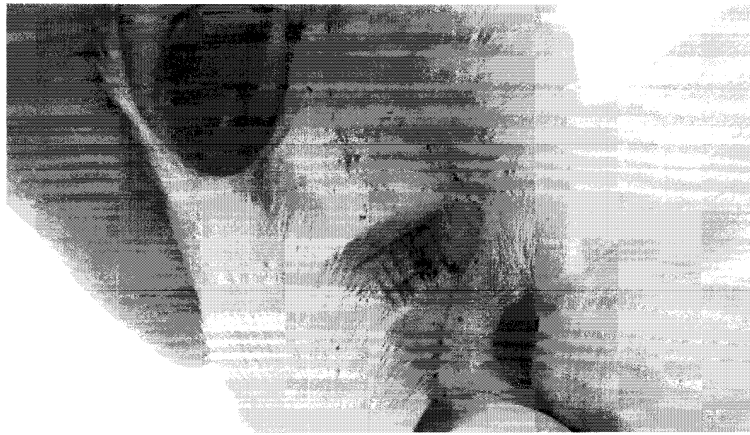


Фиг. 12





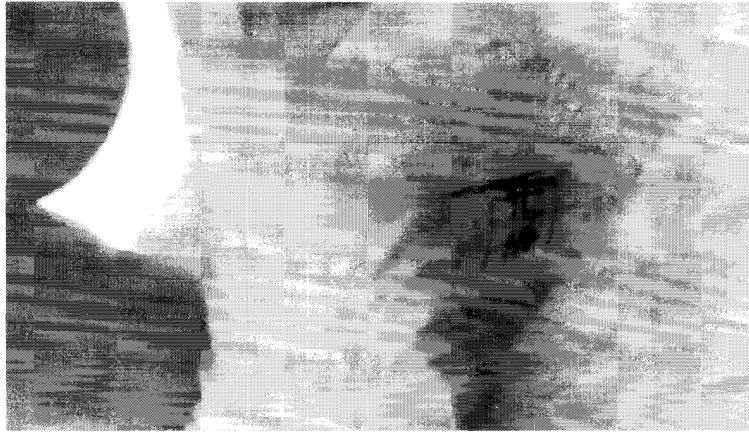
Фиг. 13



Фиг. 14



Фиг. 15



Фиг. 16

**WinRead V. 2.3**  
**Anthos 2010**  
**Result-List: TNFrat - 19.06.13-1**

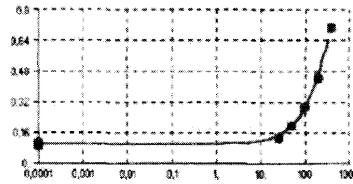
Date

20 Июнь 2013 г. 15:51:16

Page: 1

**Test-Information**

Measurement filter : 450 nm  
 Axis : ln/log  
 Curve : 4-Parameter Fit



Name	Position	pg/ml	OD	CV%	Results
Contr1	A3	115.54	0.313	0.0	
Contr1	B3	111.00	0.305	0.0	
Contr2	C3	<0.00	0.096	0.0	
Contr2	D3	<0.00	0.096	0.0	
1	E3	50.87	0.194	0.0	
2	F3	60.32	0.212	0.0	
3	G3	64.02	0.219	0.0	
4	H3	79.52	0.248	0.0	
5	A4	55.54	0.205	0.0	
6	B4	64.55	0.220	0.0	
7	C4	54.54	0.201	0.0	
8	D4	52.44	0.197	0.0	
9	E4	42.52	0.178	0.0	
10	F4	48.78	0.190	0.0	
11	G4	38.88	0.171	0.0	
12	H4	36.80	0.167	0.0	
13	A5	34.25	0.162	0.0	
14	B5	43.55	0.160	0.0	
15	C5	45.12	0.163	0.0	
16	D5	36.88	0.171	0.0	
17	E5	37.32	0.168	0.0	
18	F5	41.48	0.175	0.0	
19	G5	40.96	0.175	0.0	
20	H5	40.44	0.174	0.0	
21	A6	52.98	0.188	0.0	
22	B6	39.40	0.172	0.0	
23	C6	35.24	0.184	0.0	
24	D6	36.80	0.167	0.0	
25	E6	23.78	0.142	0.0	
26	F6	26.39	0.147	0.0	
27	G6	27.95	0.150	0.0	
28	H6	26.91	0.148	0.0	
29	A7	25.87	0.146	0.0	
30	B7	34.25	0.162	0.0	
31	C7	30.04	0.154	0.0	
32	D7	21.16	0.137	0.0	
33	E7	28.47	0.151	0.0	
34	F7	32.64	0.159	0.0	
35	G7	29.00	0.152	0.0	
36	H7	25.35	0.145	0.0	
37	A8	30.56	0.155	0.0	
38	B8	32.64	0.159	0.0	
39	C8	33.16	0.160	0.0	
40	D8	23.78	0.142	0.0	
S1	A1 B1	0.00	0.092	1.5	
S2	C1 D1	0.00	0.100	5.0	
S3	E1 F1	0.00	0.110	1.9	
S4	G1 H1	0.00	0.132	2.7	
S5	A2 B2	0.00	0.196	2.2	
S6	C2 D2	0.00	0.295	0.5	
S7	E2 F2	0.00	0.443	4.6	
S8	G2 H2	0.00	0.707	2.7	

anthos tel: +43 662 867 200 fax: +43 662 867 223

Фиг. 17

WinRead V. 2.3  
 Anthos 2010  
 Result-List: TNFrat - 19.06.13-1

Date : 20 Июнь 2013 г. 15:51:19

Page: 2

Standards Formula	Calculated	nominal	adjusted
S1	0.092	0.00	<0.00
S2	0.100	0.00	0.44
S3	0.109	0.00	6.39
S4	0.132	25.00	18.79
S5	0.196	50.00	51.91
S6	0.295	100.00	105.36
S7	0.444	200.00	195.13
S8	0.706	400.00	>400.00

Фиг. 18

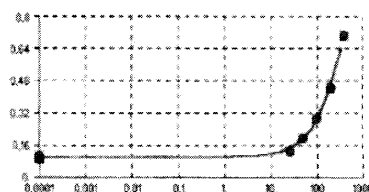
WinRead V. 2.3  
 Anthos 2010  
 Result-List: TNFrat - 19.06.13-1

Date : 20 Июнь 2013 г. 15:51:20

Page: 3

Test-Information

Measurement filter : 450 nm  
 Axis : ln/log  
 Curve : 4-Parameter Fit



Legend  
 OD-Values (Meas. data)  
 OD  
 Sample ID-Number / Plate Layout  
 Results  
 Concentrations pg/ml

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	0.093	0.193	0.313	0.205	0.162	0.198	0.146	0.155				
	0.092	0.196	0.313	0.205	0.162	0.198	0.146	0.155				
	S1	S5	Contr1	5	13	21	29	37				
B	0.091	0.199	0.305	0.220	0.160	0.172	0.162	0.159				
	0.100	0.295	0.096	0.201	0.183	0.164	0.154	0.160				
	S2	S6	Contr2	7	15	23	31	39				
C	0.096	0.296	0.096	0.201	0.183	0.164	0.154	0.160				
	0.103	0.294	0.096	0.197	0.171	0.167	0.137	0.142				
	S2	S6	Contr2	8	16	24	32	40				
D	0.108	0.458	0.194	0.178	0.168	0.142	0.151					
	0.110	0.443	0.194	0.178	0.168	0.142	0.151					
	S3	S7	1	9	17	25	33					
E	0.111	0.429	0.212	0.190	0.176	0.147	0.159					
	0.130	0.720	0.219	0.171	0.175	0.150	0.152					
	0.132	0.707	0.219	0.171	0.175	0.150	0.152					
F	0.135	0.693	0.248	0.167	0.174	0.148	0.146					
	0.135	0.693	0.248	0.167	0.174	0.148	0.146					
	S4	S8	4	12	20	28	36					
G	0.130	0.720	0.219	0.171	0.175	0.150	0.152					
	0.132	0.707	0.219	0.171	0.175	0.150	0.152					
	S4	S8	3	11	19	27	35					
H	0.135	0.693	0.248	0.167	0.174	0.148	0.146					
	0.135	0.693	0.248	0.167	0.174	0.148	0.146					
	S4	S8	4	12	20	28	36					

anthos\_tel: +435620657 2203 fax: 0687 229

Фиг. 19



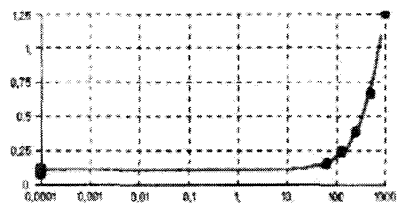
**WinRead V. 2.3**  
**Anthos 2010**  
**Result-List: IL-1beta-rat - 20.06.13-2**

Date: 20 Июнь 2013 г. 19:54:43

Page: 1

**Test-Information**

Measurement filter: 450 nm  
 Axis: lin/log  
 Curve: 4-Parameter Fit



Name	Position	pg/ml	OD	CV%	Results
Pr1	A3	321.49	0.486	0.0	
Pr2	B3	313.33	0.456	0.0	
Pr3	C3	326.38	0.472	0.0	
Pr4	D3	340.25	0.489	0.0	
Pr5	E3	47.19	0.143	0.0	
Pr6	F3	65.29	0.162	0.0	
Pr7	G3	46.21	0.142	0.0	
Pr8	H3	86.36	0.185	0.0	
Pr9	A4	77.29	0.175	0.0	
Pr10	B4	54.91	0.151	0.0	
Pr11	C4	95.31	0.195	0.0	
Pr12	D4	67.16	0.164	0.0	
Pr13	E4	53.95	0.150	0.0	
Pr14	F4	40.28	0.136	0.0	
Pr15	G4	37.27	0.133	0.0	
Pr16	H4	69.01	0.166	0.0	
Pr17	A5	28.00	0.124	0.0	
Pr18	B5	44.25	0.140	0.0	
Pr19	C5	25.88	0.122	0.0	
Pr20	D5	33.20	0.129	0.0	
Pr21	E5	31.13	0.127	0.0	
Pr22	F5	38.28	0.134	0.0	
Pr23	G5	24.81	0.121	0.0	
Pr24	H5	40.28	0.136	0.0	
Pr25	A6	53.95	0.150	0.0	
Pr26	B6	69.94	0.167	0.0	
Pr27	C6	68.09	0.165	0.0	
Pr28	D6	86.36	0.185	0.0	
Pr29	E6	70.86	0.168	0.0	
Pr30	F6	59.66	0.156	0.0	
Pr31	G6	55.67	0.152	0.0	
Pr32	H6	78.20	0.176	0.0	
Pr33	A7	51.07	0.147	0.0	
Pr34	B7	67.16	0.164	0.0	
Pr35	C7	66.23	0.163	0.0	
Pr36	D7	53.95	0.150	0.0	
Pr37	E7	46.21	0.142	0.0	
Pr38	F7	67.16	0.164	0.0	
Pr39	G7	60.80	0.157	0.0	
Pr40	H7	60.80	0.157	0.0	
Pr41	A8	37.27	0.133	0.0	
Pr42	B8	59.66	0.156	0.0	
Pr43	C8	56.82	0.153	0.0	
Pr44	D8	40.28	0.136	0.0	
Pr45	E8	<0.00	0.076	0.0	
Pr46	F8	<0.00	0.078	0.0	
Pr47	G8	59.66	0.156	0.0	
Pr48	H8	41.28	0.137	0.0	
Pr49	A9	86.36	0.185	0.0	
Pr50	B9	64.36	0.161	0.0	
Pr51	C9	50.10	0.146	0.0	
Pr52	D9	54.91	0.151	0.0	
Pr53	E9	34.22	0.130	0.0	

anthos\_tel: +436624667 220, fax: 4662 223

Фиг. 21

**WinRead V. 2.3**  
**Anthos 2010**  
**Result-List: IL-1beta-rat - 20.06.13-2**

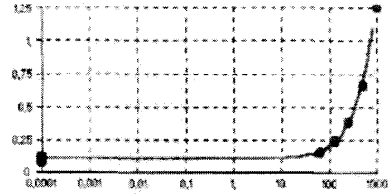
Date

20 Июнь 2013 г. 19:54:43

Page: 1

**Test-Information**

Measurement filter: 450 nm  
 Axis: lin/log  
 Curve: 4-Parameter Fit



Name	Position	pg/ml	OD	CV%	Results
Pr1	A3	321.49	0.486	0.0	
Pr2	B3	313.33	0.456	0.0	
Pr3	C3	326.38	0.472	0.0	
Pr4	D3	340.25	0.489	0.0	
Pr5	E3	47.19	0.143	0.0	
Pr6	F3	65.29	0.162	0.0	
Pr7	G3	46.21	0.142	0.0	
Pr8	H3	66.36	0.185	0.0	
Pr9	A4	77.29	0.175	0.0	
Pr10	B4	54.91	0.151	0.0	
Pr11	C4	95.31	0.185	0.0	
Pr12	D4	67.16	0.164	0.0	
Pr13	E4	53.95	0.150	0.0	
Pr14	F4	40.28	0.136	0.0	
Pr15	G4	37.27	0.133	0.0	
Pr16	H4	68.01	0.166	0.0	
Pr17	A5	28.00	0.124	0.0	
Pr18	B5	44.25	0.140	0.0	
Pr19	C5	25.88	0.122	0.0	
Pr20	D5	33.20	0.129	0.0	
Pr21	E5	31.13	0.127	0.0	
Pr22	F5	38.28	0.134	0.0	
Pr23	G5	24.61	0.121	0.0	
Pr24	H5	40.28	0.136	0.0	
Pr25	A6	53.95	0.150	0.0	
Pr26	B6	69.94	0.167	0.0	
Pr27	C6	68.09	0.165	0.0	
Pr28	D6	66.36	0.185	0.0	
Pr29	E6	70.86	0.168	0.0	
Pr30	F6	59.66	0.156	0.0	
Pr31	G6	55.67	0.152	0.0	
Pr32	H6	78.20	0.178	0.0	
Pr33	A7	51.07	0.147	0.0	
Pr34	B7	67.16	0.164	0.0	
Pr35	C7	66.23	0.163	0.0	
Pr36	D7	53.95	0.150	0.0	
Pr37	E7	46.21	0.142	0.0	
Pr38	F7	67.16	0.164	0.0	
Pr39	G7	60.60	0.157	0.0	
Pr40	H7	60.60	0.157	0.0	
Pr41	A8	37.27	0.133	0.0	
Pr42	B8	59.66	0.156	0.0	
Pr43	C8	56.62	0.153	0.0	
Pr44	D8	40.28	0.136	0.0	
Pr45	E8	<0.00	0.076	0.0	
Pr46	F8	<0.00	0.078	0.0	
Pr47	G8	59.66	0.156	0.0	
Pr48	H8	41.28	0.137	0.0	
Pr49	A9	66.36	0.185	0.0	
Pr50	B9	64.36	0.161	0.0	
Pr51	C9	60.10	0.148	0.0	
Pr52	D9	54.91	0.151	0.0	
Pr53	E9	34.22	0.130	0.0	

anthos, tel: +44(0)1857 220, fax: 2667 223

Фиг. 22

**WinRead V. 2.3**  
**Anthos 2010**  
**Result-List: IL-1beta-rat - 20.06.13-2**

Date

: 20 Июнь 2013 г. 19:54:45

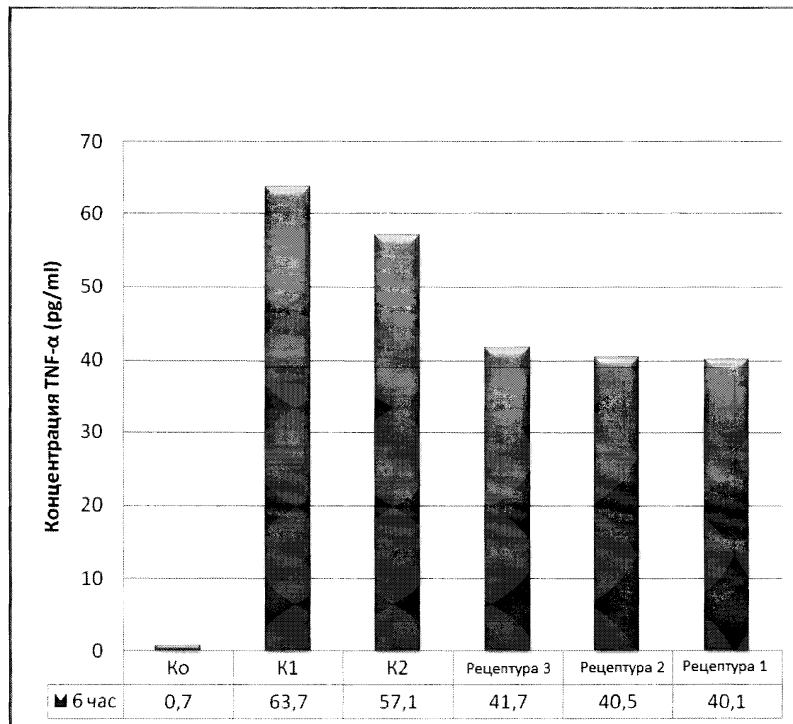
Page: 2

Name	Position	pg/ml	OD	CV%	Results
Pr54	F9	57,16	0,164	0,0	
Pr55	G9	37,27	0,133	0,0	
Pr56	H9	43,26	0,139	0,0	
Pr57	A10	33,20	0,129	0,0	
Pr58	B10	36,26	0,132	0,0	
Pr59	C10	49,13	0,146	0,0	
Pr60	D10	46,21	0,142	0,0	
Pr61	E10	20,46	0,117	0,0	
Pr62	F10	39,28	0,136	0,0	
Pr63	G10	66,23	0,163	0,0	
Pr64	H10	57,77	0,154	0,0	
Pr65	A11	61,56	0,158	0,0	
Pr66	B11	65,46	0,184	0,0	
Pr67	C11	66,94	0,167	0,0	
Pr68	D11	67,26	0,186	0,0	
Pr69	E11	67,16	0,164	0,0	
Pr70	F11	56,72	0,155	0,0	
Pr71	G11	57,77	0,154	0,0	
Pr72	H11	75,46	0,173	0,0	
S1	A1 B1	0,00	0,079	1,8	
S2	C1 D1	0,00	0,097	0,7	
S3	E1 F1	0,00	0,117	1,6	
S4	G1 H1	0,00	0,157	1,6	
S5	A2 B2	0,00	0,243	1,2	
S6	C2 D2	0,00	0,389	0,7	
S7	E2 F2	0,00	0,664	4,3	
S8	G2 H2	0,00	1,252	6,3	

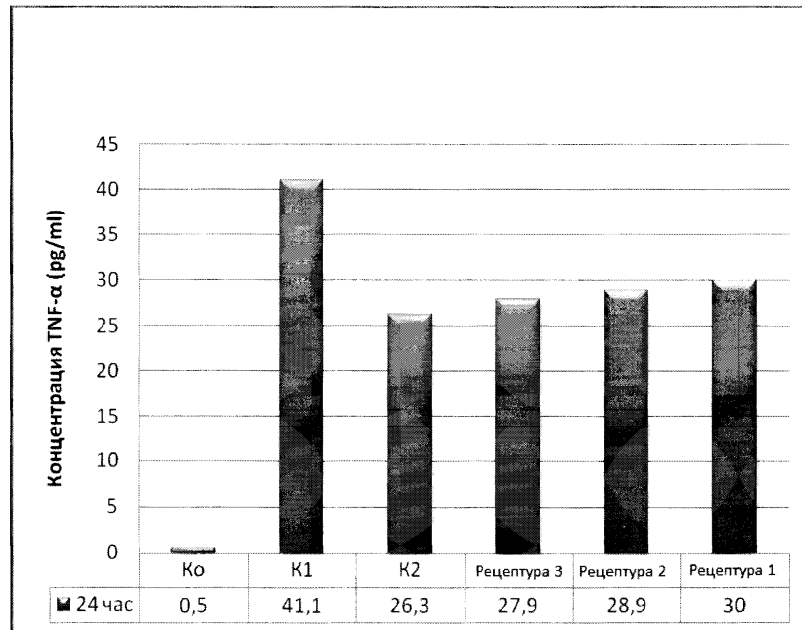
Standards:

Formula	Calculated	nominal	adjusted
S1	0,079	0,00	<0,00
S2	0,098	0,00	<0,00
S3	0,118	0,00	21,01
S4	0,157	63,00	60,60
S5	0,243	125,00	137,10
S6	0,389	250,00	258,59
S7	0,664	500,00	484,02
S8	1,252	1000,00	>1000,00

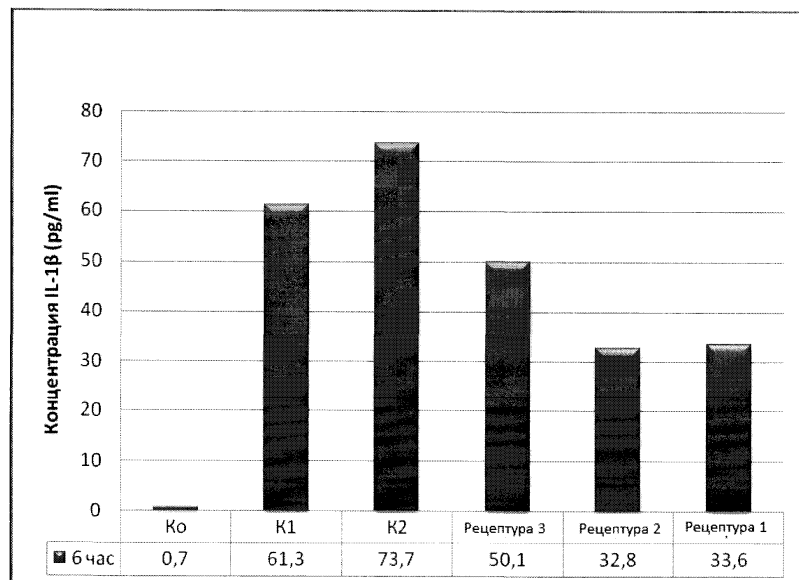
Фиг. 23



Фиг. 24

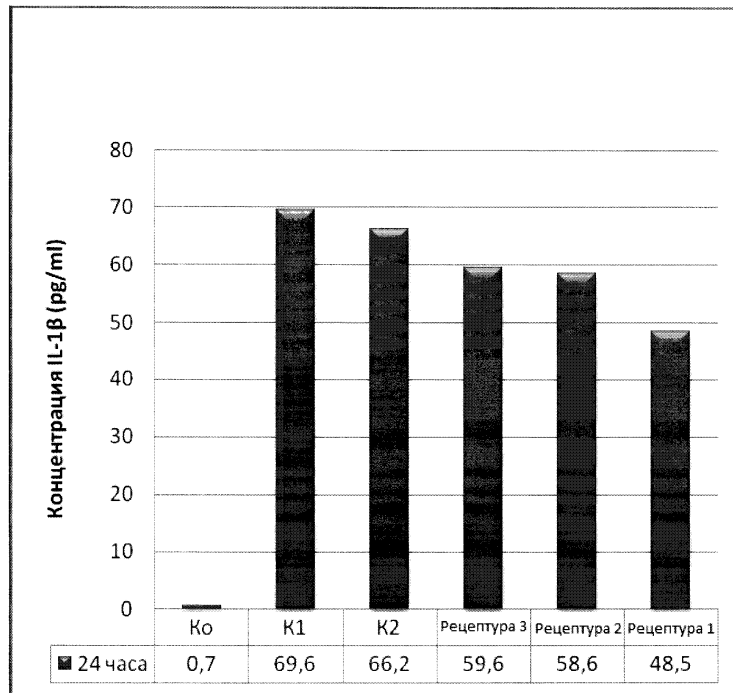


Фиг. 25



Фиг. 26





Фиг. 27

